AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

L.B.F.E.

paul verlaine université - metz Laboratoire 'Biodiversité et Fonctionnement des Ecosystèmes'

RP2E

Paul Verlaine - METZ
SCD
2004 0795
S/M 3 04/27

THESE

Présentée à l'Université de Metz en vue de l'obtention du grade de :

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE METZ

Mention : Sciences de la Vie

Option : Ecologie - Hydrobiologie Animale

par

Christophe PISCART

Rôle de la salinité dans la dynamique et la régulation de la biodiversité des communautés de macroinvertébrés dulçaquicoles

Soutenue le **22 Octobre 2004** devant la commission d'examen :

Directeur de Thèse	**Jean-Claude MORETEAU**	Professeur, Université de Metz
Co-Encadrant	**Jean-Nicolas BEISEL**	Maître de Conférences, Université de Metz
Rapporteurs	**Jean-Christophe AUFFRAY**	Directeur de recherche CNRS, UMR 5554
	Sylvain DOLEDEC	Professeur, Université de Lyon I
Examinateurs	**James GAGNEUR**	Maître de Conférences, Université de Toulouse III
	Pierre MARMONIER	Professeur, Université de Rennes I

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE DE METZ

031 536315 5

rrv 0957827 45

paul verlaine
université - metz

L.B.F.E.

RP2E

Laboratoire 'Biodiversité et Fonctionnement des Ecosystèmes'

UNIVERSITE Paul Verlaine - METZ
S.C.D.
N° Inv 20040795
Cote S/Mg 04/27
Lieu : mg. rouge

THESE

Présentée à l'Université de Metz en vue de l'obtention du grade de :

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE METZ

Mention : Sciences de la Vie

Option : Ecologie - Hydrobiologie Animale

par

Christophe PISCART

Rôle de la salinité dans la dynamique et la régulation de la biodiversité des communautés de macroinvertébrés dulçaquicoles

Soutenue le **22 Octobre 2004** devant la commission d'examen :

Directeur de Thèse	**Jean-Claude MORETEAU**	Professeur, Université de Metz
Co-Encadrant	**Jean-Nicolas BEISEL**	Maître de Conférences, Université de Metz
Rapporteurs	**Jean-Christophe AUFFRAY**	Directeur de recherche CNRS, UMR 5554
	Sylvain DOLEDEC	Professeur, Université de Lyon I
Examinateurs	**James GAGNEUR**	Maître de Conférences, Université de Toulouse III
	Pierre MARMONIER	Professeur, Université de Rennes I

d'occupation des sols et les processus d'érosion des bassins versants. Malgré cette perspective, le rôle de la salinité dans les écosystèmes d'eaux douces est mal connu, en particulier en niveau d'écosystèmes situés en climat tempéré. L'objectif principal de ce travail doctoral est de contribuer à une meilleure connaissance du rôle et des conséquences de l'augmentation de la salinité sur la faune des eaux. Des spécificités régionales ont permis d'étudier *in situ*, le rôle de la salinité dans la régulation de la biodiversité des communautés de macroinvertébrés d'une rivière, la Meurthe, présentant sur une faible distance géographique (environ 19 Km) un important gradient de salinité (0,2 à 2,6 $g.L^{-1}$).

La première partie de ce travail documente nos connaissances sur l'évolution des communautés de macroinvertébrés le long du gradient de salinité en terme de biodiversité et de structure mais aussi en termes de caractéristiques bio/écologiques des peuplements macrobenthiques. L'impact de la salinité a été mis en évidence à partir d'une concentration en sels supérieure à 1,4 $g.L^{-1}$ avec, notament, l'installation d'espèces exotiques. Dans une seconde partie, des études aux niveaux populationnel et individuel ont permis d'expliquer les changements observés à l'échelle communautaire, notamment par l'intermédiaire de tests de tolérance à la salinité réalisés en conditions contrôlées sur 60 taxons appartenant à l'ensemble des groupes faunistiques. Plusieurs outils diagnostiques tels que l'utilisation d'habitats sentinelles et de substrats artificiels adaptés à l'étude de la salinisation ont été développés au cours de ce travail. Des investigations originales ont également été réalisées sur la possibilité d'utiliser des mesures d'asymétrie fluctuante en tant qu'indicateur d'instabilité de développement des populations naturelles soumises à un stress salin.

Abstract

One of the consequences of the climat changes and rising temperatures on continental aquatic environments will be an increase their salinity levels. This salinization process is due to multiple factors such as an increase of evaporation, a rise of the sea level and the subterranean aquifers or a change of land use and erosonial process of drainage basins. In spite of its importance, the role of the salinity in freshwater ecosystems is poorly known, in particular in temperate ecosystems. The main objective of this sudy is to improve our knowledge of the role and consequences of a rising salinity on the freshwater biota. A particular section of the Meurthe River allowed us to study on the field the role played by the salinity in the regulation of biodiversity of the macroinvertebrate community. This section of 19 Km presents a salinity gradient ranging from 0.21 to 2.60 $g.L^{-1}$.

The first part of this study document our knowledge on the change of macroinvertebrate communities along a salinity gradient in term of biodiversity and structure but also in terms of bio/ecological characteristics of macroinvertebrate assemblages. In the second part, the study is focused on the populationnal and individual scales to explain the observed changes in community scale, especially by using some laboratory tests of the salinity tolerance of 60 taxa belonging to all faunistic groups. From a practical point of view, we explored several bioassessment tools adapted to the study of salinization process such as the bused of sentinel substrate and artificial substrates. Some inovative investigations have also been realized on the use of fluctuating asymmetry to highlight developmental instabilities in natural population submitted to a salinity stress.

Christophe PISCART

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ici ma plus vive reconnaissance à tous ceux qui, de part leurs aides, leurs conseils ou leurs soutiens, ont permis la réalisation de ce travail auquel je me réjouis d'associer leurs noms en espérant en oublier le moins possible.

Mes remerciements iront en premier au ***Professeur Jean Claude MORETEAU****, directeur de cette thèse, tout d'abord pour m'avoir fait confiance en me permettant d'effectuer mon stage de DEA dans son équipe puis pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire pour la thèse dont voici l'aboutissement. Nos discussions et vos conseils m'ont été très précieux tout au long de ces années.*

Ma plus sincère gratitude va à ***Monsieur Jean Nicolas BEISEL****, co-encadrant de ce travail qui m'a permis, de part ses conseils, son enthousiasme et sa disponibilité, de mener à terme cette thèse. Je ne le remercierai jamais assez pour sa présence et sa gentillesse de tous les instants (même dans les moments difficiles en bateau sur la Moselle). Cela a toujours été un plaisir de travailler avec toi et comment oublier nos discussions enflammées desquelles ont émergé mille et une idées que l'on oubliait heureusement en partie par la suite faute d'avoir pris des notes. Je ne pourrais pas l'oublier et encore merci pour tout.*

Toute ma reconnaissance à Messieurs ***Jean Christophe AUFFRAY*** *et* ***Sylvain DOLEDEC*** *pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger la qualité scientifique de ce travail, ainsi qu'à Messieurs* ***James GAGNEUR*** *et* ***Pierre MARMONIER*** *qui ont accepté de participer à ce jury. Je me permets de leur témoigner ici toute ma gratitude.*

Mes sincères remerciements vont également à ***Philippe USSEGLIO-POLATERA****, pour l'aide précieuse qu'il m'a apportée, notamment pour l'utilisation des traits biologiques, mais aussi pour ses conseils avisés, son soutien et sa gentillesse de chaque instant.*

Merci également aux nombreuses autres personnes avec qui j'ai eu l'occasion et le plaisir de travailler lors de mon doctorat au sein du laboratoire L.B.F.E. : ***Catherine DRUI, Nathalie KLEINEN, Mireille OLLIVIER, Etienne MORHAIN,Philippe ROUSSELLE, Philippe WAGNER*** *et* ***Jean François POINSAINT.***

Je tiens également à remercier tous mes camarades étudiants ou ex-étudiants qui participent à rendre l'ambiance au laboratoire des plus agréable.

Tout d'abord Merci à ***Simon DEVIN*** *qui m'a permis de rentrer dans le monde de la recherche dans les meilleures circonstances (en tout cas les plus sympathiques !) au cours de mon DEA, puis en participant à la bonne humeur de tous. Merci également à* ***Virginie ARCHAIMBAULT*** *pour m'avoir supporter, conseiller et encourager durant ces quatre dernières années.*

Toute ma reconnaissance, aussi aux stagiaires qui ont permis de réaliser une grande partie de ce travail. Je commencerai par ***Antoine LECERF*** *avec lequel j'ai eu le plaisir de débuter ce travail doctoral et mis en place les études sur la Meurthe lors de son DEA. Je suis sûr que tu te rappelles de nos pique-niques à -15°C et des Surber dans de l'eau à 0,5 °C, quels bons souvenirs, à posteriori. Merci aussi à* ***Steph***, ***Davy***, ***Vincent***, ***Jérôme*** *et* ***Florent*** *pour m'avoir aider à réaliser ce travail.*

Merci également aux autres étudiants ou ex-étudiants pour leurs convivialités et leurs bonnes humeurs : ***Cendrine***, ***Chafik***, ***Manu***, ***Déborah***, ***Edwige***, ***Aurélie***, ***Caro***, ***Sandrine***, ***Sam***, ***Gui***, ***Vincent***, ***Momo***, ***Arnaud***, ***Jean Marc*** *et les autres ...*

Un petit clin d'oeil aux membres du « groupe pluri » et aux sportifs du dimanche qui m'ont permis de passer des moments inoubliables autour d'un ballon de foot ou sur un terrain de squash.

Je ne pourrais pas finir ces remerciements sans parler de ma famille, et en particulier mes parents sans lesquels je ne serais pas en train d'écrire ces quelques lignes. Merci à tous !

Avant Propos

Les travaux effectués au cours de ce travail doctoral m'ont conduit à rédiger plusieurs articles. Le plan de ce manuscrit est articulé autour de ces articles et ne suit donc pas le format classique d'un manuscrit d'un seul tenant. Les articles acceptés ou soumis ne sont pas présentés dans le corps du manuscrit mais sont placés en annexe. Afin de permettre une meilleure lisibilité de ces travaux, un résumé de chaque article est inséré dans le chapitre du manuscrit s'y référant.

Certains résultats, qui n'ont pas encore été rédigés sous forme d'articles, sont présentés de manière détaillée dans le corps du manuscrit.

Cette thèse a été réalisée dans le cadre d'un programme BIODIVERSITE soutenu par le ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.

Sommaire

CHAPITRE I : CONTEXTE ET OBJECTIFS 1

I Salinité et salinisation 2

I.1. Qu'est-ce que la salinité? 2

I.2. Origine de la salinisation des eaux douces 3

I.2.1. La salinisation naturelle 3

1.2.2. La salinité anthropique 4

I.3. Importance du phénomène en Europe et dans le monde. 5

I.3.1. La salinisation en Europe 5

I.3.2. Dans le monde 5

II L'impact des changements globaux sur la salinisation des hydrosystèmes européens 6

III Objectifs : Cerner les mécanismes régissant la mise en place des communautés de macroinvertébrés benthiques à différents niveaux d'organisation 9

III.1. Etat actuel des connaissances 9

III.1.1. Au niveau des communautés 9

III.1.2. Au niveau des populations 11

III.1.3. Impact de la salinité à l'échelle individuelle 12

III.2. Objectifs de ce travail 12

CHAPITRE II : PRESENTATION DU SITE D'ETUDE : LA MEURTHE 15

I. La rivière Meurthe 16

I.1. Présentation générale du bassin versant 16

I.2. Spécificités géologiques 17

II L'origine de la salinité de la Meurthe 18

II.1. Historique industriel 18

II.2. Situation actuelle 19

III Présentation des stations étudiées 20

III.1. Etude de l'historique physico-chimique de la partie aval de la Meurthe 20

III.2. Localisation des stations étudiées en 2002 21

III.3. Caractéristiques physico-chimiques des stations étudiées en 2002 24

III.3.1. Les caractéristiques physiques 24

III.3.2. Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau 24

CHAPITRE III : EVOLUTION DES PEUPLEMENTS DE MACROINVERTEBRES LE LONG DU GRADIENT DE SALINITE 31

I Matériel et méthodes 32
I.1. Plan d'échantillonnage 32
I.2. Echantillonnage des macroinvertébrés au filet Surber 32
I.3. Echantillonnage des macroinvertébrés avec des substrats artificiels 34
I.4. Technique de tri et de détermination 34
I.5. Méthodes d'analyse des résultats 34
I.5.1. Méthodes biocénotiques 34
I.5.2. Analyses multivariées 35
I.6. Utilisation des traits biologiques et écologiques des macroinvertébrés 36
I.6.1. Utilisation des groupes fonctionnels 38
I.6.2. Utilisation des profils bio/écologiques 39

II Résultats et discussion 40
II.1. Biodiversité des macroinvertébrés le long du gradient salin 40
II.2. Profils des traits bio/écologiques le long du gradient 41
II.2.1. Groupes fonctionnels 41
II.2.2. Sélection et évolution des traits biologiques 45
II.3. Outils méthodologiques développés 46
II.3.1. Mise en évidence d'un habitat sentinelle pour diagnostiquer un processus de salinisation. 47
II.3.2. Utilisation de substrats artificiels 48

III Conclusion 49

CHAPITRE IV : ROLE DE LA SALINITE AUX NIVEAUX POPULATIONNEL ET INDIVIDUEL 51

I Rôle de la salinité sur la biodiversité des Trichoptères à filet 52

II Tolérance expérimentale des macroinvertébrés à la salinité 53
II.1. Matériel et méthodes 54
II.1.1. Site d'études 54
II.1.2. Tests au laboratoire 54
II.1.3. Analyses statistiques 56
II.2. Résultats 57
II.2.1. Tolérance des macroinvertébrés 57
II.2.2. Différences taxonomiques 60
II.2.3. Tolérance des espèces exotiques vs espèces autochtones 61
II.2.4. Comparaison avec les macroinvertébrés australiens 62
II.3. Discussion et conclusion 63

CHAPITRE V : UTILISATION DE L'ASYMETRIE FLUCTUANTE POUR LA MISE EN EVIDENCE DU ROLE DE LA SALINITE. 67

I Introduction 68
I.1. Qu'est-ce que l'asymétrie fluctuante 68
I.2. Bilan des connaissances sur l'utilisation de l'AF en milieu aquatique 69
I.2.1. AF comme révélateur de stress environnementaux. 69
I.2.1.1. L'asymétrie fluctuante chez les poissons 69
I.2.1.2. Asymétrie fluctuante chez les macroinvertébrés 69
I.2.2. Correspondance entre AF et fitness 71
I.2.2.1. Lien entre le niveau d'AF et le comportement 71
I.2.2.2. Lien entre le niveau d'AF et les traits de vie 72
I.3. Conclusion sur l'utilisation de l'AF en milieu aquatique 72

II Utilisation de l'AF dans l'évaluation du rôle de la salinité 74
II.1. Matériel et méthodes 74
II.1.1. Mesure de l'asymétrie fluctuante 74
II.1.2. Analyse statistique 75
II.2. Résultats et discussion 76
II.2.1. Les larves d'insectes de stades âgés 76
II.2.2. Cas des larves d'Hydropsyche de stade III 77
II.3. Conclusion 79

III Importance des facteurs ontogénétiques dans l'utilisation de l'AF en milieu naturel 80
III.1. Etude d'insectes holométaboles 80
III.2. Etude de l'AF chez des crustacés amphipodes 81
III.2.1 Objectifs 81
III.2.2. Matériels et méthodes 81
III.2.3. Résultats 82
III.2.4. Discussion 85

IV Conclusions et perspectives 86

CONCLUSION GENERALE 87

BIBLIOGRAPHIE 91

Annexe I: Tableaux des paramètres physico-chimiques des stations de la Meurthe en 2002 105

Annexe II: Liste faunistiques par stations en 2002 107

Annexe III: Appartenance fontionnelle et codage flou des macroinvertébrés de la Meurthe pour la variable Salinité 111

Annexe IV: Piscart, C.; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N. Biodiversity and structure of macroinvertebrate communities along a permanent salinity gradient. ***Hydrobiologia, uncorrected proofs.*** 115

Annexe V: Piscart, C.; Usseglio-Polatera, P.; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N. (soumis) The role of salinity in selection of biological traits of freshwater invertebrates. ***Archiv für Hydrobiologie*** 125

Annexe VI: Piscart, C.; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N. (soumis) Salinization consequences in running waters: the use of 'sentinel substrate' as bioassessment method. ***Journal of the North American Benthological Society.*** 143

Annexe VII: Piscart, C.; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N. Monitoring changes in freshwater macroinvertebrate communities along a salinity gradient using artificial substrates. ***Environmental Monitoring and Assessment, uncorrected proofs.*** 165

Annexe VIII: Piscart, C.; Lecerf, A.; Usseglio-Polatera, P.; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N. (2005) Biodiversity patterns along a salinity gradient: The case of net-spinning caddisflies. ***Biodiversity and Conservation,*** **14: 2235-2249.** 179

Annexe IX: Piscart, C.; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N. (soumis) Fluctuating asymmetry of natural populations of aquatic insects along a salinity gradient. ***Aquatic Sciences*** 195

Annexe X: Piscart, C.; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N. (soumis) Decrease of fluctuating asymmetry among larval instars in an aquatic, holometabolous insect ***Comptes Rendus de Biologie.*** 213

Chapitre I : Contexte et objectifs

I Salinité et salinisation

I.1. Qu'est-ce que la salinité?

Une des propriétés fondamentales de l'eau est sa capacité à solubiliser de nombreuses substances chimiques parmi lesquelles les sels minéraux qui sont les constituants majeurs des eaux naturelles du globe. La salinité ne se limite pas à la quantité de chlorure de sodium dans l'eau mais elle est définie par la quantité totale des éléments dissous dans l'eau, le NaCl n'étant qu'un des très nombreux sels présents. L'eau de mer contient 60 des 92 corps simples existant à l'état naturel. Certains n'ont peut-être pas encore été découverts car ils existeraient en trop faible quantité. En effet certains corps ne sont décelables qu'après avoir été concentrés d'un facteur 10^3 à 10^7 par des organismes marins, comme par exemple le cobalt décelé dans les homards et les moules, le nickel (certains mollusques) ou le plomb (cendres d'organismes marins). Dans la littérature il n'existe pas d'unité commune pour la salinité et l'on retrouve des valeurs de salinité exprimées en ‰, en $g.L^{-1}$ ou encore en PSU[1] (Practical Salinity Unit).

La salinité constitue un critère usuel de classification des eaux superficielles. Ainsi distingue-t-on les eaux douces constitutives de la majorité des hydrosystèmes continentaux et dont la salinité n'excède pas 3 $g.L^{-1}$ (Williams, 1987), et les eaux marines formant les mers et les océans et dont la salinité moyenne est de l'ordre de 33 $g.L^{-1}$.

La présence de sel dans l'eau est déterminante vis-à-vis de certaines propriétés comme la densité, la compressibilité, le point de congélation, la température du maximum de densité, la conductivité et la pression osmotique. Par contre, la viscosité et l'absorption de la lumière ne sont pas influencées de manière significative.

Un aspect important de l'eau de mer est que la concentration totale des composants les plus importants reste à peu près constante. Dans les hydrosystèmes continentaux, les proportions des composants principaux comme celles des composants rares ne sont pas constantes et changent selon l'origine de la salinité. Ainsi, le calcium est le cation le plus commun trouvé dans les eaux de surface européennes et dépend principalement de la géologie, en particulier lorsque des dépôts de carbonate ou de gypse sont présents (Meybeck et Helmer, 1989) alors que dans les régions arides et semi-arides de la planète, l'évaporation produit une hausse de la teneur en sels des eaux de surface et l'augmentation des concentrations de sodium et de calcium (Williams, 1987).

2

[1]L'eau de mer à 15°C équivaut à 35 PSU

I.2. Origine de la salinisation des eaux douces

Le terme de salinisation des eaux est celui utilisé pour décrire l'augmentation de la teneur en sels dissous des eaux superficielles. Bien que les mécanismes impliqués dans ce processus soient multiples et diffèrent selon les régions touchées, nous pouvons les classer en deux groupes, la salinisation naturelle aussi appelée « salinisation primaire » et la salinisation anthropique ou « salinisation secondaire » (Williams, 1987).

I.2.1. La salinisation naturelle

La salinité naturelle est régie par deux principaux facteurs que sont la géologie et le climat. Par exemple, en ce qui concerne le sodium et les chlorures, les deux proviennent de la météorisation naturelle de la roche et du transport atmosphérique de substances d'origine océanique. Au Canada, de nombreux sols de prairies contiennent des concentrations naturellement élevées de sels hydrosolubles, notamment de sulfates de sodium, de calcium et de magnésium. Ces sels sont produits par une action chimique exercée sur les minéraux des couches supérieures du till glaciaire sous-jacent aux sols de cette région (Eilers *et al.,* 1995).

Dans les régions arides et semi-arides de la planète, l'évaporation produit une hausse de la teneur en sels des eaux de surface et l'augmentation des concentrations de sodium et de calcium. Ce phénomène est ensuite amplifié par des températures et une irradiation importantes qui entraînent une remonté des nappes aquifères et des sels minéraux contenus dans les sols. Il en résulte l'augmentation des teneurs en sels dissous (Williams, 1987). Environ 50 % des terres arides sont situées dans des régions « endoréiques[2] », qui ne permettent aucun écoulement vers l'océan. Dans ces régions, les cours d'eau s'écoulent vers de vastes étendues d'eau comme le lac Tchad, le Grand Lac Salé, le lac Eyre, le lac Victoria et le lac Titicaca, qui n'ont pas d'exutoire pour le sel. Les zones arides côtières ou les îles présentent quelques fois des cas particuliers de salinisation due à l'infiltration d'eau de mer, c'est le cas par exemple au Moyen Orient.

3

[2] Caractère des régions où l'écoulement n'atteint pas la mer et se perd dans des dépressions fermées

1.2.2. La salinité anthropique

La salinisation primaire ne représente qu'une faible part de la salinisation observée à l'échelle de la planète. Les causes anthropiques sont de loin les plus importantes dans l'augmentation de ce phénomène, que l'on nomme « salinisation secondaire » ou « minéralisation » en Afrique du sud. Les pratiques agricoles dans les régions touchées par ce phénomène peuvent être considérées comme le plus important des facteurs anthropiques (Williams, 1987). Parmi ces pratiques agricoles, l'irrigation associée à un mauvais système de drainage est souvent mise en cause (Silva et Davies, 1997 ; 1999) car en favorisant l'évaporation de l'eau dans les zones arides, elle engendre la précipitation de cristaux de sels en surface. De nombreuses études ont ainsi montré le rôle de l'irrigation dans la salinisation de différents fleuves aux USA (Leland et Fend, 1998) ou en Afrique du Sud (Forbes et Allison, 1970 *in* Silva et Davies, 1997). Le défrichage en zones arides pour la culture entraîne une baisse de la teneur en matière organique des sols qui contribue à la fixation des sels minéraux et une perturbation de l'équilibre hydrologique entre la pluie, la transpiration et la percolation[3]. Le défrichage est alors associé au remplacement de la végétation d'origine avec des racines profondes par des cultures aux racines superficielles qui accentuent l'évapotranspiration des aquifères superficiels en amplifiant les processus de salinisation (Williams, 1987 ; Kay *et al.* 2001). Le deuxième grand facteur anthropique est la demande croissante d'eau souterraine qui est à l'origine d'intrusion d'eau de mer et de la salinisation des aquifères côtiers. En Espagne, sur un total de 82 aquifères côtiers, 15 présentent une intrusion saline généralisée et 40 souffrent d'une salinisation partielle (PAP/RAC, 2000). Ce phénomène touche aussi un grand nombre de pays et d'îles en Afrique, au Moyen Orient et en Océanie.

Il existe d'autres phénomènes anthropiques de salinisation que l'on peut classer comme marginaux à l'échelle de la planète, comme l'utilisation de sel de déneigement sur les routes (Williams *et al.,* 1999). A l'échelle locale, ces perturbations, même limitées dans le temps (période hivernale), ne sont cependant pas négligeables avec environ 2 950 000 tonnes de Chlorures rejetées chaque hiver au Canada. Cette quantité peut multiplier par 15 la concentration en Chlorures de certains lacs et cours d'eau (Löfgren, 2001). A ce type de rejets salins dans l'environnement il faut ajouter un certain nombre de rejets industriels tels que les effluents des industries chimiques et pétrochimiques, de la production de gaz et des eaux

[3] Infiltration lente de l'eau de pluie dans les sols

d'exhaures acides[4] (Pringle *et al.,* 1981). Une fois que ces substances ont pénétré dans l'environnement, elles restent en phase aqueuse jusqu'à ce que leurs concentrations dépassent leurs produits de solubilité, alors elles se cristallisent et sédimentent sous forme de sels minéraux.

I.3. Importance du phénomène en Europe et dans le monde.

I.3.1. La salinisation en Europe

Actuellement la salinisation affecte 25 % des terres irriguées en Europe soit environ 16 millions d'hectares essentiellement localisés sur le pourtour méditerranéen. Les zones semi-arides sensibles à l'évapotranspiration sont essentiellement localisées en Grèce, en Espagne, au Portugal et en Italie. On note aussi un certain nombre d'intrusions d'eaux de mer dans de nombreuses zones hydrogéologiques côtières de ces pays, la concentration en chlorures des aquifères pouvant atteindre 8 $g.L^{-1}$ en Grèce (Estrela *et al.*, 1996). D'autres phénomènes ponctuels sont régulièrement observés en Suède du fait de l'utilisation de sels de déneigement (Löfgren, 2001). En France, le phénomène affecte essentiellement l'Alsace et la Lorraine du fait des exploitations industrielles des mines de Lorraine et de la Ruhr (Allemagne). La salinité est alors due aux eaux d'infiltration et aux rejets industriels dans le bassin de la Moselle et du Rhin.

I.3.2. Dans le monde

Il est facile de se rendre compte des menaces que représente la salinisation dans le monde quand on sait que presque un tiers des terres émergés de la planète se situe en zone aride ou semi-aride (Williams, 1999 ; 2000) et que ces zones sont susceptibles d'être touchées par ce phénomène **(Figure 1)**. En 1987, Williams estimait que 950 millions d'hectares de terres, soit une zone légèrement plus grande que l'Australie sont touchés par ce phénomène. Les zones touchées à cause de leurs aridités sont réparties sur l'ensemble des continents et il parait illusoire de vouloir en dresser la liste exhaustive, mais les milieux les plus connus sont par exemple le Rio Grande et le Colorado aux USA, le Nil en Egypte, le fleuve Krishna en Inde et quelques lacs tels que le lac Victoria et le lac Tchad en Afrique centrale, le Grand Lac Salé (USA), le lac Eyre (Australie) et le lac Titicaca (Pérou). Des phénomènes de salinisation

5

[4] Oxydation de minéraux sulfurés en présence d'eau et d'oxygène entraînant la formation de H_2SO_4

sont aussi observés dans les zones arides côtières où les îles présentent quelques fois des cas particuliers de salinisation dus à l'infiltration d'eau de mer, c'est le cas par exemple au Moyen Orient.

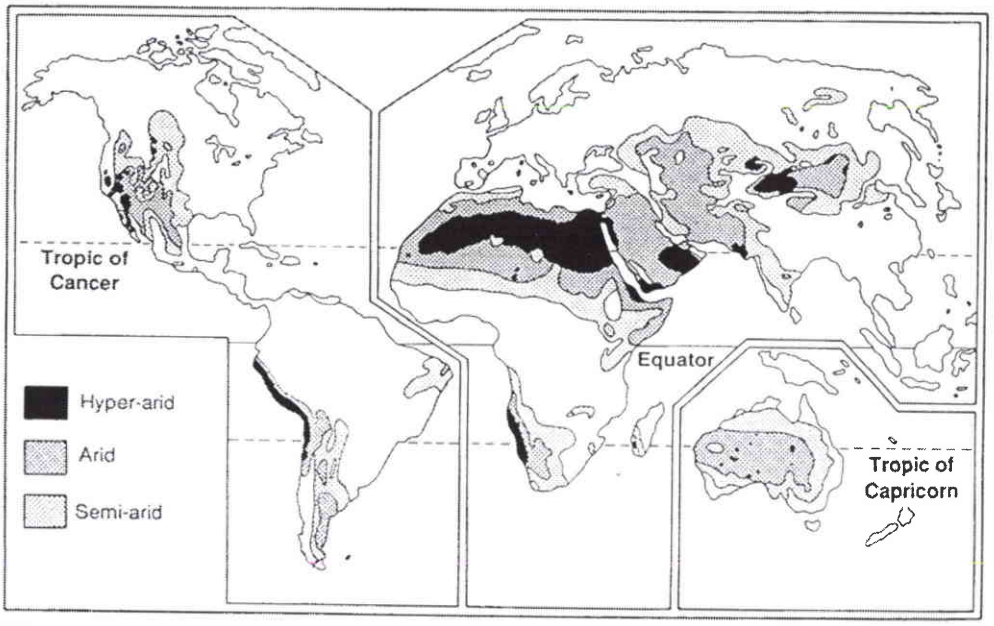


Figure 1. Zones climatiques arides et semi-arides sensibles à la salinisation des eaux douces continentales (Williams, 1999).

II L'impact des changements globaux sur la salinisation des hydrosystèmes européens

Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, l'Europe est sans doute le continent le moins touché par les phénomènes de salinisation et ceux-ci ne touchent à l'heure actuelle qu'une faible partie du continent localisée essentiellement sur le pourtour méditerranéen. Mais, en raison des changements globaux qui affectent l'ensemble de la planète, les processus de salinisation devraient s'étendre à une partie beaucoup plus importante de l'Europe dans un avenir relativement proche. L'effet de serre qui entraîne les changements climatiques et l'élévation du niveau des mers est favorable à l'augmentation de la salinité des eaux.

L'effet de serre naturel essentiellement dû à la vapeur d'eau des nuages permet à la terre de maintenir une température moyenne de 15°C en limitant le refroidissement radiatif de la planète sans lequel la température moyenne serait de -18°C. Au cours du dernier siècle, cet effet semble s'être renforcé par l'intermédiaire des émissions de gaz dit « à effet de serre ». Parmi ces gaz, le CO2 compte pour 50 % de l'augmentation de l'effet de serre et l'autre moitié est due aux méthane, oxydes nitreux, CFC et ozone troposphérique qui résultent de l'activité industrielle. Les conséquences de l'effet de serre sur les changements globaux sont

encore mal comprises, toutefois de nombreux modèles numériques permettent de montrer un certain nombre de conséquences même si la précision des modèles ne permet pas encore de prédire de manière fiable l'intensité de celles-ci. En ce qui concerne l'évolution du climat, pour tous les scénarios envisagés on obtient un réchauffement **(Figure 2)**, mais il est d'une intensité variant de +1,5 °C à +5 °C environ, selon les modèles (GIEC, 2001).

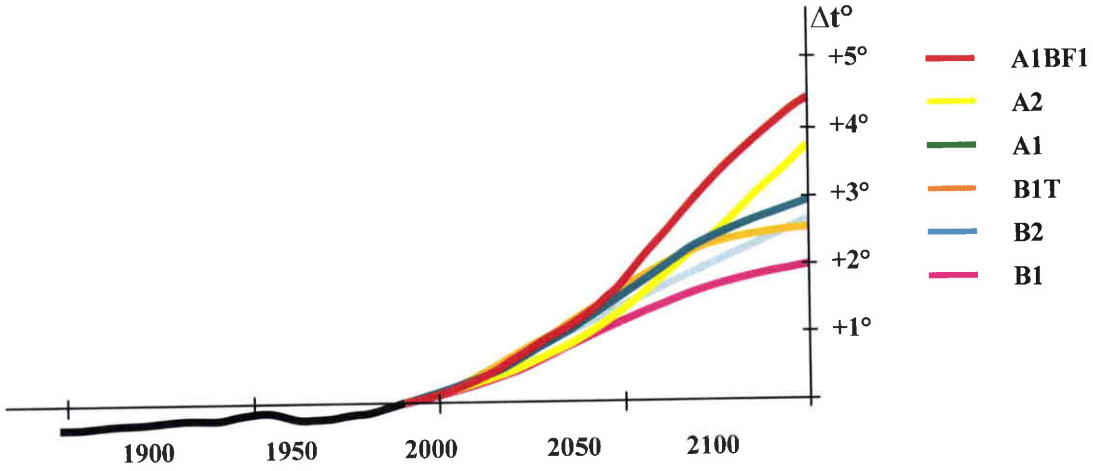


Figure 2. Evolution de la température moyenne de la planète en fonction de 6 principaux scénarios (A1, A2, B1, B2, A1BF1, B1T) d'augmentation du CO_2 atmosphérique. (D'après GIEC, 2001)

Ce réchauffement, en faisant fondre les glaces polaires et continentales mais aussi en dilatant l'eau de mer, aura des conséquences sur l'élévation du niveau des océans sur l'ensemble de la planète allant de +25 à +95 cm à l'horizon 2100 (GIEC, 2001). Pour l'Europe l'élévation la plus probable se situant autour de 50 cm. Cette élévation semble peu importante mais pour la France par exemple cela représente la submersion de 4 % de la superficie du territoire. Les conséquences que l'on peut craindre de l'élévation à venir du niveau de la mer sont principalement dues à la submersions des côtes basses, en particulier des espaces deltaïques, des littoraux à lagunes, des marais maritimes, au renforcement de la salinisation dans les estuaires et à la réduction du volume des nappes phréatiques d'eau douce avec pour conséquence dans un premier temps la salinisation des sols puis des eaux douces y circulant (GIEC, 2000).

Aux régions touchées par se phénomène s'ajouteront celles touchées directement par l'augmentation des températures et les changements climatiques. Ce phénomène accentuera l'aridisation observée sur le pourtour méditerranéen et devrait sensiblement augmenter les surfaces touchées par la salinisation (I.3). Ainsi, les changements climatiques devraient réduire de 5 à 20 % les précipitations d'un nombre important de régions du Sud et du centre de l'Europe alors que les régions du Nord de l'Europe auraient des précipitations accrues

(GIEC, 2001). Pour le sud de la France et l'Espagne les modèles prévoient une baisse des précipitations de 0,2 à 1 mm par jour en été alors que dans le même temps en Espagne la température moyenne devrait augmenter de +4°C **(Figure 3)**. La baisse des précipitations estivales associée à l'augmentation des températures va favoriser l'évapotranspiration pouvant entraîner la salinisation des sols et des eaux.

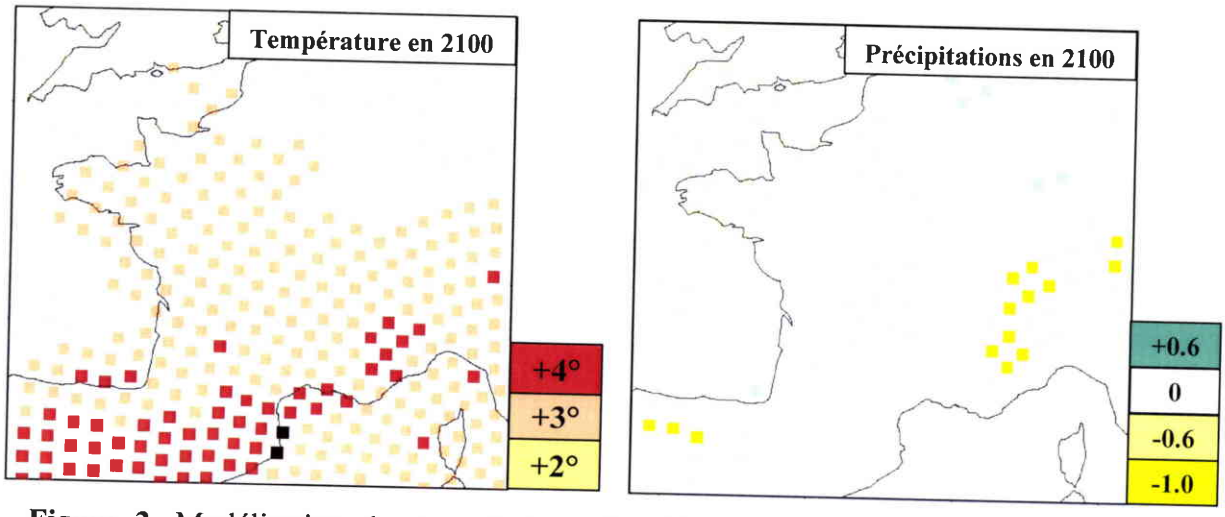


Figure 3. Modélisation des températures (en °C) et des précipitations (mm/jours) estivales prévues en cas de doublement du CO2 atmosphérique d'ici 2100 (d'après le GIEC, 2000).

Ces phénomènes associés à une surexploitation des ressources en eau douce du fait de l'accroissement des populations et des besoins, notamment pour l'irrigation, vont certainement favoriser l'augmentation des zones affectées par la salinisation **(Figure 4)** même si les modèles ne permettent pas à l'heure actuelle de délimiter les surfaces concernées.

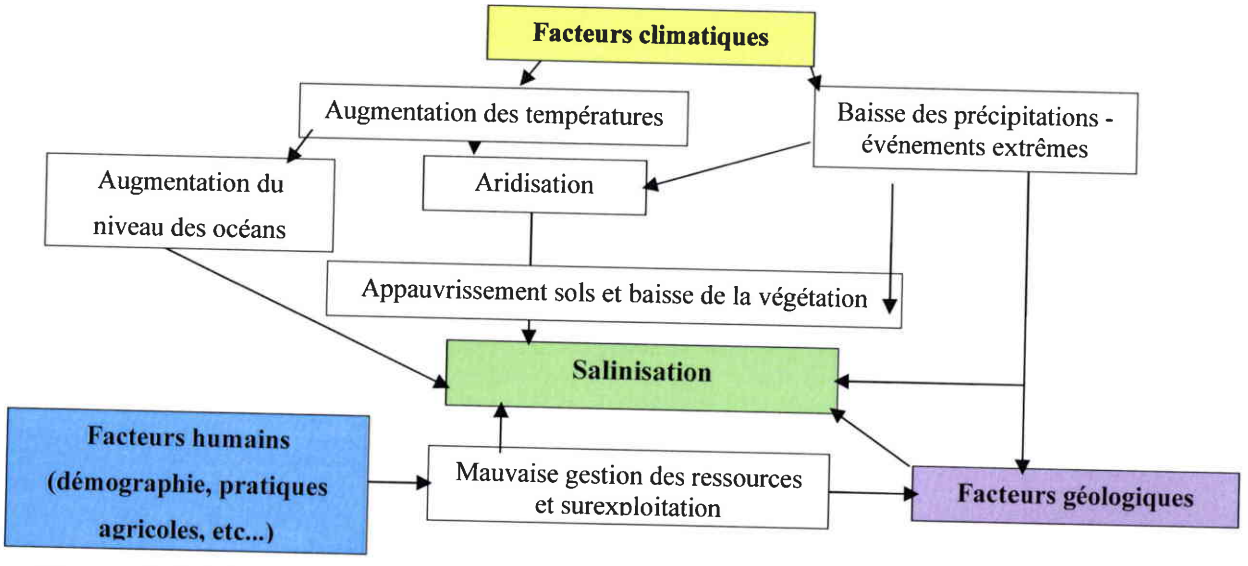


Figure 4. Schéma synthétique des facteurs influençant les processus de salinisation dans un contexte de changement global.

III Objectifs : Cerner les mécanismes régissant la mise en place des communautés de macroinvertébrés benthiques à différents niveaux d'organisation

Avant d'entreprendre la définition de nos objectifs, il est indispensable de synthétiser les connaissances actuelles du rôle de la salinité dans la régulation de la biodiversité des communautés de macroinvertébrés dulçaquicoles.

III.1. Etat actuel des connaissances

III.1.1. Au niveau des communautés

Très schématiquement, les communautés peuvent être étudiées en terme de structure, de composition ou sous un angle fonctionnel. L'impact au niveau de la structure des communautés est classiquement abordé à l'aide d'indices comme la richesse, l'abondance ou encore la diversité. Il est difficile de définir un seuil au delà duquel l'impact de la salinité est mesurable. Bien qu'un certain nombre d'études aient été réalisées depuis les années 1990, les résultats sont hétérogènes et quelques fois contradictoires. Le seul élément constant est que la richesse de la faune d'eaux douces (nombre d'espèces différentes) diminue avec la salinité **(Figure 5)**.

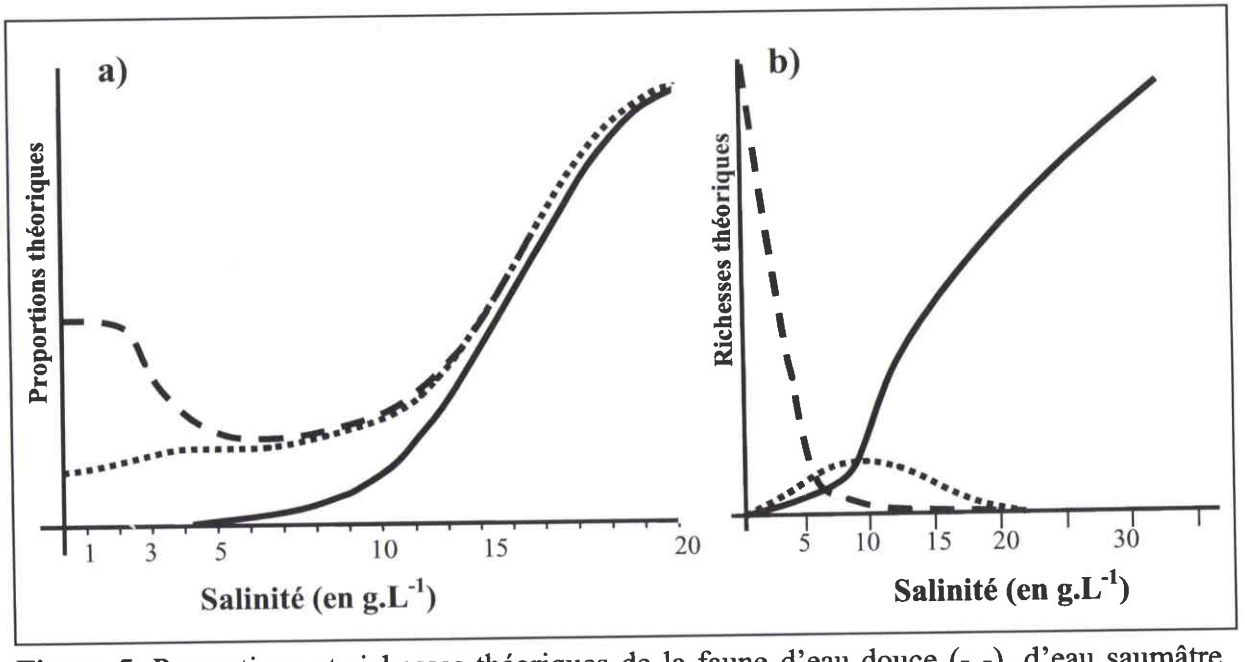


Figure 5. Proportions et richesses théoriques de la faune d'eau douce (- -), d'eau saumâtre (...) et marine (—) en fonction de la salinité d'après (a) Mordukai-Boltovskoï, 1964 et (b) Remane, 1934 modifiés.

La valeur de salinité à partir de laquelle une baisse significative de la richesse est observée dans les eaux douces (>30 %) est controversée. Certains auteurs fixent cette limite entre 0,3 et 0,5 $g.L^{-1}$ (Bunn et Davies, 1992 ; Gallardo-Mayenco, 1994 ; Halse *et al.*, 1998) alors que d'autres la situeraient plutôt aux environs de 1 $g.L^{-1}$ (Hart *et al.*, 1990 ; 1991 ; Metzeling, 1993 ; Rundle *et al.*, 1998), 1,5 $g.L^{-1}$ (Muñoz et Prat, 1994), 3 $g.L^{-1}$ (Alcocer *et al.*, 1998) ou entre 5 et 6 $g.L^{-1}$ (Short *et al.*, 1991). Nous pouvons voir que les valeurs les plus importantes (3 $g.L^{-1}$ et 5 $g.L^{-1}$) ont été observées aux USA et au Mexique alors que les faibles valeurs l'ont été en Espagne et en Australie traduisant une certaine hétérogénéité intercontinentale. En ce qui concerne des salinités plus importantes, la plupart des auteurs observent une baisse continue de la plupart des indices de structure (richesse, abondance, diversité et équitabilité) qui traduisent ainsi une diminution de la biodiversité.

En terme de composition, l'impact de la salinité varie très fortement en fonction des groupes faunistiques concernés, les larves d'insectes étant généralement les plus fortement touchées (Hart *et al.*, 1990 ; Short *et al.*, 1991 ; Bunn et Davies, 1992 ; Muñoz et Prat, 1994 ; Halse *et al.*, 1998 ; Kefford, 1998a). Les différences de tolérance à la salinité doivent être appréhendées au niveau spécifique même si certains ordres comme les Diptères sont plutôt résistants et d'autres sensibles comme les Plécoptères, les Ephéméroptères. Parmi les groupes n'appartenant pas aux insectes, certains sont sensibles (Turbellariés, Achètes) et d'autres sont présents sur une gamme très large comme les Mollusques et les Crustacés. Les Oligochètes comprennent à la fois des espèces très sensibles et des espèces très tolérantes. Les sensibilités relatives des groupes précédemment cités correspondent à des généralités avec lesquelles certains auteurs sur la base d'une étude particulière peuvent être en contradiction. Ainsi pour la faune australienne, Hart *et al.* (1991) annoncent que les Ephémères font parties des groupes les plus sensibles à la salinité. Ces résultats ont par la suite été vérifiés expérimentalement par Kefford *et al.* (2003), le genre *Baetis* présente par exemple une CL50 à 72h (concentrations létale pour 50 % de la population en 72h) estimée à environ de 4,3 $g.L^{-1}$. Pourtant, en 2001, toujours en Australie, Kay *et al.* (2001) trouvent des populations naturelles de *Baetis* en grandes quantités à des salinités supérieures à 13,3 $g.L^{-1}$. Cet exemple illustre bien les difficultés à classer les grands groupes taxonomiques par rapport à leurs tolérances respectives.

Peu d'auteurs se sont intéressés à l'impact de la salinité d'un point de vue fonctionnel. Néanmoins, certains ont réussi à mettre en évidence l'impact de la salinité sur les différents groupes trophiques constitués par les macroinvertébrés. Une étude réalisée aux USA (Short *et al.*, 1991) sur une gamme da salinité de 0 à 10 $g.L^{-1}$ montre qu'au delà d'une valeur de 2 $g.L^{-1}$

on observe une très forte augmentation des prédateurs et une forte baisse des racleurs. Muñoz et Prat (1994) corroborent ces observations en mettant en évidence une forte augmentation des prédateurs dont la fréquence est multipliée par 2 et des déchiqueteurs qui sont multipliés par 7 à partir d'une valeur de salinité de 1,5 $g.L^{-1}$. De plus, les auteurs notent l'apparition de filtreurs et une légère augmentation des collecteurs ainsi que la disparition presque totale des mangeurs de sédiments fins et des broyeurs majoritaires sur des salinités plus faibles. Les modifications des édifices trophiques pourraient ainsi modifier le rôle des macroinvertébrés sur le cycle de la matière mais également les transferts d'énergie du benthos[5] vers le pelagos[6].

III.1.2. Au niveau des populations

Comme nous l'avons vu précédemment, l'impact de la salinité est très différent en fonction des groupes faunistiques. Il peut être mis en évidence au niveau des populations à l'aide des cycles et des traits d'histoire de vie des espèces. Ainsi, certaines espèces exigent une salinité définie pour assurer leurs cycles biologiques comme le bivalve *Corbicula japonica* qui ne se reproduit qu'à partir de 1,2 $g.L^{-1}$ et nécessite une salinité de 3 $g.L^{-1}$ pour permettre son développement embryonnaire (Baba *et al.*, 1999). Au contraire la reproduction de *Dreissena polymorpha* décroît fortement à partir de 1,7 $g.L^{-1}$ et devient nulle au delà de 7 $g.L^{-1}$ du fait d'une part de la réduction de la mobilité du sperme directement largué dans le milieu naturel et d'autre part de la pression osmotique qui induit une rupture de la membrane des oocytes (Fong *et al.*, 1995).

L'action de la salinité ne se limite pas aux mollusques. Chez deux espèces de microcrustacés (*Darwinula stevensoni* et *Boeckella hamata*) on note par exemple une réduction significative de la fécondité à partir respectivement de 1,3 $g.L^{-1}$ (Gandolfi *et al.*, 2001) et 1 $g.L^{-1}$ (Hall et Burns, 2001). Notons toutefois que la fécondité n'est pas un critère précis de la tolérance des taxons vis-à-vis de la salinité qu'elle peut sous estimer du fait de la sensibilité généralement plus forte des œufs ou des jeunes. Les écarts entre les gammes de tolérance des adultes et des embryons peuvent être considérables. Ainsi, les larves de Trichoptères du genre *Anisocentropus* ont des CL50 à 72h d'environ 15,6 $g.L^{-1}$ (Kefford *et al.*, 2003) alors que les embryons ne survivent pas à des salinités supérieures à 4,3 $g.L^{-1}$ (Kefford *et al.*, 2004a). Toutefois de tels écarts ne sont pas généralisables, d'autres espèces ne présentent pas de différences interstades aussi fortes.

11

[5] Ensemble des être vivants sur le fond de la rivière.

[6] Ensemble des êtres vivant dans la colonne d'eau.

En ce qui concerne les cycles de vie, Chadwick et Feminella (2001) ont montré par des expériences sur l'Ephémèroptère *Heptagenia limbata*, que le taux de croissance de l'espèce diminuait en fonction de la salinité dans une gamme de 0 à 4 $g.L^{-1}$, l'espèce ne pouvant pas survivre pour des teneurs en sel supérieures. Au contraire, chez le Crustacé *Gammarus tigrinus*, le taux de croissance est maximal pour des salinités supérieures à 3,8 $g.L^{-1}$ (Savage, 1982), ce qui se répercute sur de nombreux autres traits de vie.

III.1.3. Impact de la salinité à l'échelle individuelle

L'impact de la salinité sur les individus est fonction de leur capacité à lutter contre les chocs osmotiques. Il est difficile de donner de grandes règles concernant les problèmes d'osmorégulation car là encore la variabilité au sein d'un groupe taxonomique est très importante (Gallardo-Mayenco, 1994 ; Zheng et Dietz, 1998 ; Blasius et Meritt, 2002). Toutefois, il existe différents outils permettant d'étudier les mécanismes mis en jeux par les individus confrontés à des problèmes de salinité sublétale. On peut observer les mécanismes liés au contrôle de la pression osmotique comme la surconcentration des acides aminés libres intracellulaires (Dietz *et al.*, 1994 ; 1996 ; Jordan et Deaton, 1999 ; Patrick et Bradley, 2000), la vitesse de transport des ions et leurs concentrations dans l'hémolymphe (Bolt, 1983 ; Generlich et Giere, 1996 ; Wilcox et Dietz, 1998 ; Zheng et Dietz, 1998). D'autres approches sont également utilisées comme la mesure de l'activité respiratoire qui a tendance à augmenter lors d'un stress (Nagabhushanam et Kulkarni, 1977 ; Silva et Davies, 1999 ; Bruijs *et al.*, 2001) ou des mesures d'instabilité de développement à l'aide de l'asymétrie fluctuante (Bonada et Williams, 2002).

III.2. Objectifs de ce travail

La salinisation des hydrosystèmes est un phénomène planétaire en passe de devenir un enjeu important du siècle en raison de son impact sur l'eau potable. Les causes de ce phénomène sont plutôt bien connues ainsi que ses conséquences sur l'environnement en général. Sur les macroinvertébrés benthiques, les conséquences bien que largement étudiées dans l'hémisphère sud, sont encore mal connues du fait de la complexité d'action de la salinité entraînant de nettes différences d'une étude à l'autre. Il existe toutefois un certain nombre de fait comme la baisse de la richesse et de l'abondance de la plupart des taxons. On note aussi des dysfonctionnements liés à des différences de la croissance et de reproduction de

nombreuses espèces pouvant entraîner de graves modifications du fonctionnement des écosystèmes aquatiques et en particulier au niveau du cycle de la matière. Toutefois, les études réalisées à ce jour restent trop descriptives et ne permettent pas de bien comprendre le rôle de la salinité dans les écosystèmes d'eaux douces et *a fortiori* d'appréhender les conséquences de la salinisation

Ce présent travail combine l'étude de trois échelles d'action de la salinité (communautaire, populationnelle et individuelle) le long d'un gradient salin afin de cerner l'impact de la salinisation sur les écosystèmes aquatiques européens.

Une approche communautaire nous permet de décrire les changements induits à l'échelle de la station et de l'habitat dans la composition, la structure et le fonctionnement des communautés de macroinvertébrés le long d'un gradient de salinité sur la Meurthe.

De manière à expliquer les changements observés à l'échelle communautaire, nous avons tenté de comprendre les mécanismes affectant les populations en utilisant une approche basée sur les tolérances physiologiques des invertébrés en générale et l'étude de mécanismes liés à l'écologie des populations de Trichoptères à filet.

Nous avons enfin étudié à l'échelle individuelle, les mécanismes sublétaux mis en jeux sur trois insectes aquatiques (*Hydropsyche contubernalis, Hydropsyche exocellata* et *Calopteryx splendens*) et deux amphipodes Gammaridae (*Gammarus tigrinus* et *Dikerogammarus villosus*). Pour cela, nous avons cherché à mettre en évidence des instabilités de développement par l'asymétrie fluctuante, l'ampleur des déviations par rapport à la symétrie naturelle mesurant ainsi directement l'aptitude de l'individu à faire face à son environnement.

Chapitre II : Présentation du site d'étude : La Meurthe

Ce chapitre présente le contexte local de la lorraine dont le sous-sol géologique riche en gisement salifère a permis la mise en place d'exploitations minières dont une part importante se situe sur le bassin de la Meurthe.

I. La rivière Meurthe

I.1. Présentation générale du bassin versant

La Meurthe, principal affluent de la Moselle, draine sur 164 Km un bassin versant d'une superficie de 3085 Km^2 composé de deux régions naturelles : le versant lorrain des Vosges à l'amont et le plateau lorrain vers l'aval **(Figure 6)**. Le tiers amont du bassin atteint des altitudes de plus de 1000 m avec des précipitations abondantes (>1000 mm par an en moyenne) qui assurent au réseau hydrographique de bonnes conditions d'alimentation en eau. Cette altitude décroît rapidement jusqu'à atteindre la limite du versant vosgien à Raon l'Etape. Le reste du bassin versant (environ deux tiers) reste à moins de 500 m d'altitude et reçoit une quantité de précipitations moins importante qui n'excède pas 1000 $mm.an^{-1}$. Dans cette partie, la Meurthe reçoit de nombreux petits affluents qui drainent le massif vosgien. Dans son tiers aval, la rivière reçoit ainsi les eaux de ses trois principaux affluents, deux situés en rive droite (la Vezouze et le Sanon) et la Mortagne en rive gauche qui délimite le bassin de la Meurthe et celui de la Moselle.

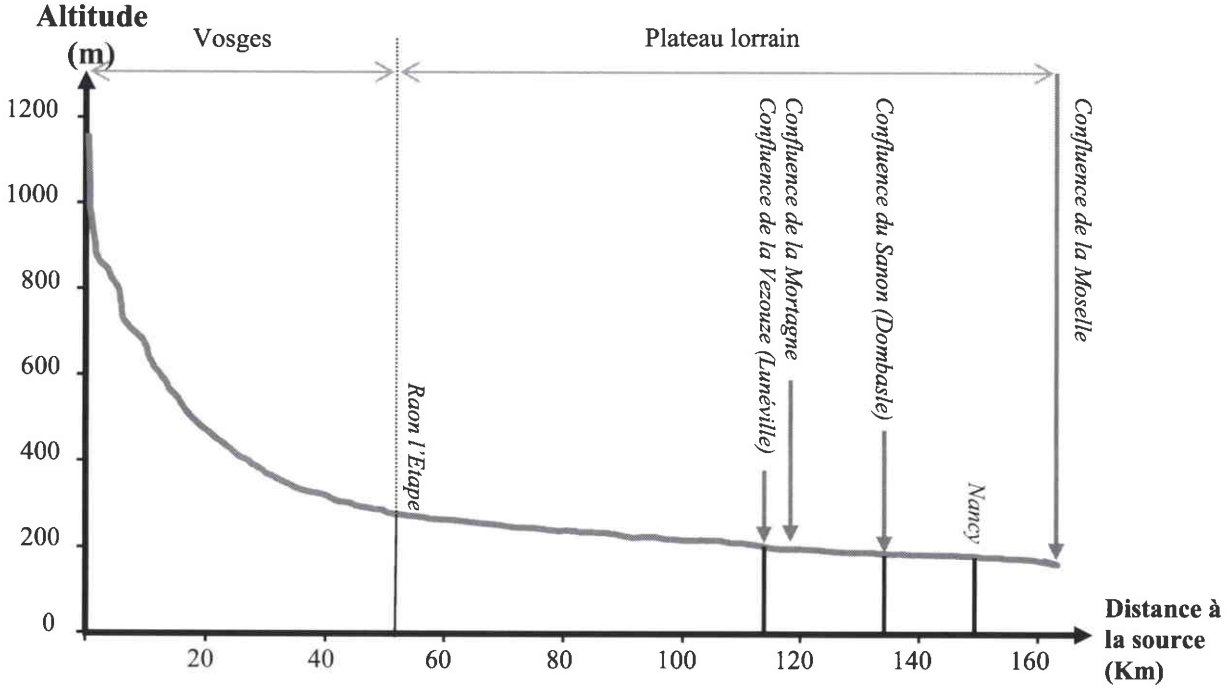


Figure 6. Profil en long de la Meurthe reprenant les principales caractéristiques typologiques.

I.2. Spécificités géologiques

Le bassin de la Meurthe peut être divisé en quatre zones géologiques distinctes **(Figure 7)**. Le premier tiers, à l'amont, correspondant au versant lorrain des Vosges est constitué principalement de roches gréseuses du Permien et du Trias, peut solubles qui n'affectent que peu la chimie de l'eau. La seconde partie dans la région d'Azerailles est constituée de roches sédimentaires du Muschelkalk. Celles-ci sont principalement représentées par du calcaire, fortement soluble, du Muschelkalk moyen et supérieur. La troisième partie est essentielle à notre étude puisqu'elle représente des affleurements de Marnes et d'argiles entrecoupés de niveaux dolomitiques du Keuper et de la Lettenkohle. Ces assemblages géologiques particuliers sont le résultat de l'évaporation intense de l'eau de mer, piégée dans un fossé d'effondrement qui entraîne la formation d'évaporite, dont la dolomie par cristallisation des sels après évaporation de l'eau. De tels dépôts sont protégés de la dissolution par des roches formées de sable ou de boue qui se déposent au sommet des couches solubles de sel en formant les couches de Marnes et d'argiles. Ces gisements font partis des plus importants au monde et se chiffrent en milliards de tonnes. Ils forment une large bande qui va de la région de Sarralbe jusqu'à Nancy à une soixantaine de mètres de profondeur. L'affleurement salifère laisse ensuite place aux Grès et calcaire Rhétien après Dombasle.

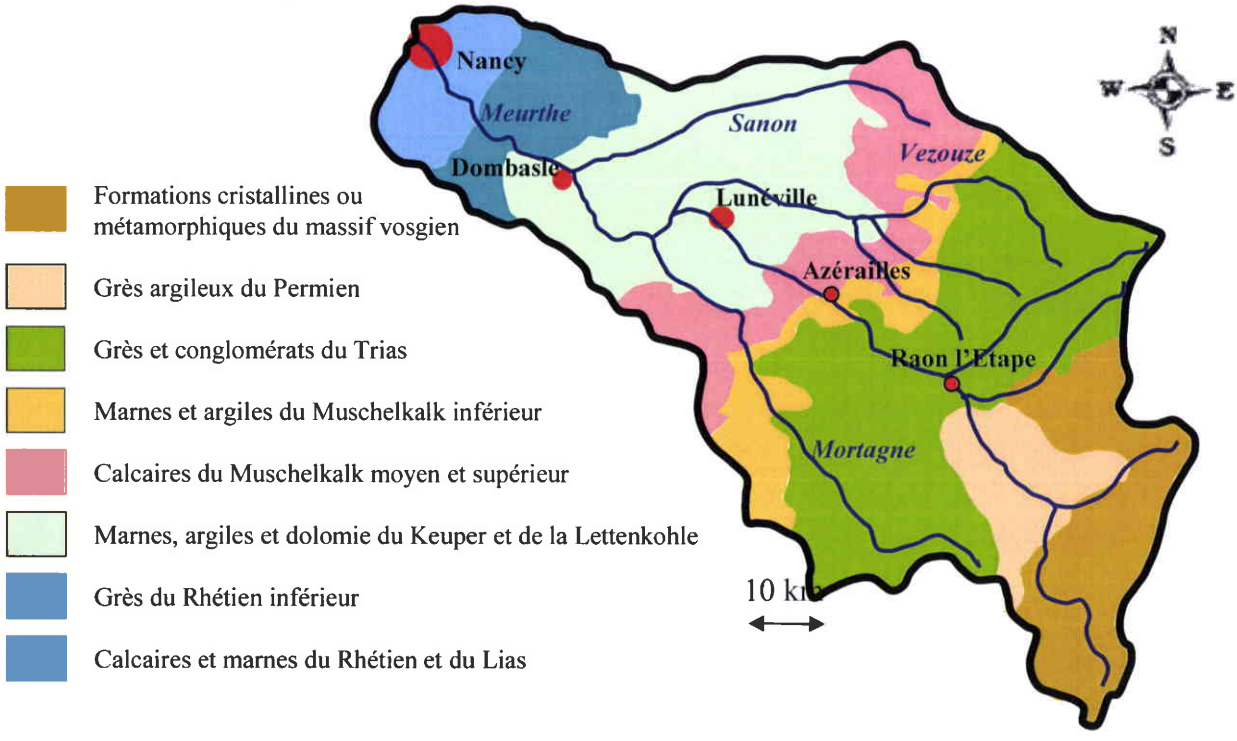


Figure 7. Représentation schématique des affleurements géologiques du bassin de la Meurthe (d'après Arts et Sary, 2000)

II L'origine de la salinité de la Meurthe

Bien qu'une part non négligeable de la salinité soit d'origine naturelle du fait de la géologie particulière de la région (I.2.), la grande majorité de la salinité mesurée dans le tiers aval de la rivière est due aux rejets salins des industries lorraines liées au sel.

II.1. Historique industriel

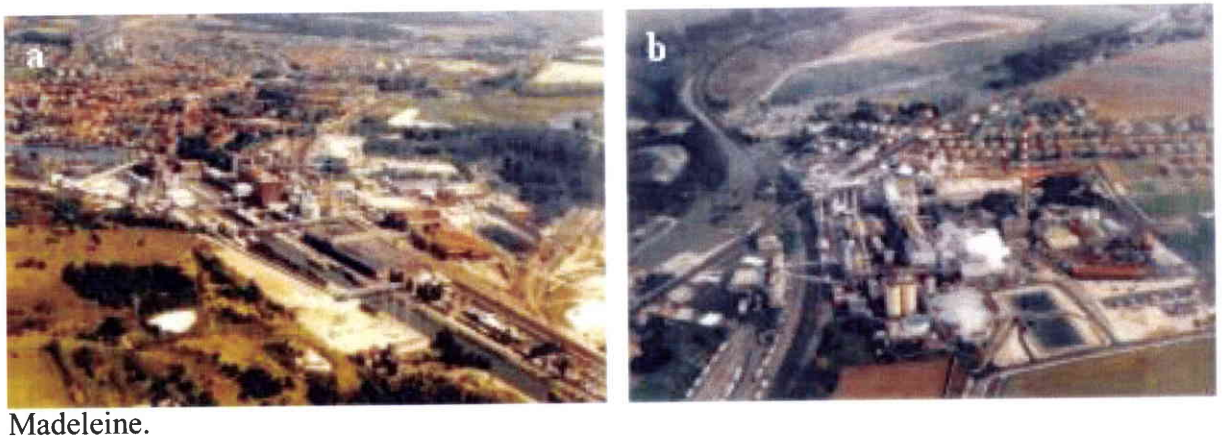
L'histoire de la lorraine est en grande partie associée au sel et la dimension historique de son exploitation apparaît essentielle dans le cadre de nos travaux. L'exploitation industrielle du sel en lorraine remonte à 1120 avant JC, comme en témoigne le briquetage de la vallée de la Seille, vestige de la seule exploitation industrielle reconnue de toute l'Europe. La technique consiste à laisser s'évaporer de l'eau salée dans des moules en terre cuite afin de récupérer des briques de sel.

Au Moyen Age, les premières exploitations véritablement industrielles débutent avec le commerce du sel notamment pour le paiement de la dîme. C'est véritablement à cette époque que les salines se sont installées dans la région de la Meurthe autour des sources salées les plus denses. L'exploitation des salines repose alors sur la technique « de graduation ». L'idée est d'économiser du bois par rapport aux méthodes traditionnelles d'évaporation par chauffage direct de l'eau des sources. On concentre donc le sel contenu dans cette eau en la faisant passer sur des colonnes constituées de fagots de bois fins. Il reste alors à précipiter le sel en chauffant la saumure obtenue dans des grands poêles.

Ce n'est qu'au XIXème siècle que l'exploitation minière du sel se substitue aux salines traditionnelles après la découverte de sel gemme lors de forages à Rosières-aux-Salines en 1822. Mais c'est en 1861 que l'activité se développe grâce à la mise au point par E. Solvay du procédé de fabrication du carbonate de soude dit « à l'ammoniaque ». S'ouvre alors l'ère des soudières à l'ammoniac qui combinent du sel et du calcaire pour la fabrication du carbonate de soude ($2\ NaCl + CaCO_3 \rightarrow Na_2CO_3 + CaCl_2$). Cette fabrication génère un sous-produit, le chlorure de calcium ($CaCl_2$), qui n'est pas économiquement valorisable et qui constitue ce que l'on appelle les rejets salins.

II.2. Situation actuelle

Les soudières lorraines de Solvay (groupe Solvay) et Novacarb (groupe Rhodia filiale de Rhône-Poulenc) sont les deux unités de production implantées en France **(Figure 8)**. Elles sont toutes les deux situées dans le bassin de la Meurthe en amont de Nancy. Elles ont une production annuelle de soude évaluée à 600 000 t/an pour Novacarb et 700 000 t/an pour Solvay afin d'alimenter principalement les marchés des industries du verre et des détergents.



Madeleine.

Les quantités importantes de rejets salins ($CaCl_2$) produites par les deux soudières (environ 1 360 000 t/an) sont en partie rejetées dans la Meurthe en fonction des débits de la rivière **(Figure 9)**. En effet, l'arrêté préfectoral du 27.11.95 et la Convention Internationale de Bonn (1976) prescrivent aux soudières un flux maximal rejeté de 31 $Kg.s^{-1}$ en moyenne interannuelle et une concentration ajoutée maximale de 400 $mg.L^{-1}$ (mesurée à Hauconcourt dans la Moselle). En période d'étiage, la salinité naturelle et les rejets des tiers génèrent une concentration de 400 $mg.L^{-1}$ dans la Moselle, obligeant de ce fait les soudières à stopper leurs rejets en les conservant dans des bassins de décantation et de modulation. Ces bassins sont vidés de manière automatique en fonction du débit et de la salinité de la rivière.

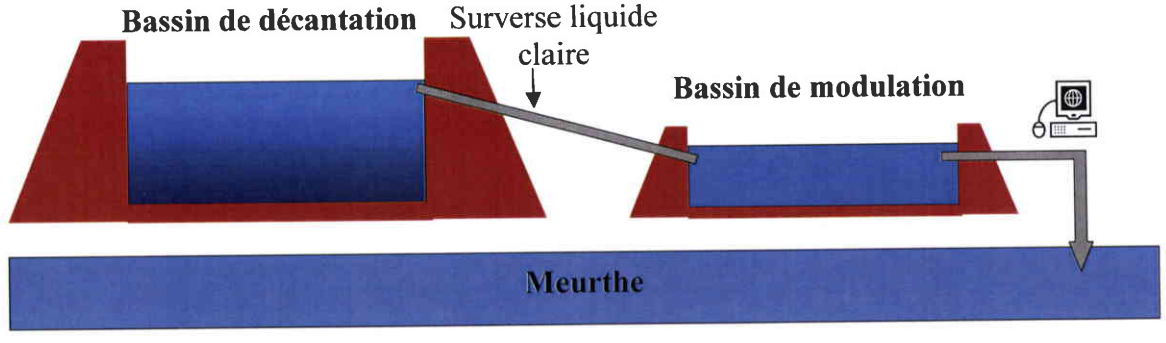


Figure 9. Schéma du dispositif de régulation des rejets salins par les soudières.

III Présentation des stations étudiées

Cette partie présente et analyse les caractéristiques physico-chimiques des différentes stations retenues pour l'ensemble des travaux *in situ* qui seront présentés dans ce document. Le lecteur désirant se reporter aux caractéristiques physico-chimiques des stations devra se référer à cette partie.

III.1. Etude de l'historique physico-chimique de la partie aval de la Meurthe

Afin de sélectionner notre zone d'étude dans la partie de son bassin où se situent les affleurements salifères **(Figure 7)**, nous avons réalisé une étude historique des principaux paramètres physico-chimiques de 1997 à 2001. Nous avons ainsi étudié l'évolution de ces paramètres sur quatre stations du Système d'Information sur l'Eau Rhin Meuse mis en place depuis 1992 le long de la Meurthe **(Figure 10)**.

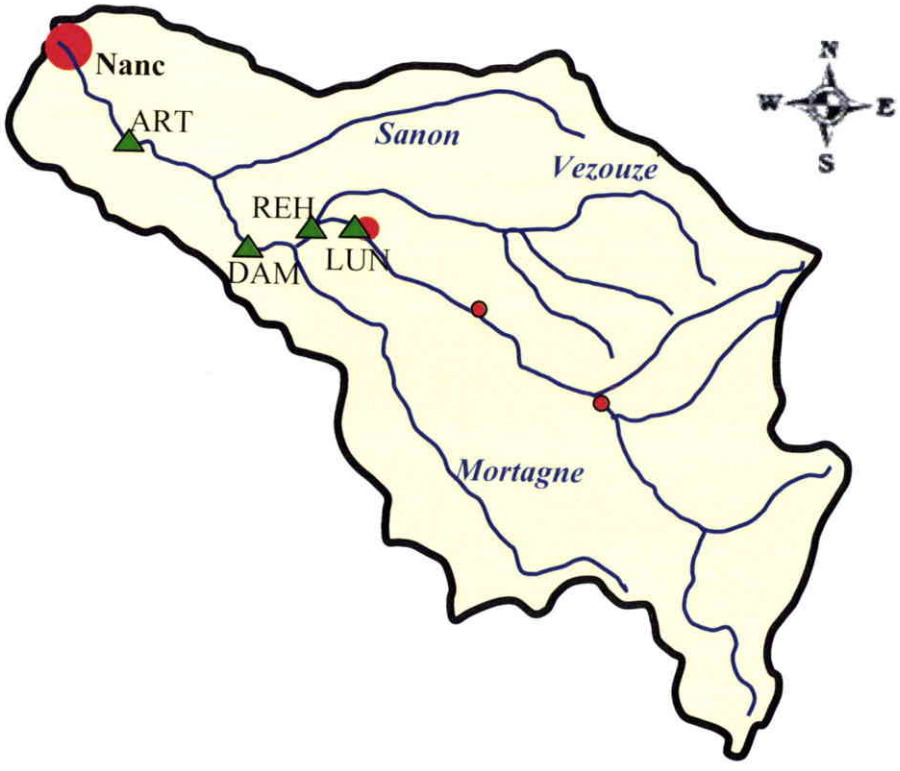


Figure 10. Localisation des stations prises en compte lors de l'étude de l'historique de la physico-chimie de la Meurthe (ART= Art-sur-Meurthe ; DAM = Damelevières ; REH = Rehainviller ; LUN = Lunéville).

Nous avons retenu quatre paramètres caractérisant la physico-chimie de la Meurthe **(Tableau I) :** la température de l'eau, l'oxygène dissous, le pH et la conductivité. Le suivi de ces paramètres physico-chimiques sur quatre ans montre que la conductivité est surtout modifiée entre les stations de Damelevières et de Art-sur-Meurthe où elle est multipliée par

un facteur 11. Les autres paramètres n'évoluent que très peu le long de ce parcours. Toutefois, la température est sensiblement plus importante à Art-sur-Meurthe (+1,8 °C) que sur la partie amont. Cette augmentation de température s'explique par la confluence avec le Sanon au niveau de Dombasle. En effet, la température moyenne de celui-ci est importante sur cette période (16,5 ± 1,7 °C) avec une faible variation saisonnière (écart-type de 1,7 °C) due à la traversée de la ville de Dombasle.

Nous avons donc décidé de situer nos stations d'étude sur le secteur situé entre Damelevières, en amont, et Art-sur-Meurthe, en aval (19 Km) du fait de la faible distance géographique .

Table I. Valeurs moyennes (n = 48) entre 1998 et 2001 des quatre paramètres physico-chimiques mesurés sur les quatre sites pris en compte lors de l'étude de l'historique de la Meurthe (LUN = Lunéville ; REH = Rehainviller ; DAM = Damelevières ; ART= Art-sur-Meurthe).

		LUN	REH	DAM	ART
Point Kilométrique (PK)		**890**	**952**	**960**	**979**
T° eau	**°C**	**14,0 ± 7,0**	**10,6 ±6,2**	**12,2 ± 6,5**	**14,0 ± 7,3**
O_2	**% sat.**	**90,4 ± 10,4**	**88,8 ± 9,0**	**89,0 ± 8,3**	**93,6 ± 10,6**
pH	**U.S.I**	**7,7 ± 0,5**	**7,5 ± 0,7**	**7,6 ± 0,3**	**8,0 ± 0,4**
Conductivité	**$\mu S.cm^{-1}$**	**518 ± 114**	**244 ± 57**	**329 ± 111**	**3599 ± 1055**

III.2. Localisation des stations étudiées en 2002

Les stations d'étude ont été choisies à partir de leurs conductivités mesurées *in situ* en Octobre et Novembre 2001. Les caractéristiques physiques des sites (occupation des rives, faciès hydrologiques et morphologiques) sont également intervenues dans le choix de sept stations **(Figure 11)**, dont quelques illustrations sont données sur la **Figure 12**. Les deux premières stations se situent en amont de tous rejets industriels au niveau de Damelevières (DAM) et du barrage de Morteau (MOR). La station suivante, positionnée en amont de Rosières-aux-Salines (ROS1), présente une salinité légèrement supérieure due à la présence d'un point de rejet de saumure situé entre le barrage de Morteau et Rosières-aux-Salines. Une autre station a été placée en aval de Rosières-aux-Salines (ROS2) et une en amont de la confluence avec le Sanon à Dombasle (DOMB) afin de prendre en compte les faibles changements de conductivité dus à d'éventuelles infiltrations provenant des bassins de décantation du secteur. Une station a également été étudiée au niveau de St Nicolas de Port (STNIC) afin de prendre en compte l'augmentation de conductivité due au point de rejet de

saumure situé dans le Sanon juste en amont de la confluence avec la Meurthe. Enfin, le site aval est situé après le dernier point de rejet de saumure à Art-sur-Meurthe et reçoit l'ensemble des rejets salins du secteur étudié.

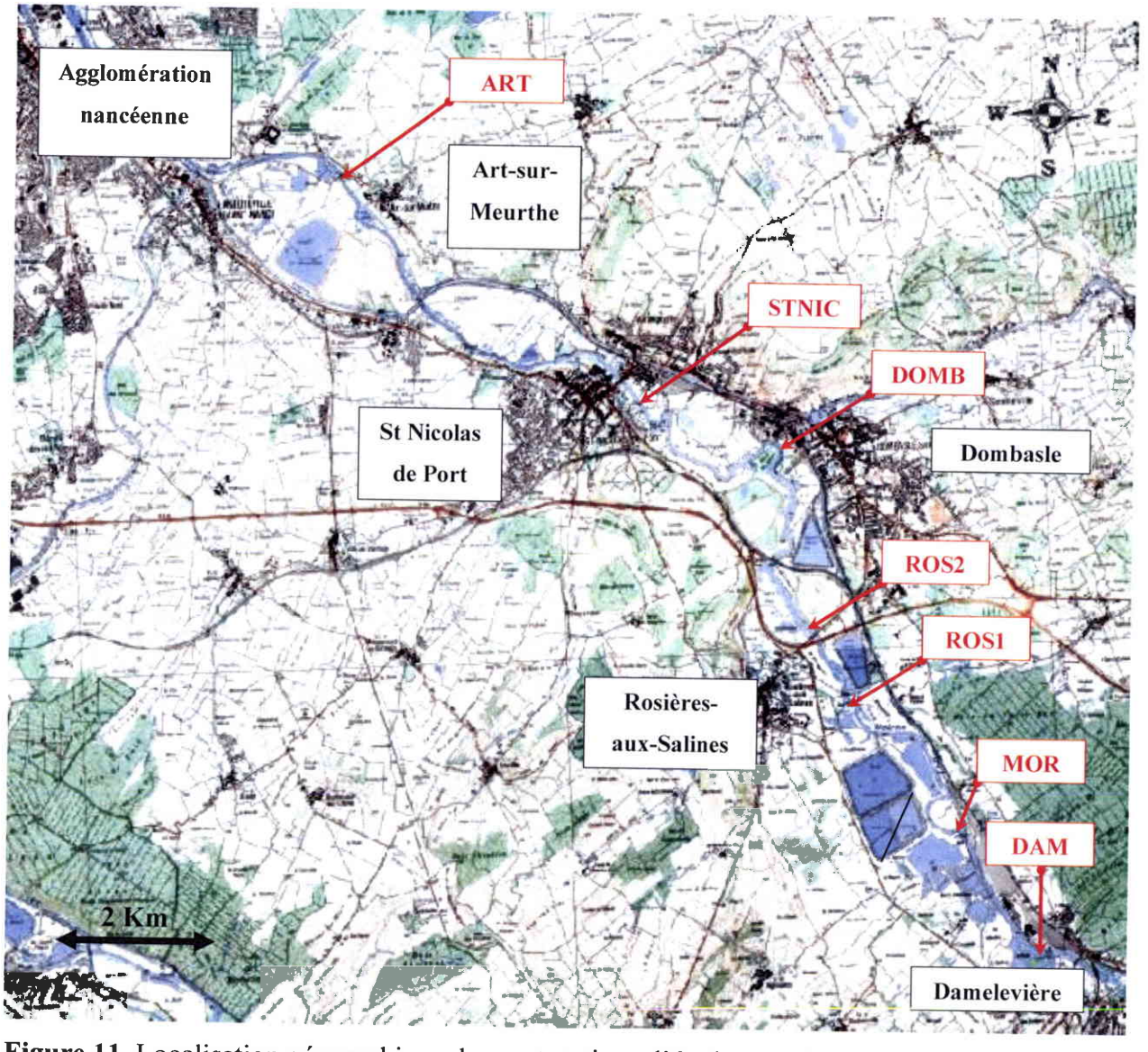


Figure 11. Localisation géographique des sept stations d'étude entre Damelevières et Art-sur-Meurthe.

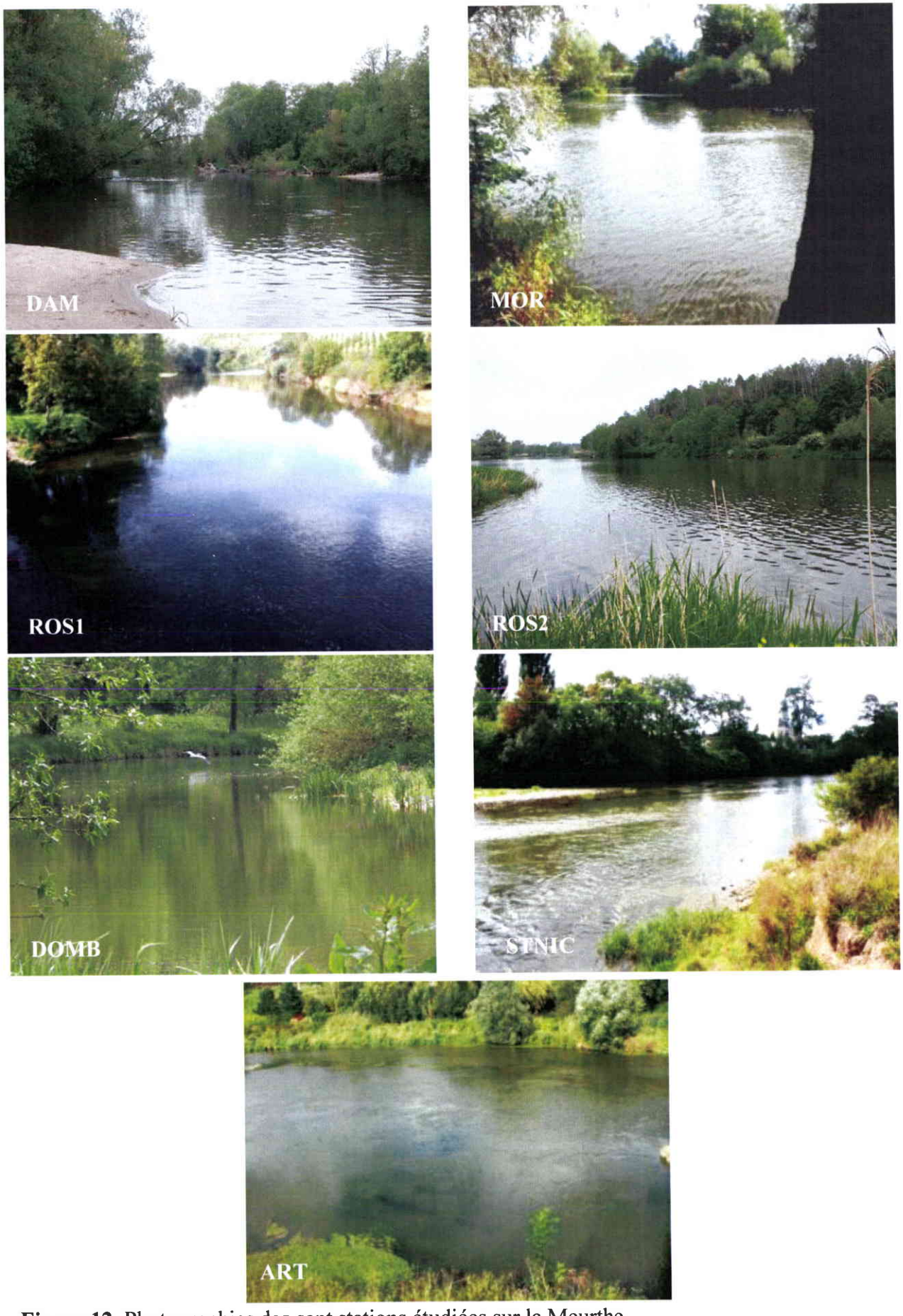


Figure 12. Photographies des sept stations étudiées sur la Meurthe.

III.3. Caractéristiques physico-chimiques des stations étudiées en 2002

Ce paragraphe présente et analyse les caractéristiques environnementales et chimiques des différentes stations au cours de l'année 2002. Les sept stations on fait l'objet d'un suivi physico-chimique mensuel durant l'année 2002 à l'exception des mois de février et novembre durant lesquels aucun prélèvement n'a pu être réalisé.

III.3.1. Les caractéristiques physiques

Les principales caractéristiques environnementales des sites sont résumées dans le **Tableau II**. Celles-ci représentent des valeurs relativement similaires tant sur le plan de leur morphologie que celui des conditions physiques synthétisées dans la typologie de Verneaux (1976). Cette ressemblance physique des stations est aussi observée selon les critères de la typologie d'Illies et Botosaneanu (1963) qui permet de classer les différentes stations entre le méta- et l'hyporhitron en tenant compte de la succession longitudinale des peuplements de macroinvertébrés le long d'un continuum fluvial.

Tableau II. Description des 7 sites sélectionnés. Les valeurs indiquées sont des valeurs moyennes pour chaque station.

Site	*PK (Km)*	*Altitude (m)*	*Largeur (m)*	*Pente (%)*	*Biocénotype théorique**	*Nature des berges*
DAM	960	215	66	0,15	7-8	Naturelles
MOR	962	212	52	0,15	7-8	Naturelles
ROS1	965	206	47	0,20	7-8	Enrochements rive droite
ROS2	966	205	94	0,10	7-8	Enrochements rive droite
DOMB	970	200	52	0,13	7-8	Rive droite bétonnée
STNIC	973	198	56	0,06	7-8	Naturelles
ART	979	195	65	0,05	7-8	Naturelles

*d'après Verneaux (1976)

III.3.2. Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau

III.3.2.1. Méthodes de mesure des paramètres physico-chimiques

Les échantillons d'eau sont prélevés dans deux bidons de 2L (1 bidon opaque et 1 translucide) en polyéthylène préalablement rincés avec l'eau du site. Le bidon opaque sert au dosage de la Chlorophylle *a* et des phéopigments et le second bidon est utilisé pour les autres

paramètres physico-chimiques. Parallèlement à ces prélèvements, des mesures de conductivité à 25°C, pH, température et oxygène dissous ($mg.L^{-1}$ et % saturation) sont réalisées sur le terrain à l'aide d'appareils portatifs (WTW model Cond 330i ; pH ion 340i et OXI1597-S). Les échantillons d'eau sont ensuite conservés au frais et à l'obscurité. Les dosages sont réalisés dans les 48 heures suivant l'échantillonnage. Les teneurs en chlorophylle *a* et les phéopigments sont obtenues par extraction à l'acétone sur un échantillon de 2 litres d'eau filtrée (Lorenzen, 1967), la teneur en matières en suspension (partie organique et minérale) obtenue par gravimétrie (AFNOR, 1996a), le titre alcalimétrique obtenu par titrimétrie (AFNOR, 1996b). Les concentrations en anions majeurs Cl^-, NO_3^- et SO_4^{-2} sont mesurées par dosage en chromatographie ionique à l'aide d'un chromatographe Dionex modèle 1500i équipé d'une colonne AS 4A SC (AFNOR, 1995a). Les quatre cations majeurs, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^+ et K^+ sont dosés par spectrophotométrie d'absorption atomique en flamme Perkin Elmer de type Aanalyst 100 (AFNOR, 1995b). Le volant ionique est complété par le dosage des NO_2^-, PO_4^{2-}, NH_4^+ par colorimétrie. Afin de contrôler la cohérence des analyses de chaque échantillon, une vérification de l'équilibre des balances ioniques (anions/cations) est réalisée à la fin des dosages.

Nous avons aussi utilisé la colorimétrie pour déterminer les concentrations en azote organique (Nkj) et la Demande Chimique en Oxygène (DCO). Enfin le titre alcalimétrique (Tac) est déterminé par la méthode de Gran.

Les valeurs de la salinité sont calculées directement à l'aide des valeurs de conductivité suivant une relation linéaire de type **Salinité = *k*.(conductivité)**. Les valeurs de *k* variant selon la gamme de conductivité étudiée, nous avons déterminé au laboratoire les deux valeurs de *k* en fonction des deux gammes de conductivité rencontrées sur la Meurthe (**Tableau III**). Parallèlement au dosage réalisé au laboratoire, les paramètres physico-chimiques concernant DAM, ART et le Sanon avant sa confluence avec la Meurthe ont été étudiés à partir des données du Système d'Information sur l'Eau Rhin Meuse (III.1).

Tableau III. Valeur de la constante *k* selon la gamme de conductivité de l'équation Salinité ($g.L^{-1}$) = *k*.(conductivité).

Conductivité (χ) µS.cm^{-1}	**k**
$\chi < 1000$	0,716
$1000 < \chi < 10\,000$	0,758

III.3.2.2. Caractéristiques physico-chimiques des 7 stations (Annexe I)

a) Caractérisation de la salinité et des principaux ions

L'évolution de la salinité moyenne des sites de janvier 2002 à décembre 2002 met clairement en évidence un gradient continu de salinité entre DAM et ART **(Figure 13)** et montre une augmentation très importante de la salinité qui passe de 0,2 $g.L^{-1}$ (DAM) à 2,60 $g.L^{-1}$ (ART). Les coefficients de variation de la salinité sont inférieurs ou égaux à 6,7 %, la salinité est donc très stable tout au long de l'année. Toutefois la salinité ne semble pas être fortement modifiée entre ROS1 et DOMB, les infiltrations d'eaux salées à partir des bassins de décantation pourront donc être considérées comme négligeables pour la suite de notre étude.

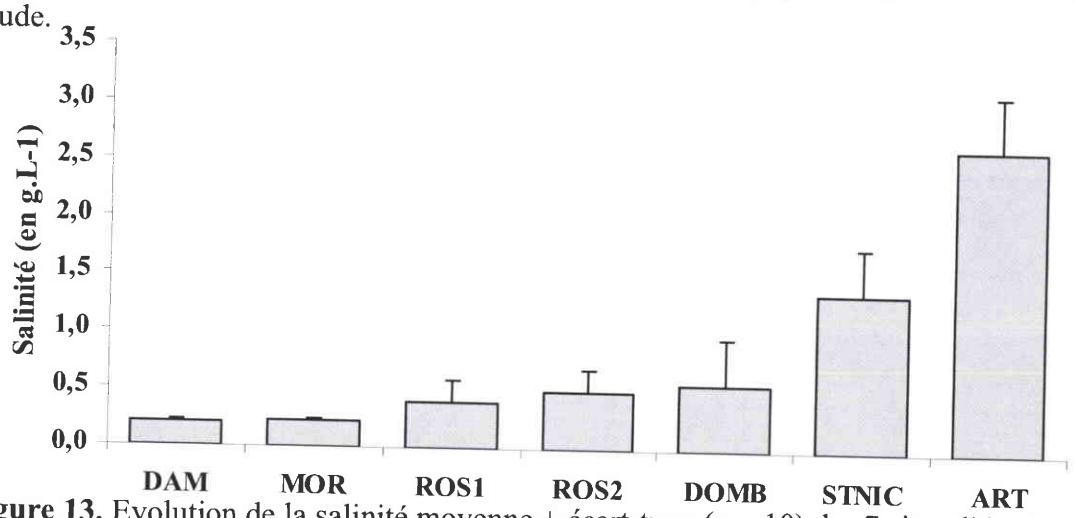


Figure 13. Evolution de la salinité moyenne ± écart-type (n = 10) des 7 sites d'étude suivis en 2002.

L'évolution de la concentration moyenne des ions majeurs constitutifs de la salinité **(Figure 14)** montre que les principaux ions sont impliqués dans l'augmentation de la salinité. La nature des ions constitutifs de la salinité ne varie que peu le long du gradient à l'exception des ions magnésium (Mg^{2+}) pour lequel on observe un faible augementation le long du gradient salin et leurs faibles concentrations ne semblent pas suffire à perturber le type de salinité.

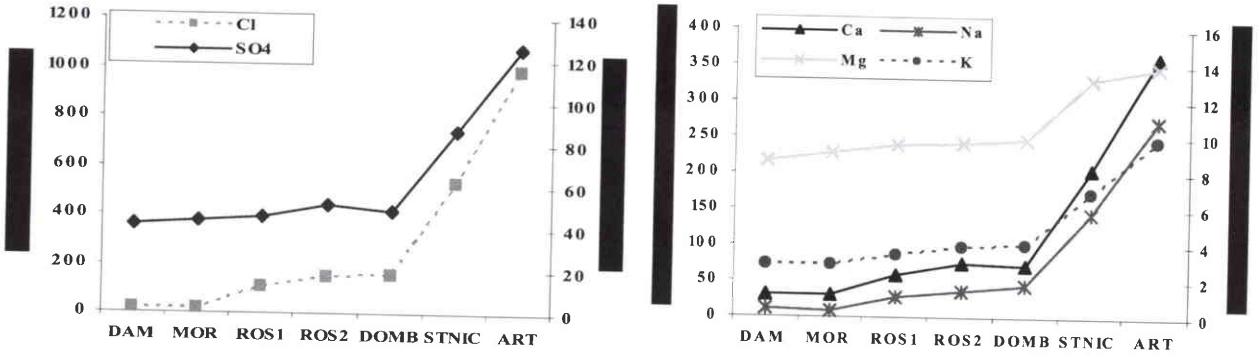


Figure 14. Evolution de la concentration moyenne en anions et cations majeurs sur les 7 sites d'étude en 2002.

b) Evolution des autres paramètres physico-chimiques

L'évolution spatiale des paramètres physico-chimiques montre, à l'exception de l'oxygène dissous, de légères variations **(Tableau IV)**.

Tableau IV. Moyennes ± écart-types des paramètres physico-chimiques autres que la salinité mesurées sur les 7 sites en 2002.

	DAM	*MOR*	*ROS1*	*ROS2*	*DOMB*	*STNIC*	*ART*
T° (°C)	13,5 ± 6,8	13,6 ± 6,9	13,8 ± 7,0	13,9 ± 7,0	13,5 ± 6,8	15,1 ± 7,2	15,1 ± 7,2
pH	7,7 ± 0,4	7,7 ± 0,4	7,8 ± 0,4	7,8 ± 0,4	7,8 ± 0,4	8,1 ± 0,4	8,1 ± 0,4
O2 ($mg.L^{-1}$)	8,5 ± 1,4	8,4 ± 1,7	8,3 ± 1,9	8,3 ± 1,8	8,5 ± 1,8	8,3 ± 2,2	8,5 ± 2,2
Chl.a ($mg.L^{-1}$)	3,6 ± 3,9	4,4 ± 4,1	5,7 ± 5,3	6,3 ± 5,7	5,8 ± 5,5	5,3 ± 4,0	7,5 ± 6,5
Mest ($mg.L^{-1}$)	12,5 ± 6,8	11,2 ± 4,2	14,5 ± 8,4	14,4 ± 7,0	13,3 ± 7,1	16,1 ± 7,7	14,4 ± 4,9
NH4 ($mg.L^{-1}$)	0,11 ± 0,04	0,12 ± 0,05	0,11 ± 0,06	0,18 ± 0,21	0,13 ± 0,06	0,23 ± 0,10	0,32 ± 0,11
NO_2^- ($mg.L^{-1}$)	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02
NO_3^- ($mg.L^{-1}$)	4,1 ± 2,8	4,5 ± 2,8	4,4 ± 2,6	4,2 ± 2,6	4,2 ± 2,5	8,9 ± 10,6	14,6 ± 27,8
N_{kj} ($mg.L^{-1}$)	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,2	1,0 ± 0,9	0,7 ± 0,3	0,9 ± 0,4	0,9 ± 0,3
PO_4^{2-} ($mg.L^{-1}$)	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,02
P_{tot} ($mg.L^{-1}$)	0,13 ± 0,04	0,15 ± 0,05	0,13 ± 0,07	0,15 ± 0,05	0,16 ± 0,06	0,16 ± 0,05	0,15 ± 0,05
DCO ($mg.L^{-1}$)	15,1 ± 3,3	16,1 ± 2,9	17,2 ± 3,8	16,6 ± 3,4	16,9 ± 3,2	16,9 ± 2,3	17,9 ± 4,6

Afin d'illustrer l'amplitude de ces changements, les données observées sont présentées selon la grille d'évaluation du SEQ-eau pour les potentialités biologiques (Agences de l'eau, 2000).

Tableau V. Classes de qualité compte tenu de la valeur la plus déclassante obtenue sur chaque site pour les différents paramètres.

	DAM	*MOR*	*ROS1*	*ROS2*	*DOMB*	*STNIC*	*ART*
pH							
O2 ($mg.L^{-1}$)							
Chl.a ($mg.L^{-1}$)							
Mest ($mg.L^{-1}$)							
NH4 ($mg.L^{-1}$)							
NO_2^- ($mg.L^{-1}$)							
N_{kj} ($mg.L^{-1}$)							
PO_4^{2-} ($mg.L^{-1}$)							
P_{tot} ($mg.L^{-1}$)							
DCO **($mg.L^{-1}$)**							

Le **tableau V** répertorie ainsi les codes couleur pour les différents paramètres des stations échantillonnées en leurs attribuant, compte tenu de la valeur mesurée la plus déclassante, une classe de qualité selon la grille préconisée par le SEQ-eau. Pour la température, les classes de qualité ne sont pas définies.

Les observations montrent de bonnes potentialités biologiques sur l'ensemble du secteur à l'exception du phosphore total qui présente un niveau plus élevé traduisant une légère eutrophisation, toutefois son niveau est stable sur une grande partie du secteur étudié et ne devrait pas influencer nos comparaisons inter-sites.

Au vue des quelques différences observées pour plusieurs paramètres physico-chimiques, les différences entre stations ont été représentées par l'intermédiaire d'une analyse multivariée de type Analyse en Composantes Principales (ACP) dont les résultats sont présentés sur la **Figure 15** (le principe général de cette analyse est présenté dans le Chapitre III.II.1.). Afin de ne pas donner plus de poids à la salinité qu'elle n'en a réellement, nous n'avons conservé pour cette analyse que les paramètres ne présentant pas de relations directes avec elle. Les paramètres fortement corrélés (Cl^-, SO_4^{2-}, Ca^{2+}, Na^+, Mg^{2+} K^+, NH_4^+, NO_2^-, NO_3^- et N_{kj}) n'ont donc pas été pris en compte dans cette analyse. La matrice ainsi analysée est un tableau de 9 colonnes correspondant aux paramètres physico-chimiques pris en compte, et 70 lignes représentant les 10 dates de prélèvement sur les 7 sites.

L'essentiel de l'information fournie est restituée sur les deux premiers axes factoriels avec respectivement 48,7 et 18,3 % de l'inertie totale **(Figure 15a)**. L'axe F1 est très bien corrélé à la température et à l'oxygène dissous et traduit de se fait les variations saisonnières des paramètres. Les dates d'échantillonnage s'alignent sur l'axe F1 selon un ordre logique lié probablement au régime hydrologique et à la température **(Figure 15b).** Les 7 stations sont clairement disposées le long de l'axe F2 **(Figure 15c)** selon un gradient amont/aval qui caractérise le gradient de salinité de la Meurthe **(Figure 15a)**. Ainsi, les stations DAM et MOR ne se distinguent pas le long de l'axe F2 du fait de leurs salinités identiques.

Notons que le pH est fortement corrélé à la salinité sur l'axe F2, cependant les variations de pH sont faibles (+ 0.4 unité de pH) et n'entraînent pas de changements de classe de qualité selon la grille du SEQ-eau **(Tableau IV et V)**.

Nous pouvons déduire de ces analyses que bien qu'il existe de faibles changements entre nos stations pour plusieurs paramètres, aussi bien l'analyse du SEQ-eau que l'ACP montrent que la salinité semble être le principal facteur discriminant nos stations.

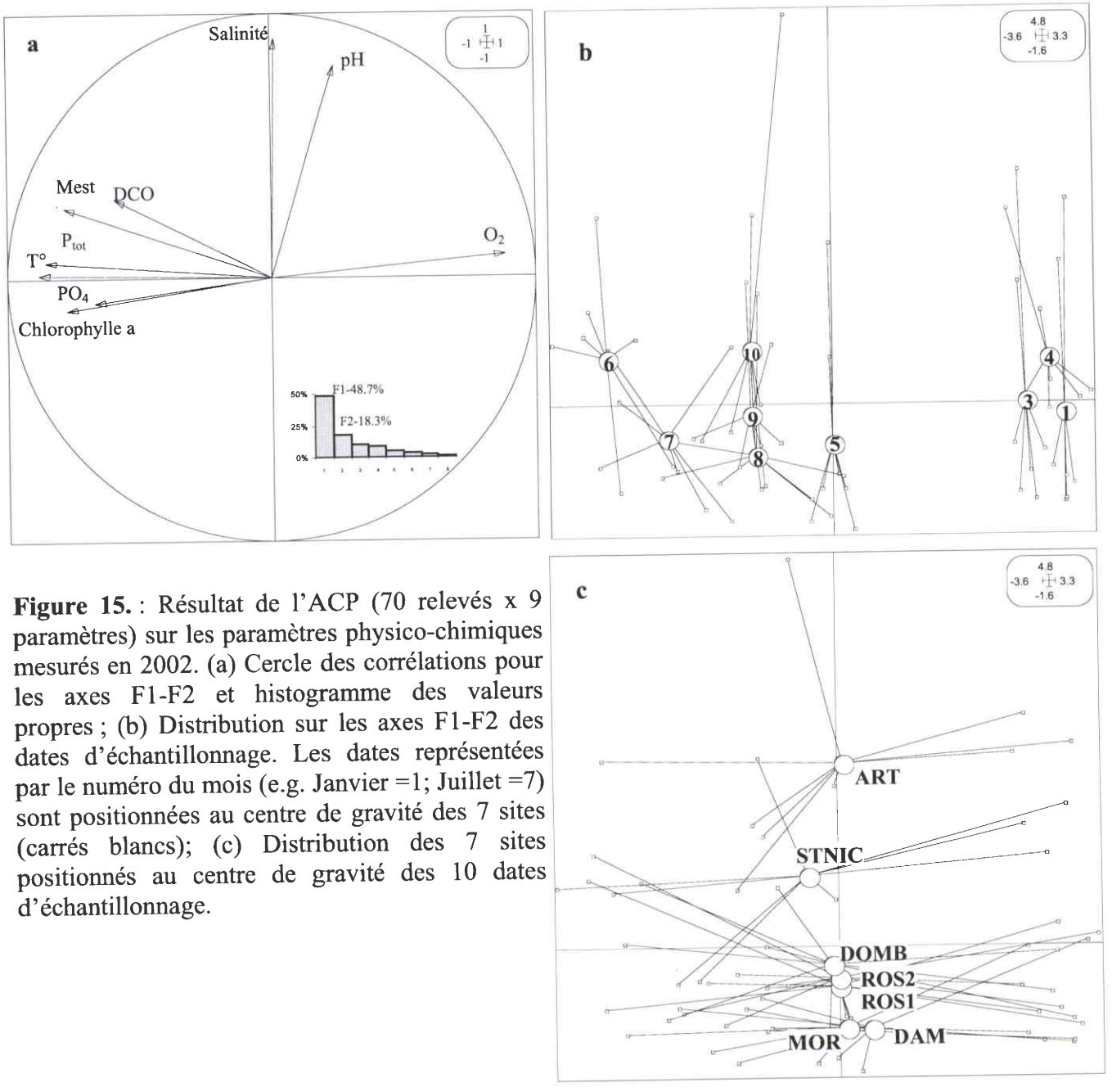


Figure 15. : Résultat de l'ACP (70 relevés x 9 paramètres) sur les paramètres physico-chimiques mesurés en 2002. (a) Cercle des corrélations pour les axes F1-F2 et histogramme des valeurs propres ; (b) Distribution sur les axes F1-F2 des dates d'échantillonnage. Les dates représentées par le numéro du mois (e.g. Janvier =1; Juillet =7) sont positionnées au centre de gravité des 7 sites (carrés blancs); (c) Distribution des 7 sites positionnés au centre de gravité des 10 dates d'échantillonnage.

Les résultats concernant les paramètres physico-chimiques de l'ensemble des stations étudiées ont permis de sélectionner les stations les mieux adaptées aux différentes études envisagées. Seul l'étude spécifique des substrats artificiels a été effectuée sur l'ensemble des 7 stations (Chapitre III, §II.3.2). L'étude de la biodiversité des communautés de macroinvertébrés (Chapitre III) et des Trichoptères à filet (Chapitre IV, I) ont été réalisée sur quatre stations (DAM, ROS2, STNIC et ART) parmiu les sept, représentatives du gradient de salinité. Enfin l'étude du niveau d'asymétrie fluctuante des macroinvertébrés a été réalisée sur trois stations (DAM, STNIC et ART) parmi les sept maximalisant les différences inter-sites le long du gradient de salinité.

Chapitre III : Evolution des peuplements de macroinvertébrés le long du gradient de salinité

Les investigations à l'échelle d'intégration la plus vaste concerne les communautés de macroinvertébrés entre les différentes stations d'études présentées au chapitre II.

I Matériel et méthodes

I.1. Plan d'échantillonnage

La présence et les densités de macroinvertébrés sur les différents sites sont fortement dépendantes de leurs cycles biologiques. Afin de prendre en compte cette variabilité saisonnière, nous avons réalisé un échantillonnage mensuel de janvier à Octobre 2002 à l'exception du mois de février du fait de niveaux d'eau trop élevés pour respecter le même protocole d'échantillonnage que pour les autres campagnes.

L'échantillonnage des macroinvertébrés s'est articulé autour de deux protocoles différents. Quatre sites répartis le long du gradient salin à DAM, ROS2, STNIC et ART (cf. Chapitre II partie III.2.2) ont été échantillonnés de manière quantitative à l'aide de filets Surber normalisés (AFNOR, 1992) alors que l'ensemble des sept stations sélectionnées l'a été avec des substrats artificiels.

I.2. Echantillonnage des macroinvertébrés au filet Surber

Sur les stations de DAM, ROS2, STNIC et ART, les macroinvertébrés ont été échantillonnés à l'aide d'un filet Surber de vide de maille de 500µm **(Figure 15a)**. 9 prélèvements d'une surface unitaire de $1/20^{ième}$ de m^2 ont été réalisés par date et par site. Notons que durant les mois de mai à octobre, un prélèvement supplémentaire de macrophytes a été réalisé sur chaque site.

Le choix des 9 prélèvements ne s'est pas fait au hasard mais suivant un plan d'échantillonnage orienté. En effet la répartition des macroinvertébrés est fortement influencée par la nature du substrat et les vitesses d'écoulement de la colonne d'eau (Cummins, 1962 ; Rabeni, et Minshall 1977 ; Palmer *et al.*, 1997) qui entraînent une répartition des invertébrés sous forme de mosaïques (Pringle *et al.*, 1988 ; Townsend, 1989 ; Death, 1995 ; Death et Winterbourn, 1995 ; Beisel *et al.*, 1998a ; 1998b ; Lake, 2000). Il est donc recommandé de tenir compte de ces phénomènes lors d'un l'échantillonnage ce qui conduit au plan décrit ci-après.

- Pour les substrats d'érosion :

Le substrat dominant sur nos stations étant le galet (∅ 16 à 64 mm) avec un pourcentage de recouvrement supérieur à 40 % de la station, trois prélèvements de galets ont été réalisés dans les trois principales gammes de courant des sites. Un substrat de type pierre ou bloc (∅ 128 à 512 mm) et un substrat de type gravier (∅ 2 à 16 mm) complètent les investigations des substrats d'érosion.

- Pour les substrats de sédimentation :

Un substrat de type sable (∅ 0,5 à 2 mm) et deux substrats de type litière afin de tenir compte de leur forte variabilité (état de décomposition, litière de type branche ou feuille d'aulnes et de saules).

- Pour les substrats organiques :

Un substrat de type racine de saule et un substrat de type macrophytes (renoncules, myriophylles) quand ceux-ci étaient présents (de mai à octobre).

Pour les substrats de types galet, sable, gravier et litière, l'échantillonnage consiste à récupérer l'ensemble du benthos (particules organiques et minérales) sur une profondeur d'environ 5 à 8 cm. Pour les substrats de type bloc, ceux-ci sont sortis de l'eau et brossés à l'intérieur d'une glacière afin de récupérer l'ensemble de la faune et de la matière organique s'y trouvant. Pour les substrats racines et macrophytes, nous avons prélevé seulement la partie organique à l'aide d'un sécateur. Une fois le prélèvement effectué, la totalité des prélèvements est conservée dans du formaldéhyde à 4 % sur site avant le retour au laboratoire.

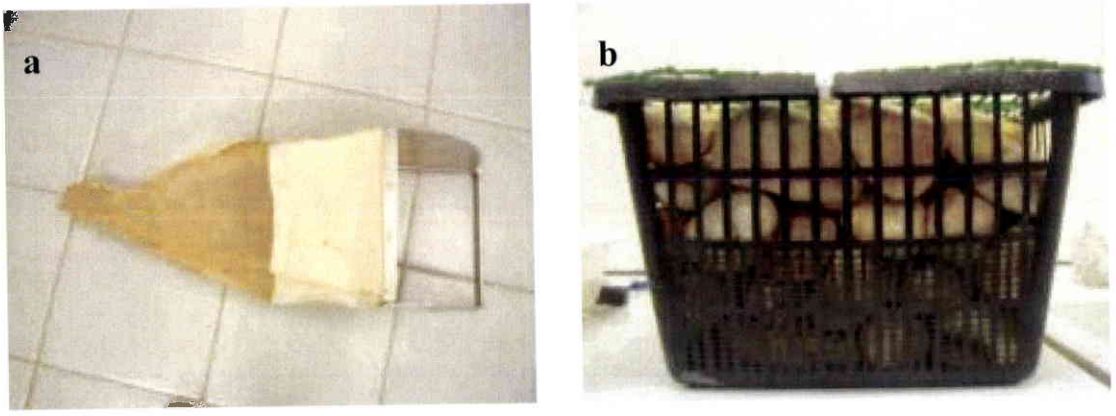


Figure 15. Photographies des outils d'échantillonnage utilisés sur la Meurthe. (a) Filet de type Surber (surface unitaire de 0,05 m²) et (b) panier servant de substrat artificiel (Volume de 6L).

I.3. Echantillonnage des macroinvertébrés avec des substrats artificiels

Sur les 7 stations, les macroinvertébrés ont été échantillonnés à l'aide de substrats artificiels **(Figure 15b)**. Quatre substrats constitués de paniers plastiques d'environ 6L et remplis de galets calibrés d'un diamètre compris entre 40 et 80 mm ont été placés sur chaque site et à chaque date. Les substrats sont placés à une profondeur comprise entre 80 cm et 2 m à moins de 4 m de la rive à laquelle ils sont accrochés à l'aide d'un fil de fer galvanisé.

Après un mois d'immersion, les quatre substrats sont relevés, démontés et nettoyés avec une brosse. Le contenu de deux de ces substrats est trié, les autres permettant d'assurer la récupération de deux substrats malgré d'éventuelles pertes ou destructions. Après la récupération du contenu des substrats, un nouveau jeu de paniers contenant des galets n'ayant pas séjournés dans de l'eau est replacé sur le site afin d'être récupéré le mois suivant.

I.4. Technique de tri et de détermination

Au laboratoire, la totalité des macroinvertébrés est récupérée sous loupe binoculaire. A l'exception de quelque rares cas de racines ou de substrats artificiels présentant des proliférations d'Oligochètes ou de Diptères et pour lesquels les taxons proliférants ont été sous échantillonnés après avoir récupéré l'ensemble des autres invertébrés, le reste du prélèvement n'a pas fait l'objet d'un sous échantillonnage. A la suite du tri, les macroinvertébrés sont stockés dans de l'alcool à 70 % avant d'être identifiés.

Les macroinvertébrés ont été déterminés au genre ou à l'espèce. Toutefois les Oligochètes n'ont pas été déterminés et ont été considérés comme une seule entité taxonomique et certains Diptères ont été déterminés uniquement au niveau de la tribu, de la sous-famille ou de la famille suivant les cas. Différentes clés, générales ou spécialisées, ont été utilisées pour la détermination : Gledhil *et al.* (1993) ; Gloër et Meier-Brook (1994); Nilsson (1997); Tachet *et al.* (2000) et Waringer et Graf (1997).

I.5. Méthodes d'analyse des résultats

I.5.1. Méthodes biocénotiques

Le terme « biocénotique » regroupe les méthodes qui mesurent la structure taxonomique d'un peuplement sans prendre en compte la nature de ses taxons. Au cours de

cette étude, nous avons principalement utilisé les indices de structure suivant (cf. Magurran, 1988):

- La richesse taxonomique S = nombre de taxons différents
- L'abondance totale $Q = \sum q_i$ (q_i est égal à l'effectif du taxon i)
- La diversité de Shannon $H' = -\sum_i \left(\frac{qi}{Q}\right) \times Log_2\left(\frac{qi}{Q}\right)$
- L'indice de dominance de Simpson $D = \frac{\sum_{i=1}^{s} qi(qi-1)}{Q(Q-1)}$
- L'indice d'équitabilité de Hurlbert $E_{Hurlbert} = \frac{H'-H'min}{H'max - H'min}$

I.5.2. Analyses multivariées

Les analyses multivariées sont des méthodes descriptives dont un objectif est de présenter sous forme graphique le maximum d'information contenu dans un tableau de données. Le choix des méthodes employées dépend principalement des objectifs fixés et de la nature des données à analyser. Cette approche multivariée se justifie par ses deux principaux avantages. En effet ces analyses ont un pouvoir illustratif et de synthèse très important et permettent le traitement de données liées par un facteur temporel. Ce facteur est de toute première importance vis-à-vis des cycles biologiques des macroinvertébrés. Sur un plan pratique, toutes les analyses multivariées utilisées dans cette étude ont été réalisées à l'aide du logiciel ADE4 (Thioulouse *et al.*, 1997).

- L'analyse en composantes principales (ACP) :

L'ACP est une technique mathématique permettant de réduire un système complexe de corrélations en un plus petit nombre de dimensions. Ainsi, le but de cette analyse est de condenser les données originelles en de nouveaux groupements non corrélés entre eux qui sont ordonnés en terme de pourcentage de variance apportée par chaque composante. Dans notre étude, nous utilisons l'ACP afin de traiter les données physico-chimiques de nos stations (Chapitre II partie III.3.).

- L'analyse factorielle des correspondances (AFC) :

L'AFC est la méthode la plus adaptée lorsque les intersections d'une ligne et d'une colonne correspondent à une fréquence. C'est une méthode basée sur la métrique du χ^2 qui

décrit d'une façon globale la correspondance entre deux ensembles de caractères que sont les lignes et les colonnes du tableau analysé (Dervin, 1988).

- Les méthodes de classification hiérarchique

La Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) utilise des mesures de dissemblance ou de distance entre les objets pour former des classes. Ces distances peuvent être basées sur une ou plusieurs dimensions. Les CAH que nous avons utilisées sont basées sur la méthode de Ward appliquée aux distances euclidiennes, c'est-à-dire une agrégation par le moment d'ordre deux. A chaque pas de l'algorithme, on fusionne les deux classes qui provoquent la plus faible augmentation du moment inter-classes (Ward, 1963).

I.6. Utilisation des traits biologiques et écologiques des macroinvertébrés

Nous avons voulu étudier les changements provoqués par la salinité dans l'organisation fonctionnelle des communautés. Pour cela, nous avons décidé de baser notre travail sur l'évolution des caractéristiques biologiques et écologiques des macroinvertébrés présents le long du gradient de salinité.

D'un point de vue historique, dans les années 1980, cette approche constitue une base de réflexion pour la mise au point de nombreux concepts écologiques. C'est le cas en particulier du « River Continuum Concept » (Vannote *et al.*, 1980) qui tente d'établir un cadre synthétique simple décrivant le fonctionnement des écosystèmes d'eaux courantes. Les cours d'eau sont alors considérés comme une mosaïque d'habitats offrant un gradient continu de conditions physiques, morphologiques et hydrauliques, qui devrait susciter une série de réponses aboutissant à un continuum d'ajustements biotiques et à des schémas uniformes de charge, de transport, d'utilisation et de stockage de la matière organique le long de la rivière chez les communautés colonisant ce système. Les auteurs avancent l'hypothèse que les caractéristiques structurales et fonctionnelles des communautés sont adaptées de façon à se conformer à la position moyenne la plus probable du système physique et supposent que les communautés d'invertébrés adoptent les stratégies les plus efficaces quant à l'utilisation des ressources. Southwood (1988) approfondit cette approche en déclarant que les mosaïques d'habitats fournissent le cadre dans lequel les traits d'histoire de vie sont forgés. En effet, le peuplement faunistique d'un écosystème perçoit la variabilité spatio-temporelle de l'environnement qui sélectionne les espèces présentant les traits biologiques et écologiques les plus adaptés aux différents habitats de la mosaïque benthique. Usseglio-Polatera (1991, 1994) montre comment restituer certaines caractéristiques du biotope à partir de l'assemblage faunistique. Il décrit et définit l'évolution de certaines variables environnementales du Rhône

à Lyon, sur la période 1959-1982 à partir des informations apportées par huit variables décrivant les caractéristiques bio/écologiques des assemblages autochtones de Trichoptères et d'Ephéméroptères. D'autres travaux ont été réalisés avec succès sur l'utilisation des traits de vie pour décrire le fonctionnement et la structure des communautés benthiques ainsi que leurs évolutions par Dolédec et Statzner (1994) et Statzner *et al.* (1994a,b). Cette approche basée sur les caractéristiques biologiques et écologiques des macroinvertébrés autorise des investigations sur plusieurs théories. Townsend *et al.* (1997) utilisent ainsi cette approche pour tester l'influence de l'hétérogénéité temporelle et spatiale des cours d'eau sur les combinaisons de traits biologiques rencontrées dans des conditions de résistance et de résilience de communautés benthiques. Statzner *et al.* (1997) étudient les relations entre les stratégies de reproduction des insectes aquatiques et les caractéristiques de l'habitat. Ils examinent les relations entre les traits de reproduction, leurs interactions et les relations entre les variables décrivant l'habitat utilisé et concluent au rôle déterminant de l'habitat dans la sélection des traits d'histoire de vie. Archaimbault (2003) montre que la réponse des profils de traits biologiques et écologiques aux perturbations de type rectification, barrage et les contaminations organique, acide et toxique, est spatio-temporellement robuste et peuvent donc être considérés comme de bons indicateurs de la qualité du milieu. Relier les traits bio-écologiques aux caractéristiques de l'habitat peut donc fournir des indications majeures sur la structure et le fonctionnement des communautés aquatiques et leur altération, et permettre de discriminer différents types et intensités de perturbation

Afin d'utiliser les traits biologiques et écologiques des macroinvertébrés, nous nous sommes basés sur la technique du codage flou développée par Chevenet *et al.* (1994) et Dolédec et Statzner (1994). Cette approche est basée sur une méthode de codage qui traite l'information biologique en réduisant une gamme de valeurs ou un ensemble de modalités en un nombre limité de classes avec des caractéristiques spécifiques. Le codage flou consiste à attribuer à chaque unité taxonomique de la communauté macrobenthique une note d'affinité comprise en 0 et 5 pour chacune des modalités définies. Une note d'affinité de 0 équivaut à une affinité nulle du taxon envers une modalité donnée, tandis qu'une note d'affinité de 5 équivaut à une affinité maximale du taxon pour cette modalité, toutefois, un taxon peut avoir une note de 5 pour plusieurs modalités si la forte affinité pour ces modalités le justifie. Les affinités d'un taxon pour les différentes modalités sont définies à partir de données issues de la bibliographie.

Cette technique permet de structurer l'information bio/écologique en générant pour chaque taxon de la communauté une série de profils bio/écologiques obtenus en calculant la distribution de fréquences relatives des sommes de notes d'affinité des taxons de la communauté stationnelle pour les modalités du trait correspondant **(Tableau VI)**. Chaque

note d'affinité peut être éventuellement pondérée par une expression de l'abondance dans le relevé du taxon présent correspondant (cf. Usseglio-Polatera *et al.* 2000a ; Tachet *et al.*, 2000).

Tableau VI. Exemple de calcul de profil bioécologique pour la variable « Taille maximale » correspondant à la somme des notes d'affinité des taxons pour une liste faunistique imaginaire constituée par 8 taxons (a, b, c, d, e, f, g et h).

Taille maximale (en mm)	*< 2,5*	*2,5 - 5,5*	*5 - 10*	*10 - 20*	*20 - 40*	*40 - 80*	*> 80*
a	0	0	0	3	3	0	0
b	0	0	0	0	3	3	0
c	0	0	0	2	2	0	0
d	0	0	0	0	3	1	0
e	0	0	1	3	1	0	0
f	0	0	0	3	0	0	0
g	0	0	0	0	3	0	0
h	0	0	2	3	0	0	0
Profil bioécologique	**0**	**0**	**3**	**14**	**15**	**4**	**0**

Pour les macroinvertébrés de France, nous avons obtenu le codage au niveau du genre publié dans Tachet *et al.* (2000). Toutefois, la variable « salinité » n'est définie que par deux modalités (« eaux douces » et « eaux saumâtre »). Nous avons donc recodé, pour les macroinvertébrés de la Meurthe, cette variable en trois modalités qui représentent les gammes des eaux douces (salinité ≤ 1 g.L^{-1}), les eaux oligohalines (salinité comprise entre 1 g.L^{-1} et 3 g.L^{-1}) et les eaux saumâtre (salinité ≥ 3 g.L^{-1}).

I.6.1. Utilisation des groupes fonctionnels

L'analyse de la variabilité des traits bio/écologiques dans les assemblages de macroinvertébrés est basée sur les deux typologies fonctionnelles des 472 genres de macroinvertébrés européens proposées par Usseglio-Polatera *et al.* (2000b, 2001). Des analyses multivariées ont permis de diviser les 472 genres en 8 groupes fonctionnels homogènes appelés par une lettre minuscule de a à h et 15 sous-groupes présentant des combinaisons de traits biologiques principalement en fonction de leurs tailles maximales, de leurs stratégies reproductrices (K à r), de leurs types et modes d'alimentation. En ce qui concerne les traits écologiques, la même méthodologie a été appliquée pour classer les macroinvertébrés en 7 groupes (A à G) et 13 sous-groupes adaptés à leurs habitats (du chenal vers les eaux temporaires) et du crénon aux zones potamiques et les hydrosystèmes hors fleuves (lacs, étangs, marais).

Ces groupes représentent les patrons de réponses adaptatives des macroinvertébrés aux contraintes biotiques et abiotiques de leur environnement. La diversité bio/écologique des communautés de macroinvertébrés peut être comparée en terme de richesse ou de fréquences

relatives des groupes ou sous-groupes le long du gradient de salinité. Pour cela l'appartenance taxonomique d'un taxon est remplacée par l'appartenance fonctionnelle qui lui est associée **(Annexe III)**.

I.6.2. Utilisation des profils bio/écologiques

Les traits biologiques sont structurés en 7 variables biologiques subdivisées en 34 modalités **(Tableau VII)** et une variable écologique correspondant à la « tolérance à la salinité » divisée en 3 modalités. Elles permettent de décrire le cycle de vie (« la durée du cycle de vie » et « le voltinisme ») ; les potentialités de résistance et de résilience comme « les formes de dispersion d'un taxon », mais aussi certaines des caractéristiques morphologiques, comme « la taille maximale », physiologiques ou comportementales d'un taxon (« mode de respiration », « mode d'alimentation », ou « mode de reproduction »).

Tableau VII. 8 Traits biologiques et modalités utilisées (Tachet et al. 2000, modifié).

Traits	*N°*	*Modalités*
Taille maximale	1	≤ 0,25 cm
	2	0,25 à 0,5 cm
	3	0, 5 à 1 cm
	4	1 à 2 cm
	5	2 à 4 cm
	6	> 4 cm
Durée du cycle de vie	7	< 1 an
	8	> 1 an
Nombre de génération par an	9	< 1
	10	= 1
	11	> 1
Mode de reproduction	12	ovoviviparité
	13	oeufs isolés, libres
	14	oeufs isolés, fixés
	15	pontes, fixées
	16	pontes, libres
	17	pontes, dans la végétation
	18	pontes terrestres
	19	reproduction asexuée
Mode de dispersion	20	aquatique, passive
	21	aquatique, active
	22	aérienne, passive
	23	aérienne, active
Mode de respiration	24	tégument
	25	branchie
	26	plastron
	27	spiracle
Mode d'alimentation	28	mangeur de dépôts
	29	broyeur
	30	racleur
	31	filtreur
	32	perceur
	33	Prédateur
	34	Parasite

II Résultats et discussion

Le rôle de la salinité a été étudié à trois échelles de perception (communautaire, populationnelle et individuelle). Ce chapitre présente la structure et la diversité des communautés de macroinvertébrés le long du gradient salin de la Meurthe.

Dans un premier temps, nous nous sommes attachés à décrire les communautés macrobenthiques d'un point de vue taxonomique. Ensuite, nous avons étudié les communautés d'un point de vue plus fonctionnel à l'aide de leurs caractéristiques bio/écologiques et les changements apparus dans leurs fréquences d'apparition le long du gradient salin. Puis, nos investigations se sont portées sur l'établissement d'outils diagnostiques basés sur les macroinvertébrés pour la mise en évidence du processus de salinisation.

II.1. Biodiversité des macroinvertébrés le long du gradient salin

Piscart C., Moreteau J.C. et Beisel J.N.

"Biodiversity and structure of macroinvertebrate communities along a small permanent salinity gradient (Meurthe River, France)"

Hydrobiologia, sous presse **(Annexe IV)**.

Résumé

La distribution des communautés de macroinvertébrés a été étudiée le long d'un gradient de salinité de la Meurthe. Sur une section de seulement 19 Km, la salinité moyenne varie de 0,21 $g.L^{-1}$ à 2,60 $g.L^{-1}$ du fait de rejets d'industries exploitant les gisements de sel gemme du sous-sol. Sur cette section, les macroinvertébrés ont été échantillonnés en 2002 sur quatre sites à 9 dates (détails dans le § I.1.)

Les communautés de macroinvertébrés de la Meurthe sont relativement riches et diversifiées puisque nous avons identifié 139 taxons répartis dans 83 familles **(Annexe II)**. Nous observons une diminution de 30 % de la richesse en invertébrés entre le site amont et le site aval soumis à la salinité la plus forte, la perte de taxons se faisant essentiellement à partir d'une salinité supérieure à 1,4 $g.L^{-1}$. Cette réduction de richesse entraîne une importante dissemblance (indice de Jaccard égal à 67 %) entre les sites DAM et ART. Cependant, nous n'avons pas observé de changements significatifs des indices de diversité, d'équitabilité ou de l'abondance totale des macroinvertébrés.

Nous avons également mesuré de faibles modifications dans l'abondance relative des groupes trophiques. Les fréquences relatives des déchiqueteurs et des mangeurs de sédiments fins augmentent légèrement alors que celles des perceurs et des racleurs diminuent en fonction de la salinité.

Les fortes disparités observées entre les assemblages taxonomiques le long du gradient salin ont permis de définir une typologie de 8 assemblages faunistiques représentant une forte sensibilité (4 groupes), une indifférence (2 groupes) ou une préférence (2 groupes) à la salinité. Nous avons ainsi pu mettre en évidence qu'un des deux groupes particulièrement tolérants à la salinité contient la plupart des espèces exotiques de la Meurthe telles que *Gammarus tigrinus*, *Physa acuta*, *Dreissena polymorpha*, *Corbicula fluminalis* et *Chelicorophium curvispinum*. Leur tolérance à la salinité associée à une forte perte taxonomique des espèces présentes à l'amont pourraient expliquer l'installation et la dominance des taxons exotiques sur le site le plus salé.

II.2. Profils des traits bio/écologiques le long du gradient

L'étude des traits bio/écologiques des macroinvertébrés est articulée en deux parties complémentaires. Dans un premier temps, nous avons suivi l'évolution de la diversité fonctionnelle des communautés, puis nous avons étudié l'évolution des différentes caractéristiques bio/écologiques des communautés le long du gradient salin.

II.2.1. Groupes fonctionnels

L'objectif de cette étude était de voir si la typologie taxonomique précédemment observée (II.1) peut être associé à une typologie fonctionnelle liée aux caractéristiques bio/écologiques des assemblages benthiques. Pour cela, nous avons étudié la variabilité des groupes fonctionnels le long du gradient de salinité de la Meurthe.

La variété des groupes fonctionnels des communautés de la Meurthe est très importante **(Annexe II)** puisque 14 sous-groupes issus des caractéristiques biologiques sur les 15 existant sont présents sur notre section d'étude. Seul le groupe « a » n'a pas été observé **(Tableau VIII)** car il est constitué uniquement de Spongiaires et de Bryozoaires (Usseglio-Polatera *et al.* 2000b, 2001) qui n'ont pas été échantillonnés dans notre étude. En ce qui concerne la diversité des groupes issus des caractéristiques écologiques, les 13 sous-groupes existants ont été observés **(Tableau IX)**. De plus, à l'exception du groupe écologique A, l'ensemble des sous-groupes sont représentés sur tous les sites même si l'importance de certains sous-groupes reste très faible.

Tableau VIII. Evolution des groupes fonctionnels biologiques le long du gradient salin et les résultats des ANOVA non paramétriques de Friedman sur les 9 dates d'échantillonnage.

Ss groupe	*DAM (%)*	*ROS2 (%)*	*STNIC (%)*	*ART (%)*	Evolution	P
b1	10,71 ± 7,82	5,23 ± 4.00	0,81 ± 0,48	6,12 ± 3,84	=	**0,001**
b2	0,76 ± 0,71	1,96 ± 1,33	1,68 ± 1,53	0,62 ± 0,65	=	**0,003**
c1	0,90 ± 1.00	4,70 ± 11,44	4,69 ± 9,08	0,91 ± 1,03		0,182
c2	1,57 ± 1,59	1,40 ± 0,92	4,11 ± 4,8	0,77 ± 0,83		0,068
d1	0,06 ± 0,06	0,06 ± 0,04	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,01		0,066
d2	0,62 ± 0,70	0,67 ± 0,47	0,74 ± 0,67	0,75 ± 0,66		0,833
e1	18,93 ± 11,61	27,55 ± 10,32	31,66 ± 17,41	35,4 ± 23,53		0,072
e2	33,50 ± 12,56	27,07 ± 14,32	26,5 ± 13,51	28,83 ± 9,49		0,228
e3	1,04 ± 1,02	1,18 ± 0,89	0,12 ± 0,07	0,08 ± 0,04	-	**0,003**
f	4,25 ± 4,39	4,04 ± 4,38	2,84 ± 2,26	3,17 ± 4,33		0,865
g1	0,01 ± 0,02	0,02 ± 0,04	0,03 ± 0,06	0,04 ± 0,07		0,906
g2	0,15 ± 0,36	0,05 ± 0,07	0,03 ± 0,05	0,16 ± 0,31		0,189
g3	0,22 ± 0,24	0,08 ± 0,07	0,02 ± 0,03	0,03 ± 0,03	-	**0.001**
h	27,28 ± 12,35	26,01 ± 18,58	26,75 ± 22,94	23,11 ± 26,7		0,435

Tableau IX. Evolution des groupes fonctionnels écologiques le long du gradient salin et les résultats des ANOVA non paramétriques de Friedman sur les 9 dates d'échantillonnage.

Ss groupe	*DAM (%)*	*ROS2 (%)*	*STNIC (%)*	*ART (%)*	Evolution	P
A	0,56 ± 0,99	0,01 ± 0,02	0,03 ± 0,07	0	-	**0,002**
B1	3,97 ± 5,11	0,99 ± 1,28	0,46 ± 0,86	0,17 ± 0,44	-	**0,001**
B2	3,40 ± 2,43	1,51 ± 2,77	6,31 ± 8,1	0,48 ± 0,49	-	**0.009**
C1	20,59 ± 11,19	10,33 ± 6,92	4,25 ± 1,76	9,58 ± 5,47	-	**0,0001**
C2	6,12 ± 4,32	3,38 ± 2,62	2,88 ± 3,09	0,77 ± 0,65	-	**0,002**
D1	19,82 ± 16,7	13,84 ± 10,04	25,68 ± 22,89	28,47 ± 20,95		0,228
D2	18,13 ± 22,19	25,45 ± 18,76	16,62 ± 16,92	13,79 ± 10,19		0,072
E	5,27 ± 4,23	6,82 ± 3,66	6,13 ± 3,64	12,35 ± 13,61	+	**0.041**
F1	0,46 ± 0,60	0,69 ± 0,70	1,38 ± 2,04	0,96 ± 0,91		0,102
F2	0,20 ± 0,42	0,14 ± 0,14	3,09 ± 6,27	0,06 ± 0,08		0,381
F3	21,44 ± 11,97	36,78 ± 12,34	33,15 ± 10,18	33,21 ± 14,74		0,137
G1	0,04 ± 0,06	0,02 ± 0,03	0.01 ± 0,01	0,02 ± 0,03		0,210
G2	0,01 ± 0,02	0,04 ± 0,07	0,02 ± 0,02	0,14 ± 0,30		0,682

Le long du gradient salin les fréquences relatives de 10 des 27 sous-groupes biologiques et écologiques **(Tableaux XIII, XIV)** sont modifiées. Sur ces 10 sous-groupes, 7 régressent en fonction de la salinité (e3, g3, A, B1, B2, C1, C2). Les groupes b1 et b2 sont

surtout influencés par des niveaux de salinité intermédiaires. Le sous-groupe E est favorisé et sa fréquence passe de 5,27 ± 4,23 % à 12,35 ± 13,61 % de la communauté.

Si l'on regarde le détail des caractéristiques biologiques des groupes fonctionnels, on voit que les groupes affectés par la salinité présentent plutôt des pontes fixées et se nourrissent principalement de végétaux **(Tableau X)**. Les taxons des groupes b1 et b2 ayant un régime alimentaire plus large (animaux et végétaux) et étant ovovivipares ne semblent pas fortement affectés.

D'un point de vue écologique, les groupes les plus affectés correspondent aux taxons vivant dans les zones amont des rivières, c'est-à-dire des milieux d'eaux froides et montagneuses du rhithron. Le groupe E, seul groupe qui semble favorisé par la salinité, correspond au groupe contenant des taxons qui tolèrent les eaux saumâtres **(Tableau X)**

Tableau X. Résumé des principales caractéristiques des groupes fonctionnels biologiques et écologiques (exprimées en terme de tendance) dont les fréquences varient significativement le long du gradient de salinité (d'après Usseglio-Polatera *et al.* 2000b).

Sous groupe	Code	Principales caractéristiques bio/écologiques des groupes
Biologique	b1	Taxons de grandes et moyennes tailles rampant à larges spectres alimentaire et habitationnel, ovovivipares plutôt monovoltins, possédant des branchies et à dispersion aquatique. Leurs durées de vie sont supérieures ou égales à 1 an.
	b2	Taxons de grandes et moyennes tailles de type fouisseur à larges spectres alimentaire et habitationnel, ovovivipares plutôt plurivoltins, possédant des branchies et à dispersion aquatique. Leurs durées de vie sont inférieures ou égales à 1 an.
	e3	Taxons de petites et moyennes tailles. Leurs durées de vie sont inférieures ou égales à 1 an, uni- ou plurivoltins à pontes fixées. Ils utilisent des branchies. Ils sont rampants ou temporairement fixés, déchiqueteurs et racleurs et mangent de la matière végétale.
	g3	Taxons de tailles moyennes, rampant ou nageurs. Déchiqueteurs ou perceurs préférant la matière animale. Respiration aérienne. Ils pondent dans la végétation.
Ecologique	A	Taxons rhéophiles des eaux Xeno-oligosaprobes plutôt froides se situant dans la partie supérieure des rivières de piémont.
	B1	Taxons représentatifs de l'épirhithron dans les eaux oligotrophes des parties basses du piémont où on les trouve plutôt dans le chenal de la rivière. Ils sont eurythermes ou psychrophiles.
	B2	Taxons représentatifs du métarhithron à l'intersection piémont/ plaine où ils occupent les habitats plutôt rivulaires. Ils sont eurythermes ou psychrophiles.
	C1	Taxons de l'hyporhithron ou épipotamon coulant en plaine, taxons eurythermes aimant les eaux mésotrophes.
	C2	Taxons du métarhithron, en plaine. taxons eurythermes aimant les eaux oligotrophes.
	E	Taxons eurythermes aimant les eaux de plaine à tendance mésosaprobe et tolérant les eaux saumâtres.

La salinité ne semble pas avoir une grande influence sur la richesse des groupes fonctionnels même si la diminution de la richesse est significative pour les groupes fonctionnels issus des caractéristiques biologiques et pour les groupes fonctionnels issus des

caractéristiques écologiques (ANOVA non paramétrique de Friedman, respectivement p = 0,040 et p = 0,007). En effet la perte de richesse n'est en moyenne que de 1 groupe pour les traits biologiques et de 2 groupes pour les traits écologiques entre les stations les plus éloignées **(Figure 16)**.

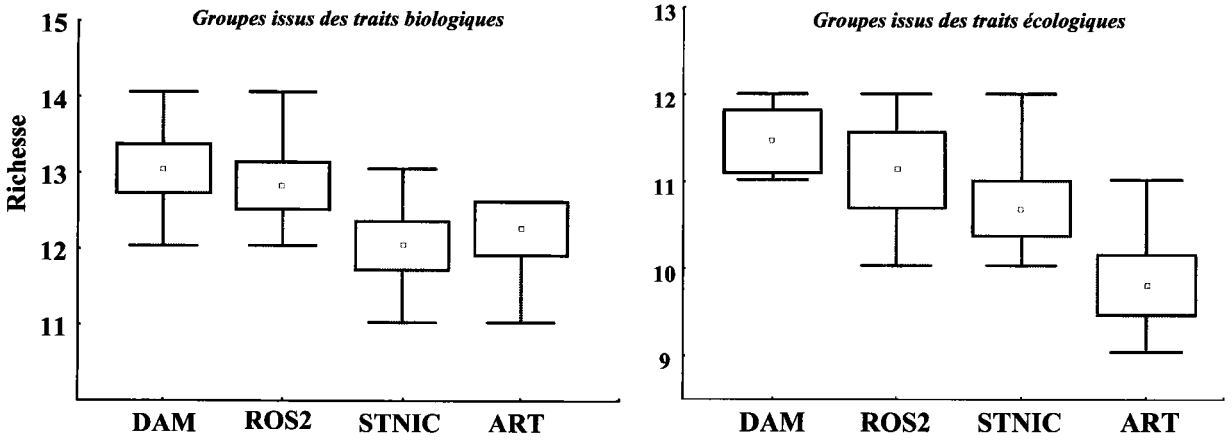


Figure 16. Evolution de la richesse (moyenne ± erreur standard ± étendue) des groupes fonctionnels biologiques et écologiques le long du gradient salin (n = 9 dates).

La perte de la diversité ne semble pas plus importante **(Figure 17)** avec une réduction significative de 17,8 % (p = 0,035) pour les groupes issus des traits biologiques et de 15,1 % (p = 0,050) pour les groupes issus des traits écologiques. En ce qui concerne la perte de diversité observée pour les groupes fonctionnels biologiques, elle semble être liée à la fois à la perte de richesse et à la perte d'équitabilité (p = 0,040) qui passe de 0,6 ± 0,1 en amont à 0,5 ± 0,1 en aval, soit une perte de 16,7 %. Dans le cas des groupes fonctionnels écologiques, cette diminution de diversité semble essentiellement liée à la perte de richesse car la dominance (p = 0,145) et l'équitabilité (p = 0,108) ne sont pas significativement modifiées.

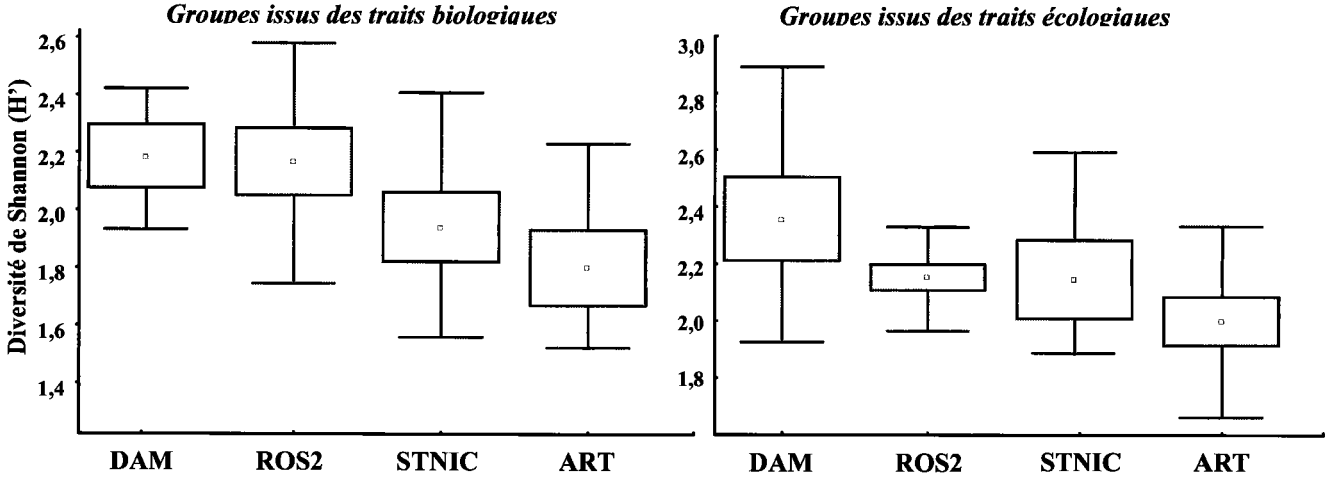


Figure 17. Evolution de la diversité (moyenne ± erreur standard ± étendue) des groupes fonctionnels biologiques et écologiques le long du gradient salin (n = 9 dates).

L'augmentation de la salinité n'affecte pas profondément la structure fonctionnelle de l'écosystème mais les changements observés dans la fréquence relative de certains groupes fonctionnels soulèvent un certain nombre de question, notamment vis-à-vis des changements dans les groupes fonctionnels biologiques. Les traits liés aux modes de reproduction et d'alimentation semblent affectés et des investigations détaillées sur chacune de ces caractéristiques permettraient de mieux en comprendre les mécanismes.

L'objet du paragraphe suivant est de regarder en détail l'évolution de certains traits biologiques entrant dans la ségrégation des groupes fonctionnels biologiques.

II.2.2. Sélection et évolution des traits biologiques

A de rares exceptions près, la sélection de mécanismes physiologiques tels que les systèmes d'osmorégulation ont permis aux invertébrés d'eaux douces de survivre à de basses concentrations en sels (Willmer *et al.*, 2000; Barnes *et al.*, 2001). En contrepartie, la faune des eaux douces est devenue particulièrement sensible à une augmentation de la salinité qui peut alors être considérée comme un facteur de sélection naturel.

Afin de tester l'impact de cette sélection au niveau communautaire nous avons étudié l'évolution de sept caractéristiques biologiques, physiologiques ou comportementales particulièrement sensibles à la salinité (II.2.1). Ces traits (taille maximale, durée de vie, mode de reproduction, nombre de génération par an, mode de respiration, mode de dispersion et mode d'alimentation, tolérance à la salinité) ont été subdivisés en 37 modalités (I.6.1, **Tableau VII**).

Piscart C., Usseglio-Polatera P., Moreteau J.C. et Beisel J.N.

"The role of salinity in selection of biological traits of freshwater invertebrates"

Archive für Hydrobiologie, soumis en 2005 **(Annexe V)**.

Résumé

L'évolution de ces modalités aux seins des communautés de macroinvertébrés a été observée sur quatre sites de la Meurthe (DAM, ROS2, STNIC et ART) en terme de profils bio/écologiques des communautés le long du gradient de salinité (I.6.2).

La plupart des traits biologiques étudiés présentent des changements significatifs dans leurs fréquences relatives. Certaines modalités comme la reproduction asexuée ou le

plurivoltinisme tendent à être sélectionnées dans les milieux à forte salinité. De même, une forte sélection de l'ovoviviparité a été mise en évidence. Il est surprenant de voir que ce mode de reproduction est sélectionné puisqu'il est particulièrement coûteux d'un point de vue physiologique et limite la fécondité. Cependant, sur la base de différences de sensibilités des différents stades à un stress salin, nous supposons qu'il offre une meilleure protection des œufs dans le corps des femelles et limite ainsi l'impact du stress salin.

Enfin, nous avons observé de légères modifications des habitudes alimentaires avec une augmentation des filtreurs et des mangeurs de sédiments fins aux dépends des racleurs et des perceurs. Ces changements sont en accord avec le transfert d'énergie dans l'écosystème allant de la zone pélagique au benthos. En effet, l'activité de filtration va s'accroître avec l'augmentation des bivalves dans l'écosystème, cette activité va alors concentrer les nutriments sur le fond de la rivière. Cette concentration des nutriments sur le fond va alors favoriser les mangeurs de dépôts qui se multiplient.

L'étude particulière du mode de reproduction et des habitudes alimentaires confirme les résultats obtenus avec les groupes fonctionnels. La salinité favorise les communautés de macroinvertébrés les moins spécialisées et possédant majoritairement des caractéristiques primitives telles que la reproduction asexuée et le plurivoltinisme classiquement sélectionnés dans les milieux stressants.

II.3. Outils méthodologiques développés

Les processus de salinisation sont en passe de perturber une grande partie des écosystèmes d'eaux continentales à l'échelle planétaire en créant un déséquilibre des communautés en place. La surveillance et la gestion à grandes échelles de ces écosystèmes nécessitent des outils adaptés. Cette demande spécialisée a donc motivé le développement d'outils diagnostiques. Ces outils doivent être performants, rapides, simples et peu coûteux mais aussi être applicables dans un maximum de situations, ce qui a justifié la recherche d'un habitat sentinelle. Une perspective d'application encore plus vaste sur les cours d'eau est liée à la présence/absence de cet habitat. Pour pallier à une absence de substrat adéquat, l'utilisation de substrats artificiels a été étudiée et son efficacité a été comparée à celle des prélèvements de substrats naturels.

II.3.1. Mise en évidence d'un habitat sentinelle pour diagnostiquer un processus de salinisation.

Dans le but de limiter le coût et la variabilité des méthodes de surveillance environnementale, les scientifiques ont développé de nombreux protocoles qui réduisent le nombre et le type d'échantillon. Nos travaux s'insèrent dans cette démarche avec comme principal objectif, de mettre en évidence l'importance des différents substrats qui composent le fond de la rivière dans l'étude des effets du processus de salinisation.

Pour cela nous avons étudié les changements de structure et de composition des assemblages de macroinvertébrés au niveau habitationnel sur quatre stations de la Meurthe (DAM, ROS2, STNIC et ART).

Piscart C., Moreteau J.C. et Beisel J.N.

"Salinization consequences in running waters: the use of 'sentinel substrate' as bioassessment method"

Journal of the North American Benthological Society, accepté avec correction en 2005 **(Annexe VI).**

Résumé

Les résultats nous montrent clairement que l'image des effets du sel est très dépendante du substrat échantillonné, chaque type de substrat hébergeant un assemblage plus ou moins sensible au stress salin. Par exemple, les substrats de types sables et graviers ne mettent pas en évidence de stress à travers des changements de structure taxonomique de leurs assemblages alors que les communautés naturelles auxquelles ils contribuent changent significativement d'amont en aval. De plus, certains substrats ne sont pas échantillonnables toute l'année ou sur l'ensemble des stations sur lesquelles des études d'impactes seraient nécessaires, c'est pourquoi nous proposons la définition de ce que nous appelons « substrat sentinelle ». Le substrat sentinelle est un substrat dont l'assemblage faunistique répond à une augmentation de la salinité de manière précoce et représentative de la station sur lequel il est prélevé. Afin d'être qualifié de sentinelle nous proposons que ces substrats présentant un certain nombre de qualités :

(1) Il doit être largement répandu dans les rivières et être facilement échantillonnable avec les méthodes classiques de prélèvement.

(2) Il doit être disponible tout au long de l'année quelles que soient les conditions environnementales.

(3) Il doit avoir une richesse suffisamment importante pour permettre la mise en évidence des changements de structure des communautés benthiques.

(4) Il doit être représentatif de la station en termes de structure et de composition en invertébrés sans favoriser ni les espèces sensibles, ni les tolérantes.

(5) Il doit être échantillonnable sans contamination par des animaux venant d'un autre substrat et par dérive.

Sur les 7 substrats que nous avons testés sur la Meurthe (sable, gravier, galet, bloc, racine, litière, macrophyte), les galets répondent à l'ensemble des 5 critères qui définissent le substrat sentinelle et ont l'avantage d'avoir la plus faible variabilité saisonnière permettant ainsi la surveillance et la gestion des hydrosystèmes toute l'année.

Il reste néanmoins des cas où l'utilisation des galets n'est pas possible du fait de leur absence ou de son accessibilité difficile sur certains sites. Nous pouvons toutefois y remédier en partie à l'aide du deuxième outil développé dans se travail : l'utilisation de substrats artificiels.

II.3.2. Utilisation de substrats artificiels

L'étude de l'impact de la salinité à l'échelle de l'habitat a montré que les galets permettent une image fiable et représentative d'une station, malheureusement, certains écosystèmes comme les lacs, les grands fleuves et certaines rivières ne permettent que difficilement le prélèvement de ce type de substrat même lorsque celui-ci est abondant. Or, une grande partie des zones actuellement touchées par la salinisation concerne des eaux stagnantes (Williams, 1986, 1999) et l'un des principaux effets de la hausse du niveau des mers sera localisé au niveau des estuaires où les galets ne sont généralement pas présents. Tous ces écosystèmes sont donc des cibles dont le suivi de la qualité est primordial. L'utilisation de substrats artificiels constitués de galets permettrait de s'affranchir des contraintes liées à la présence et à l'accès à un substrat de type galets.

Piscart C., Moreteau J.C. et Beisel J.N.

"Monitoring changes in freshwater macroinvertebrate communities along a salinity gradient using artificial substrates"

Environmental Monitoring and Assessment, sous presse **(Annexe VII)**.

Résumé

Des substrats artificiels constitués de galets ont permis d'étudier l'évolution des assemblages de macroinvertébrés récoltés sur sept sites répartis le long d'un gradient de salinité. Nos résultats mettent en évidence l'efficacité des substrats artificiels dans la mise en évidence de la perte de richesse et les modifications de la structure des communautés. D'un point de vue qualitatif, leur sensibilité est très proche de celle obtenue avec les prélèvements au filet Surber et les substrats artificiels mettent bien en évidence la diminution des taxons sensibles et l'augmentation des taxons halotolérants en fonction de la salinité.

L'efficacité des substrats s'avère très proche de l'échantillonnage au filet Surber et cette méthode pourrait être utilisée en remplacement des méthodes d'évaluation basée sur les assemblages de substrats naturels lorsque celles-ci ne sont pas applicables.

III Conclusion

L'étude des communautés de macroinvertébrés a mis en évidence des changements importants et une altération de la biodiversité benthique le long du gradient de salinité. Nous avons ainsi montré une succession dans les assemblages de macroinvertébrés en fonction de la salinité. Cette succession aboutit à des communautés hébergeant un nombre important d'espèces exotiques à caractère proliférant ou non sur le site le plus salé. Cette installation d'espèces exotiques, qui présentent généralement de fortes amplitudes écologiques (Devin, 2003), est favorisée par la libération de niches écologiques suite à la disparition des espèces sensibles à la salinité. Malgré les changements importants observés dans la composition taxonomique, l'organisation fonctionnelle à l'échelle de la communauté semble peu affectée. On note toutefois la sélection de certaines caractéristiques biologiques au sein des profils moyens représentés sur chaque station telle qu'une respiration branchiale et un mode de reproduction ovovivipare.

Dans le cadre d'une recherche méthodologique pour l'évaluation d'un stress salin, une étude au niveau habitationnel montre que l'échantillonnage des substrats de type galet permet de récolter des assemblages qui reflètent avec fiabilité les changements apparus au niveau de la station. La qualité de ces supports par rapport aux autres en fait des habitats sentinelles que

nous recommandons dans les programmes de surveillance et de gestion environnementale. Tous les hydrosystèmes ne présentent pas naturellement ce support ou ne permette pas son prélèvement, néanmoins celui-ci peut être placé et échantillonné sur ces sites à l'aide de substrats artificiels composés de galets, méthode dont nous avons montré la fiabilité même si l'information biologique est alors réduite à des éléments d'appréciation du milieu qualitatifs et non plus quantitatifs.

Chapitre IV : Rôle de la salinité aux niveaux populationnel et individuel

L'étude des changements aux niveaux populationnel et individuel permet de définir les mécanismes qui régissent la mise en place des communautés en fonction de la salinité du milieu. Dans ce chapitre, nous présenterons d'abord les résultats concernant l'étude de la biodiversité taxonomique et fonctionnelle des trichoptères à filets. Puis l'étude en conditions contrôlées de la tolérance à la salinité des macroinvertébrés aquatiques permet de vérifier la sensibilité relatives des taxons observées *in situ* sur la Meurthe et de valider certaines hypothèses retenues sur la base de résultats précedents.

I Rôle de la salinité sur la biodiversité des Trichoptères à filet

Nous avons montré dans le chapitre précèdent que la salinité entraîne une érosion de la biodiversité des macroinvertébrés. L'exemple des Trichoptères à filet permet de mettre en évidence le rôle de la salinité dans les interactions entre espèces cohabitant sur les mêmes sites qui influencent la répartition spatiale et temporelle de la faune aquatique. Le groupe des Trichoptères à filet présente l'avantage d'être riche, homogène d'un point de vue phylogénétique et les espèces le composant sont homogènes du point de vue de leur combinaison de traits biologiques. Les conditions abiotiques pourront être considérées comme le principal facteur affectant leurs distributions, leurs abondances, leur diversité et leurs traits d'histoire de vie.

Piscart C., Lecerf, A., Usseglio-Polatera, P., Moreteau J.C. et Beisel J.N.

"Biodiversity patterns along a salinity gradient: the case of net-spinning caddisflies"

Biodiversity and Conservation (2005), 14 (9): 2235-2249 **(Annexe VIII)**

Résumé

Nous avons étudié, sur les quatre sites suivis dans l'étude de la biodiversité des communautés benthiques le long du gradient salin (Chapitre III), leurs richesses et leurs diversités en terme de structure taxonomique et de leurs combinaisons de traits bio/écologiques.

Un total de 11 espèces réparties en 8 genres a été échantillonné. L'abondance relative des différentes espèces varie fortement d'un site à l'autre. Certaines espèces semblent être très sensibles à la salinité comme *Psychomyia pusilla* ou *Hydropsyche contubernalis* alors que d'autres, comme *Ecnomus tenellus* et *Hydropsyche exocellata*, sont tolérantes et leurs

abondances relatives augmentent en fonction de la salinité. Seul *Philopotamus variegatus* disparaît de la zone aval ce qui ne suffit pas à conclure que la richesse décroît le long du gradient de salinité. Il est également intéressant de voir que la richesse et la diversité ont tendance à être plus élevées pour des niveaux intermédiaires de salinités.

En ce qui concerne la diversité bio/écologique, les 11 espèces sont réparties dans 6 sous-groupes écologiques (A, C1, C2, D2, E et F3) et 5 sous-groupes bio/écologiques ($\alpha 2$, β, $\delta 2$, $\gamma 1$ et ζ). La diversité de ces sous-groupes est maximale pour des niveaux intermédiaires de salinité avec les sous-groupes C2 et $\gamma 1$ qui dominent en amont avant d'être progressivement remplacés par les groupes E et ζ en aval. Le rôle de la salinité dans ce changement de structure fonctionnelle est illustré par le fait que les groupes E et ζ sont des groupes caractérisés par des espèces tolérantes à la salinité.

La mise en évidence d'une diversité plus importante pour des niveaux de salinité intermédiaires, est en accord avec l'hypothèse de perturbation intermédiaire (Intermediate Disturbance Hypothesis) de Connell (1978). Cette hypothèse prédit que des niveaux intermédiaires de perturbation favorisent la diversité spécifique. En effet, les espèces les plus spécialisées dans les milieux non perturbés et fortement perturbés excluent les autres taxons moins adaptés. Dans les milieux intermédiaires la forte capacité compétitrice des espèces issues de leurs adaptations se fait moins ressentir et la coexistence entre des espèces adaptées et des espèces moins adaptées est possible. Dans notre cas, nous suggérons sur la base des résultats obtenus avec les Trichoptères à filet que la diversité d'espèces phylogénétiquement et écologiquement proches est plus importante à des niveaux de perturbation intermédiaires car les espèces sensibles et tolérantes à la salinité coexistent.

II Tolérance expérimentale des macroinvertébrés à la salinité

Les données de terrain génèrent un certain nombre d'incertitudes dans l'interprétation de l'impact de la salinité sur les communautés de macroinvertébrés. En effet, de nombreuses difficultés inhérentes aux travaux *in situ*, nous obligent à émettre des hypothèses relatives à l'impact de la perturbation saline sur la faune en place. Bien que cela soit la plupart du temps justifié par des études physico-chimiques et environnementales, il existe toujours une incertitude sur les mécanismes à l'origine des modifications des communautés (Kefford, 1998b). Ainsi, les interactions biotiques, les polluants non pris en compte dans les données physico-chimiques ou encore les accidents ponctuels ayant eu lieu quelques jours avant l'échantillonnage et dont il ne reste plus trace le jour des prélèvements, sont autant de facteurs

pouvant influencés la nature et le type de réponse des communautés de macroinvertébrés dans le milieu naturel.

Dans notre étude, bien que le contexte environnemental permette d'éliminer la plupart de ces cas de figure, les différences de sensibilités entre les groupes taxonomiques et les populations sont issues d'extrapolation à partir des données de terrain dont la plupart sont basées sur les variations d'abondance. Cette démarche classique repose sur l'hypothèse d'abondance forte dans les conditions optimales pour l'espèce et d'une décroissance de cette abondance à mesure que l'on s'éloigne de cet optimum (loi de Shelford). Pour évaluer la pertinence de cette approche, des mesures de tolérance à la salinité en conditions contrôlées ont été réalisées afin de préciser et de valider nos interprétations. Dans le même esprit, Kefford (2004b) a montré que des tests de tolérance à la salinité des macroinvertébrés permettent de valider les observations réalisées sur le terrain. De plus, les données récoltées dans ces conditions seront facilement comparables avec les données issues de la littérature où les différences entre pays, régions et rivières, importantes et dépendantes des conditions environnementales, ne permettent pas une comparaison précise. Par ailleurs, nous présenterons ici une comparaison partielle des niveaux de tolérance entre les taxons européens et australiens.

II.1. Matériel et méthodes

II.1.1. Site d'études

L'échantillonnage des invertébrés a été effectué entre mai et juillet 2004. La période d'échantillonnage est restreinte mais correspond à des températures de l'eau comprises entre 16 et 20°C. L'impact de la canicule de l'été 2003 sur les invertébrés de la Meurthe a été très important et des taxons échantillonnés en 2002 n'y ont pas été retrouvés en 2004. Nous avons donc échantillonné les macroinvertébrés présents sur plusieurs sites dans la Meurthe, la Moselle à Metz, le Rupt-de-Mad à Rembercourt-sur-Mad et la Nied française à Villers-Laquenexy. Ces sites ont été choisis car ils sont riches en invertébrés, d'accès faciles et sont localisés à proximité du laboratoire ce qui limite le temps de transport.

II.1.2. Tests au laboratoire

L'approche utilisée est simple afin d'être appliquée à un grand nombre de taxons et plus facilement reproduite par des équipes différentes. Le protocole utilisé et celui décrit par

Kefford *et al.* (2003). La survie des macroinvertébrés aux différentes salinités est déterminée sur une durée de 72h, cette durée étant un compromis entre le test daphnie conduit sur 24 à 48h et le test poisson sur une durée de 96h. De retour au laboratoire, les taxons sont placés sans nourriture ni acclimatation dans des paniers plastiques afin d'être séparés les uns des autres et de limiter ainsi les interférences entre taxons. Les paniers sont constitués par des tubes de PCV de 80 mm de diamètre et de 7 cm de hauteur dont l'extrémité est fermé à l'aide de tulle de 1 mm de maille **(Figure 18)**. Les paniers sont ensuite placés dans des bacs en plastique contenant 4 L d'eau aérée de différentes salinités placés dans une pièce climatisée entre 17 et 19°C.

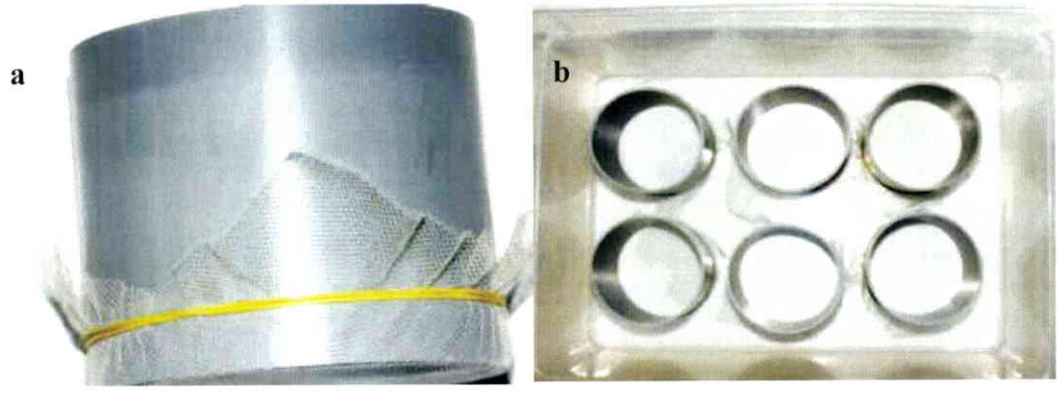


Figure 18. Photographies du dispositif expérimental utilisé pour les tests de tolérance. a) cylindre en PVC contenant les individus testés. b) disposition des cylindres dans les bacs de 4 L contenant l'eau salée du test.

L'eau salée est obtenue en dissolvant des mélanges de sels marins déshydratés et de l'eau distillée. Pour notre étude, nous avons choisit un mélange caractéristique de la mer rouge fournit par « Red Sea Pharm ». En effet le choix s'est fait après comparaison des compositions ioniques des différentes mers montrant que la mer rouge présente une proportion plus importante de Ca^{2+}, ce qui s'avère plus proche des concentrations observées dans la Meurthe. L'utilisation de l'eau de la Meurthe filtrée n'a pas pu être envisagée car la concentration de ses sels pour atteindre des niveaux élevés de salinité n'était pas techniquement possible.

L'évaporation de l'eau due aux pompes à air a été vérifié et le niveau d'eau réajusté si nécessaire. De même, afin de mesurer précisément la salinité de nos bacs, la conductivité est mesurée tous les jours.

Les espèces étudiées ont été soumises à deux protocoles. Les espèces présentant des densités suffisamment importantes (supérieures à 100 individus récupérés) sont considérées comme des espèces communes et les autres comme des espèces rares.

Pour les espèces communes, entre 10 et 15 individus répartis dans trois paniers sont testés pour au moins 12 salinités différentes. Trois salinités de contrôle sont réalisées avec de l'eau du site de prélèvement, de l'eau distillée (<0,05 $mS.cm^{-1}$) et de l'eau de salinité artificielle égale à celle du site de prélèvement. Les 9 bacs restants représentaient la gamme de salinité adaptée aux taxons testés allant de 0 à 100 % de mortalité. Le test n'est conservé pour analyse que si le pourcentage de survie dans chacun des trois témoins dépasse 80 %, dans le cas contraire, le test est entièrement refait.

Pour de nombreuses espèces, la collecte d'un nombre important d'individus (>100) n'est pas possible. Pour ces espèces qualifiées de rares, nous avons utilisé le protocole « up-and-down » (Bruce, 1985 ; 1987) que l'on a modifié. Dans sa forme initiale, un seul individu est exposé à la concentration supposée être létale pour 50 % des individus (CL50). Si l'individu survit, la concentration est augmentée, si il meurt, la concentration est diminuée et un nouvel individu est testé jusqu'à ce que la mesure de CL50 soit suffisamment précise. Dans notre version modifiée, lorsque cela est possible, plusieurs individus (1 à 5) par concentration sont testés et plusieurs concentrations (1 à 6) sont testées simultanément. Cette modification nous permet d'avoir une estimation plus précise de la CL50 pour les espèces rares.

II.1.3. Analyses statistiques

Nous avons réalisé des régressions logistiques standard (Agresti, 1990) pour les espèces communes avec la probabilité de survie en ordonné et la conductivité (en $mS.cm^{-1}$) en abscisse. Pour cela nous avons utilisé la fonction « régression Logit » du module d'estimation non linéaire du logiciel Statistica 6 (Statsoft™).

L'équation de régression de forme $y = \log (p/1-p)$ où p est égale à la probabilité de survie peut alors être facilement linéarisée. Cette fonction permet de calculer la CL50 correspondant à $p = 0,5$, mais aussi les CL25, CL10 et CL5 lorsque les données sont suffisamment précises.

Pour les espèces rares, lorsque aucune valeur de CL50 ne peut être déterminée avec précision et que l'on dispose seulement d'un intervalle de conductivité, la CL50 sera présumée égale à la moitié de cet intervalle. Par exemple pour un taxon ayant une CL50 comprises entre 10 et 12 $mS.cm^{-1}$, sa CL50 sera estimée à 11 $mS.cm^{-1}$.

Dans notre étude et afin de comparer des cortèges faunistiques très différents (espèces rares/espèces communes, mollusques/crustacés, etc..) nous avons utilisé la méthode de

Kaplan-Meier à l'aide du module « Analyse de survie » du logiciel Statistica 6 (Statsoft™). Ce type de représentation graphique construit la liste de tous les taxons de la plus petite CL50 à la plus importante. L'algorithme part de la CL50 la plus faible puis calcule la proportion de taxon survivant à des CL50 supérieures, puis il prend le CL50 suivante et refait le calcul. Ce processus est répété jusqu'à obtention de la plus grande valeur de CL50.

Les différences entre groupes seront statistiquement testées à l'aide d'un test de Wilcoxon-Gehan en suivant la procédure de Mantel (1967) programmée dans le module « Analyse de survie » du logiciel Statistica 6 (Statsoft™). Le test de Mantel porte sur la corrélation linéaire entre deux matrices de distances ou de similarités obtenues indépendamment. Les relations linéaires avec les distances (ou similarités) entre matrice seront ensuite testées à l'aide d'un test de permutation des données brutes sur lesquelles seront recalculées les distances (ou les similarités).

II.2. Résultats

II.2.1. Tolérance des macroinvertébrés

Les tolérances à la salinité exprimées par la CL50 et la limite de tolérance (CL100) de 60 taxons (27 taxons communs et 33 rares) ont été déterminées expérimentalement. Ces taxons ont été choisis afin d'être représentatifs de l'ensemble des grands groupes constituant les communautés de macroinvertébrés benthiques de plaine **(Tableaux XI et XII)**. Ainsi, au moins un représentant de chaque groupe taxonomique a été testé et, dans la mesure de nos possibilités, le nombre de représentants par groupe est représentatif de sa richesse. De plus, pour les genres *Gammarus* (Crustacés, amphipodes) et *Hydropsyche* (Insectes, trichoptères), plusieurs espèces ont été testées avec le protocole des espèces communes afin d'estimer la variabilité intragénérique **(Tableaux XI)**. De même, deux espèces des genres *Erpobdella* (Mollusque, achètes), *Ephemera* (Insectes, éphéméroptères) et *Gomphus* (Insectes, Odonates) ont permis d'étudier la variabilité intragénérique des espèces rares.

La tolérance des espèces communes de nos cours d'eau (Régression logistique, $p<0,0001$) varie très fortement selon l'espèce considérée allant d'une CL50 de 4,6 à 43,0 $mS.cm^{-1}$ **(Tableau XI)**, soit une salinité de 3,4 à 31,5 $g.L^{-1}$. En ce qui concerne la variabilité intragénérique des espèces communes, le genre *Gammarus* présente des différences importantes entre les trois espèces testées puisque les CL50 vont de 11,0 $mS.cm^{-1}$ pour *G. roeseli* à 40,5 $mS.cm^{-1}$ pour *G. tigrinus*.

Par contre, pour les insectes du genre *Hydropsyche,* cette variabilité est faible entre les quatre espèces testées et s'échelonne de 14,5 $mS.cm^{-1}$ pour *H. contubernalis*, considérée comme l'espèce la moins tolérante, à 19,3 $mS.cm^{-1}$ pour *H. pellucidula.*

Tableau XI. Tolérance maximale (CL100) et CL50 des 27 taxons communs exprimées en $mS.cm^{-1}$ (n est le nombre d'individus utilisés pour calculer la CL50).

Classe/Ordre	*Famille*	*Genre*	*Espèces*	*n*	*CL50*	*CL100*
Hydracarien				120	19,3	28,4
Triclades	Dugesiidae	*Dugesia*	*D. polychroa*	180	11,6	16,0
Prosobranches	Viviparidae	*Viviparus*	*V. contectus*	180	6,5	10,2
Prosobranches	Bithyniidae	*Bithynia*	*B. tentaculata*	168	11,8	18,8
Prosobranches	Neritidae	*Theodoxus*	*T. fluviatilis*	225	20,0	22,1
Pulmonés	Ancylidae	*Ancylus*	*A. fluviatilis*	120	4,6	8,2
Pulmonés	Lymnaeidae	*Radix*	*R. ovata*	210	12,0	14,7
Isopodes	Asellidae	*Asellus*	*A. aquaticus*	210	21,6	36,6
Amphipodes	Corophiidae	*Chelicorophium*	*C. curvispinum*	195	14,8	24,9
Amphipodes	Gammaridae	*Dikerogammarus*	*D. villosus*	195	26,6	33,2
Amphipodes	Gammaridae	*Gammarus*	*G. roeseli*	210	11,0	16,9
Amphipodes	Gammaridae	*Gammarus*	*G. pulex*	180	17,5	26,4
Amphipodes	Gammaridae	*Gammarus*	*G. tigrinus*	165	40,5	52,2
Décapodes	Atyidae	*Athyaephyra*	*A. desmarestii*	180	34,7	38,8
Coléoptères	Elmidae	*Esolus*	*E. parallelipipedus*	195	19,9	28,4
Diptères	Chironomidae	*tr. Chironomini*		180	23,1	38,5
Diptères	Simulidae	*Simulini*		180	7,8	12,0
Ephémèroptères	Baetidae	*Baetis*	*B. rhodani*	180	7,3	12,0
Ephémèroptères	Ephemerellidae	*Ephemerella*	*E. ignita*	195	4,9	12,8
Ephémèroptères	Potamanthidae	*Potamanthus*	*P. luteus*	225	13,8	24,6
Hétéroptères	Aphelocheiridae	*Aphelocheirus*	*A. aestivalis*	140	26,8	31,0
Odonates	Caenagrionidae	*Caenagrion*	*C. puella*	150	43,0	50,1
Trichoptères	Hydropsychidae	*Hydropsyche*	*H. pellucidula*	195	19,3	29,9
Trichoptères	Hydropsychidae	*Hydropsyche*	*H. contubernalis*	180	14,5	25,4
Trichoptères	Hydropsychidae	*Hydropsyche*	*H. exocellata*	180	18,9	27,1
Trichoptères	Hydropsychidae	*Hydropsyche*	*H. siltalai*	180	15,0	25,0
Trichoptères	Leptoceridae	*Athripsodes*	*A. cinereus*	150	24,7	39,6

Pour la plupart des espèces rares, nous avons réalisé le test avec quatre à six salinités différentes. Ceci nous a permis d'obtenir une estimation de la CL50 pour 33 taxons **(Tableaux XII).** Là encore, la tolérance est très variable et s'échelonne d'une CL50 de 2,1 à 46,9 $mS.cm^{-1}$, soit une salinité de 1,5 à 34,4 $g.L^{-1}$.

La variabilité intragénérique est faible pour les genres *Erpobdella* (± 14,5 %) et *Gomphus* (± 9,6 %). Elle est plus importante pour les insectes du genre *Ephemera* avec *E. danica* qui présente une CL50 de 3,3 $mS.cm^{-1}$ alors que *E. vulgata* présente une CL50 de 6,8 $mS.cm^{-1}$. Toutefois ces changements restent faibles par rapport à l'amplitude de tolérance des invertébrés et les deux espèces sont toutes les deux considérées comme sensibles.

Tableau XII. Tolérances maximales (CL100) et CL50 estimées des 33 taxons rares exprimées en $mS.cm^{-1}$(n est le nombre d'individus utilisés pour estimer la CL50).

Classe/Ordre	*Famille*	*Genre*	*Espèces*	*n*	*CL50*	*CL100*
Triclades	Dendrocoelidae	*Dendrocoelum*	*D. lacteum*	21	14,4	16,0
Achètes	Erpobdellidae	*Erpobdella*	*E. testacea*	40	12,1	12,8
Achètes	Erpobdellidae	*Erpobdella*	*E. octoculata*	30	14,0	19,0
Achètes	Glossiphonidae	*Glossiphonia*	*G. complanata*	13	11,4	12,5
Achètes	Piscicolidae	*Piscicola*	*P. geometra*	25	17,4	27,9
Décapodes	Cambaridae	*Orconectes*	*O. limosus*	18	46,9	49,8
Pulmonés	Lymnaeidae	*Lymnaea*	*L. stagnalis*	50	10,8	12,9
Pulmonés	Physidae	*Physa*	*P. acuta*	5	11,3	14,6
Diptères	Tipulidae			5	17,6	20,0
Diptères	Empididae			12	39,2	44,0
Ephémèroptères	Baetidae	*Baetis*	*B. niger*	12	13,3	18,0
Ephémèroptères	Ephemeridae	*Ephemera*	*E. danica*	4	3,3	4,1
Ephémèroptères	Ephemeridae	*Ephemera*	*E. vulgata*	5	6,8	8,0
Ephémèroptères	Heptageneidae	*Rhithtogena*	*R. semicolorata*	3	4,8	6,8
Ephémèroptères	Oligoneuriellidae	*Oligoneuriella*	*O. rhenana*	21	2,3	3,5
Hétéroptères	Nepidae	*Nepa*	*N. cinerea*	2	12,5	16,9
Hétéroptères	Corixidae	*Micronecta*	*M. poweri*	5	27,0	29,0
Lépidoptères	Crambidae	*Acentria*	*A. ephemerella*	4	21,2	24,3
Mégaloptères	Sialidae	*Sialis*	*S. lutaria*	21	41,6	44,0
Odonates	Calopterygidae	*Calopteryx*	*C. splendens*	55	30,2	32,8
Odonates	Gomphidae	*Onychogomphus*	*O. forcipatus*	5	34,3	35,8
Odonates	Gomphidae	*Gomphus*	*G. pulchellus*	4	27,4	29,9
Odonates	Gomphidae	*Gomphus*	*G. vulgatissimus*	3	30,2	32,9
Plécoptères	Leuctridae	*Euleuctra*	*E. geniculata*	6	20,0	23,4
Trichoptères	Rhyacophilidae	*Rhyacophila*	*R. dorsalis*	6	2,1	2,5
Trichoptères	Brachycentridae	*Brachycentrus*	*B. subnubilius*	3	29,7	32,8
Trichoptères	Limnephilidae	*Halesus*	*H. tessellatus*	16	16,0	24,8
Trichoptères	Limnephilidae	*Micropterna*	*M. lateralis*	10	8,4	9,3
Trichoptères	Limnephilidae	*Potamophylax*	*P. luctuosa*	3	16,0	19,0
Trichoptères	Leptoceridae	*Oecetis*	*O. ochracea*	6	14,6	18,7
Trichoptères	Polycentropodidae	*Neureclipsis*	*N. bimaculata*	21	18,5	20,0
Trichoptères	Polycentropodidae	*Cyrnus*	*C. trimaculatus*	8	25,0	29,0
Trichoptères	Sericostomatidae	*Sericostoma*	*S. personatum*	14	16,0	19,3

Si nous comparons les tolérances des espèces communes et rares, nous voyons que les profils des assemblages de taxons rares et communs sont superposés **(Figure 19)** montrant qu'il n'y a pas de différences significatives entre eux (procédure de Mantel, $p = 0,899$).

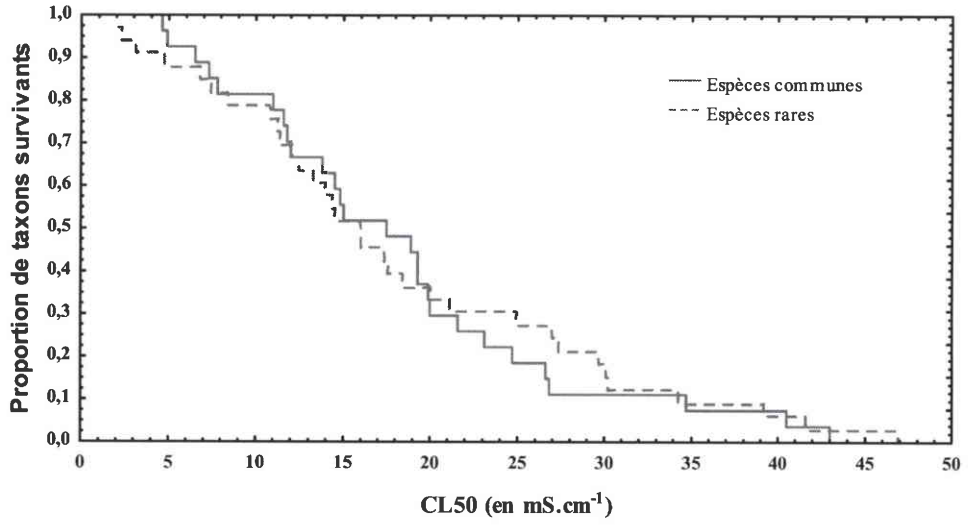


Figure 19. Fonction de Kaplan-Meier pour les taxons communs et rares.

II.2.2. Différences taxonomiques

L'ensemble des données (espères communes et rares) a été utilisé pour étudier les différences entre trois grands groupes taxonomiques **(Figure 20)**. Les tolérances des trois groupes sont significativement différentes (procédure de Mantel, p = 0,016). Les mollusques et les non arthropodes sont significativement plus sensibles à la salinité (p = 0,042) avec une CL50 moyenne de 12,6 ± 4,3 mS.cm^{-1} alors que les crustacés sont les plus halotolérants (p = 0,007) avec une CL50 moyenne de 26,7 ± 12,9 mS.cm^{-1}.

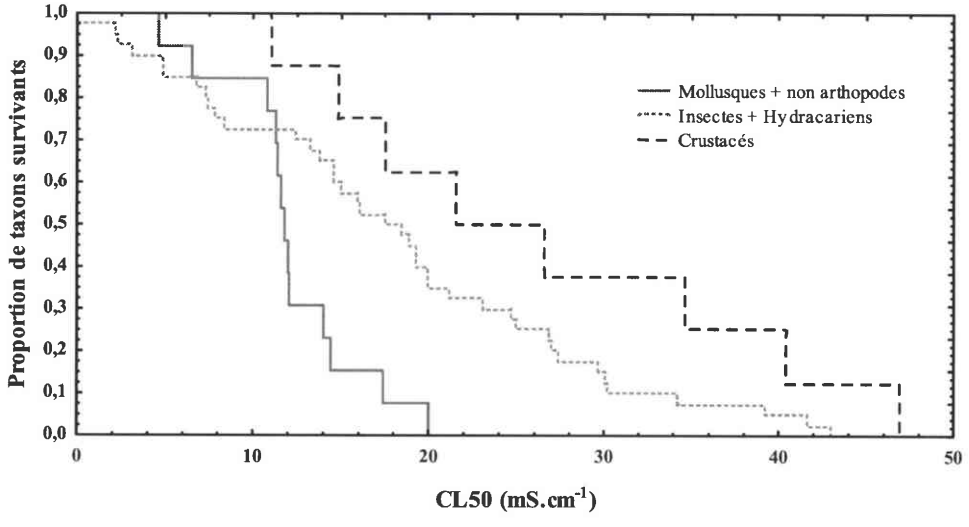
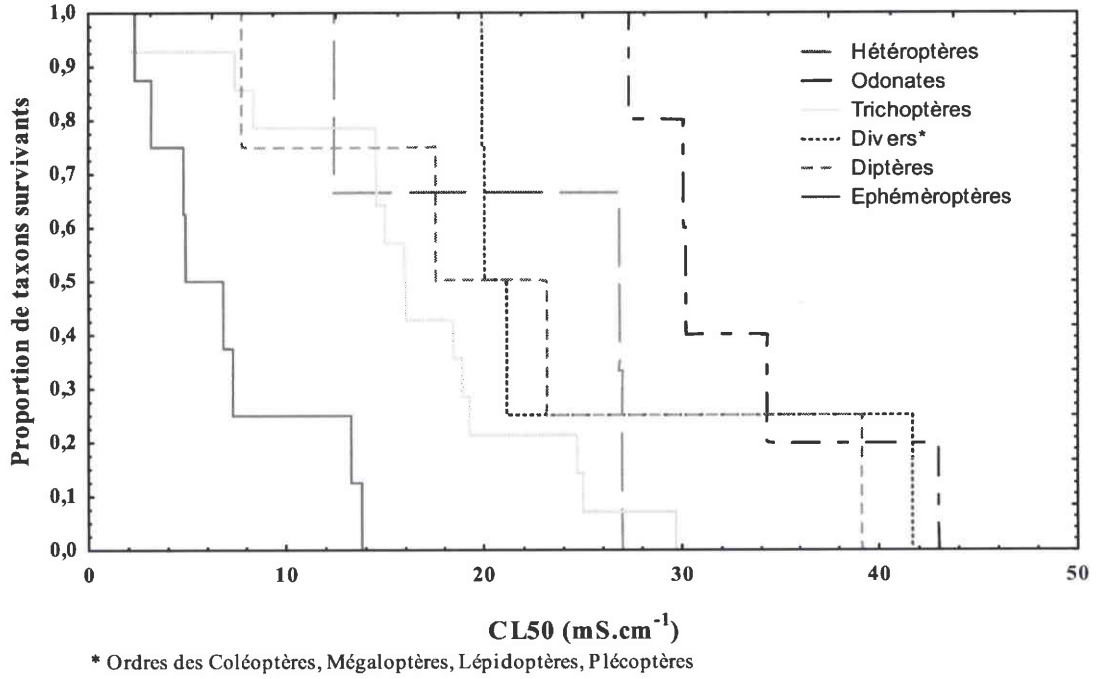


Figure 20. Fonction de Kaplan-Meier pour les grands groupes taxonomiques.

La grande diversité des insectes nous a permis de mettre en évidence des différences de sensibilité au sel **(Figure 21)**. Les variations sont fortes entre les différents ordres d'insectes (**Tableau XIII** ; procédure de Mantel, p = 0,001). Les odonates sont les plus

halotolérants (p = 0,052), puis viennent les hétéroptères, les divers et les diptères, les trichoptères et enfin les éphéméroptères qui forment le groupe le plus sensible (p = 0,003). Les groupes ont des amplitudes importantes **(Tableau XIII)** traduisant une forte variabilité intragroupe, c'est le cas en particulier des diptères et des trichoptères qui regroupent des espèces très sensibles (CL50 < 8,0 mS.cm^{-1}) et des taxons très tolérants avec des CL50 maximales de 39,2 mS.cm^{-1} pour les Diptères et 29,7 mS.cm^{-1} pour les Trichoptères.



* Ordres des Coléoptères, Mégaloptères, Lépidoptères, Plécoptères

Figure 21. Fonction de Kaplan-Meier pour les grands ordres d'insectes.

Tableau XIII. CL50 moyenne des différents ordres d'insectes (n est égal au nombre de taxons testés).

Ordre d'insectes	*n*	*Amplitude*	*CL50 moyenne (mS.cm^{-1})*
Diptères	4	7,8 - 39,2	21,9 ± 13,1
Ephéméroptères	8	2,3 - 13,8	7,0 ± 4,3
Hétéroptères	3	12,4 - 27,0	22,1± 8,3
Odonates	5	27,3 - 43,0	33,0 ± 6,1
Trichoptères	14	2,1 - 29,7	16,4 ± 7,3
Divers*	4	19,9 - 41,6	25,6 ± 10,6

* coléoptères, mégaloptères, lépidoptères, plécoptères

II.2.3. Tolérance des espèces exotiques vs espèces autochtones

Lors de l'étude de la biodiversité des communautés de macroinvertébrés de la Meurthe (Chapitre III, § II.1), nous avons mis en évidence l'installation d'espèces exotiques sur le site le plus salé. Une comparaison des tolérances des espèces de crustacés et mollusques autochtones à celles des espèces exotiques **(Figure 22)**, montre clairement que les espèces

exotiques sont plus tolérantes à la salinité que les espèces autochtones (procédure de Mantel, $p = 0{,}036$).

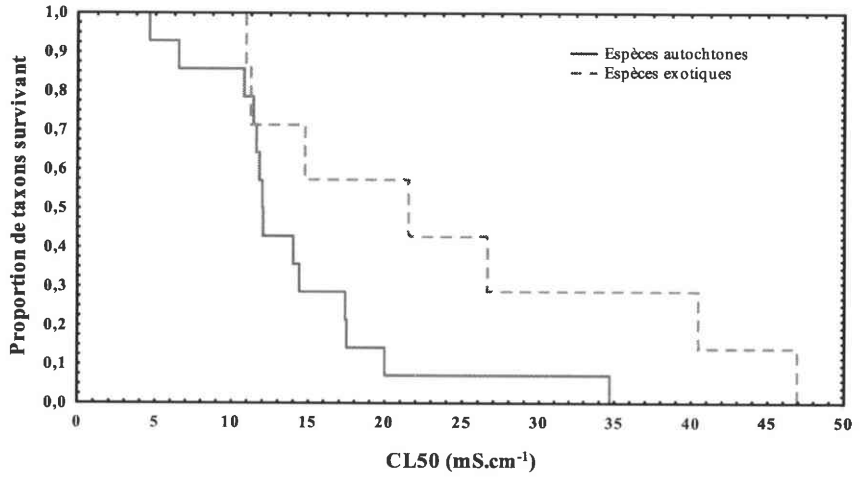


Figure 22. Fonction de Kaplan-Meier pour les mollusques et les crustacés autochtones et exotiques.

II.2.4. Comparaison avec les macroinvertébrés australiens

Les données de la faune australienne sont issues des travaux de Kefford *et al.* (2003) en utilisant le même protocole sur 59 taxons (15 communs et 44 rares) répartis dans les différents groupes de macroinvertébrés. Cette comparaison est le fruit d'un début de collaboration engagée en 2003 avec cette équipe. Des travaux complémentaires en cours avec cette équipe et d'autres en Afrique du Sud et en Israël devraient permettre d'étoffer cette approche. La comparaison des faunes française et australienne **(Figure 23)** montre clairement que la faune australienne dans son ensemble est plus tolérantes que la faune française ($p = 0{,}008$).

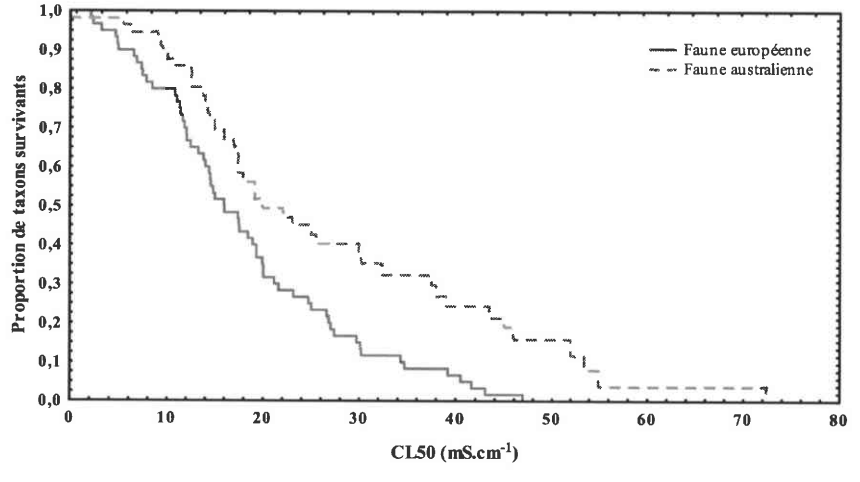


Figure 23. Fonction de Kaplan-Meier pour les taxons français et australiens.

Toutefois, la comparaison de taxons communs aux faunes française et australienne **(Tableau XIV)** met en évidence des tolérances relativement proches entre les deux faunes. La plupart des taxons montre des tolérances relativement similaires et celles-ci ne diffèrent fortement que pour les hydracariens pour la France et l'Australie (respectivement de 19,3 et 39,0 $mS.cm^{-1}$), les Chironomidae (23,1 et 10,0 $mS.cm^{-1}$) et les Polycentropodidae (21,7 et 9,5 $mS.cm^{-1}$).

Tableau XIV. Comparaison de la tolérance moyenne à la salinité de taxons français et australiens.

Ordre/Classe	*Famille*	*France*	*Australie*
Hydracariens		19,3	39,0
Triclades	Dugesiidae	11,6	14,2
Achètes	Glossiphonidae	11,4	13,8
Gastéropodes	Physidae	11,3	14,0
Gastéropodes	Ancylidae	4,6	9,0
Gastéropodes	Lymnaeidae	11,4	12,6
Décapodes	Atyidae	34,7	38,0
Diptères	Chironomidae	23,1	10,0
Ephéméroptères	Baetidae	10,3	5,8
Hétéroptères	Corixidae	27,0	19,4
Odonates	Caenagrionidae	43,0	50,5
Trichoptères	Leptoceridae	19,6	22,0
Trichoptères	Hydropsychidae	16,9	>13,5
Trichoptères	Polycentropodidae	21,7	9,5

II.3. Discussion et conclusion

Les macroinvertébrés testés lors de notre étude ont des CL50 qui varient entre 2,1 $mS.cm^{-1}$ pour *Rhyacophila dorsalis* et 46,9 $mS.cm^{-1}$ pour *Orconectes limosus*. La tolérance à la salinité est relativement importante en étant supérieure à 20,0 $mS.cm^{-1}$ pour un tiers des taxons testés et dépasse même la salinité de la mer ($\approx$ 45 $mS.cm^{-1}$) pour l'espèce la plus halotolérante. Cette tolérance dépasse, pour la plupart des taxons, les valeurs de salinité de la Meurthe dont la valeur maximale observée en 2002 n'est que de 4,36 $mS.cm^{-1}$ (Piscart *et al.*, *sous presse*). Cependant nous avons étudié la tolérance à la salinité à l'aide de tests de toxicité aiguë (72h) et les effets à long termes, sub-létaux et les effets indirects (sur la fécondité par exemple) pourraient apparaître à des concentrations plus faibles (Kefford, 2004a).

L'étude de la biodiversité des macroinvertébrés de la Meurthe montre que la salinité affecte fortement la structure et la composition des communautés de macroinvertébrés à partir de concentrations >1,4 $g.L^{-1}$ soit environ 1,8 $mS.cm^{-1}$ (cf Chapitre III). Plusieurs études corroborent ces résultats, Hart *et al.* (1990, 1991) ont suggéré que des salinités supérieures à 1,0 $g.L^{-1}$ soit environ 1,4 $mS.cm^{-1}$ affectent significativement les macroinvertébrés. Il n'est

toutefois pas possible de montrer à l'aide de tests de tolérance à court terme que la salinité et le seul facteur intervenant et si des effets indirects ou d'autres facteurs n'influencent pas les communautés de macroinvertébrés de la Meurthe.

Dans la plupart des études de communautés, il y a un faible nombre de taxons communs et un nombre important d'espèce rares. Il est donc important de prendre en compte la tolérance de ces espèces dans l'évaluation des tolérances des communautés de macroinvertébrés, même si l'obtention de ces données ne peut être très précise. L'approche retenue a privilégié l'estimation de la tolérance d'un nombre important de ces espèces ce qui a permis d'avoir une image relativement correcte de la gamme de tolérance de l'ensemble des groupes taxonomiques des macroinvertébrés. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de différences significatives entre la tolérance des taxons rares et des taxons communs alors qu'en Australie, Kefford *et al.*, (2003) ont montré que les espèces rares sont nettement plus halotolérantes que les espèces communes. Cette différence est dû au fait que dans notre étude, les espèces rares appartenant à des groupes tolérants, comme les coléoptères et les odonates, sont associées dans les communautés de macroinvertébrés à des espèces rares sensibles chez les éphéméroptères et les mollusques. Dans leur étude, Kefford *et al.* (2003) avaient une majorité d'espèces rares (23 sur 45 taxons rares testés) appartenant aux Hétéroptères, Odonates, Coléoptères et Crustacés qui représentent les groupes d'invertébrés australiens les plus tolérants alors qu'ils n'avaient qu'un seul Ephéméroptère et 7 Mollusques. Cette différence de composition explique la plus forte tolérance à la salinité des taxons rares qu'ils ont observée.

De plus, bien que de manière générale les taxons australiens soient plus tolérants que les taxons français, cette différence semble essentiellement due au fait que les communautés macrobenthiques australiennes comportent un plus grand nombre de crustacées et d'odonates appartenant aux groupes les plus halotolérants (Kefford *et al.*, 2003). La comparaison à des niveaux systématiques tel que celui de la famille montre que les deux types de faune sont en réalité très proches et les sensibilités comparées pour une même famille ne montrent pas de différences significatives. Ainsi, la sensibilité relative des grands groupes français ou australiens sont identiques et montre clairement que les Crustacés et les Odonates sont plutôt halotolérants alors que les Ephéméroptères et les Mollusques sont le plus souvent sensibles.

En ce qui concerne les différences entre groupes taxonomiques, nos données confirment celles de Kefford *et al.* (2003) en montrant que les non arthropodes sont nettement plus sensibles à la salinité que les arthropodes. Dans un milieu à forte salinité, il ne semble donc pas que les mollusques à coquilles soient favorisés bien que la présence de calcium leurs

soit indispensables (Dussart, 1979). Ainsi, nous n'avons pas pu mettre en évidence de différences de sensibilité entre les Gastéropodes et d'autres groupes sans coquille comme les Achètes, les Gastéropodes Pulmonés (genres *Radix*, *Lymnaea*, *Physa* ou *Ancylus*) étant même plus sensibles que les Achètes ou les Prosobranches. Berezina (2003) montre les mêmes tendances en évaluant la tolérance à la salinité pendant 15 jours à 18°C de Gastéropodes Prosobranches (*Bithynia tentaculata*, *Planorbis planorbis*), pulmonés (*Lymnaea ovata*) et d'Achètes (*Helobdella stagnalis*, *Erpobdella octoculata*). De même, des études réalisées au Etats-Unis sur des Achètes Hirudinae ont montré que de forts niveaux de salinité limitaient leurs aires de distribution (Scudder et Mann, 1968 ; Herrman, 1970). Toutefois certaines études ont montré que des Gastéropodes comme les Hydrobiidae pouvaient fermer leurs opercules et survivre, à court terme, à des niveaux de salinité importants (Winterbourn, 1970). Certains Achètes, comme *Poecilobdella viridis* présente aussi une forte tolérance à la salinité avec une CL50 à 24h de 15,4 $g.L^{-1}$ (Kulkarni *et al.*, 1977). Nous avons peu d'informations concernant les Triclades, mais nos résultats corroborent ceux de Berezina (2003) qui montre que *Dugesia tigrina* est extrêmement sensible à la salinité avec une gamme de tolérance inférieure à 2,2 $g.L^{-1}$. Les espèces appartenant à ce groupe peuvent donc être considérées comme de bons indicateurs de changements faunistiques liés à une salinisation.

Les insectes ont une tolérance très variable en fonction des taxons considérés. Les Ephéméroptères constituent le groupe le plus sensible à la salinité ce que corroborent de nombreuses études (Hart *et al.*, 1990, 1991 ; Short *et al.*, 1991 ; Bunn et Davies, 1992 ; Gallardo-Mayenco, 1994 ; Leland et Fend, 1998 ; Kefford, 2000, Kefford *et al.*, 2003). Nos résultats concernant les Coléoptères, les Lépidoptères et les Plécoptères ne sont pas précis car une seule espèce par groupe a été testée. Toutefois, ces résultats sont en accord avec les données de la bibliographie où ces groupes sont considérés comme tolérants à la salinité (Hynes, 1966 ; Hart *et al.*, 1991 ; Williams *et al.*, 1990 ; Gallardo-Mayenco, 1994 ; Kefford *et al.*, 2003). Les Hétéroptères ont des tolérances relativement proches des Coléoptères et des Plécoptères, nos résultats montrent une tolérance similaire à celle de la littérature (Knowles et Williams, 1973 ; Kefford *et al.*, 2003). Le groupe des Odonates est le groupe le plus halotolérant testé parmi les insectes, il présente des tolérances très fortes (> $20g.L^{-1}$) surtout pour certains Zygoptères (Caenagrionidae, Calopterygidae) dont la tolérance est supérieure à celles des Anisoptères (Gomphidae). Les données de Kefford *et al.* (2003) confirment une plus forte tolérance des odonates et montrent que les Zygoptères sont plus halotolérants que les Anisoptères.

Les Diptères et les Trichoptères sont des groupes très riches présentant de fortes différences de tolérance. Ces deux groupes comprennent à la fois des taxons très sensibles comme les *Simulini* sp. (CL50 = 7,8 $mS.cm^{-1}$) pour les diptères et *R. dorsalis* (CL50 = 2,1 $mS.cm^{-1}$) pour les Trichoptères, et des taxons très tolérants comme les Empididae (CL50 = 39,2 $mS.cm^{-1}$) et *Brachycentrus subnubilius* (CL50 = 29,7 $mS.cm^{-1}$). Il est donc difficile de les classer comme tolérants ou sensibles. Notons toutefois que certains Diptères comme les *Tanytarsus* sp. ont été observés à des salinités de 102 $g.L^{-1}$ (Williams *et al.*, 1990).

Les Crustacés que nous avons testés sont les plus tolérants des macroinvertébrés bien que les Amphipodes montrent une importante variabilité intragénérique avec des espèces peu tolérantes comme *G. roeseli* (CL50 = 11,0 $mS.cm^{-1}$) et des espèces très tolérantes comme *G. tigrinus* (CL50 = 40,5 $mS.cm^{-1}$). Mais, quels que soient les groupes concernés, la tolérance aux sels des Crustacés, peut dépasser 300 $g.L^{-1}$ pour les microcrustacés (Williams *et al.*, 1990) et 75 $g.L^{-1}$ pour certains Amphipodes (Lim et Williams, 1971), ce qui reste très important.

Dans l'étude de la biodiversité des macroinvertébrés de la Meurthe, une des observations due à l'augmentation de la salinité fut l'introduction et l'installation quelques fois massive d'espèces exotiques. Les implantations peuvent alors fortement perturber l'intégrité des écosystèmes aquatiques (Lövei, 1997). Le rôle de la salinité dans ce processus est assez bien connu (Lee et Bell, 1999). La tolérance à la salinité de ces taxons favorise probablement leurs transferts entre leurs écosystèmes d'origines et l'écosystème receveur. Au niveau intercontinental, les taxons bénéficient de fortes tolérances à la salinité pour survivre dans les eaux de ballasts des navires (Niimi et Reid, 2003). Pour des transferts intracontinentaux, lors de leurs dispersions, les individus sont confrontés à une modification de la salinité du milieu en remontant ou en descendant les cours d'eaux, tout particulièrement dans le cas des espèces ponto-caspiennes, originaires d'une zone à forte salinité de 1 à 12 $g.L^{-1}$ pour la mer d'Azov et la mer Caspienne et de 13 à 22 $g.L^{-1}$ pour la mer Noire (Reid et Orlova, 2002). Nos données confirment la plus forte tolérance à la salinité des taxons exotiques qui pourrait expliquer leur succès dans la Meurthe.

Chapitre V : Utilisation de l'asymétrie fluctuante pour la mise en évidence du rôle de la salinité.

Les mesures d'asymétrie fluctuante sont considérées comme de bons indicateurs d'instabilité de développement chez de nombreux groupes zoologiques. Au cours de ce travail, nous avons utilisé l'asymétrie fluctuante afin i) de vérifier si la salinité affecte le développement des organismes soumis à un stress salin, ce qui pourrait expliquer les réductions d'abondance des espèces sensibles observés le long du gradient salin ; ii) de tester un outil rapide pour la surveillance et la gestion de populations susceptibles d'être soumises à une stress salin.

I Introduction

I.1. Qu'est-ce que l'asymétrie fluctuante

L'asymétrie fluctuante (AF), définie pour la première foi en 1962 (Van Valen, 1962), correspond à une subtile différence de symétrie de caractères bilatéraux tels que la longueur de deux fémurs ou le nombre de soies sur des tibias. Bien qu'un faible niveau d'asymétrie de ces caractères puisse être considéré comme naturel, au-delà d'un certain seuil, cette asymétrie résulte d'une instabilité du développement de l'individu (Palmer et Strobeck, 1986, 1992 ; Houle, 2000). L'ampleur des déviations par rapport à la symétrie naturelle mesure ainsi directement l'aptitude de l'individu à faire face à son environnement, compte tenu de ses antécédents génétiques. Elle fournit donc un outil pour explorer la manière dont les individus, quelle que soit leur appartenance zoologique, gèrent leur rapport à l'environnement.

L'évaluation de l'asymétrie fluctuante peut se faire sur un petit nombre d'individus et l'origine et le nombre de facteurs stressants pouvant influencer l'animal n'ont pas besoin d'être connus. C'est essentiellement pour ces deux raisons que l'analyse du niveau d'asymétrie est devenue très populaire au sein de la communauté scientifique. Au cours des deux dernières décennies, de nombreux auteurs ont développé l'utilisation de ces instabilités de développement en tant qu'indicateurs biologiques précoces d'évaluation d'un impact environnemental (Leavy et Allendorf, 1989 ; Parsons, 1990 ; Clarke, 1993 ; Palmer, 1994 ; Møller et Swaddle, 1997 ; Leung *et al.*, 2000), mais aussi en tant que critère majeur de sélection et d'évaluation de la *fitness* chez la plupart des groupes zoologiques (Møller,1999 ; 2000 ; Watson et Thornhill, 1994 ; Lens *et al.*, 2002).

Bien que l'efficacité des techniques et l'affinement des analyses statistiques aient fait l'objet de nombreuses études visant à optimiser son utilisation (Palmer, 1994 ; 1996 ; Palmer et Strobeck, 1986, 2003 ; Merilä et Björklund, 1995 ; Whitlock, 1998 ; Van Dongen, 1999), les résultats concernant l'asymétrie fluctuante sont encore très diversifiés et les désaccords

entre auteurs nombreux (Clarke, 1998 ; Bjorksten *et al.*, 2000 ; Leung *et al.*, 2003). Nous proposons ici de faire une synthèse des résultats obtenus ces dernières années focalisée sur les milieux aquatiques continentaux et d'exposer les perspectives apportées par cet outil dans la surveillance du processus de salinisation.

I.2. Bilan des connaissances sur l'utilisation de l'AF en milieu aquatique

I.2.1. AF comme révélateur de stress environnementaux.

I.2.1.1. L'asymétrie fluctuante chez les poissons

L'AF de poissons d'eau douce a fait l'objet d'un nombre important d'études sur sa capacité à révéler un stress environnemental qu'il soit d'origine naturelle ou anthropique. Ainsi, le niveau d'asymétrie des adultes de l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) dans l'écosystème originel de l'archipel Haida Gwaii (Colombie britannique, Canada) est corrélé avec le pH et la couleur de l'eau (Bergstrom et Reimchen, 2002). De même, chez les perches (*Perca fluviatilis*) des lacs acides de Norvège, le niveau d'asymétrie est plus important que celui observé dans les lacs non acides (Øxnevad *et al.*, 2002). Cependant, chez la truite brune *Salmo trutta L.* de lacs acides de Norvège, aucune différence d'asymétrie entre les truites des lacs acides (pH = 5) et celles des lacs non acides (pH = 7) n'a pu être mise en évidence (Vøllestad et Hindar, 2001).

Des travaux basés sur l'asymétrie des nageoires et des branchies de *S. trutta* dans 6 rivières des Asturies (Espagne) dégradées par des rejets organiques d'origine humaine, ont mis en évidence une augmentation de l'asymétrie en fonction du degré de stress (Sanchez-Galan *et al.*, 1998).

L'utilisation de l'asymétrie fluctuante de certains poissons a également été proposée comme bioindicateur de contamination par des insecticides de types organophosphorés (parathion) et organochlorés (lindane) à partir de résultats expérimentaux obtenus sur le *Gambusia affinis* et l'Ide américaine (*Notropis ludibundus*) (Allenbach *et al.*, 1999). Il est toutefois difficile de généraliser ces résultats à d'autres types de stress du fait du faible nombre d'études réalisées à ce jour

I.2.1.2. Asymétrie fluctuante chez les macroinvertébrés

Les macroinvertébrés sont de loin le groupe le plus largement utilisé en tant que bioindicateur de perturbations environnementales ou anthropiques. L'utilisation systématique

de ces organismes dans la surveillance environnementale depuis plusieurs décennies entraîne de se fait un engouement important de la part des scientifiques.

a) Stress d'origine naturelle

Parmi les facteurs stressant d'origine naturelle, le plus étudié est la température. Plusieurs études montrent ainsi que des stress thermiques importants peuvent entraîner des instabilités de développement. Récemment, Servia et al. (2004) ont mesuré une augmentation du niveau d'asymétrie des larves du Diptère *Chironomus riparius* soumises a une augmentation de 8°C de la température de l'eau dans un étang de Galice (Espagne). Des travaux réalisés sur des crustacés (*Asellus aquaticus*) élevées en conditions thermiques stressantes à 27°C et en condition normale de température (16°C) mettent en évidence une asymétrie supérieure chez les individus stressés (Savage et Hogarth, 1999).

Des stress plus faibles de l'ordre de +3.5°C subits par des larves de Plécoptères *Nemoura trispinosa* dans des rivières de l'Ontario (Canada) ne semblent pas modifier l'asymétrie des adultes (Hogg *et al.*, 2001). Ainsi, le manque de sensibilité de cette approche pour une variation de température ne permet pas d'envisager son utilisation dans le cadre d'un suivi des effets biologiques de changement climatiques.

D'autres facteurs stressant comme le manque de nourriture peuvent aussi engendrer des instabilités de développement mesurables via l'asymétrie fluctuante. Ainsi, un stress nutritionnel des larves des libellule *Lestes sponsa* (Odonata : Lestidae) entraîne une augmentation du niveau d'asymétrie des adultes (Stoks, 2001).

b) Stress d'origine anthropique

De nombreuses études récentes concernent l'utilisation de l'AF des macroinvertébrés en tant que révélateur d'un stress anthropique. Ainsi, un effet du Carbaryl sur le niveau d'asymétrie des ailes de l'adulte de *Xathocnemis zealandica* (Odonata : Coenagrionidae) a pu être mise en évidence (Hardersen et Wratten, 1998 ; Hardersen et Frampton, 1999 ; Hardersen, 2000a). De la même façon, l'étude des larves d'*Hydropsyche morosa* (Trichoptera : Hydropsychidae) prélevées entre les années 1951 et 1999 dans quatre rivières de l'Ontario montre une corrélation entre le niveau de nitrates, la conductivité, la concentration en chlorures de ces rivières au fil du temps et le niveau d'asymétrie des larves (Bonada et Williams, 2002).

D'autres études sur des larves de *Chironomus riparius* ont permis de lier le niveau d'asymétrie des larves à différents types de perturbation (organique, chlorure, nitrite et

ammonium, rejet industriel) (Servia *et al.*, 2004). Néanmoins aucune comparaison avec un site de référence ne permet de conclure sur les différences induites par les différents stress. L'asymétrie des ailes de *Hexagenia rigida* (Ephemroptera : Hexagenidae) du lac Erie (Etats-Unis) ne semble pas corrélée à la teneur en PCB du lac (Dobrin et Corkum, 1999). De même une étude réalisée sur le moustique *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae) n'a pas pu montrer d'augmentation de l'AF en relation avec une exposition à un insecticide organophosphoré tel que le Témephos (Mpho *et al.*, 2001).

I.2.2. Correspondance entre AF et fitness

I.2.2.1. Lien entre le niveau d'AF et le comportement

Les relations entre l'asymétrie et le comportement ont largement été étudiées pour l'ensemble des grands groupes zoologiques. Dans le milieu aquatique les études sont concentrées sur le groupe des Odonates (Demoiselles et Libellules) comprenant de nombreuses espèces à valeur patrimoniale. La plupart de ces études concerne les liens entre l'AF et la sélection des males par les femelles. Ainsi les femelles d'*Ishnura elegans* (Odonata : Coenagrionidae) s'accouplent préférentiellement avec les mâles les moins asymétriques (Carchini *et al.*, 2000). De même, les mâles accouplés de *Calopteryx maculata* (Odonata : Calopterygidae) sont moins asymétriques que le reste de la population (Beck et Pruett-Jones, 2002). Néanmoins, il parait hasardeux d'y voir une relation générale entre l'AF et la sélection sexuelle. En effet, deux autres études réalisées par les mêmes auteurs sur *Coenagrion scitulum* (Odonata : Coenagrionidae) (Carchini *et al.*, 2001) et sur les couples de *Xathocnemis zealandica* (Odonata : Coenagrionidae) de Nouvelle-zélande (Hardersen, 2000b) n'ont pas pu établir de lien entre l'asymétrie des mâles et la fréquence d'accouplement.

Le niveau d'asymétrie des mâles ne semble donc pas être un critère général de sélection par les femelles. Les résultats contradictoires obtenus peuvent avoir comme explication l'intensité de sélection dans les différents sites étudiés. Ainsi, chez un poisson lacustre (Cyprinodon pecosensis) originaire du sud-ouest des Etats-Unis, la sélection des males les moins asymétriques n'est observée que dans les lacs présentant une forte compétition entre mâles alors qu'aucune sélection n'est observée dans les lacs ou la compétition est faible (Kodric-Brown, 1997).

I.2.2.2. Lien entre le niveau d'AF et les traits de vie

Les traits de vie sont les caractéristiques bio/écologiques d'une population qui lui permettent de se pérenniser. Comme pour le comportement, les études sur les traits de vie et l'AF sont concentrées sur les Odonates.

Ainsi, le niveau d'AF des adultes de *Coenagrion puella* (Odonata : Coenagrionidae) est lié à la présence de larves d'un ectoparasite du type *Arrenurus* (Hydrachnida : Arrenuridae) (Bonn *et al.*, 1996). Néanmoins, ces résultats sont en contradiction avec d'autres études sur le parasitisme de *Lestes forcipatus* (Odonata : Lestidae) par des larves d'*Arrenurus planus* (Yourth *et al.*, 2002). De même la relation entre l'AF et l'immunocompétence des males qui a pu être établie chez *Calopteryx splendens* (Odonata : Calopterygidae) (Rantala *et al.*, 2000), ne l'a pas été chez *Lestes forcipatus* (Yourth *et al.*, 2002), ni chez *Enallagma ebrium* (Odonata : Coenagrionidae) (Leung et Forbes, 1997). Enfin ni le taux de survie de *Calopteryx* maculata (Beck et Pruett-Jones, 2002), ni la longévité de *Enallagma ebrium* (Leung et Forbes, 1997) ne semblent liés au niveau d'asymétrie.

En ce qui concerne l'épinoche à 3 épines (*Gasterosteus aculeatus*) de Colombie britannique, les individus asymétriques et les individus non asymétriques ne présente pas de différences de longévité mais les poissons asymétriques sont plus parasités que les autres sur environ deux tiers des sites étudiés (Bergstrom et Reimchen, 2002). Une étude antérieure sur la même espèce montre que l'asymétrie des plaques latérales de ce poisson joue un rôle important dans la défense contre les prédateurs ; les individus les plus asymétriques seraient plus sensibles à la prédation entraînant de ce fait la sélection des individus symétriques en présence de prédateurs (Bergstrom et Reimchen, 2000). Ces résultats pourraient alors expliquer le fait que le lien entre l'asymétrie et des indicateurs d'immunocompétence, dont le parasitisme est un révélateur, n'ait pas été observé sur l'ensemble des sites. Enfin Øxnevad *et al.* (2002) n'ont pas pu mettre en évidence de liens entre la survie, la capacité reproductrice et le niveau d'AF chez la perche (*Perca fluviatilis*).

I.3. Conclusion sur l'utilisation de l'AF en milieu aquatique

Le domaine d'application de l'asymétrie fluctuante semble très vaste et les enjeux des études s'y rapportant ne font aucun doute. Néanmoins, malgré le grand nombre d'études sur l'asymétrie, les résultats en milieux aquatiques sont très diverses et souvent contradictoires. Cette hétérogénéité est en grande partie due aux mécanismes génétiques d'instabilité du développement (le processus ontogénique à la base d'une asymétrie) encore largement

méconnus. De plus, les facteurs épigénétiques intervenant sur les organismes lors de leur développement sont multiples et compliquent l'interprétation des résultats (Klingenberg, 2003).

La méconnaissance de l'ensemble de ces facteurs peut induire des conclusions fausses ou trop simplistes par rapport au contexte réel de la part de leurs auteurs. On peut illustrer ce cas de figure par l'exemple de l'épinoche à trois épines. Plusieurs études ont montré que le niveau de parasitisme des individus âgés est corrélé à leur asymétrie, mais une étude effectuée sur 9089 épinoches sur 15 ans a montré par la suite que ce lien n'existait pas pour de jeunes individus. En fait, la réduction de l'asymétrie observée chez les poissons de l'année peut s'expliquer par des facteurs écologiques plutôt que par des différences d'immunocompétence. Les individus de l'année ont un mode de vie plus benthique que les individus âgés, ce qui pourrait avoir pour effet de réduire la probabilité de contact avec des copépodes pélagiques, hôtes primaires des cestodes *Schistocephalus solidus*, et, de ce fait, donner lieu a des taux d'infection plus faibles que chez les poissons pélagiques. Ces résultats expliquent le renversement du parasitisme relatif observé chez cette population et laissent croire que des différences dans l'immunocompétence des individus est à l'origine de l'asymétrie observée alors qu'il ne s'agit que de modifications comportementales liées à l'âge (Reimchel et Nosil, 2001).

Cet exemple illustre la complexité d'interprétation des résultats qui s'ajoute encore aux difficultés rencontrées dans la mise en place des protocoles d'analyse d'AF. Cette complexité dans l'analyse et le traitement des données issues de ces études peut ainsi expliquer les résultats contradictoires souvent rencontrés dans ce type d'analyse. L'utilisation de l'AF comme outil d'interprétation de la qualité des eaux ou de la qualité des populations en place doit tenir compte de ces difficultés et nécessite de nombreuses études complémentaires tant au niveau génétique qu'écologique afin de mieux appréhender les mécanismes qui interviennent dans le développement et l'évolution de ces populations. C'est dans ce but que nous avons décidé de tester l'application de cet outil dans l'évaluation du rôle de la salinité sur des populations de macroinvertébrés.

II Utilisation de l'AF dans l'évaluation du rôle de la salinité

Nous avons estimé le niveau d'AF de larves âgées de trois insectes (*Calopteryx splendens*, *Hydropsyche contubernalis* et *Hydropsyche exocellata*) échantillonnés le long du gradient de salinité de la Meurthe. Puis le niveau d'AF de larves jeunes d'*Hydropsyche* et de Gammaridae ont été étudiées dans le but de mettre en évidence d'éventuelles différences inter-stades de sensibilité aux perturbations.

II.1. Matériel et méthodes

II.1.1. Mesure de l'asymétrie fluctuante

Les macroinvertébrés échantillonnés sont conservés dans du formaldéhyde à 4 % avant analyse. Pour les mesures d'asymétrie, les pièces anatomiques sont précautionneusement disséquées puis montées entre deux lames de microscopes. Les lames sont ensuite positionnées sur une loupe binoculaire équipée d'une caméra CCD haute définition (IAC 500 of i2S™). La caméra, branchée sur un ordinateur, permet l'enregistrement de photographies numériques. Comme le niveau d'asymétrie fluctuante est généralement de l'ordre de quelques pourcents (Møller et Swaddle, 1997), il est essentiel d'avoir une mesure précise. Dans notre étude, la mesure des segments est effectuée trois fois (en aveugle) sur les photographies à l'aide du logiciel Scion Image (Scion corporation™).

Des larves d'*H. contubernalis* et d'*H. exocellata* ont été échantillonnées en 2002 et 2003 sur trois sites de la Meurthe (DAM, STNIC et ART). Nous avons réalisé 500 mesures de capsules céphaliques de larves de différentes tailles afin de déterminer une relation allométrique qui permette de définir le stade larvaire de l'individu. Une décomposition polymodale selon la méthode de Bhattacharya (1967) nous a permis de déterminer la taille des capsules céphaliques correspondant aux cinq stades larvaires des *Hydropsyche* **(Tableau XV)**. Pour *Calopteryx splendens*, le nombre de larves étant trop faibles pour réaliser la décomposition, seule les larves les plus grandes ont été analysées.

Tableau XV. Longueur (moyenne ± écart-type) de la capsule céphalique des différents stades larvaires *d'Hydropsyche contubernalis* et *Hydropsyche exocellata* de la Meurthe.

Stade larvaire	Longueur moyenne ± écart-type	
	H. contubernalis	*H. exocellata*
I	0,48 ± 0,05	0,57 ± 0,07
II	0,64 ± 0,09	0,88 ± 0,09
III	1,02 ± 0,11	1,21 ± 0,09
IV	1,53 ± 0,14	1.70 ± 0,12
V	1,86 ± 0,10	2,03 ± 0,08

II.1.2. Analyse statistique

Les calculs et les traitements statistiques sont effectués suivant la procédure de Palmer et Strobeck (1994, 2003). Les données ont d'abord été vérifiées afin de retirer les valeurs significativement aberrantes correspondant à des valeurs anormales d'asymétrie mesurée de certains segments (Palmer et Strobeck, 2003). Lorsque des valeurs aberrantes sont trouvées, la photographie du segment concernée est mesurée de nouveau et si l'erreur ne peut être corrigée, l'ensemble des mesures de cet individu est rejeté.

La seconde étape consiste à tester l'absence d'asymétrie directionnelle ou d'anti-symétrie. Pour cela, la normalité des valeurs (Droite – Gauche) est vérifiée pour chaque segment sur chaque station à l'aide d'un test de Kolmogorov-Smirnov afin de montrer l'absence d'anti-symétrie dans nos données. L'absence d'asymétrie directionnelle est vérifiée à l'aide d'un test t en comparant la moyenne des valeurs (Droite – Gauche) à zéro. Lorsque la moyenne est égale à zéro, nous pouvons alors parler d'asymétrie fluctuante.

L'étape suivante correspond à l'étude des erreurs de mesures. Pour avoir une estimation du niveau d'asymétrie fluctuante dans la population, la variabilité entre côtés (gauche et droit) due à l'asymétrie fluctuante doit être significativement plus importante que la variabilité due aux erreurs de mesures (ME). Pour le vérifier, nous réalisons une ANOVA II (cotés x individus) sur mesures répétées (3 réplicats de mesures). D'autre part l'indice de reproductibilité ME4 et l'erreur de mesure ME3 définis par Palmer et Strobeck (2003) sont calculés, sur la base des résultats de l'ANOVA II précédente, pour chaque segment sur chaque station.

Finalement, les différences entre les niveaux d'asymétries sont testées, soit par des ANOVA II sur les valeurs |ln(Droite) – ln(Gauche)| afin de pouvoir comparer des segments de tailles différentes, soit par le calcul de différents indices d'asymétrie multisegment comme le FA17 (Palmer et Strobeck, 2003) égale à $\Sigma|\ln(D_i)-\ln(G_i)|$/nombre de segments) ou par des indices par segment comme le FA2 (Palmer et Strobeck, 2003) égale à $|(D_i-G_i)/[(D_i+G_i)/2)]|$. Lorsque l'erreur de mesure reste constante et ne varie pas avec la longueur du segment mesuré, nous avons utilisé la moyenne, pour l'ensemble des individus de la station de l'indice $FA10b = 0{,}798\sqrt{2\sigma i^2}$ où σ_i^2 est la variance estimée de l'instabilité de développement pour un côté de l'individu *i*.

II.2. Résultats et discussion

II.2.1. Les larves d'insectes de stades âgés

Nous avons utilisé l'asymétrie fluctuante (AF) afin d'étudier l'impact de la salinisation à un niveau sub-létal qui pourrait expliquer en partie les changements d'abondance chez certaines populations. En effet nous avons observé ce type de changement lors de notre étude sur les populations de trichoptères à filets (Chapitre IV, §I). Afin de voir si l'AF pouvait être utilisée comme bioindicateur de stress salin, nous avons donc sélectionnés trois insectes **(Figure 24a,b,c)** dont l'abondance varie en fonction de la salinité (*Hydropsyche contubernalis*, *Hydropsyche exocellata* et *Calopteryx splendens*). Les larves d'*H. contubernalis* et de *C. splendens* présentent d'importantes diminutions d'abondance en fonction de la salinité alors que l'abondance d'*H. exocellata* augmente avec la salinité. En outre ces trois espèces sont particulièrement intéressantes pour l'étude des stress environnementaux et la biologie de la conservation puisque les *Hydropsyche* sont parmi les macroinvertébrés les plus largement répandus dans les hydrosystèmes et les Odonates représentent des espèces à valeurs patrimoniales importantes.

Piscart C., Moreteau J.C. et Beisel J.N.

"Fluctuating asymmetry of natural populations of aquatic insects along a salinity gradient?"

Aquatic Sciences, soumis en 2005 **(Annexe IX)**

Résumé

Des larves de stades âgés, généralement utilisées dans la littérature (§ II.1.2.) ont été échantillonnées en 2002 et 2003 sur trois stations réparties le long du gradient de salinité de la Meurthe (DAM, STNIC et ART) et leurs niveaux d'asymétrie ont été estimés à partir de six caractères morphologiques pour les *Hydropsyche* (les longueurs des tibias et fémurs des trois paires de pattes) et de trois caractères morphologiques pour *Calopteryx splendens* (les longueurs des trois fémurs) sur un minimum de 30 larves par station.

Nos résultats permettent de valider notre méthode de mesure et d'évaluation de l'AF avec de faibles niveaux d'incertitude et une bonne répétabilité des mesures. Cependant, le niveau d'AF des larves reste constant le long du gradient salin pour *H. contubernalis* et *C. splendens*. Pur les larves d'*H. exocellata*, on observe un niveau d'AF plus faible pour le site

de salinité intermédiaire. Cependant nous n'avons pas pu mettre en évidence de relation entre le niveau d'asymétrie des larves âgées et la salinité.

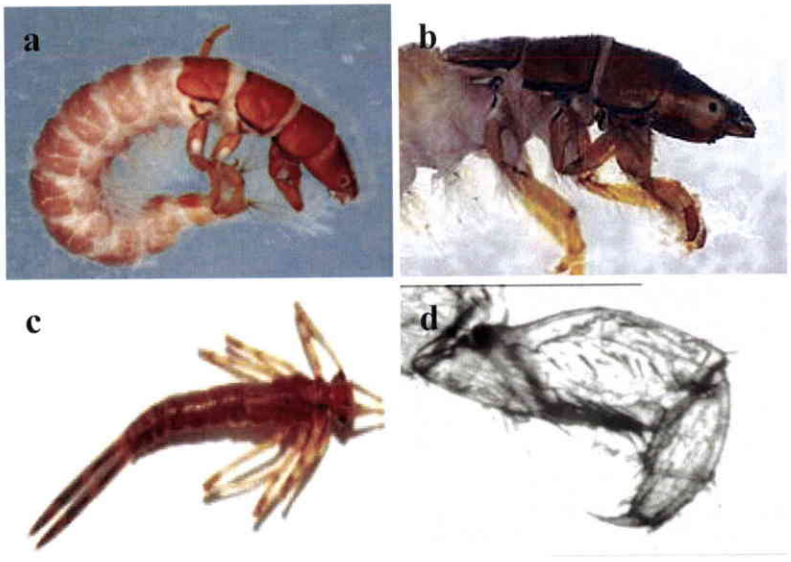


Figure 24. Photographies des larves utilisée pour les mesures d'asymétrie fluctuantes : (a) *H. contubernalis*, (b) *H. exocellata* ; (c) *C. splendens* et (d) exemple de photographie numérique d'une patte de *H. contubernalis*.

II.2.2. Cas des larves d'Hydropsyche de stade III

Les résultats concernant l'asymétrie des larves de stades âgés ne permettent pas de mettre en évidence l'impact du stress salin sur leur développement. Des études de tolérance expérimentale à la salinité ont montré que les stades les plus jeunes ont tendance à être plus sensible que les stades âgés (Kefford et al. 2004a). Nous avons donc regardé le niveau d'asymétrie fluctuante de larves de stades plus jeunes susceptibles d'être plus sensibles au gradient de salinité. Pour cela, nous avons utilisés des larves d'*H. contubernalis* et *H. exocellata* de stades III car les stades plus jeunes sont difficilement échantillonnables en nombre suffisant. En excluant l'asymétrie directionnelle et l'anti-symétrie, nos résultats montrent que nous avons bien une asymétrie fluctuante chez les larves des deux espèces. Notre erreur de mesure évalué par l'indice ME3 est très faible **(Tableau XVI)** et reste inférieure à 5 % dans la plupart des cas, à l'exception des mesures d'*Hydropsyche* du site STNIC où des valeurs légèrement supérieures qui vont jusqu'à 12,5 % sont observés. Cette fiabilité de mesure se traduit également par une bonne reproductibilité de nos mesures (ME4) qui va de 84,6 à 99,7 % pour *H. contubernalis* et de 84,0 à 86,9 % pour *H. exocellata* **(Tableau XVI)**.

Tableau XVI. Estimation des erreurs de mesure (ME3) et de la reproductibilité (ME4) sur les mesures d'asymétrie des larves d'*Hydropsyche* de stade III.

Espèce	*Site*	*(%)*	*Fémur 1*	*Tibia 1*	*Fémur 2*	*Tibia 2*	*Fémur 3*	*Tibia 3*
H. contubernalis	**DAM**	**ME3**	0,97	2,2	0,62	1,68	0,62	0,93
		ME4	98,6	95,2	99,0	95,9	99,1	97,0
	STNIC	**ME3**	6,42	2,01	8,21	2,02	0,46	0,95
		ME4	92,6	84,6	89,0	88,6	94,7	90,9
	ART	**ME3**	0,82	2,04	0,76	0,82	1,26	1,37
		ME4	99,6	98,5	99,7	99,2	99,7	99,1
H. exocellata	**DAM**	**ME3**	0,76	1,61	0,57	0,84	0,64	9,14
		ME4	97,6	94,8	98,7	95,4	98,8	86,2
	STNIC	**ME3**	8,75	1,16	0,82	1,42	12,53	1,42
		ME4	88,6	95,7	98,9	96,5	84,0	91,7
	ART	**ME3**	0,69	1,11	0,47	0,98	0,97	2,52
		ME4	97,1	88,2	98,1	91,5	98,4	92,4

Les résultats de l'ANOVA II (sites x segments) sur les valeurs transformées d'AF montrent que l'asymétrie des larves d'*H. contubernalis* est stable entre les sites (p = 0,286) alors que le niveau d'asymétrie de *H. exocellata* varie ente les trois site (p= 0,024). Comme pour les larves de stade âgés, des ANOVA II (sites x segments), réalisées entre les différents couples de station, montrent que cette différence se situe sur le site intermédiaire mais au contraire des larves âgées, le niveau d'asymétrie des larves est plus important que sur le site aval (p = 0,011).

Les résultats obtenus en utilisant la formule FA17 **(Figure 25)** ne montrent pas de changements dans le niveau d'asymétrie fluctuante en fonction de la salinité ni pour *H. contubernalis* (p = 0,209), ni pour *H. exocellata* (p = 0,122).

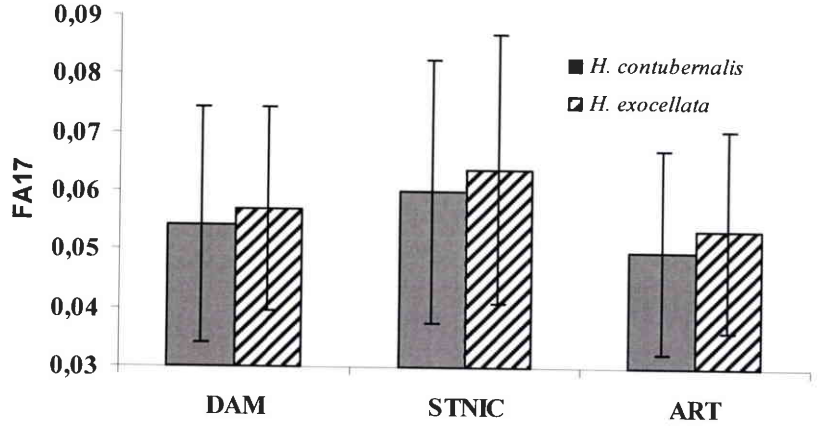


Figure 25. Niveaux d'AF correspondant à l'indice multitrait FA17 (moyenne ± écart-types) pour les larves de stades III d'*H. contubernalis* et d'*H. exocellata*.

II.3. Conclusion

L'étude du niveau d'AF des larves de stade âgés (Stade V) ou de stade III reste stable sur les trois sites échantillonnés et n'a pas permis de mettre en évidence de changements du niveau d'asymétrie des deux espèces en fonction de la salinité.

Nos mesures sont suffisamment précises pour mettre en évidence même de subtils changements dans les niveaux d'AF et leur qualité ne semble pas en cause dans l'absence de résultats. Plusieurs hypothèses pourraient expliquer cette absence de résultats, comme la sélection naturelle des larves les plus asymétriques qui pourrait expliquer que le niveau d'asymétrie des larves reste stable le long du gradient de salinité en correspondant au niveau d'asymétrie naturel des populations. Une autre hypothèse serait le mise en place chez les trichoptères de mécanismes de croissance compensatoires qui corrigeraient l'asymétrie durant la phase de croissance. En effet, plusieurs études réalisées sur les insectes ont mis en évidence des systèmes de régulation de croissance visant à corriger l'asymétrie. Klingenberg et Nijhout (1998) ont ainsi démontré leurs existences chez *Precis coenia* (Lépidoptères: Nymphalidae) et Servia *et al.*(2002) ont observés des mécanismes similaires chez un insecte amphibiotique *Chironomus riparius* (Diptères: Chironomidae). Une autre possibilité serait que nous ne puissions pas mettre en évidence ces instabilités car elles ne seraient pas dose-répondantes mais serait du type OUI/NON à partir d'un certain seuil. Si le stress entraine des instabilités de développement dès le premier site, alors le niveau d'AF des larves serait une réponse de type OUI et serait constant le long du gradient. Si le seuil d'apparition d'instabilité se trouve au-delà de notre plus forte salinité, alors le niveau d'AF serait une réponse de type NON et correspondrait au niveau d'asymétrie naturel des larves.

Ces deux hypothèses principales doivent être prises en compte pour l'utilisation de l'AF comme indicateur de stress environnementale, toutefois aucune observation des changements du niveau d'AF en milieu naturelle n'a été effectuée et c'est ce qui a été étudié par la suite.

III Importance des facteurs ontogénétiques dans l'utilisation de l'AF en milieu naturel

III.1. Etude d'insectes holométaboles

L'étude de l'AF chez des larves d'insectes le long du gradient salin n'a pas permis de conclure sur les liens existant entre la décroissance observée de *H. contubernalis* ou *C. splendens* et leur niveau d'AF bien que celui-ci soit relativement important pour les *Hydropsyche* sur l'ensemble des sites (§ II). Parmi les hypothèses pouvant expliquer cette absence de lien, la sélection naturelle des larves les plus asymétriques ou la présence de mécanismes de croissance compensatoires semblent être les plus vraisemblables.

Piscart C., Moreteau J.C. et Beisel J.N.

"Decrease of fluctuating asymmetry among larval instars in an aquatic, holometabolous insect. "

Comptes Rendus de Biologie, soumis en 2005 **(Annexe X)**

Résumé

Afin de vérifier si de tels mécanismes existent dans le milieu naturel et de voir s'ils peuvent influencer les études d'AF réalisées sur des populations naturelles, nous avons étudié les changements inter-stades des niveaux d'AF chez *H. exocellata*. Pour cela, 40 larves des stades I, III, V et des adultes ont été échantillonnés à ART durant l'été 2003.

Nos mesures d'incertitude et de répétabilité montrent une grande qualité de résultats quel que soit le stade de développement étudié. Nous avons ainsi pu mettre en évidence une réduction de 60 % du niveau d'asymétrie tout au long du développement larvaire et aucune différence entre les larves de stade V et les adultes. Cette décroissance peut alors s'expliquer par la présence de sélection naturelle ou des mécanismes de croissance compensatoires corrigeant l'asymétrie entre les stades de développement.

Dans la littérature, les résultats concernant l'utilisation de l'AF dans le milieu naturel sont, le plus souvent, basés sur le niveau d'asymétrie des adultes ou des stades les plus âgées (§I), les auteurs considérant que le stress subit par l'animal au cours de son développement est maximum pour les individus les plus âgés. Nos résultats montrent que l'utilisation de ces individus âgés conduit à une sous estimation du niveau d'asymétrie des populations qui pourrait entraîner une partie des résultats négatifs de la littérature.

III.2. Etude de l'AF chez des crustacés amphipodes

III.2.1 Objectifs

L'évolution du niveau d'AF des larves d'*H. exocellata* a mis en évidence une forte décroissance du niveau d'asymétrie au cours du développement larvaire. Nous avons cherché à voir si de tels mécanismes étaient observés chez d'autres groupes zoologiques comme les gammares (Crustacés : Gammaridae). En effet, les gammares sont avec les *Hydropsyche*, les macroinvertébrés les plus répandus dans les milieux aquatiques étudiés. En outre, ces espèces ont une croissance permanente tout au long de leur vie par mues successives.

III.2.2. Matériels et méthodes

Nous avons donc étudié l'évolution du niveau d'asymétrie chez *Gammarus tigrinus* et *Dikerogammarus villosus*. Pour cela, quatre stades de développement des gammares mâles et femelles ont été échantillonnés dans la Meurthe pour *G. tigrinus* et dans la Moselle pour *D. villosus* **(Tableau XVII)**. Les différents stades sont obtenus en fonction du spectre de taille de l'espèce afin d'être répartis sur l'ensemble du cycle de vie. Pour *G. tigrinus*, la taille de maturité sexuelle est estimée entre 4 et 5 mm et la taille maximale à 13-14 mm (Hynes, 1955 ; Chambers, 1977). Pour *D. villosus* dans la Moselle, la taille de maturité sexuelle est atteinte à 6 mm (Devin *et al.*, 2004) et la taille maximale est d'environ 22 mm pour les mâles et 19 mm pour les femelles (Piscart *et al.*, 2003 ; Devin *et al.*, 2004).

Tableau XVII. Plan d'échantillonnage et effectifs des groupes de gammares échantillonnés dans la Meurthe pour *G. tigrinus* et dans la Moselle pour *D. villosus*.

	Longueur (mm)	*Juvénile*	*Mâle*	*Femelle*
G. tigrinus	3,5 – 4,0	40	-	-
	6,0 – 6,5	-	40	40
	8,0 – 8,5	-	40	40
	10,0 – 12,0	-	40	40
D. villosus	5,0 – 6,0	40	-	-
	8,0 – 9,0	-	40	40
	12,0 – 13,0	-	40	40
	16,0 – 17,0	-	40	40

Le niveau d'asymétrie des différents stades a été mesuré de la même façon que pour les *Hydropsyche* et les Odonates (§ II.1.). 7 segments ont été sélectionnés sur l'ensemble du corps de l'animal **(Figure 26)** de manière à illustrer l'ensemble des fonctions biologiques et écologiques de l'espèce **(Tableau XVIII)** tout en permettant une mesure fiable.

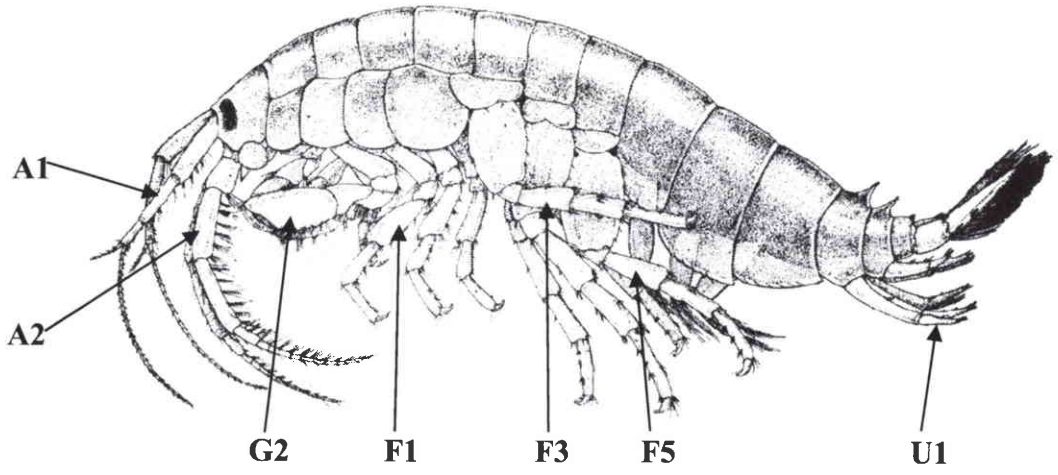


Figure 26. Position des 7 segments mesurés pour le calcul de l'asymétrie des gammares. A1 = segment 2 antennule ; A2 = segment 3 antenne ; G2 = extrémité du gnathopode 2 ; F1 à F5 = fémurs des péréiopodes 1, 3, 5 ; U1 = uropode 1.

Tableau XVIII. Fonctions biologiques et écologiques représentées par les 7 segments sélectionnés chez les gammares.

Code	*Segment*	*Fonctions*
A1	Segment 2 antennule	Organe sensoriel impliqué dans la chemoréception
A2	Segment 3 antenne	Représentatif de la croissance
G2	Gnathopode 2	Maintien des femelles (reproduction) et capture des proies (nutrition)
F1	Fémur des péréiopodes 1	Locomotion et fixation
F3	Fémur des péréiopodes 3	Locomotion et fixation
F5	Fémur des péréiopodes 5	Locomotion et fixation
U1	Uropode 1	Brassage de l'eau pour l'alimentation des branchies et nage

III.2.3. Résultats

Avec l'absence d'asymétrie directionnelle et l'anti-symétrie, nos résultats montrent que nous avons bien une asymétrie fluctuante chez les larves des deux espèces. Pour *G. tigrinus*, l'erreur de mesure correspondant à l'indice ME3 reste très faible car inférieure à 3 % pour l'ensemble des stades à l'exception du segment A2 des juvéniles ou l'indice ME3 est égal à 6,6 %. Pour *D. villosus*, notre erreur de mesure est très faible et reste inférieure à 3 % dans la plupart des cas. On observe seulement des valeurs supérieures de 9,2 % pour le segment A2 des juvéniles et 6,1 % pour le segment A1 des mâles de taille comprises entre 12,0 et 13,0 mm. Cette fiabilité de mesure se traduit également par une bonne reproductibilité de nos mesures (ME4) qui va de 85,3 à 99,6 % pour *G. tigrinus* et de 72,6 à 99,4 % pour *D. villosus*.

L'évolution de l'asymétrie au cours du cycle de vie **(Figure 27)** montre que chez *G. tigrinus* le niveau moyen d'asymétrie décroît au cours de la vie de l'animal (ANOVA $p <$

0,001). Par contre l'asymétrie des femelles n'est pas significativement différentes d'un stade à l'autre (ANOVA $p = 0,176$). Chez *D. villosus*, les niveaux d'asymétrie sont équivalents pour tous les stade des mâles (ANOVA $p = 0,151$) et des femelles (ANOVA $p = 0,206$).

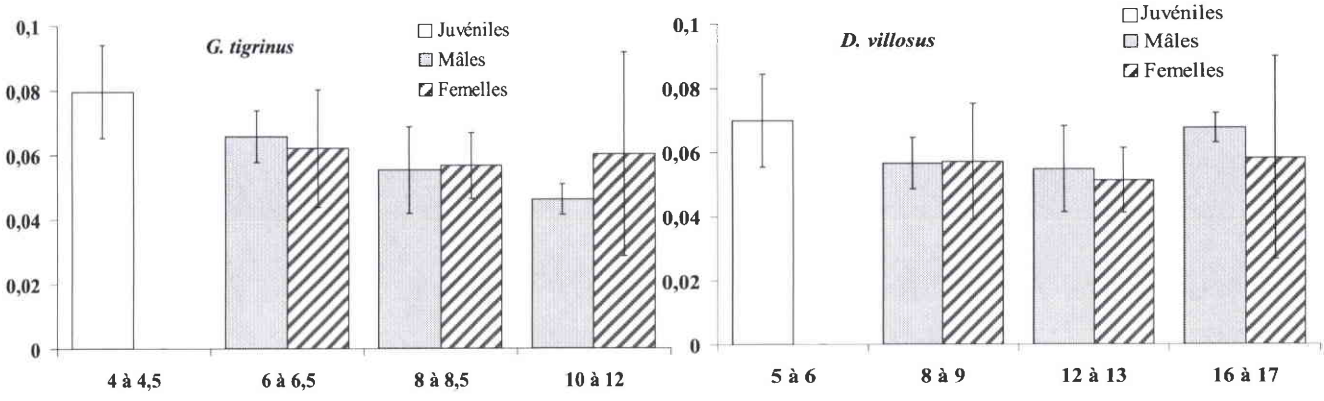


Figure 27. Evolution du niveau d'asymétrie (moyenne FA10b ± écart-type) au cours du cycle de vie de *G. tigrinus* et *D. villosus*.

Le niveau d'asymétrie des différents segments peut varier au cours du cycle de vie des gammares **(Figure 28)**. Pour *G. tigrinus*, la plupart des segments présente un niveau d'asymétrie qui décroît avec le temps tant pour les mâles (segments A1, A2, G2 et F1) que pour les femelles (segments G2, F1 et U1) **(Tableau XIX)**. Au contraire, pour *D. villosus* le niveau moyen d'AF de la plupart des segments augmente pour les mâles (segments A2, F1, F3, F5 et U1) et reste relativement stable pour les femelles chez qui le niveau d'AF du segment G2 baisse et celui du segment F3 augmente **(Tableau XIX).**

Nous n'avons pas pu mettre en évidence des différences entre sexes pour *G. tigrinus* (ANOVA non paramétrique de Friedman, $p > 0,144$) par contre des différences significatives ont été observées pour les segments A1 ($p = 0,011$) et A2 ($p = 0,045$) de *D. villosus*.

Tableau XIX. Résultats des ANOVA sur l'évolution du niveau d'AF par segment (moyenne FA2 ± écart-type) pour *G. tigrinus* et *D. villosus*.

Segment	*n*	G. tigrinus		D. villosus	
		Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
A1	160	0,003	N.S.	N.S.	N.S.
A2	160	0,006	N.S.	0,010	N.S.
G2	160	0,035	0,006	N.S.	0,011
F1	160	<0,001	<0,001	0,002	N.S.
F3	160	N.S.	N.S.	<0,001	<0,001
F5	160	N.S.	N.S.	<0,001	0,029
U1	160	N.S.	<0,001	0,004	N.S.

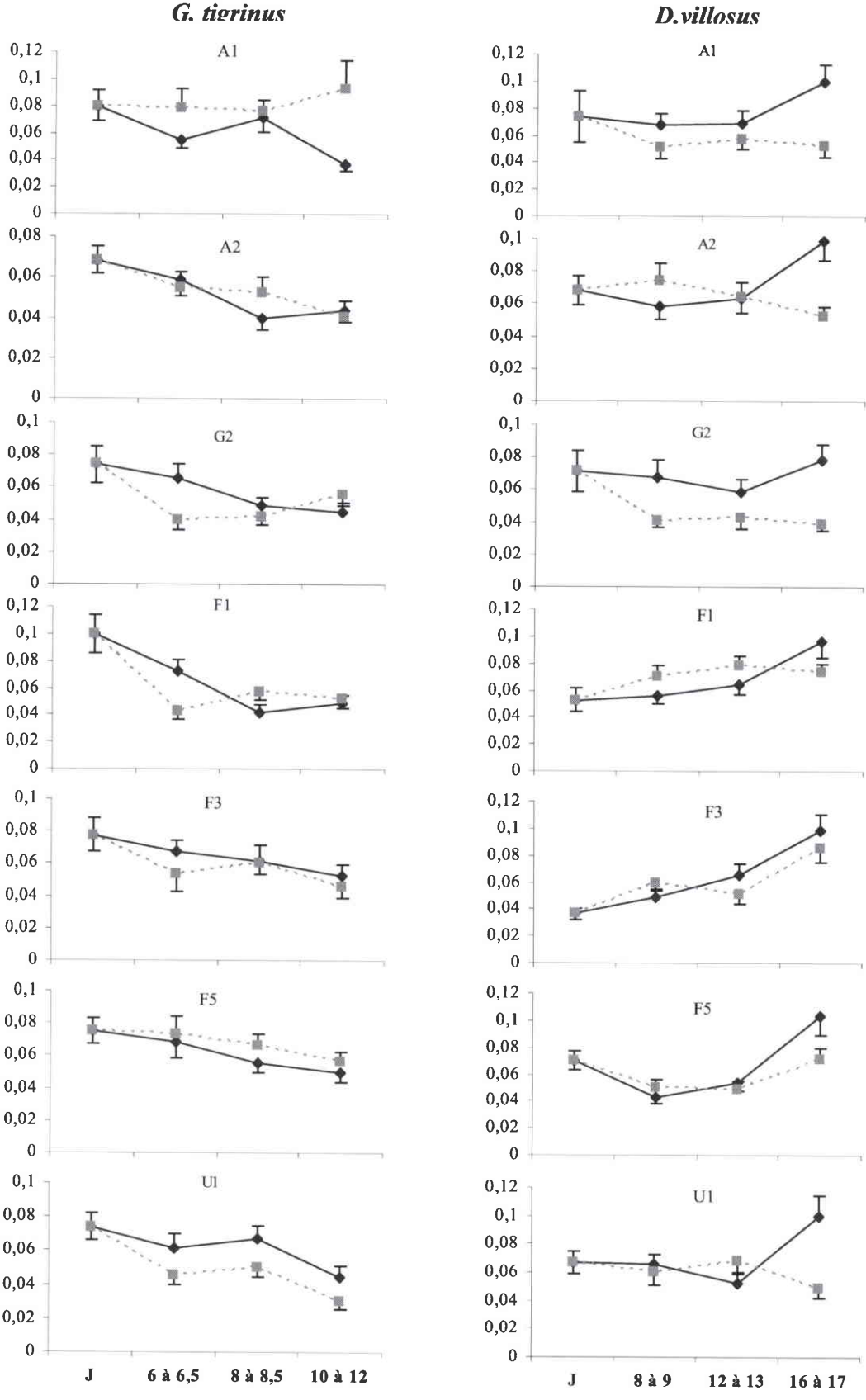


Figure 28. Evolution des niveaux d'AF de chaque segment (moyenne FA2 ± écart-type) au cours du cycle de vie de *G. tigrinus* et *D. villosus*. (—) AF des mâles et (…) AF des femelles.

III.2.4. Discussion

L'étude des changements inter-stades de l'AF des gammares de la Meurthe et de la Moselle, à l'exception des mâles *G. tigrinus*, ne met pas en évidence de changement du niveau d'AF qui reste constant et élevé à tous les stades étudiés. Nos résultats corroborent ainsi ceux de Chippindale et Palmer (1993) qui n'ont pas observé de variations de niveau d'asymétrie au cours du développement d'un crabe marin *Hemigrapsus nudus* (Crustacés : Décapodes). Ces auteurs ont émit deux hypothèses pour expliquer la persistance du niveau d'asymétrie chez cette espèce. La première hypothèse serait que le niveau d'asymétrie est dû à une prédisposition génétique qui induirait un niveau constant d'asymétrie au cours des mues successives. La deuxième hypothèse serait que l'asymétrie apparaît très tôt dans le développement et que cette asymétrie ne serait pas corrigée durant les phases de croissances. Ces deux hypothèses pourraient s'appliquer à notre étude, néanmoins le niveau important d'asymétrie observée, souvent supérieure à 10 % pour certains segments, ne peut raisonnablement être considéré comme naturel car il nécessiterait d'importantes altérations génétiques au sein de la population. La deuxième hypothèse semble plus probable pour les gammares et nous pensons que le niveau d'asymétrie ne serait pas corrigé au cours du développement.

Comme nous l'avons vu chez les larves de trichoptère, les mécanismes impliqués dans la correction du niveau d'asymétrie de la population seraient les mécanismes de croissance compensatoires et de sélection naturelle sur les larves les plus asymétriques. L'absence de diminution de l'asymétrie des larves correspondrait à l'absence d'un ou de plusieurs de ces mécanismes chez les populations de gammares. Nous pouvons aisément supposé l'absence de mécanismes de croissance compensatoires chez ces espèces qui n'ont pas, à l'heure actuelle, été mis en évidence chez les crustacés. L'absence de mécanismes de croissance compensatoires ne permettrait pas la réduction du niveau d'asymétrie des différents segments au cours du développement et pourrait expliquer l'augmentation des niveaux d'asymétrie observés pour cinq des sept segments mesurés chez les mâles *D. villosus*.

La présence de sélection naturelle chez des gammares issus d'un milieu naturel qui héberge de nombreux prédateurs et où la compétition interspécifique et intraspécifique est très importante est très probable (Devin *et al.*, 2003). Plusieurs études ont mis en évidence une corrélation négative entre le niveau d'asymétrie et le taux de survie des individus (voir Clarke, 1995, pour une synthèse) ce qui rendrait logique d'observer des niveau d'AF de plus en plus faible dans la population à mesure que celle-ci vieillit. Sur la Meurthe, l'effet de la sélection naturelle est observé par le biais d'une diminution importante du niveau d'asymétrie chez les mâles *G. tigrinus*. Or chez les gammares d'eaux douces, nous avons un sex-ratio généralement en faveur des femelles qui traduit un niveau de sélection naturelle plus important chez les mâles, dû à la prédation (Muskó, 1993 ; Dick *et al.*, 1995 ; Macneil *et al.*, 1999, 2000 ; Dick et Platvoet, 2000) ou à la compétition interspécifique plus importante chez

les mâles (Dick *et al.*, 1995 ; 1999 ; Macneil et Prenter, 2000). Dans le milieu naturel, *D. villosus* est un redoutable compétiteur qui se répand très rapidement dans le plupart des hydrosystèmes d'eaux douces (Dick et Platvoet, 2000 ; Devin *et al.*, 2001 ; Bollache *et al.*, 2004). Cette aptitude prononcée à la compétition interspécifique pourrait expliquer que l'on ne mette pas en évidence de différence dans le niveau d'AF car celui-ci ne dépendrait pas pour cette espèce compétitrice de la sélection naturelle par des facteurs biotiques.

En conclusion, les résultats obtenus sur l'AF des gammares corroborent en partie ceux obtenus sur les larves de trichoptères et sont cohérents avec l'hypothèse de mécanismes de sélection naturelle qui entraînent une baisse du niveau d'asymétrie chez les mâles *G. tigrinus*. Nos résultats ne mettraient pas en évidence de mécanismes de croissance compensatoires chez les crustacés étudiés alors que nous n'avons pas pu les exclure chez les larves de trichoptères.

IV Conclusions et perspectives

L'utilisation de l'AF sur les larves d'*Hydropsyche* ne nous a pas permis de mettre en évidence un stress salin malgré les importants changements observés dans l'abondance des larves en fonction de la salinité. La salinité et les instabilités de développement ne semblent donc pas corrélés chez ces larves.

Nos résultats ont mis en évidence une réduction importante du niveau d'asymétrie au cours du développement des larves d'*H. exocellata*. Cette réduction peut s'expliquer soit par la présence de mécanismes de croissance compensatoires corrigeant l'asymétrie au cours du développement, soit par des mécanismes de sélection naturelle qui éliminent les larves les plus asymétriques. Cette observation est capitale dans la mise en place d'une méthode basée sur les mesures d'AF pour le diagnostique d'un stress environnemental. Cette réduction d'asymétrie chez les stades les plus âgés de populations naturelles ne semble toutefois pas généralisable à l'ensemble des groupes zoologiques dans la mesure où des résultats très différents ont été obtenus entre les larves d'insectes holométaboles et les crustacés amphipodes. La conséquence pratique est qu'il apparaît primordial d'utiliser des individus de jeunes stades de développement afin d'avoir une mesure du niveau d'instabilité de développement de populations naturelles qui traduisent au mieux la contrainte qu'elles subissent.

Des mesures plus poussées de la part respective des mécanismes de sélection naturelle et des mécanismes de croissance compensatoires dans la réduction du niveau d'asymétrie de *G. tigrinus* ont été tentées. Malheureusement, tous nos essais de mise en place d'élevage de *G. tigrinus* et de *D. villosus*, afin d'éliminer la part due à la sélection naturelle ont échoué et nous n'avons pas pu répondre de manière indiscutable à ces questions durant cette étude doctorale.

Conclusion générale

Les zones actuellement touchées par les phénomènes de salinisation augmentent et devraient rapidement affecter une partie du continent européen bien plus large que la frange méditerranéenne dans les prochaines décennies (Chapitre I, §II). Cependant, le rôle joué par ce processus dans la régulation de la biodiversité des milieux d'eau douce en Europe n'est pas ou peu connu (Gallardo-Mayenco, 1994; Muñoz et Prat, 1994).

Nos travaux ont permis dans un premier temps d'approfondir nos connaissances sur le rôle de la salinité dans la structure et la composition des communautés de macroinvertébrés d'Europe (Chapitre III, §II.1). La mise en évidence d'une forte perturbation de la structure et de la composition des communautés à partir d'une salinité de 1,4 $g.L^{-1}$ confirme les résultats observés sur différents continents et montre un impact de la salinité à partir de $1g.L^{-1}$ (Hart *et al.*, 1990, 1991; Williams *et al.*, 1990; Muñoz et Prat, 1994; Metzeling, 1993; Rundle *et al.*, 1998). L'altération de la structure des communautés a ainsi permis de mettre en évidence sept assemblages faunistiques distincts le long de notre gradient de salinité (Chapitre III, §II.1).

L'impact de la salinisation sur le fonctionnement des écosystèmes n'est pas réellement connu et se limite à l'étude de la structure trophique des communautés (Short *et al.*, 1991 ; Muñoz et Prat, 1994), ce qui a motivé des investigations sur d'autres aspects du fonctionnement des écosystèmes soumis à une élévation de la salinité. Une approche originale basée sur la sélection de certaines caractéristiques biologiques ou écologiques des taxons composant la communauté a été utilisée. Dans la gamme de salinité testée, celle-ci n'entraîne pas de profonds changements dans le fonctionnement de l'écosystème et les structures en place en termes de groupes fonctionnels reste relativement stables (Chapitre I, §II.2).

Des phénomènes de sélection de certaines caractéristiques biologiques, physiologiques et comportementales liée notamment à la reproduction, la nutrition ou la respiration ont été mis en évidence par l'intermédiaire de la sélection de certaines espèces. Ainsi l'ovoviviparité et la reproduction asexuée sont privilégiées au même titre que le plurivoltinisme sur le site le plus salé. De même les filtreurs et les mangeurs de sédiment sont favorisés (Chapitre III, §II.2).

A des échelles d'observation plus fines aux niveaux populationnel et individuel, les mécanismes mis en jeu dans les changements observés au niveau communautaire ont été étudiés. Pour cela nous avons testé en conditions contrôlées la tolérance à la salinité de 60

taxons répartis dans la plupart des groupes zoologiques en fonction de leur diversité afin d'avoir une image représentative des tolérances à la salinité des communautés de macroinvertébrés. Cette étude a mis en évidence d'importantes différences de CL50 entre groupes taxonomiques. Les Ephémèroptère et les Mollusques étaient généralement plus sensibles que les Odonates et les Crustacés, particulièrement tolérants à la salinité (Chapitre IV, §II). Les Trichoptères ou les Diptères sont très diversifiés et regroupent des espèces très tolérantes et d'autres très sensibles.

Les espèces exotiques présentent des tolérances à la salinité plus importantes qui favorisent leur introduction et leur installation dans des communautés déjà affaiblies par la salinité. La comparaison de la tolérance au niveau de la famille entre les communautés européennes et australiennes ne met pas en évidence de différences de sensibilité entre les faunes.

Les tolérances physiologiques à la salinité des différents taxons n'expliquent pas tous les changements observés et des mécanismes secondaires liés aux relations interspécifiques semblent intervenir dans la structuration des populations. Ainsi l'étude de la diversité d'organismes proches du point de vue de leurs niches écologiques tels que les Trichoptères à filet mettent en évidence des variations d'abondance des différents taxons malgré des tolérances à la salinité très proches (Chapitre IV,§I). L'intervention d'autres facteurs comme les interactions biotiques est sans doute à l'origine de ces différences d'abondance et pourrait expliquer les différences observées entre la tolérance expérimentale de certains taxons et leur profil le long du gradient salin. Un profil de biodiversité des espèces de ce groupe suit les prédictions de l'hypothèse de perturbation intermédiaire (IDH) en présentant une diversité plus importante pour des niveaux de salinité intermédiaire.

Le processus de salinisation des hydrosystèmes continentaux affecte des zones très étendues dont la surveillance et la gestion nécessitent des outils adaptés. C'est pourquoi, parallèlement à l'étude des mécanismes régissant la biodiversité des macroinvertébrés dulçaquicole, nous avons tenté de développer trois outils permettant de réduire les moyens humains et matériels nécessaires à la gestion des zones touchées.

Le développement de deux outils tels que l'utilisation de substrats sentinelle et de substrats artificiels permettent de réduire l'effort d'échantillonnage tout en gardant une image fiable et représentative des communautés en place (Chapitre III, §II.3.1.).

La mise en évidence de phénomènes d'instabilité de développement chez des larves de trichoptères et d'odonates liés à l'augmentation de la salinité ouvre des perspectives intéressantes, cette approche pouvant expliquer la diminution ou révéler le risque de

disparition de certaines espèces. Malheureusement, aucune relation entre le niveau d'AF et la salinité n'a pu être mise en évidence (Chapitre V, §II). Toutefois, nos résultats nous permettent de supposer la présence de mécanismes de croissance compensatoires et/ou de sélection naturelle modifiant le niveau d'asymétrie des populations d'*H. exocellata* et de *G. tigrinus*. Il est dont nécessaire de prendre en compte ces phénomènes pour l'utilisation des mesures d'AF sur des populations naturelles (Chapitre V, §III).

Si notre travail a permis de mettre en évidence le rôle important de la salinité et de la salinisation dans la structuration de la biodiversité des macroinvertébrés dulçaquicoles, il a aussi permis d'ouvrir de nouvelles voies d'investigation. Maintenant que les conséquences de la salinisation sont relativement bien connues sur les communautés de macroinvertébrés benthiques, les mécanismes mis en jeu aux niveaux populationnel et individuel restent à explorer en détail.

Nos expériences en laboratoire sur la tolérance à la salinité des macroinvertébrés montrent certaines différences par rapport aux données *in situ*, ces différences peuvent être dues à des relations biotiques qui seraient affectées par la salinité agissant ainsi sur certaines populations de manière indirecte. Il s'agit là d'une voie de recherche importante que nous n'avons malheureusement pas pu mettre en place au cours de ce travail. Les processus impliqués, du fait de leur complexité, nécessiteraient d'être étudiés par une approche combinée d'expérimentations et d'observations de terrain afin d'être mieux appréhendés.

L'étude des modifications dans l'utilisation des traits biologiques, physiologiques et comportementaux serait à approfondir en étudiant l'origine et la fonction écophysiologique de ces caractéristiques afin de montrer s'il s'agit de mécanismes de sélections de ces caractéristiques ou de la sélection d'espèce qui aurait ces caractéristiques.

L'étude du rôle de la salinité sur les traits d'histoire de vie tels que la croissance et la reproduction (fécondité, survie, accouplement, etc..) est également nécessaire afin d'expliquer les relations interspécifiques et la sélection des caractéristiques biologiques des macroinvertébrés.

Enfin, il serait intéressant de continuer l'étude de la tolérance expérimentale des taxons sur un plus grand nombre d'espèces réparties sur une plus grande zone géographique à l'échelle continentale et intercontinentale afin d'étudier les mécanismes de sélection naturelle et d'évolution des peuplements soumis à une élévation de la salinité.

Bibliographie

A.F.N.O.R. (1992) Essai des eaux. Détermination de l'Indice Biologique Global Normalisé (IBGN). Association Française de Normalisation - norme homologuée T 90-350.

A.F.N.O.R. (1995a) Qualité de l'eau - Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, orthophosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous, par chromatographie des ions en phase liquide - Partie 1 : méthode applicable pour les eaux faiblement contaminées. Association Française de Normalisation - norme homologuée T 90-042 (EN ISO 10304-1).

A.F.N.O.R. (1995b) Qualité de l'eau - T 90-005. Association Française de Normalisation - norme homologuée T 90-005.

A.F.N.O.R. (1996a) Qualité de l'eau - Dosage des matières en suspension - Méthode par filtration sur filtre en fibres de verre. *Association Française de Normalisation* - norme homologuée T 90-105-1 (EN 872).

A.F.N.O.R. (1996b) Qualité de l'eau - Détermination de l'alcalinité - Partie 1 : détermination de l'alcalinité totale et composite. Association Française de Normalisation - norme homologuée T 90-036 (EN ISO 9963-1)

Agences de l'eau (2000) Système d'évaluation de la qualité de l'eau des cours d'eau. S.E.Q. Eau (version1) Principes généraux. Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse, Lyon. 21 p.

Agresti, A. (1990) Categorical Data Analysis, John Wiley & Sons, New York.

Alcocer, J., Escobar, E., Lugo, A. & Peralta, L. (1998) Littoral benthos of the saline crater lakes of the basin of Oriental, Mexico. *International Journal of Salt Lake Research* **7:** 87-108.

Allenbach, D.M., Sullivan, K.B. & Lydy, M.J. (1999) Higher fluctuating asymmetry in centrarchid fish inhabiting heated and non heated reservoirs. *Transactions of the American Fisheries Society* **108:** 559-565.

Archaimbault, V. (2003) Réponses bio-écologiques des macroinvertébrés benthiques aux perturbations : la base d'un outil diagnostique fonctionnel des écosystèmes d'eaux courantes.Biologie, pp. 354, Université de Metz, Metz.

Art, I. & Sary, M. (2000) Cartographie des débits d'étiages: application au basin de la Meurthe. *Revue géographique de l'Est* **1-2** : 35-47.

Baba, K., Tada, M., Kawajiri, T. & Kuwahara, Y. (1999) Effects of temperature and salinity on spawning of the brackish water bivalve *Corbicula japonica* in Lake Abashiri, Hokkaido, Japan. *Marine Ecology - Progress Series* **180:** 213-221.

Barnes, R.S.K., Calow, P., Olive, P.J.W., Golding, D.W. & Spicer, J.I. (2001) The invertebrates: a synthesis, Oxford, Oxford.

Beck, M.L. & Pruett-Jones, S. (2002) Fluctuating Asymmetry, Sexual Selection, and Survivorship in Male Dark-Winged damselflies. *Ethology* **108:** 779-791.

Beisel, J.N., Usseglio-Polatera, P., Thomas, S. & Moreteau, J.C. (1998a) Stream community structure in relation to spatial variation: the influence of mesohabitat characteristics. *Hydrobiologia* **389:** 73-88.

Beisel, J.N., Usseglio-Polatera, P., Thomas, S. & Moreteau, J.C. (1998b) Influence de l'échantillonnage des communautés macrobenthiques sur l'évaluation de la qualité biologique d'un cours d'eau. *Annales de Limnologie* **34:** 445-454.

Berezina, N.A. (2003) Tolerance of freshwater invertebrates to changes in water salinity. *Russian Journal of Ecology* **34:** 261-266.

Bergstrom, C.A. & Reimchen, T.E. (2000) Functional implications of fluctuating asymmetry among endemic populations of *Gasterosteus aculeatus* Proceedings of the Third International Conference on Stickleback Behaviour and Evolution. *Behaviour* **137:** 1097-1112.

Bergstrom, C.A. & Reimchen, T.E. (2002) Geographical variation in asymmetry in *Gasterosteus aculeatus*. *Biological Journal of the Linnean Society* **77:** 9-22.

Bhattacharya, C.G. (1967) A simple method of resolution of a distribution into gaussian components. *Biometrics* **23:** 115-135.

Bjorksten, T.A., Fowler, K. & Pomiankowski, A. (2000) What does sexual trait FA tell us about stress? *Trends in Ecology & Evolution* **15:** 163-166.

Blasius, B.J. & Merritt, R.W. (2002) Field and laboratory investigations on the effects of road salt (NaCl) on stream macroinvertebrate communities. *Environmental Pollution* **120:** 219-231.

Bollache, L., Devin, S., Wattier, R., Chovet, M., Beisel, J.N., Moreteau, J.C. & Rigaud, T. (2004) Rapid range extension of the Ponto-Caspian amphipod *Dikerogammarus villosus* in France: potential consequences. *Archiv für Hydrobiologie* **160:** 57-66.

Bolt, S.R.L. (1983) Haemolymph concentration and apparent permeability in varying salinity conditions of *Gammarus duebeni*, *Chaetogammarus marinus* and *Gammarus locusta*. *Journal of Experimental Biology* **107:** 129-140.

Bonada, N. & Williams, D.D. (2002) Exploration of the utility of fluctuating asymmetry as an indicator of river condition using larvae of the caddisfly *Hydropsyche morosa* (Trichoptera: Hydropsychidae). *Hydrobiologia* **481:** 147-156.

Bonn, A., Gasse, M., Rolff, J. & Martens, A. (1996) Increased fluctuating asymmetry in the damselfly *Coenagrion puella* is correlated with ectoparasitic water mites: implications for fluctuating asymmetry theory. *Oecologia* **108:** 596-598.

Bruce, R.D. (1985) An up-and-down procedure for acute toxicity testing. *Fundamental and Applied Toxicology* **5:** 151-157.

Bruce, R.D. (1987) A confirmatory study of the up-and-down method for acute toxicity testing. *Fundamental and Applied Toxicology* **8:** 97-100.

Bruijs, M.C.M., Kelleher, B., van der Velde, G. & bij de Vaate, A. (2001) Oxygen consumption, temperature and salinity tolerance of the invasive amphipod *Dikerogammarus villosus*: indicators of further dispersal via ballast water transport. *Archiv für Hydrobiologie* **152:** 633-646.

Bunn, S.E. & Davies, P.M. (1992) Community structure of macroinvertebrate fauna and water quality of saline river system in south-western Australia. *Hydrobiologia* **248:** 143-160.

Carchini, G., Chiarotti, F., Di Domenico, M. & Paganotti, G. (2000) Fluctuating asymmetry, size and mating success in males of *Ishnura elegans* (Vander Linden) (Odonata: Coenagrionidae). *Animal Behaviour* **59:** 177-182.

Carchini, G., Chiarotti, F., Di Domenico, M., Mattoccia, M. & Paganotti, G. (2001) Fluctuating asymmetry, mating success, body size and heterozygosity in *Coenagrion scitulum* (Rambur) (Odonata: Coenagrionidae). *Animal Behaviour* **61:** 661-669.

Chadwick, M.A. & Feminella, J.W. (2001) Influence of salinity and temperature on the growth and production of a freshwater mayfly in the Lower Mobile River, Alabama. *Limnology and Oceanography* **46:** 532-542.

Chambers, M.R. (1977) The population ecology of *Gammarus tigrinus* (SEXTON) in the beds of the Tjeukemeer. *Hydrobiologia* **53:** 155-164.

Chevenet, F., Dolédec, S. & Chessel, D. (1994) A fuzzy coding approach for the analysis of long-term ecological data. *Freshwater Biology* **31:** 295-309.

Chippindale, A.K. & Palmer, A.R. (1993) Persistence of subtle departures from symmetry over multiple molts in individual brachyuran crabs: relevance to developmental stability. *Genetica* **89:** 185-199.

Clarke, G.M. (1993) Fluctuating asymmetry of invertebrate populations as a biological indicator of environmental quality. *Environmental Pollution* **82:** 207-211.

Clarke, G.M. (1995) Relationships between developmental stability and fitness: application for conservation biology. *Conservation Biology* **9:** 18-24.

Clarke, G.M. (1998) Developmental stability and Fitness: The evidence is not quite so clear. *The American Naturalist* **152:** 762-766.

Connell, J.H. (1978) Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science* **199:** 1302-1309

Cummins, K.W. (1962) An evaluation of some techniques for the collection and analysis of benthic samples with special emphasis on lotic waters. *The American Midland Naturalist* **67:** 477-504.

Death, R.G. (1995) Spatial patterns in benthic invertebrate community structure: products of habitat stability or are they habitat specific? *Freshwater Biology* **33:** 455-467.

Death, R.G. & Winterbourn, M. J. (1995) Diversity patterns in stream benthic invertebrate communities: the influence of habitat stability. *Ecology* **76:** 1446-1460.

Dervin, C. (1988) Comment interpréter les résultats d'une analyse factorielle des correspondances ? *Institut Technique des Céréales et des Fourrages (I.T.C.F.), Paris.*

Devin, S. (2003) Les invasions biologiques des milieux d'eau douce : Analyse du rôle des traits biologiques et écologiques d'un nouvel envahisseur (*Dikerogammarus villosus*, Gammaridae, Crustacea) dans le processus invasif. Biologie, pp. 212, Université de Metz, Metz.

Devin, S., Beisel, J.N., Bachmann, V. & Moreteau, J.C. (2001) *Dikerogammarus villosus* (Amphipoda: Gammaridae): Another invasive species newly established in the Moselle River and French hydrosystems. *Annales de Limnologie* **37:** 21-27.

Devin, S., Piscart, C., Beisel, J.N. & Moreteau, J.C. (2003) Ecological traits of the amphipod invader *Dikerogammarus villosus* on a mesohabitat scale. *Archiv für Hydrobiologie* **158:** 43-56.

Devin, S., Piscart, C., Beisel, J.N. & Moreteau, J.C. (2004) Life history traits of the Invader *Dikerogammarus villosus* (Crustacea: Amphipoda) in the Moselle River, France. *International Review of Hydrobiology* **89:** 21-34.

Dick, J.T.A., Elwood, R.W. & Montgomery, W.I. (1995) The behavioural basis of a species replacement: differential agression and predation between the introduced *Gammarus pulex* and the native *G. duebeni celticus* (Amphipoda). *Behavioural Ecology and Sociobiology* **37:** 393-398.

Dick, J.T.A., Montgomery, W.I. & Elwood, R.W. (1999) Intraguild predation may explain an amphipod replacement: evidence from laboratory populations. *Journal of Zoology* **249:** 463-468.

Dick, J.T.A. & Platvoet, D. (2000) Invading predatory crustacean *Dikerogammarus villosus* eliminates both native and exotic species. *Proceedings of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences* **267:** 977-983.

Dietz, T.H., Lessard, D., Silverman, H. & Lynn, J.W. (1994) Osmoregulation in *Dreissena polymorpha*: the Importance of Na, Cl, K and Particularly Mg. *Biological Bulletin* **187:** 76-83.

Dietz, T.H., Wilcox, S.J., Byrne, R.A., Lynn, J. W. & Silverman, H. (1996) Osmotic and Ionic Regulation of North American Zebra Mussels (*Dreissena Polymorpha*). *American Zoologist* **36:** 364-372.

Dobrin, M. & Corkum, L.D. (1999) Can Fluctuating Asymmetry in Adult Burrowing Mayflies (Hexagenia rigida, Ephemeroptera) be used as a Measure of Contaminant Stress? *Journal of Great Lakes Research* **25:** 339-346.

Dolédec, S. & Statzner, B. (1994) Theoretical habitat templets, species traits, and species richness: 548 plant and animal species in the Upper Rhône River and its floodplain. *Freshwater Biology* **31:** 523-538.

Dussart, G.B.J. (1979) Life cycles and distribution of the aquatic gasteropod molluscs *Bithynia tentaculata* (L.), *Gyraulus albus* (Luller), *Planorbis planorbis* (L.) and *Lymnea peregra* (Muller) in relation to water chemistery. *Hydrobiologia* **1979:** 223-239.

Eilers, R.G., Eilers, W.D., Pettapiece, W.W. & Lelyk, G. (1995) Salinisation du sol. In *La santé de nos sols : vers une agriculture durable au Canada*, (eds. D. F. Acton and L. J. Gregorich), pp. 76-86, Centre de recherches sur les terres et les ressources biologiques, Direction générale de la recherche, Agriculture et Agroalimentaire Canada, Ottawa.

Estrela, T., Marcuello, C. & Iglesias, A. (1996) Water resources problems in southern Europe an overview report, pp. 1-49, European Environment Agency.

Fong, P.P., Kyozuka, K., Duncan, J., Rynkowski, S., Mekasha, D. & Ram, J.L. (1995) The effect of salinity and temperature on spawning and fertilization in the zebra mussel *Dreissena polymorpha* (Pallas) from North America. *Biological Bulletin* **189:** 320-329.

Gallardo-Mayenco, A. (1994) Freshwater macroinvertebrate distribution in two basins with different salinity gradients (Guadalete and Guadaira river basins, south-western Spain). *International journal of Salt Lake Research* **3:** 75-91.

Gandolfi, A., Akon Todeschi, E.B., Van Doninck, K., Rossi, V. & Menozzi, P. (2001) Salinity tolerance of *Darwinula stevensoni* (Crustacea, Ostracoda). *Italian Journal of Zoology* **68:** 61-67.

Generlich, O. & Giere, O. (1996) Osmoregulation in two aquatic oligochaetes from habitats with different salinity and comparison to other annelids. *Hydrobiologia* **334:** 251-261.

GIEC. (2000) Impacts potentiels du changement climatique en France au XXIième siècle, pp. 128, Groupe d'Experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat.

GIEC. (2001) Bilan 2001des changements climatiques : Les éléments scientifiques, pp. 97, Groupe d'Experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat.

Gledhill, T., Sutcliff, D.W. & Williams, W.D. (1993) British freshwater Crustacea Malacostraca: a key with ecological notes. In *Freshwater Biological Association, Vol. 52*, pp. 173.

Gloër, P. and Meier-Brook, C. (1994) Süsswassermollusken, pp. 136, Deutscher Jugenbund für Naturbeobachtung, Hamburg.

Hall, C.J. & Burns, C.W. (2001) Effects of salinity and temperature on survival and reproduction of *Boeckella hamata* (Copepoda : Calanoida) from a periodically brackish lake. *Journal of plankton research* **23:** 97-103.

Halse, S.A., Shiel, R.J. & Williams, W.D. (1998) Aquatic invertebrates of Lake Gregory, northwestern Australia, in relation to salinity and ionic composition. *Hydrobiologia* **381:** 15-29.

Hardersen, S. (2000a) Effects of carbaryl exposure on the last larval instar of *Xanthocnemis zealandica* – fluctuating asymmetry and adult emergence. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **96:** 221-230.

Hardersen, S. (2000b) The role of behavioural ecology of damselflies in the use of fluctuating asymmetry as a bioindicator of water pollution. *Ecological Entomology* **25:** 45-53.

Hardersen, S. & Wratten, S.D. (1998) The Effects of Carbaryl Exposure of the Penultimate Larval Instars of *Xathocnemis zealandica* on Emergence and Fluctuating Asymmetry. *Ecotoxicology* **7:** 297-304.

Hardersen, S. & Frampton, C.M. (1999) Effects of short term pollution on the level of fluctuating asymmetry - a case study using damselflies. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **92:** 1-7.

Hart, B.T., Bailey, P., Edwards, R., Hortle, K., James, K., McMahon, A., Meredith, C. & Swadling, K. (1990) Effects of salinity on river, stream and wetland ecosystems in Victoria, Australia. *Water Research* **24:** 1103-1117.

Hart, B.T., Bailey, P., Edwards, R., Hortle, K., James, K., McMahon, A., Meredith, C. & Swadling, K. (1991) A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota. *Hydrobiologia* **210:** 105-144.

Herrmann, S.J. (1970) Systematics, distribution and ecology of Colorado Hirudinae. *The American Midland Naturalist* **83:** 1-37.

Hogg, I.D., Eadie, J.M., Williams, D.D. & Turner, D. (2001) Evaluating fluctuating asymmetry in a stream-dwelling insect as an indicator of low-level thermal stress: a large-scale field experiment. *Journal of Applied Ecology* **38:** 1326-1339.

Houle, D. (2000) A simple model between asymmetry and developmental stability. *Journal of Evolutionary Biology* **13:** 720-730.

Hynes, H.B.N. (1955) The reproductive cycling of some British freshwater Gammaridae. *Journal of Animal ecology* **24:** 352-387.

Hynes, H.B.N. (1966) The biology of Polluted water, Liverpool University Press, Liverpool.

Illies, J. & Botosaneanu, L. (1963) Problèmes et méthodes de la classification et de la zonation écologique des eaux courantes, considérées surtout du point de vue faunistique. *Verhandlungen der Internationale Vereinigung für Limnologie.* **12:** 1-57.

Jordan, P.J. & Deaton, L.E. (1999) Osmotic regulation and salinity tolerance in the freshwater snail *Pomacea bridgesi* and the freshwater clam *Lampsilis teres*. *Comparative biochemistry and physiology A- Molecular and integrative physiologie.* **122:** 199-205.

Kay, W.R., Halse, S.A., Scanlon, M.D. & Smith, M. (2001) Distribution and environmental tolerances of aquatic macroinvertebrate families in the agricultural zone of southwestern Australia. *Journal of North American Benthological Society* **20:** 182-199.

Kefford, B.J. (1998a) The relationship between electrical conductivity and selected macroinvertebrate communities in four river systems of south-west Victoria, Australia. *International Journal of Salt Lake Research* **7:** 153-170.

Kefford, B.J. (1998b) Is salinity the only water quality parameter affected when saline water is disposed in rivers? *International Journal of Salt Lake Research* **7:** 285-300.

Kefford, B.J. (2000) The effect of saline water disposal: implication for monitoring programs and management. *Environmental Monitoring and Assessment* **63:** 313-327.

Kefford, B.J., Papas, P.J. & Nugegoda, D. (2003) Relative salinity tolerance of macroinvertebrates from the Barwon River, Victoria, Australia. *Marine and Freshwater Research* **54:** 755-765.

Kefford, B.J., Dalton, A., Palmer, C.G. & Nugegoda, D. (2004a) The salinity tolerance of eggs and hatchlings of selected aquatic macroinvertebrates in south-east Australia and South Africa. *Hydrobiologia* **517:** 179-192.

Kefford, B.J., Papas, P.J., Metzeling, L. & Nugegoda, D. (2004b) Do laboratory salinity tolerances of freshwater animals correspond with their field salinity. *Environmental Pollution* **129:** 355-362.

Klingenberg, C. P. (2003) A developmental perspective on developmental instability: theory, models, mechanisms. In *Developmental instability: causes and consequences*, (ed. M. Polak), pp. 14-34, Oxford University Press, Oxford.

Klingenberg, C.P. & Nijhout, H.F. (1998) Competition among growing organs and developmental control of morphological asymmetry. *Proceeding of the Royal Society of London B Biological Sciences* **265:** 1135-1139.

Knowles, J.N. & Williams, W.D. (1973) Salinity range and osmoregulatory ability of Corixids (Hemiptera: Heteroptera) in south-east Australian inland waters. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* **24:** 297-302.

Kodric-Brown, A. (1997) Sexual selection, stabilizing selection and fluctuating asymmetry in two populations of pupfish (*Cyprinodon pecosensis*). *Biological Journal of the Linnean Society* **62:** 553-566.

Kulkarni, G.K., Hanumante, M.M. & Nagabhushanam, R. (1977) Some aspects of osmotic biology of the freshwater leech, *Poecilobdella viridis* (Blanchard). *Hydrobiologia* **56:** 103-108.

Lake, P.S. (2000) Disturbance, patchiness, and diversity in streams. *Journal of the North American Benthological Society* **19:** 573-592.

Leary, R.F. and Allendorf, F.W. (1989) Fluctuating asymmetry as an indicator of Stress: implications for conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution* **4:** 214-217.

Lee, C.E. & Bell, M.A. (1999) Causes and consequences of recent freshwater invasions by saltwater animals. *Trends in Ecology & Evolution* **17:** 284-288.

Leland, H.V. & Fend, S.V. (1998) Benthic invertebrate distributions in the San Joaquin River, California, in relation to physical and chemical factors. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **55:** 1051-1067.

Lens, L., Van Dongen, S., Kark, S. & Matthysen, E. (2002) Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: Can we bridge the gap between studies? *Biological Review* **77:** 27-38.

Leung, B. & Forbes, M.R. (1997) Fluctuating asymmetry in relation to indices of quality and fitness in the damselfly, *Enallagma ebrium* (Hagen). *Oecologia* **110:** 472-477.

Leung, B., Forbes, M.R. & Houle, D. (2000) Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: Comparing efficacy of analyses involving multiple traits. *The American Naturalist* **155:** 101-115.

Leung, B., Knopper, L. & Mineau, P. (2003) A critical assessment of the utility of fluctuating asymmetry as a biomarker of anthropogenic stress. In *Developmental instability: causes and consequences*, (ed. M. Polak), pp. 415-425, Oxford University Press, Oxford.

Lim, K.H. & Williams, W.D. (1971) Ecology of *Austrochiltonia subtenuis* (Sayce) (Amphipoda: Hyalellidae). *Crustaceana* **20:** 19-24.

Löfgren, S. (2001) The chemical effects of deicing salt on soil and stream water of five catchments in southeast Sweden. *Water, Air, and Soil Pollution* **130:** 863-868.

Lorenzen, C.J. (1967) Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography* **12:** 343-346.

Lövei, G.L. (1997) Biodiversity: Global change through invasion. *Nature* **388:** 627.

MacNeil, C., Dick, J. & Elwood, R. (1999) The dynamics of predation on *Gammarus* spp. (Crustacea : Amphipoda). *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* **74:** 375-395.

MacNeil, C., Elwood, R.W. & Dick, J.T.A. (2000) Factors influencing the importance of *Gammarus* sp. (Crustacea: Amphipoda) in riverine salmonid diets. *Archiv für Hydrobiologie* **149:** 87-107.

MacNeil, C. & Prenter, J. (2000) Differential microdistributions and interspecific interactions in coexisting native and introduced *Gammarus* sp. (Crustacea : Amphipoda). *Journal of Zoology* **251:** 377-384.

Magurran, A.E. (1988) Ecological diversity and its measurement. *Princeton University Press, Princeton.*

Mantel, N. (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* **27:** 209-220.

Merilä, J. & Björklund, M. (1995) Fluctuating asymmetry and measurement error. *Systematic Biology* **44:** 97-101.

Metzeling, L. (1993) Benthic macroinvertebrate community structure in streams of different salinities. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* **44:** 335-351.

Meybeck, M. & Helmer, R. (1989) The quality of rivers: from pristine state to global pollution. In *Palaeogeogr. Palaeoclim., Palaeocol. (Global Planet Change Sec)*, pp. 283-309, Elsevier.

Mordukhai-Boltovskoï, F.D. (1964) Caspian fauna beyond the Caspian Sea. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie* **49:** 139-176.

Møller, A.P. (1999) Asymmetry as a predictor of growth, fecundity and survival. *Ecology Letters* **2:** 149-156.

Møller, A.P. (2000) Symmetry, size and stress. *Trends in Ecology & Evolution* **15:** 330.

Møller, A.P. & Swaddle, J.P. (1997) Asymmetry, Developmental stability, and Evolution, Oxford University Press, Oxford.

Mpho, M., Holloway, G.J. & Callaghan, A. (2001) A comparison of the effects of organophosphate insecticide exposure and temperature stress on fluctuating asymmetry and life history traits in *Culex quinquefasciatus*. *Chemosphere* **45:** 713-720.

Muñoz, I. & Prat, N. (1994) Macroinvertebrate community in the lower Ebro river (NE Spain). *Hydrobiologia* **286:** 65-78.

Muskó, I.B. (1993) The life history of *Dikerogammarus haemobaphes* (EICHW.) (Crustacea: Amphipoda) living on macrophytes in Lake Balaton (Hungary). *Archiv für Hydrobiologie* **127:** 227-238.

Nagabhushanam, R. & Kulkarni, G.K. (1977) Effect of some extrinsic factors on the respiratory metabolism of the freshwater leech, *Poecilobdella viridis* : oxygen tension, pH and salt concentrations. *Hydrobiologia* **56:** 181-186.

Niimi, A.J. & Reid, D.M. (2003) Low salinity residual ballast discharge and exotic species introductions to the North American Great Lakes. *Marine Pollution Bulletin* **46:** 1334-1340.

Nilsson, A. (1997) Aquatic insects of North Europe - Odonata-Diptera, Appolo Books, Stenstrup.

Øxnevad, S.A., Heibo, E. & Vøllestad, L.A. (2002) Is there relationship between fluctuating asymmetry and reproductive investment in Perch (*Perca fluviatilis*). *Canadian Journal of Zoology* **80:** 120-125.

Palmer, A.R. (1994) Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In *Developmental instability: Its origins and evolutionary implications.*, (ed. T. A. Markow), pp. 335-364, Kluwer, Dordrecht, Netherlands.

Palmer, A.R. (1996) From symmetry to asymmetry: Phylogenetic patterns of asymmetry variation in animals and their evolutionary significance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **93:** 14279-14286.

Palmer, M.A., Hakenkamp, C.C. & Nelson-Baker, K. (1997) Ecological heterogeneity in streams: why variance matters. *Journal of the North American Benthological Society* **16:** 189-202.

Palmer, A.R. & Strobeck, C. (1986) Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* **17:** 391-421.

Palmer, A.R. & Strobeck, C. (1992) Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: implications of non-normal distributions and power of statistical tests. *Acta Zoologica Fennica* **191:** 57-72.

Palmer, A.R. & Strobeck, C. (2003) Fluctuating asymmetry analyses revisited. In *Developmental instability: causes and consequences*, (ed. M. Polak), pp. 279-319, Oxford University Press, Oxford.

PAP/RAC. (2000) National Reports on Erosion Processes and Practices in the Mediterranean region, Split.

Parsons, P.A. (1990) Fluctuating asymmetry: an epigenic measure of stress. *Biological Review* **65:** 131-145.

Patrick, M.L. & Bradley, T.J. (2000) The physiology of salinity tolerance in larvae of two species of *culex* mosquitoes *:* the role of compatible solutes. *The Journal of Experimental Biology* **203:** 821-830.

Piscart, C., Devin, S., Beisel, J.N. & Moreteau, J.C. (2003) Growth-related life-history traits of an invasive gammarid specis: evaluation with a Laird-Gompertz model. *Canadian Journal of Zoology* **81:** 2006-2014.

Piscart, C., Lecerf, A., Usseglio-Polatera, P., Moreteau, J.C. & Beisel, J.N. (In press) Biodiversity patterns along a salinity gradient: The case of net-spinning caddisflies. *Biodiversity and conservation.*

Pringle, C.M., White, D.S., Rice, C.P. & Tuchman M.L. (1981) The biological effects of chloride and sulfate with special emphasis on the Laurentian Great Lakes. University of Michigan, Great Lakes Research Division Publication 20. 51 pp.

Pringle, C.M., Naiman, R.J., Bretschko, G., Karr, J.R., Oswood, M.W., Webster, J.R., Welcomme, R.L. & Winterbourn, M.J. (1988) Patch dynamics in lotic systems: the stream as a mosaïc. *Journal of the North American Benthological Society* **7:** 503-524.

Rabeni, C.F. & Minshall, G.W. (1977) Factors affecting microdistribution of stream benthic insects. *Oikos* **29:** 33-43.

Rantala, M.J., Koskimäki, J., Taskinen, J. & Tynkkynen, K. (2000) Immunocompetence, developmental stability and wingspot size in the damselfly *Calopteryx splendens* L. *Proceeding of the Royal Society of London B Biological Sciences* **267:** 2453-2457.

Reid, D.F. & Orlova, M.I. (2002) Geological and evolutionary underpinnings for the success of Ponto-Caspian species invasions in the Baltic Sea and North American Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* **59:** 1144-1158.

Reimchen, T.E. & Nosil, P. (2001) Dietary differences between phenotypes with symmetrical and asymmetrical pelvis in the stickleback *Gesterosteus aculeatus. Canadian Journal of Zoology* **79:** 533-539.

Remane, A. (1934) Die Brackwasserfauna. *Verhalten Deutsch Zoologisch Gessellshaft* **36:** 34-74.

Rundle, S.D., Attrill, M.J. & Arshad, A. (1998) Seasonality in macroinvertebrate community composition across a neglected ecological boundary, the freshwater-estuarine transition zone. *Aquatic Ecology* **32:** 211-216.

Sanchez Galan, S., Linde, A.R., Izquierdo, J.I. & Garciavazquez, E. (1998) Micronuclei and fluctuating asymmetry in brown trout (*Salmo trutta*)- Complementary methods to biomonitor freshwater ecosystems. *Mutation Research-Genetic Toxicology & Environmental Mutagenesis* 412: 219-225.

Savage, A.A. (1982) The survival and growth of *Gammarus tigrinus* Sexton (Crustacea:Amphipoda) in relation to salinity and temperature. *Hydrobiologia* **94:** 201-212.

Savage, A. & Hogarth, P.J. (1999) An analysis of temperature-induced fluctuating asymmetry in *Asellus aquaticus* (Linn.). *Hydrobiologia* **411:** 139-143.

Scudder, G.C.E. and Mann, K.H. (1968) The leeches of some lakes in southern interior plateau region of British Columbia. *Syesis* **1:** 203-209.

Servia, M.J., Cobo, F. & Gonzalez, M.A. (2002) Ontogeny of individual asymmetries in several traits of larval Chironomus riparius Meigen, 1804 (Diptera, Chironomidae). *Canadian Journal of Zoology* **80:** 1470-1479.

Servia, M.J., Cobo, F. & González, M.A. (2004) Multiple-trait analysis of fluctuating asymmetry levels in anthropogenically and naturally stressed sites: a case study using *Chironomus riparius* Meigen, 1804 Larvae. *Environmental Monitoring and Assessment* **90:** 101-112.

Short, T.M., Black, J.A. & Birge, W.J. (1991) Ecology of a saline stream: community responses to spatial gradients of environmental conditions. *Hydrobiologia* **226:** 167-178.

Silva, E.I.L. & Davies, R.W. (1997) The effects of irrigation effluent on a Western Canadian prairie river. *Hydrobiologia* **344:** 103-109.

Silva, E.I.L. & Davies, R. W. (1999) The effects of simulated irrigation induced changes in salinity on metabolism of lotic biota. *Hydrobiologia* **416:** 193-202.

Southwood, T.R.E. (1988) Tactics, strategies and templets. *Oikos* **52:** 3-18.

Statzner, B., Hoppenhaus, K., Arens, M.-F. & Richoux P. (1997) Reproductive traits, habitat use and templet theory: a synthesis of world-wide data on aquatic insects. *Freshwater Biology* **38:** 109-135.

Statzner, B., Resh, V.H. & Dolédec, S. (1994a) Ecology of the Upper Rhone river: a test of habitat templet theories. *Freshwater Biology* **31:** 253-256.

Statzner, B., Resh, V.H. & Roux, L. (1994b) The synthesis of long-term ecological research in the context of concurrently developed ecological theory: design of a research strategy for the Upper Rhône River and its floodplain. *Freshwater Biology* **31:** 253-263.

Stoks, R. (2001) Food stress and predator-induced stress shape developmental performancein a damselfly. *Oecologia* **127:** 222-229.

Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M. & Usseglio-Polatera, P. (2000) Invertébrés d'eau douce: Systématique, biologie et écologie, Paris.

Thioulouse, J., Chessel, D., Dolédec, S. & Olivier, J.M. (1997) ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistical Computation* **7:** 75-83.

Townsend, C.R. (1989) The patch dynamics concept of stream community ecology. *Journal of the North American Benthological Society* **8:** 36-50.

Townsend, C.R., Dolédec, S. & Scarsbrook, M.R. (1997) Species traits in relation to temporal and spatial heterogeneity in streams: a test of habitat templet theory. *Freshwater Biology* **37:** 367-387.

Usseglio-Polatera, P. (1991) Représentation graphique synthétique de la signification écologique d'un peuplement. Application aux macroinvertébrés du Rhône à Lyon. *Bulletin d'Ecologie* **22:** 195-202.

Usseglio-Polatera, P. (1994) Theoretical habitat templets, species traits, and species richness: aquatic insects in the Upper Rhône River and its floodplain. *Freshwater Biology* **31:** 417-437.

Usseglio-Polatera, P., Bournaud, M., Richoux, P. & Tachet, H. (2000a) Biomonitoring through biological traits of benthic macroinvertebrates: how to use species trait database? *Hydrobiologia* **422/423:** 153-162.

Usseglio-Polatera, P., Bournaud, M., Richoux, P. & Tachet, H. (2000b) Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates: relationships and definition of groups with similar traits. *Freshwater Biology* **43:** 175-205.

Usseglio-Polatera, P., Richoux, P., Bournaud, M. & Tachet, H. (2001) A functional classification of benthic macroinvertebrates based on biological and ecological traits: application to river condition assessment and stream management. *Archiv für Hydrobiologie* **139:** 53-83.

Van Dongen, S. (1999) Accuracy and power in the statistical analysis of fluctuating asymmetry: effects of between-individual heterogeneity in developmental instability. *Annales Zoologici Fennici* **36:** 45-52.

Van Valen, L. (1962) A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* **16:** 125-142.

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

Verneaux, J. (1976) Application de la méthode des "indices biotiques" à l'échelle d'un réseau hydrographique : cartographie de la qualité biologique des eaux. In *La pollution des eaux continentales : incidence sur les biocénoses aquatiques*, (ed. P. Pesson), pp. 221-228, Editions Bordas, Paris.

Vøllestad, L.A. & Hindar, K. (2001) Developmental stability in brown trout: are there any effects of heterozygosity or environmental stress? *Biological Journal of the Linnean Society* **74:** 351-364.

Ward, J.H. (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association* **58:** 236.

Waringer, J. & Graf, W. (1997) Atlas der Osterreischischen Köcherfliegenlarven., pp. 286, Universitätsverlag, Wein.

Watson, P.J. & Thornhill, R. (1994) Fluctuating asymmetry and sexual selection. *Trends in Ecology & Evolution* **9:** 21-25.

Whitlock, M. (1998) How repeatable is the estimation of developmental stability by fluctuating asymmetry? *Proceeding of the Royal Society of London B Biological Sciences* **265:** 1429-1431.

Wilcox, S. & Dietz, T.H. (1998) Salinity tolerance of the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) (Bivalvia, Dreissenidae). *The Nautilus* **111:** 143-148.

Williams, D.D., Williams, N.E. & Cao, Y. (1999) Road salt contamination of groundwater in a major metropolitan area and development of a biological index to monitor its impact. *Water Research* **34:** 127-138.

Williams, W.D. (1986) Limnology, the study of inland waters: a comment on perceptions of studies of salt lakes, past and present. In *Limnology in Australia*, (ed. W. Junk), CSIRO, Melbourne.

Williams, W.D. (1987) Salinization of Rivers and streams: An important environmental hazard. *Ambio* **16:** 181-185.

Williams, W.D., Boulton, A.J. & Taaffe, R.G. (1990) Salinity as a determinant of salt lake fauna: a question of scale. *Hydrobiologia* **197:** 257-266.

Williams, W.D. (1999) Salinization: A major threat to water resource in the arid and semi arid regions. *Lakes & Reservoir: Research and Management* **4:** 85-91.

Williams, W.D. (2000) Biodiversity in temporary wetlands of dryland regions. *Verhandlungen der Internationale Vereinigung für Limnologie* **27:** 141-144.

Willmer, P., Stone, G. & Johnston, I. (2000) Environmental physiology of animals, Oxford.

Winterbourn, M.J. (1970) The New Zealand species of *Potamopyrgus* (Gastropoda: Hydrobiidae). *Malacologia* **10:** 283-321.

Yourth, C.P., Forbes, M.R. & Smith, B.P. (2002) Immune expression in a damselfly is related to time of season, not to fluctuating asymmetry or host size. *Ecological Entomology* **27:** 123-128.

Zheng, H. & Dietz, T.H. (1998) Ion transport in the Freshwater Bivalve *Corbicula fluminea*. *Biological Bulletin* **194:** 161-169.

Annexe I : Tableaux des paramètres physico-chimiques des stations de la Meurthe en 2002

Annexe Ia. Amplitude (minimum - maximum) et valeur moyenne (± écart-type) des paramètres physico-chimiques mesurés en 2002 sur DAM, ROS2, STNIC et ART.

	Amplitude				Moyenne			
	DAM	**ROS2**	**STNIC**	**ART**	**DAM**	**ROS2**	**STNIC**	**ART**
Température °C	2,3 - 24,5	2,4 - 25,6	3,5 - 25,1	3,5 - 25,9	14,1 ± 6,9	14,6 ± 7,1	15,9 ± 7,2	15,8 ± 7,2
Conductivité ($\mu S.cm^{-1}$)	240 - 342	420 - 1238	674 - 2350	2240 - 4365	277 ± 32	703 ± 246	1807 ± 543	3422 ± 649
Salinité ($mg.L^{-1}$)	185 - 245	301 - 939	483 - 1787	1699 - 3311	213 ± 25	503 ± 189	1371 ± 389	2596 ± 465
pH	7,7 - 8,4	7,8 - 8,3	7,8 - 8,4	7,9 - 8,5	7,9 ± 0,2	7,9 ± 0,2	8,1 ± 0,2	8,2 ± 0,2
O_2 ($mg.L^{-1}$)	6,4 - 10,0	5,5 - 10,2	5,4 - 10,3	5,3 – 11,0	8,2 ± 1,3	8,1 ± 1,8	8,0 ± 2,1	8,2 ± 2,2
Chlorophylle a ($\mu g.L^{-1}$)	0,3 - 13,8	0,5 - 18,7	0,9 - 12,3	1,1 – 19,0	3,9 ± 4	7,0 ± 5,6	5,8 ± 3,9	8,3 ± 6,3
MEST ($mg.L^{-1}$)	3,8 - 27,0	5,1 – 29,0	5,3 – 28,0	7,2 – 22,0	11,7 ± 6,7	13,9 ± 7,2	15,3 ± 7,7	14,2 ± 5,2
Alcalinité ($mEq.L^{-1}$)	1,3 - 1,8	0,1 - 1,9	1,4 - 2,3	1,8 - 3,2	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,5	1,8 ± 0,3	2,1 ± 0,5
DCO ($mg.L^{-1}$)	10,5 - 20,4	10,7 - 22,5	13,0 - 20,1	14,2 - 27,5	15,6 ± 3,2	16,9 ± 3,5	17,1 ± 2,4	18,5 ± 4,6
SO_4^{2-} ($mg.L^{-1}$)	29,3 - 60,0	38,6 - 67,7	49,6 - 84,1	49,5 - 110,2	43,3 ± 10,5	51,5 ± 9,0	71,1 ± 12,5	78,0 ± 23,1
HCO_3^- ($mg.L^{-1}$)	40,9 - 109,8	8,4 - 114,7	59,8 - 141,5	97,6 - 146,4	80,6 ± 18,0	75,2 ± 30,9	105,1 ± 22,9	117,2 ± 13,9
Cl^- ($mg.L^{-1}$)	8,4 - 27,6	93,4 - 298,8	298,8 - 695,8	563,8 -1162,1	14,5 ± 6,0	153,6 ± 65,6	540,2 ± 127,2	963,6 ± 201,2
NH_4^+ ($mg.L^{-1}$)	0,1 - 0,2	0,1 - 0,2	0,1 - 0,5	0,2 - 0,5	0,10 ± 0,03	0,10 ± 0,06	0,20 ± 0,11	0,30 ± 0,11
NO_2^- ($mg.L^{-1}$)	0,01 - 0,03	0,02 – 0,03	0,02 - 0,05	0,02 - 0,07	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02
NO_3^- ($mg.L^{-1}$)	1,3 - 7,3	1,3 - 7,8	2,2 - 9,1	2,2 - 12,9	3,8 ± 2,7	3,9 ± 2,5	5,7 ± 3,2	5,9 ± 3,8
Azote Kjeldhal ($mg.L^{-1}$)	0,2 - 1,2	0,2 - 3,2	0,3 - 1,8	0,5 - 1,4	0,70 ± 0,32	0,90 ± 0,89	0,90 ± 0,41	1,00 ± 0,29
Phosphore totaux ($mg.L^{-1}$)	0,1 - 0,2	0,1 - 0,2	0,1 - 0,2	0,1 - 0,2	0,10 ± 0,04	0,20 ± 0,06	0,20 ± 0,06	0,20 ± 0,05
PO_4^{2-} ($mg.L^{-1}$)	0,03 - 0,10	0,02 - 0,09	0,03 - 0,10	0,03 – 0,10	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,02	0,10 ± 0,02
Ca^+ ($mg.L^{-1}$)	23,4 - 40,5	45,2 – 138,7	45,5 – 269,0	212,5 - 501,5	31,3 ± 5,0	75,9 ± 27,4	207,3 ± 78,4	373,3 ± 101,7
Mg^{2+} ($mg.L^{-1}$)	7,4 – 11,0	8,5 - 12,1	11,1 - 16,6	11,9 - 17,4	8,7 ± 1,1	9,7 ± 1,3	13,4 ± 1,9	14,2 ± 1,8
Na^+ ($mg.L^{-1}$)	8,2 - 15,9	20,7 - 73,8	64,6 - 207,5	191,0 – 336,0	10,1 ± 2,6	38,0 ± 16,6	148,8 ± 37,4	272,3 ± 43,3
K^+ ($mg.L^{-1}$)	2,3 – 4,0	3,2 – 6,0	4,6 - 8,7	7,0 - 12,1	2,9 ± 0,6	3,9 ± 0,9	6,9 ± 1,2	9,7 ± 1,5

Annexe Ib. Amplitude (minimum - maximum) et valeur moyenne (± écart-type) des paramètres physico-chimiques mesurés en 2002 sur MOR, ROS1 et DOMB.

	Amplitude			Moyenne		
	MOR	**ROS1**	**DOMB**	**MOR**	**ROS1**	**DOMB**
Température °C	2,3 - 25	2,4 - 25,4	2,3 - 24,1	13,6 ± 6,9	13,8 ± 7,0	13,5 ± 6,8
Conductivité ($\mu S.cm^{-1}$)	250 - 349	335 - 1104	430 - 2100	286 ± 31	561 ± 226	786 ± 500
Salinité ($mg.L^{-1}$)	0,19 - 0,25	0,24 - 0,84	0,31 - 1,59	0,22 ± 0,02	0,41 ± 0,17	0,58 ± 0,39
pH	6,8 - 8,3	6,8 - 8,4	6,8 - 8,2	7,7 ± 0,4	7,8 ± 0,4	7,8 ± 0,4
O_2 ($mg.L^{-1}$)	5,8 - 10,3	5,4 - 10,6	6,0 - 10,7	8,4 ± 1,7	8,3 ± 1,9	8,5 ± 1,8
Chlorophylle a ($\mu g.L^{-1}$)	0,4 - 13,4	0,5 - 18,1	0,7 - 18,2	4,4 ± 4,1	5,7 ± 5,3	5,8 ± 5,5
MEST ($mg.L^{-1}$)	5,3 - 16,3	4,9 - 29,5	3,6 - 24,0	11,2 ± 4,2	14,5 ± 8,4	13,3 ± 7,1
Alcalinité ($mEq.L^{-1}$)	1,28 - 1,80	1,27 - 1,82	1,29 - 1,86	1,47 ± 0,15	1,46 ± 0,15	1,45 ± 0,16
DCO ($mg.L^{-1}$)	11,5 - 20,0	11,8 - 22,0	11,9 - 20,1	16,1 ± 2,9	17,2 ± 3,8	16,9 ± 3,2
SO_4^{2-} ($mg.L^{-1}$)	31,9 - 58,0	32,1 - 58,8	33,7 - 60,6	44,0 ± 8,6	46,2± 8,4	48,3 ± 9,3
HCO_3^- ($mg.L^{-1}$)	44,5 - 109,8	45,1 - 111,0	43,9 - 113,5	85,1 ± 16,9	84,4 ± 16,7	84,2 ± 17,3
Cl^- ($mg.L^{-1}$)	8,2 - 16,6	61,8 - 256,9	74,6 - 325,4	12,3 ± 3,0	103,4 ± 62,7	153,4 ± 80,2
NH_4^+ ($mg.L^{-1}$)	0,02 - 0,23	0,02 - 0,22	0,05 - 0,23	0,12 ± 0,05	0,11 ± 0,06	0,13 ± 0,06
NO_2^- ($mg.L^{-1}$)	0,01 - 0,03	0,01 - 0,03	0,01 - 0,03	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
NO_3^- ($mg.L^{-1}$)	1,4 - 8,0	1,2 - 7,6	1,3 - 7,6	4,5 ± 2,8	4,4 ± 2,6	4,2 ± 2,5
Azote Kjeldhal ($mg.L^{-1}$)	0,04 - 1,05	0,03 - 0,86	0,24 - 1,12	0,61 ± 0,30	0,56 ± 0,25	0,69 ± 0,28
Phosphore totaux ($mg.L^{-1}$)	0,07 - 0,24	0,01 - 0,23	0,062 - 0,24	0,15 ± 0,05	0,13 ± 0,07	0,16 ± 0,06
PO_4^{2-} ($mg.L^{-1}$)	0,04 - 0,10	0,03 - 0,09	0,03 - 0,01	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02
Ca^+ ($mg.L^{-1}$)	17,6 - 40,8	37,1 - 118,9	43,1 - 130,9	31,1 ± 6,3	59,3 ± 24,3	72,7 ± 25,8
Mg^{2+} ($mg.L^{-1}$)	8,0 - 11,2	8,1 - 12,1	8,3 - 12,3	9,1 ± 1,0	9,5 ± 1,2	9,8 ± 1,3
Na^+ ($mg.L^{-1}$)	6,4 - 12,4	14,2 - 60,0	21,0 - 83,9	9,3 ± 1,8	27,3 ± 14,8	43,1 ± 20,0
K^+ ($mg.L^{-1}$)	2,4 - 3,6	2,8 - 5,5	3,0 - 6,4	2,9 ± 0,4	3,5 ± 0,8	3,9 ± 1,0

Annexe II : Listes faunistiques des quatre stations utilisées pour l'étude de la biodiversité des communautés de macroinvertébrés de la Meurthe en 2002

Listes faunistiques des quatre sites de la Meurthe échantillonnés au filet Surber. Codes des occurrences : 0 = absent; + = présent (taxa avec moins de 5 individus); 1=rare (<0.1 %); 2 = commun (<5%); 3= abondant (>5%).

			DAM	*ROS2*	*STNIC*	*ART*
Hydracariens			2	2	2	1
Triclades	Planaridae	*Polycelis* sp.	0	1	0	0
		Planaria sp.	+	0	0	0
	Dugesiidae	*Dugesia* sp.	2	2	2	2
	Dendrocoelidae	*Dendrocoelum lacteum*	0	+	+	1
Nématodes			2	2	2	2
Oligochètes			3	3	3	3
Mollusques	Glossiphonidae	*Glossiphonia* sp.	1	1	1	+
		Helobdella stagnalis	1	1	1	+
		Haementeria costata	+	+	+	0
	Piscicolidae	*Piscicola geometra*	1	1	1	1
	Erpobdellidae	*Erpobdella* sp.	1	1	1	+
	Viviparidae	*Viviparus* sp.	+	+	+	+
	Neritidae	*Theodoxus fluviatilis*	0	0	+	0
	Valvatidae	*Valvata* sp.	1	1	1	+
	Bithyniidae	*Bithynia tentaculata*	1	2	2	2
	Hydrobiidae	*Potamopyrgus antipodarum*	2	2	2	2
		Bythinella sp.	+	1	0	0
	Ancylidae	*Ancylus fluviatilis*	1	1	1	1
	Planorbidae	*Planorbarius corneus*	+	1	2	+
		Gyraulus sp.	+	+	+	+
		Menetus dilatatus	+	+	0	0
	Lymnaeidae	*Myxas glutinosa*	+	1	1	1
		Galba truncatula	0	0	0	+
		Radix sp.	+	1	1	2
		Stagnicola sp.	0	0	0	+
	Physidae	*Physa* sp.	+	1	1	2
	Unionidae	*Unio* sp.	0	1	+	0
	Dreissenidae	*Dreissena polymorpha*	0	0	1	+
	Sphaeriidae	*Sphaerium* sp.	1	2	1	1
		Pisidium sp.	2	2	2	1
	Corbiculidae	*Corbicula fluminea*	2	2	2	2
		Corbicula fluminalis	0	+	2	1
Crustacés	Gammaridae	*Gammarus pulex*	2	2	2	+
		Gammarus roeseli	2	2	2	1
		Gammarus tigrinus	0	0	0	3
	Corophiidae	*Chelicorophium curvispinum*	0	+	1	2
	Asellidae	*Asellus aquaticus*	0	+	1	2
	Cambaridae	*Orconectes limosus*	1	2	3	2
Ephéméroptères	Leptophlebiidae	*Habroleptoides* sp.	1	1	0	0
		Paraleptophlebia sp..	+	+	0	0
		Habrophlebia sp.	+	+	+	+
	Potamanthidae	*Potamanthus luteus*	2	2	2	2
	Ephemeridae	*Ephemera* sp.	+	1	1	1
	Caenidae	*Caenis* sp.	2	2	2	2
	Ephemerellidae	*Ephemerella* sp.	2	1	1	1
	Baetidae	*Baetis* sp.	2	2	2	1
		Acentrella sinaica	1	1	1	+
	Oligoneuriidae	*Olligoneuriella rhenana*	2	+	1	0
	Heptageniidae	*Heptagenia* sp.	2	1	1	0

		Ecdyonurus sp.	+	0	0	+
		Epeorus sp.	1	0	+	0
		Rhithrogena sp.	2	1	1	0
Plécoptères	Leuctridae	*Leuctra* sp.	0	+	1	0
Odonates	Calopterygidae	*Calopteryx splendens*	2	1	1	1
	Platycnemididae	*Platycnemis pennipes*	1	2	2	2
	Coenagrionidae	*Ceriagrion tenellum*	0	0	1	0
		Coenagrion sp.	1	2	2	2
	Gomphidae	*Gomphus* sp.	1	1	1	1
		Onychogomphus sp.	+	+	0	0
Hétéroptères	Notonectidae	*Notonecta* sp.	0	0	0	+
	Aphelocheiridae	*Aphelocheirus aestivalis*	1	1	+	+
	Nepidae	*Nepa cinerea* sp.	0	0	0	+
	Corixidae	*Micronecta* sp.	2	2	1	1
	Hydrometridae	*Hydrometra* sp.	0	0	0	1
	Mesoveliidae	*Mesovelia* sp.	1	1	1	+
	Veliidae	*Microvelia* sp.	2	0	+	1
Mégaloptères	Sialidae	*Sialis lutaria*	1	1	+	+
	Sisyridae	*Sisyra* sp.	1	1	1	1
Lépidoptères	Crambidae	*Acentria ephemerella*	+	+	0	0
		Parapoynx stratiotata	0	0	+	0
Coléoptères	Gyrinidae	*Orectochilus villosus*	1	1	+	0
	Haliplidae	*Haliplus* sp.	0	+	+	1
	Hygrobiidae	*Hygrobia tarda*	1	1	+	+
	Noteridae	*Noterus* sp.	+	+	0	+
	Dytiscidae	*Hydroporus* sp.	0	+	0	0
		Laccophilus sp.	+	1	+	2
		Agabus sp.	+	0	+	+
	Hydrophilidae	*Laccobius* sp.	0	0	0	+
		Hydrophilus sp.	+	+	+	1
	Hydraenidae	*Hydraena* sp.	+	+	0	0
	Dryopidae	*Dryops* sp.	+	+	+	1
	Elmidae	*Stenelmis* sp.	+	+	+	+
		Dupophilus brevis	1	1	+	0
		Elmis sp.	1	1	+	+
		Limnius sp.	1	1	1	1
		Oulimnius sp.	2	2	1	1
		Macronychus quadrituberculatus	1	1	1	1
	Curculionidae		0	+	0	+
	Chrysomelidae	*Macroplea appendiculata*	+	0	+	0
Trichoptères	Philipotamidae	*Philopotamus variegatus*	+	0	0	0
	Hydropsychidae	*Hydropsyche siltalai*	1	+	+	0
		Hydropsyche contubernalis	2	2	2	1
		Hydropsyche pellucidula	2	2	2	2
		Hydropsyche exocellata	1	1	2	2
	Polycentropodidae	*Neureclipsis bimaculata*	+	1	1	+
		Cyrnus trimaculatus	1	2	1	1
	Psychomyiidae	*Psychomyia pusilla*	2	2	2	2
		Lype reducta	+	1	+	+
		Tinodes waeneri	1	1	+	1
	Ecnomidae	*Ecnomus tenellus*	1	1	2	2
	Rhyacophilidae	*Rhyacophila dorsalis*	1	0	0	0
		Rhyacophila fasciata	+	0	0	0
		Rhyacophila intermedia	0	0	0	+
	Hydroptilidae	*Hydroptila* sp.	2	2	2	2
		Ithytrichia lamellaris	2	2	2	1
	Limnephilidae	*Ironoquia dubia*	+	+	0	0
		Halesus radiatus	1	1	1	+
		Limnephilus rhombicus	1	+	0	0
		Chaetopterygopsis maclachlani	+	+	0	+

		Glyphotaelius pellucidus	0	+	0	0
	Goeridae	*Goera pilosa*	1	2	1	+
	Brachycentridae	*Brachycentrus subnubilius*	1	+	0	+
	Leptoceridae	*Athripsodes cinereus*	2	2	1	+
		Ceraclea dissimilis	1	+	+	0
		Ceraclea annulicornis	2	1	1	+
		Leptocerus tineiformis	2	1	1	+
		Mystacides azurea	2	2	1	1
		Mystacides longicornis	1	1	0	+
		Oecetis notata	1	2	1	+
		Oecetis ochracea	1	1	+	+
		Setodes argentipunctellus	1	0	0	0
Diptères	Psychodidae	*Psychodidae*	1	+	1	+
	Simuliidae	*Simuliini* sp.	2	2	3	2
	Ceratopogonidae	*Ceratopogoninae*	1	2	2	2
	Chironomidae	*Tanypodinae*	2	2	2	2
		Tanytarsini sp.	3	3	3	3
		Chironomini sp.	3	3	3	3
		Orthocladiinae	3	3	3	3
	Tipulidae		1	1	1	1
	Limoniidae	*Limoniini* sp.	1	+	+	0
		Hexatomini sp.	+	0	0	+
	Empididae	*Hemerodromiinae*	1	1	1	1
	Athericidae	*Atherix* sp.	1	1	1	1
		Athrichops crassipes	2	1	1	1
	Tabanidae		1	+	+	+
	Sciomyzidae		0	+	0	0
	Muscidae		0	+	0	0

Annexe III : Appartenance aux groupes fonctionnels biologiques et écologiques des macroinvertébrés de la Meurthe (d'après Usseglio-Polatera et al. 2000b)

		Sous-groupe biologique	*Sous-groupe écologique*
Hydracariens		-	-
Planaridae	*Polycelis*	c1	D2
	Planaria	c1	C1
Dugesiidae	*Dugesia*	c1	D2
Dendrocoelidae	*Dendrocoelum lacteum*	c1	F3
Nématodes		-	-
Oligochètes		-	-
Glossiphonidae	*Glossiphonia*	b1	D2
	Helobdella	b1	F3
	Haementeria costata	B1	F3
Piscicolidae	*Piscicola geometra*	b1	E
Erpobdellidae	*Erpobdella*	c1	D2
Viviparidae	*Viviparus*	b1	E
Neritidae	*Theodoxus fluviatilis*	e2	C2
Valvatidae	*Valvata*	e1	F3
Bithyniidae	*Bithynia*	e1	F3
Hydrobiidae	*Potamopyrgus antipodarum*	e1	E
	Bythinella sp.	e2	A
Ancylidae	*Ancylus fluviatilis*	e2	C1
Planorbidae	*Planorbarius corneus*	c2	F2
	Gyraulus	e2	F3
Lymnaeidae	*Myxas glutinosa*	e2	F3
	Galba truncatula	e2	D1
	Radix	e1	F3
	Stagnicola	e2	F2
Physidae	*Physa*	e2	F3
Unionidae	*Unio*	b2	E
Dreissenidae	*Dreissena polymorpha*	b2	E
Sphaeriidae	*Sphaerium*	b2	F3
	Pisidium	b2	D2
Corbiculidae	*Corbicula*	b2	E
Gammaridae	*Gammarus*	b1	C1
Corophiidae	*Chelicorophium*	e1	E
Asellidae	*Asellus aquaticus*	e1	F3
Cambaridae	*Orconectes limosus*	b1	E
Leptophlebiidae	*Habroleptoides*	f	C1
	Paraleptophlebia	f	C1
	Habrophlebia	f	C2
Potamanthidae	*Potamanthus luteus*	f	E
Ephemeridae	*Ephemera*	c1	C2
Caenidae	*Caenis.*	f	F3
Ephemerellidae	*Ephemerella*	f	C1
Baetidae	*Baetis*	e2	C1
	Acentrella sinaica	e2	B1
Oligoneuriidae	*Olligoneuriella rhenana*	f	C2
Heptageniidae	*Heptagenia*	f	C2
	Ecdyonurus	f	B1
	Epeorus	f	A
	Rhithrogena	f	A
Leuctridae	*Leuctra*	f	B2
Calopterygidae	*Calopteryx*	d2	D2

Platycnemididae	*Platycnemis*	d2	E
Coenagrionidae	*Ceriagrion tenellum*	d2	F1
	Coenagrion	d2	F1
Gomphidae	*Gomphus*	d1	D2
	Onychogomphus	d1	D2
Notonectidae	*Notonecta*	g2	F1
Aphelocheiridae	*Aphelocheirus aestivalis*	g3	C2
Nepidae	*Nepa*	g3	F2
Corixidae	*Micronecta*	e3	D2
Hydrometridae	*Hydrometra*	g2	F3
Mesoveliidae	*Mesovelia*	g2	F2
Veliidae	*Microvelia*	g2	F2
Sialidae	*Sialis*	d1	D1
Sisyridae	*Sisyra.*	g1	F3
Crambidae	*Acentria ephemerella*	e3	F1
	Parapoynx stratiotata	f	F1
0Gyrinidae	*Orectochilus villosus*	g3	C2
Haliplidae	*Haliplus*	g2	G2
Hygrobiidae	*Hygrobia tarda*	g3	G1
Noteridae	*Noterus*	g3	G1
Dytiscidae	*Hydroporus*	g2	G2
	Laccophilus	g2	G2
	Agabus	g3	F1
Hydrophilidae	*Laccobius*	g1	G1
	Hydrophilus	g3	G1
Hydraenidae	*Hydraena*	g1	D1
Dryopidae	*Dryops*	g1	F2
Elmidae	*Stenelmis*	e3	C2
	Dupophilus brevis	e3	B1
	Elmis	e3	B1
	Limnius	e3	B1
	Oulimnius	e3	C1
	Macronychus	e3	C1
Chrysomelidae	*Macroplea appendiculata*	e3	F3
Philipotamidae	*Philopotamus*	e2	A
Hydropsychidae	*Hydropsyche*	e1	C1
Polycentropodidae	*Neureclipsis bimaculata*	e1	D2
	Cyrnus	e1	F3
Psychomyiidae	*Psychomyia pusilla*	e2	C2
	Lype	e2	D2
	Tinodes	e2	D2
Ecnomidae	*Ecnomus*	e1	E
Rhyacophilidae	*Rhyacophila*	c1	B2
Hydroptilidae	*Hydroptila*	e2	D2
	Ithytrichia lamellaris	e2	B1
Limnephilidae	*Ironoquia dubia*	f	F1
	Halesus	f	D1
	Limnephilus	f	F1
	Chaetopterygopsis	f	F1
	Glyphotaelius pellucidus	f	F1
Goeridae	*Goera*	f	C2
Brachycentridae	*Brachycentrus*	e2	C1
Leptoceridae	*Athripsodes*	e2	E
	Ceraclea	f	E
	Leptocerus	e2	E
	Mystacides	e2	F3
	Oecetis	e2	F3
	Setodes	e2	E
Psychodidae	*Psychodidae*	e2	F1
Simuliidae	*Simuliini*	e1	B2

Ceratopogonidae	Ceratopogoninae	c2	F1
Chironomidae	Tanypodinae	c2	D1
	Tanytarsini	e2	D2
	Chironomini	e1	F3
	Orthocladiinae	e2	D1
Tipulidae		c1	D1
Limoniidae	*Limoniini*	c2	D2
	Hexatomini	c2	D2
Empididae	Hemerodromiinae	c2	D1
Athericidae	*Atherix*	d2	C1
	Athrichops crassipes	d2	D2
Tabanidae		g3	F3
Sciomyzidae		g3	F1
Muscidae		c2	F1

Annexe IV: Biodiversity and structure of macroinvertebrate communities along a small permanent salinity gradient (Meurthe River, France).

AUTHOR'S PROOF!

Hydrobiologia (2005) 546:1–10
DOI 10.1007/s10750-005-4463-0

© Springer 2005

Biodiversity and structure of macroinvertebrate communities along a small permanent salinity gradient (Meurthe River, France)

Christophe Piscart*, Jean-Claude Moreteau & Jean-Nicolas Beisel
Université de Metz, UFR SciFA, Laboratoire BFE, Campus Bridoux, Av. du Général Delestraint, 57070 Metz, France
*(*Author for correspondence: Tel.: +33-387378431; Fax: +33-387378423; E-mail: piscart@sciences.univ-metz.fr)*

Key words: salinization, freshwater, functional feeding groups, macroinvertebrate communities

Abstract

Changes in the macroinvertebrate community were investigated over 10 months at four site along a 19 km salinity gradient (0.21–2.60 g l^{-1}) a sixth-order stream, the Meurthe River, northeastern France. Abiotic characteristics other than salinity were similar between the sites. Macroinvertebrate taxonomic richness decreased by 30% downstream of the 1.4 g l^{-1} sites while diversity, evenness or total abundance of taxa did not change along the gradient. In terms of functioning, a slight change in relative abundances of invertebrate feeding groups followed the salinity gradient. Eight invertebrates assemblages occurred within specific salinity distributions were identified. The exotics *Gammarus tigrinus*, *Dreissena polymorpha*, *Corbicula fluminalis* and *Corophium curvispinum*, were more abundant at the highest salinity site. These results suggest that rising salinity concentrations drastically affect the species composition, including favouring exotic species.

Introduction

The most important environmental factors usually affecting the longitudinal patterns of macroinvertebrate communities are water temperature, flow and salinity. While the roles played by water temperature and stream hydraulics has been studied widely (Vannote et al., 1980; Statzner & Higler, 1986; Townsend, 1996), the role of salinity, defined in terms of total dissolved substances, remains largely unknown. Particular difficulties are an absence of ‚benchmark' surveys of rivers undergoing salinization and studies of rivers wherein salt is a contaminant with a clear gradient of concentration (Williams et al., 1991) and in a small geographical scale (Hynes, 1970). However, following the definition of salinization process in arid and semi-arid areas by Williams (1987), several studies have shown that macroinvertebrate assemblages begin to be modified when salinity ranges from 1 to 3 g l^{-1} with a reduction of diversity and abundance (Hart et al., 1990, 1991; Williams et al., 1991; Gallardo-Mayenco, 1994; Munoz & Prat, 1994; Leland & Fend, 1998; Kefford, 1998; Williams et al., 1999).

To date, a natural salinization process affects mainly South European countries under Mediterranean climate but little information is available about the effects of salinity on other European biota (Gallardo-Mayenco, 1994; Munoz & Prat, 1994). In the context of global warming, a large part of South European ecosystems are threatened and salinization is likely to induce biodiversity changes that cannot be predicted.

This study samples aquatic macroinvertebrates over a year along a 19 km section of the Meurthe River with a clear-cut longitudinal gradient from 0.21 to 2.6 g l^{-1} (Piscart et al., in press). The aims of our study were: (1) to characterize the distribution pattern of benthic invertebrates along a salinity gradient; (2) to investigate the consequences of faunal changes on communities, especially in terms of structure

Journal : HYDR | Dispatch : 25-4-2005 | Pages : 10
CMS No. : DO000014463 | ☐ LE | ☐ TYPESET
MS Code : HYDR SP-918 | ☑ CP | ☑ DISK

PDF-OUTPUT

and functional organization; and (3) to document the tolerances of common European invertebrate species to salinity. These results are synthesized and discussed in the context of the salinization process consequences on freshwater invertebrate communities.

Materials and methods

Study area

The study was conducted in the Meurthe River, a sixth-order stream tributary of the Moselle River, in northeastern France. The study area is a perennial-flow section, located upstream from the city of Nancy (48° 41′ 52″ N, 6° 11′ 14″ E). Chemical plants discharge salt water into this section of the river on this section. The bedrock geology and mineral composition of derived soils are consistent across the study area (the soils are composed primarily of upper and mid-Muschelkalk limestone, with several outcroppings of Lias sandstone) and give the water its specific features (Arts & Sary, 2000). The high solubility of calcium in these rocks and derived soils result in runoff with a high concentration of dissolved solids.

Four sites were chosen according to their relative positions to various chemical plant discharges. The discharges, resulting from a soda production process, were composed exclusively of water and dissolved minerals (Cl, Ca, Na, and Mg). The first site chosen, located upstream from the first discharge point, in the city of Dame-levières (DAM), was used as a reference site. The second site in Rosières-aux-Salines (ROS) and the third site, near the city of St Nicolas-de-Port (STNIC), exhibited intermediate levels of perturbation. The fourth site, located near the city of Art-sur-Meurthe (ART), downstream from all discharge points, corresponded to a high level of perturbation. Water samples were collected for chemical analysis at each of the four sites, each month from January to October 2002, except in February. Water samples were stored at 4 °C and analyzed the next day in accordance with French standard protocols (AFNOR, 1995). Results concerning the chemistry of the water were detailed in a previous study (Piscart et al., in press).

Invertebrate sampling

Invertebrates were collected each month from January to October 2002 (except for February) with a Surber net sampler (0.05 m^2, 500 μm mesh size). The substrate within the sampler was removed to a depth of about 5 cm. Large rocks were scraped and brushed free of moss and insects. Between 9 and 10 habitats were sampled on each date at each site: 1 root, 2 litter, 1 sand (Ø < 2 mm), 1 gravel (Ø < 31 mm), 1 boulder (Ø > 124 mm), 3 pebbles (Ø between 31 and 124 mm) and 1 additional macrophyte sample taken between June and October at each site. Samples were fixed with 5% formaldehyde in the field. In the laboratory, organisms were sorted and preserved in 70% ethanol.

Statistical analyses

Biocenotic indices (abundance, richness, Hurlbert's evenness and Shannon's diversity – see Magurran, 1988 for details) were calculated with faunal lists for each site and each sampling date. Between-site differences were compared statistically for each index using the Friedman non-parametric ANOVA method to take the seasonal variability between the nine sampling dates into account.

The changes in macroinvertebrate communities along the salinity gradient were investigated using a factorial correspondence analysis (FCA). For this analysis macroinvertebrates present with at least five individuals taken within the year and present in at least two sampling dates were retained. The array analyzed contains 110 taxa, and 36 dates/sites combinations (9 dates × 4 sites). The FCA was performed using ADE-4 software, a package for multivariate analysis and graphical display (Thioulouse et al., 1997).

A cluster analysis was used to establish an invertebrate typology along the salinity gradient. Species were classified using their positions on the first twelve FCA axes (representing at least 66% of the total inertia) with Statistica software (Statsoft™), using Ward's method (Ward, 1963) and the Euclidean distance. The computation of Jaccard's similarity coefficient (J) was carried out using the following equations: $J = a/(a + b + c)$; where a is the number of taxa present on the two sites, b is

Journal : HYDR Dispatch : 25-4-2005 Pages : 10

the number of taxa present only on the first site and c is the number of taxa present only on the second site.

To study the change in trophic groups, we considered that each taxon could belong to several trophic groups: deposit feeder, shredder, scraper, filter feeder, piercer, predator or parasite. In this classification scheme, the relative preference of each taxon for each feeding habit was coded from 0, for no affinity for a given modality, to 5, for a high affinity (Tachet et al., 2000). This fuzzy coding procedure provided the best way to describe the link between a taxon and its feeding habits (Usseglio-Polatera et al., 2000). For statistical analysis of frequency distributions weighted by the relative preferences, we used a $\log(X + 1)$ transformation of the abundances (X) to reduce the effect of dominant species.

Results

A total of 277,957 individuals from 139 taxa was present in the 335 mesohabitat samples collected. The species richness was highly correlated with the salinity level (Spearman correlation $p < 0.0001$), decreasing along the salinity gradient with a total loss of 30% of the taxa observed in the upstream site (Fig. 1). A Friedman non-parametric ANOVA test on species richness showed that the numbers of species decreased significantly from the third site ($p = 0.0196$) with a mean salinity concentration of 1.37 g l^{-1} (Table 1). However, the reduction in species richness at the high salinity site (ART) was despite the inclusion of additional taxa at this site (*Gammarus tigrinus* Sexton, *Corophium curvispinum* Sars, *Dreissena polymorpha* Pallas and *Corbicula fluminalis* Müller). No statistical differences were found between the total abundance ($p = 0.5864$), the diversity ($p = 0.0809$) and the evenness ($p = 0.5062$) at the four stations.

Aquatic insects accounted for a large part of the taxon density (more than 50% at each site). In terms of mean abundance, Diptera (41.2–49.9%), Trichoptera (5.8–10.7%), and Ephemeroptera (3.3–5.7%) were the most numerous groups of insect. Abundances of Oligochaeta, Turbellaria and Nematoda combined represented from 24.3 to 31.6%, before Molluscs (1.7–6.8%) and Crustacea (6.0–11.3%). Abundances of Odonata, Heteroptera, Coleoptera and other insects contributed less than 2% to the benthic community at all sites during the study period (Table 2). The abundances of Molluscs and Crustacea increased at the highest salinity site (ART), while Ephemeroptera, Heteroptera and Coleoptera abundance decreased (Table 2). No change in the abundance of the other groups was detected.

In FCA, two factorial axes were selected according to the decrease in eigenvalues (19.8 and 10.0%, respectively of total inertia – Fig. 2a). The first component was correlated with salinity (Fig. 2b) while the second component described seasonal variations of macroinvertebrates in the Meurthe River section (Fig. 2c). The high heterogeneity among sites was related mostly to a very conspicuous upstream–downstream gradient from DAM to ART (Fig. 2b).

The results of the cluster analysis (based on the factorial coordinates) provided eight taxonomic groups (Figs. 3 and 2a) characterized by their salinity distribution. Groups 1–4 comprised species that were highly affected by the salinity level. The groups 1 and 4 contained most of the salt-sensitive species that were presents all year long (Fig. 2a). Group 2 (*Ephemerella* sp., *Rhithrogena* sp., *Oligoneuriella rhenana* Imhof, *Rhyacophila dorsalis* Curtis) was mainly present in spring while group 3 (*Orectochilus villosus* Müller, *Chaetopterygopsis maclachlani* Stein, *Ceraclea dissimilis* Stephens, *Leptocerus tineiformis* Curtis, *Setodes argentipunctellus* McLachlan, *Oecetis ochracea* Curtis, *Acentrella sinaica* Bogoescu, Tabanidae, *Athrichops crassipes* Krober) was characterized by species mainly present in winter and autumn. Groups 5 and 6 comprised species that are relatively insensitive to salinity level, the species of the group 5 being present mainly in spring, whereas species of group 6 were present throughout the year. Groups 7 (*Dendrocoelum lacteum* Müller, *Hydrophilus* sp., *Agabus* sp., *Microvelia* sp.) and 8 (*Planorbarius corneus* Linneaus, *Corbicula fluminalis*, *Ecnomus tenellus* Rambur, *Dreissena polymorpha*, *Gyraulus* sp., *Radix* sp., *Dryops* sp., Sisyra sp., *Physa* sp., *Haliplus* sp., *Gammarus* tigrinus, *Corophium curvispinum*) contained species highly tolerant to salinity. The Jaccard similarity coefficient confirmed that macroinvertebrate communities were modified very conspicuously

4

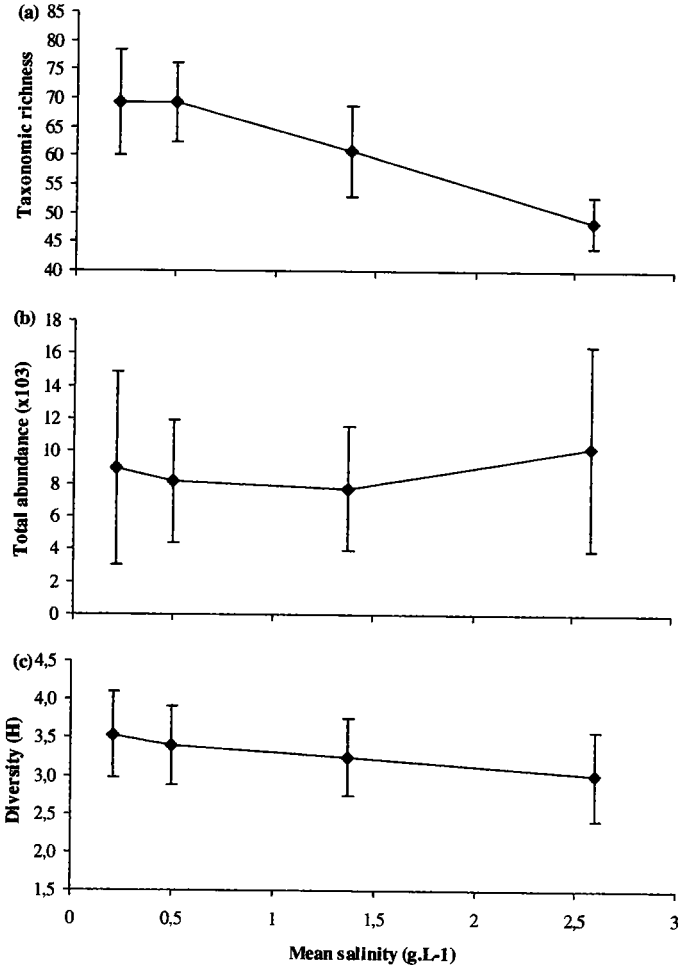


Figure 1. Between-site variations of structure indices (mean ± SD). (a) Taxonomic richness, (b) Total abundance, (c) Shannon's diversity.

according to the upstream–downstream salinity gradient (Fig. 4).

In the Meurthe River, shredders dominated each site, followed by scrapers, deposit feeders and filter feeders (Fig. 5). Abundances of absorbers, piercers, predators and parasites contributed less than 15% of the benthic community at all sites during the study period. The between-site differences were significant for most of functional feeding groups (Table 3). We observed a slight increase of deposit feeders, shredders and filter feeders, whereas the scrapers and piercers decreased. The relative abundances of predators and parasites were not modified along the salinity gradient.

Discussion

The relationship between salt contamination and biodiversity of freshwater communities is poorly known in Europe (Gallardo-Mayenco, 1994; Munoz & Prat, 1994; Löfgren, 2001). Our analysis of the observed benthic macroinvertebrate communities confirms that permanent salt contamination affects the structure of benthic

Table 1. Physical and chemical characteristics of the four sampling stations (mean ± SD). Data extracted from the complete physical and chemical analysis published by Piscart et al. (in press)

	DAM	ROS	STNIC	ART
Temperatures (°C)	14.1 ± 6.9	14.6 ± 7.1	15.9 ± 7.2	15.8 ± 7.2
Conductivity at 25 °C (μS cm^{-1})	277 ± 32	703 ± 246	1807 ± 543	3422 ± 649
Salinity (g l^{-1})	0.21 ± 0.25	0.50 ± 0.19	1.37 ± 0.39	2.60 ± 0.46
pH	7.9 ± 0.2	7.9 ± 0.2	8.1 ± 0.2	8.2 ± 0.2
Dissolved O_2 (mg l^{-1})	8.2 ± 1.3	8.1 ± 1.8	8 ± 2.1	8.2 ± 2.2
Chlorophyll *a* (μg l^{-1})	3.9 ± 4	7 ± 5.6	5.8 ± 3.9	8.3 ± 6.3
Organic N (mg l^{-1})	0.7 ± 0.3	0.9 ± 0.9	0.9 ± 0.4	1 ± 0.3
Total P (mg l^{-1})	0.10 ± 0.04	0.20 ± 0.06	0.20 ± 0.06	0.20 ± 0.05
Suspended matter (mg l^{-1})	11.7 ± 6.7	13.9 ± 7.2	15.3 ± 7.7	14.2 ± 5.2
COD (mg l^{-1})	15.6 ± 3.2	16.9 ± 3.5	17.1 ± 2.4	18.5 ± 4.6

macroinvertebrate communities. We clearly show the disappearance of several taxa from a salinity >1.4 g l^{-1} that confirms the results of several studies (Hart et al., 1990, 1991; Munoz & Prat, 1994; Metzeling et al., 1995; Rundle et al., 1998). However, the total abundance, the Shannon's diversity and the Hurlbert's evenness indices were not statistically different along the salt gradient. The stabilization of the total abundance was previously observed (Metzeling, 1993; Gallardo-Mayenco, 1994) and, as in our situation, can be due to the increase of Mollusca and Crustacea in high saline conditions. The Hurlbert's evenness and Shannon's diversity indices did not vary along the gradient because most of the taxa that disappeared were present in very low abundances. In fact these indices, particularly the Hurlbert's evenness (Beisel et al., 2003), are not sensitive to the variation of rare taxa, which are the most affected species type (Metzeling, 1993; Leland & Fend, 1998; Cao & Larsen, 2001).

Several differences could be observed among taxonomic groups such as Ephemeroptera, Coleoptera and Heteroptera seem to be sensitive to the rising salinity, whereas other major groups as Molluscs, Crustacea, Diptera, Trichoptera or Oligochaeta are more tolerant. These results are in accordance with several studies showing that Crustacea are the most salinity tolerant of the major invertebrate taxa groups (Williams et al., 1990; Kefford et al., 2003), whereas the Ephemeroptera are among the least tolerant invertebrates (Hynes, 1966; Williams et al., 1990; Hart et al., 1991; Bunn & Davis, 1992, Gallardo-Mayenco,

Table 2. Total abundances (mean ± SD) of the major macroinvertebrate groups sampled at each site and comparison with a Friedman non-parametric ANOVA. Each mean and standard deviation is calculated on the nine sampling dates

	DAM	ROS	STNIC	ART	*F*	*p*-Values
Mollusc	82 ± 44	350 ± 143	379 ± 553	394 ± 419	13.133	0.0044
Crustacea	615 ± 496	497 ± 521	371 ± 306	809 ± 765	8.200	0.0421
Ephemeroptera	350 ± 184	315 ± 316	177 ± 72	141 ± 89	9.400	0.0244
Odonata	26 ± 25	45 ± 34	33 ± 21	47 ± 40	4.483	0.2138
Heteroptera	37 ± 65	63 ± 70	5 ± 6	7 ± 8	12.784	0.0051
Coleoptera	36 ± 41	30 ± 26	6 ± 2	23 ± 46	11.148	0.0110
Trichoptera	711 ± 563	370 ± 200	507 ± 521	479 ± 631	6.750	0.0803
Diptera	4000 ± 4400	3600 ± 2500	3500 ± 3500	4500 ± 3800	2.200	0.5320
Other insects	3 ± 4	4 ± 5	4 ± 8	1 ± 3	3.507	0.3199
Others[a]	2100 ± 1460	2100 ± 1600	1700 ± 1500	2500 ± 4300	2.200	0.5320

[a]Oligochaeta, Turbellaria, Nematoda.

6

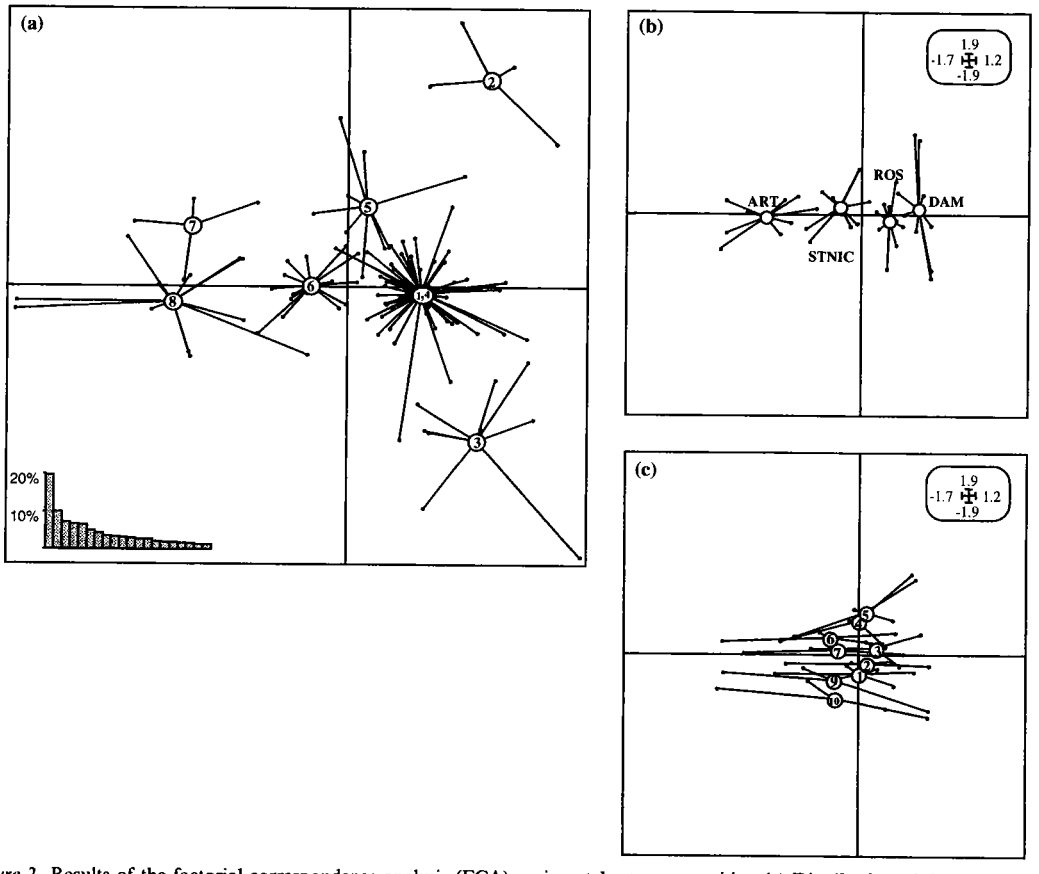


Figure 2. Results of the factorial correspondence analysis (FCA) on invertebrate communities. (a) Distribution of the eight groups obtained by cluster analysis of the taxa coordinates on the F1–F2 factorial plane and histogram of eigenvalues. The centre of each group (white circle) is positioned at the weighted average of its corresponding taxa. (b) Distribution of sampling sites on the F1–F2 factorial plane. Each site (white circle) is positioned at the weighted average of the nine corresponding samples (black circle). Solid lines link the dates to the corresponding site. (c) Distribution of sampling dates on the F1–F2 factorial plane of the FCA. Dates (white circles) are positioned at the weighted average of the four sites (black circles); solid lines link the sites to the corresponding date. Numbers in the white circles represent the sampling month (for example 1 = January; 3 = March, etc).

1994; Leland & Fend, 1998). However, concerning the Trichoptera, the high number and the variety of species sensitivity did not allow us to distinguish patterns of salinity tolerance. This group is constituted of several salt-sensitive net-spinning species such as *P. variegatus*, *P. pusilla*, *H. contubernalis*, *H. siltalai* (Piscart et al., unpublished data), case-builder species as *G. pilosa*, *A. cinereus*, *I. Lamellaris*, *M. azurea* and several tolerant species as *E. tenellus* or *H. exocellata* (Munoz & Prat, 1994; Piscart et al., in press). In the same way, Oligochaeta, Coleoptera, Diptera and Odonata contained both tolerant and sensitive taxa (Williams et al., 1990; Hart et al., 1991; Kefford et al., 2003). The molluscs, except for pulmonate gastropods like *Ancylus fluviatilis* Muller (Hart et al., 1991; Berezina, 2003), were generally tolerant (Hynes, 1966).

The results obtained in the cluster analysis highlighted patterns of the different macroinvertebrate communities found along the salinity gradient. Several taxonomic assemblages were ordinated according to their salinity tolerances (or preferences). A lower number of species having

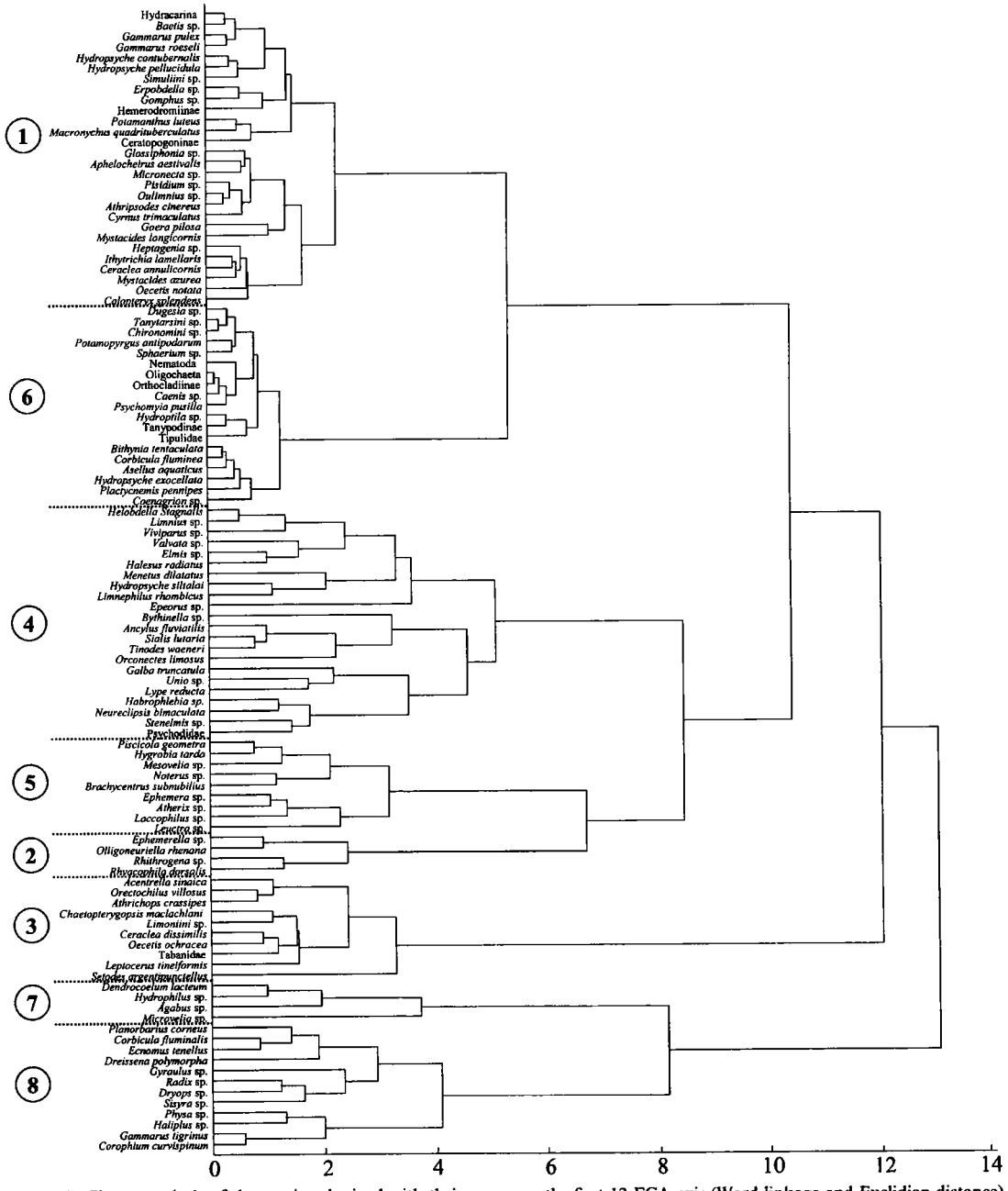


Figure 3. Cluster analysis of the species obtained with their scores on the first 12 FCA axis (Ward linkage and Euclidian distance).

euryhaline characteristics was found, while halophobic species represented a large part of the biota. Most of the tolerant species (*D. polymorpha*, *C. fluminalis*, *C. curvispinum*, *G. tigrinus*) are considered to be exotic. The expansion of exotic species could be explained by: (1) a wide range of

8

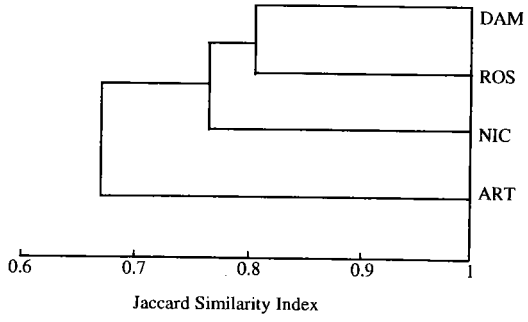


Figure 4. Faunal similarity dendrogram (Jaccard similarity Index) of the Meurthe River sampling stations.

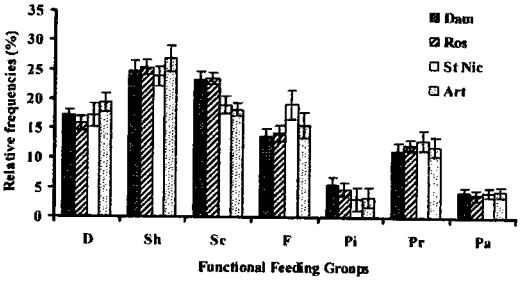


Figure 5. Relative abundances (mean ± SD) of functional feeding groups: D = Deposit feeder; Sh = Shredder; Sc = Scraper; F = Filter feeder; Pi = Piercer; Pr = Predator; Pa = Parasite.

physiological tolerance to salinity that existed due to a species adaptation like for *D. polymorpha* (Dietz et al., 1994, 1996; Lee & Bell, 1999; McMahon, 2002), *G. tigrinus* (Savage, 1982) and/or an estuarine origin for *C. curvispinum* (Jazdzewski, 1980; Lee & Bell, 1999) or *C. fluminalis*; and (2) the extinction of the autochthonous fauna on a local scale that reduces the interspecific competition and releases ecological niches, which could subsequently be colonized by exotic species. This idea leads to the concept of 'niche opportunity' (Shea & Chesson, 2002), which defines conditions that promote invasions in terms of resources, natural enemies, physical environment, interactions between these factors, and the manner in which they vary in time and space. Niche opportunities vary naturally between communities but might be greatly increased by disruption of communities, especially if the original community members are less well-adapted to the new conditions (Den Hartog et al., 1992; Olden et al., 2004). For these two reasons the rising salinity, by promoting the salt waters species with particularly invasive potential, is becoming an environmental hazard for freshwater communities and must be rigorously surveyed (Lee & Bell, 1999).

Table 3. Friedman non-parametric ANOVA of relative abundances of the macroinvertebrate feeding groups sampled at each site

	n	*F*	*p*-Values
Deposit feeder	9	13.5	0.0036
Shredder	9	8.1	0.0447
Scraper	9	22.5	<0.0001
Filter feeder	9	17.7	0.0005
Piercer	9	11.9	0.0076
Predator	9	3.0	0.3916
Parasite	9	2.9	0.4126

The investigation in trophic structure allows the detection of minute changes in a particular aspect of the ecosystem function. Munoz & Prat (1994) have observed a reduction of relative abundance of predators and shredders and an increase of Oligochaeta in artificial substrates supporting conductivity higher than 2 mS cm^{-1}; but no patterns have been defined in response to rising salinity. The trophic structure is slightly altered by the salinity with an increase of filter feeders and deposit feeders counterbalanced by a decrease of scrapers and piercers. Hence, the change of salinity seems to have a low but significant impact on the trophic structure of the Meurthe River and a slight trend in favour of fine materials, as in lower reaches of rivers.

To conclude, our study has shown that communities lost species and change profoundly in terms of composition under a salinization process. Higher salinity seems to more promote the establishment of exotic species (generally molluscs and crustacea), while some insect orders such as (e.g., Ephemeroptera) decreased in terms of species variety. The trophic structure of the invertebrate communities seems slightly affected by these compositional changes but further research is needed on complementary aspects of the ecosystem functioning. Our results document the salinity tolerance of 139 European taxa with the definition of eight macroinvertebrate assemblages, which

contribute to the prediction of ecological transformations following a rise in salinity.

Acknowledgements

This study was supported by the French Ministry of Ecology and Sustainable Development (Ministère de l'Ecologie et du Développement durable), as part of the 2001–2003 Biodiversity program.

References

A.F.N.O.R. 1995. Qualité de l'eau – T 90-005. Association Française de Normalisation – norme homologuée T 90-005.

Art, I. & M. Sary, 2000. Cartographie des débits d'étiages: application au basin de la Meurthe. Revue géographique de l'Est 1–2: 35–47.

Beisel, J. N., P. Usseglio-Polatera, V. Bachmann & J. C. Moreteau, 2003. A comparative analysis of evenness index sensitivity. International Review of Hydrobiology 88: 3–15.

Berezina, N. A., 2003. Tolerance of freshwater invertebrates to changes in water salinity. Russian Journal of Ecology 34: 261–266.

Bunn, S. E. & P. M. Davies, 1992. Community structure of macroinvertebrate fauna and water quality of saline river system in south-western Australia. Hydrobiologia 248: 143–160.

Cao, Y. & D. P. Larsen, 2001. Rare species in multivariate analysis for bioassessment: some considerations. Journal of the North American Benthological Society 20: 144–153.

Cummins, K. W., 1973. Trophic relations of aquatic insects. Annual Review of Entomology 18: 183–206.

Den-Hartog, C., F. W. B. Brink & G. Velde, 1992. Why was the invasion of the River Rhine by *Corophium curvispinum* and *Corbicula* species so successful?. Journal of Natural History 26: 1121–1129.

Dietz, T. H., D. Lessard, H. Silverman & J. W. Lynn, 1994. Osmoregulation in *Dreissena polymorpha*: the importance of Na, Cl, K and particularly Mg. Biological Bulletin 187: 76–83.

Dietz, T. H., S. J. Wilcox, R. A. Byrne, J. W. Lynn & H. Silverman, 1996. Osmotic and ionic regulation of North American zebra mussels (*Dreissena Polymorpha*). American Zoologist 36: 364–372.

Gallardo-Mayenco, A., 1994. Freshwater macroinvertebrate distribution in two basins with different salinity gradients (Guadalete and Guadaira river basins, south-western Spain). International Journal of Salt Lake Research 3: 75–91.

Hart, B. T., P. Bailey, R. Edwards, K. Hortle, K. James, A. McMahon, C. Meredith & K. Swadling, 1990. Effects of salinity on river, stream and wetland ecosystems in Victoria, Australia. Water Research 24: 1103–1117.

Hart, B. T., P. Bailey, R. Edwards, K. Hortle, K. James, A. McMahon, C. Meredith & K. Swadling, 1991. A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota. Hydrobiologia 210: 105–144.

Hynes, H. B. N., 1966. The Biology of Polluted Water. Liverpool University Press, Liverpool 202.

Hynes, H. B. N., 1970. The Ecology of Running Waters. Toronto University Press, Toronto 555.

Jazdzewski, K., 1980. Range extension of some gammaridean species in European inland waters caused by human activity. Crustaceana 6: 84–107.

Kefford, B. J., 1998. The relationship between electrical conductivity and selected macroinvertebrate communities in four river systems of south-west Victoria, Australia. International Journal of Salt Lake Research 7: 153–170.

Kefford, B. J., P. J. Papas & D. Nugegoda, 2003. Relative salinity tolerance of macroinvertebrates from the Barwon River, Victoria, Australia. Marine and Freshwater Research 54: 755–765.

Lee, C. E. & M. A. Bell, 1999. Causes and consequences of recent freshwater invasions by saltwater animals. Trends in Ecology and Evolution 14: 284–288.

Leland, H. V. & S. V. Fend, 1998. Benthic invertebrate distributions in the San Joaquin River, California, in relation to physical and chemical factors. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 55: 1051–1067.

Lõfgren, S., 2001. The chemical effects of de-icing salt on soil and stream water of five catchments in southeast Sweden. Water Air Soil Pollution 130: 863–868.

Magurran, A. E., 1988. Ecological Diversity and its Measurement. Princeton University Press, Princeton 179.

McMahon, R. F., 2002. Evolutionary and physiological adaptations of aquatic invasive animals: *r* selection versus resistance. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 59: 1235–1244.

Metzeling, L., 1993. Benthic macroinvertebrate community structure in streams of different salinities. Australian Journal of Marine and Freshwater Research 44: 335–351.

Metzeling, L., T. Doeg & W. O'Connor, 1995. The impact of salinization and sedimentation on aquatic biota. In Bradstock, R. A., T. D. Auld, D. A. Keith, R. T. Kingsford, D. Lunny, & D. P. Silertsen (eds), Conservation Biodiversity: Threats and Solutions. Surrey Beatty & Sons, London, 126–136.

Munoz, I. & N. Prat, 1994. Macroinvertebrate community in the lower Ebro River (NE Spain). Hydrobiologia 286: 65–78.

Olden, J. D., N. Leroy Poff, M. R. Douglas, M. E. Douglas & K. D. Fausch, 2004. Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. Trends in Ecology & Evolution 19: 18–24.

Piscart, C., A. Lecerf, P. Usseglio-Polatera, J. C. Moreteau and J. N. Beisel, Biodiversity patterns along a salinity gradient: the case of net-spinning caddisflies. Biodiversity and conservation (in press).

Rundle, S. D., M. J. Attrill & A. Arshad, 1998. Seasonality in macroinvertebrate community composition across a neglected ecological boundary, the freshwater-estuarine transition zone. Aquatic Ecology 32: 211–216.

Savage, A. A., 1982. The survival and growth of *Gammarus tigrinus* Sexton (Crustacea: Amphipoda) in relation to salinity and temperature. Hydrobiologia 94: 201–212.

Shea, K. & P. Chesson, 2002. Community ecology theory as a framework for biological invasions. Trends in Ecology & Evolution 17: 170–176.

Statzner, B. & B. Higler, 1986. Stream hydraulics as a major determinant of benthic invertebrate zonation patterns. Freshwater Biology 16: 127–139.

Tachet, H., P. Richoux, M. Bournaud & P. Usseglio-Polatera, 2000. Invertébrés d'eau douce: Systématique. biologie et écologie, Paris, 588 pp.

Thioulouse, J., D. Chessel, S. Dolédec & J. M. Olivier, 1997. ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. Statistical Computation 7: 75–83.

Townsend, C. R., 1996. Concepts in river ecology: pattern and process in the catchments hierarchy. Archiv für Hydrobiologie 113: 3–12.

Vannote, R. L., G. W. Minshall, J. R. Cummins, J. R. Sedell & C. E. Cushing, 1980. The river continuum concept. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 37: 130–137.

Ward, J. H., 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. Journal of the American Statistical Association 58: 236.

Williams, D. D., N. E. Williams & Y. Cao, 1999. Road salt contamination of groundwater in a major metropolitan area and development of a biological index to monitor its impact. Water Research 34: 127–138.

Williams, W. D., 1987. Salinization of Rivers and streams: an important environmental hazard. Ambio 16: 181–185.

Williams, W. D., R. G. Taaffe & A. J. Boulton, 1991. Longitudinal distribution of macroinvertebrates in two rivers subject to Salinization. Hydrobiologia 210: 151–160.

Williams, W. D., A. J. Boulton & R. G. Taaffe, 1990. Salinity as a determinant of salt lake fauna: a question of scale. Hydrobiologia 197: 257–266.

Annexe V: The role of salinity in selection of biological traits of freshwater invertebrates.

Piscart, C.; Usseglio-Polatera ; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N.

Archiv für Hydrobiologie, soumis en 2005.

Abstract

Salinity exerts significant evolutionary pressure on freshwater faunas living in poorly-salted water. The change in seven biological and physiological characteristics of freshwater taxa belonging to natural invertebrate communities observed along a salinity gradient was investigated. Benthic macroinvertebrates were studied at four sampling stations on the Meurthe River, a six order stream in northeastern France with, a salinity gradient ranging in concentrations from 0.2 $g.L^{-1}$ to 2.6 $g.L^{-1}$ over a distance of only 19 km. A fuzzy coding of seven traits allowed us to quantify the potential physiological requirements or biological traits of each species or genus observed. The consideration of whole assemblages highlighted trends in the use of each modality by communities along the salinity gradient. A change in most invertebrate traits was observed. Primitive invertebrate characteristics, such as 'asexual reproduction' or 'multivoltinism', tended to be selected in a saline environment. Ovoviviparity was selected in particular at the station with the highest salinity, the internal development of eggs in female most probably contributing to a better protection of the young. In contrast, this reproductive type, leading to physiological constraints and limited fecundity, was restricted in poorly-salted environments. A modification in benthic community feeding habits along the salinity gradient was also discovered. An increase in filter-feeders and deposit feeders at the expense of scrapers and piercers was observed. This pattern is in accordance with an energy transfer in the ecosystem from pelagos to benthos along the salinity gradient.

Key words: benthic macroinvertebrates, freshwater, biological traits, natural selection.

Introduction

The classification of surface waters is based essentially on salinity levels, expressed as total dissolved substances, with sea water at 33 $g.L^{-1}$, brackish water at >3-5 $g.L^{-1}$ and freshwater at ≤3-5 $g.L^{-1}$ (WILLIAMS 1987). Differences in surface water ionic concentrations have led to the separate, distinct evolution of freshwater and saltwater fauna (ODUM 1988; ATTRILL et al. 1996; ATTRILL 2002). With rare exceptions, the selection of certain physiological mechanisms, such as an osmoregulation system (e.g. osmoregulating or osmoconforming), allows freshwater invertebrates to survive in areas with low salt concentration levels (WILLMER et al. 2000; BARNES et al. 2001). Freshwater fauna have become sensitive to salinity which in turn can be considered a factor in natural selection. The selection of species according to salinity levels has been studied in depth (HART et al. 1990, 1991; METZELIN 1993; GALLARDO-MAYENCO 1994; LELAND & FEND, 1998; WILLIAMS et al. 1999; PISCART et al. in press). In this study, the role of rising salinity in the selection of suites of biological features by freshwater invertebrates was investigated.

Nowadays, a large proportion of continental fresh waters are subjected to a salinization process (WILLIAMS 1987, 1999). This process, observed for the most part in arid areas of the world, has been exacerbated by human activity (WILLIAMS 1987) and is expected to cause a significant change on a global scale in the near future. Our investigations aimed to understand and predict the biological characteristics that would be selected by communities given this context. This approach is preferable to a simple investigation of species selection because it can be applied beyond the local, geographical context of the study site. To analyze the change in biological characteristics of invertebrate populations, the characteristics of natural invertebrate communities found in the downstream section of the Meurthe River were investigated. This area presents a continuous salinity gradient (from 0.2 $g.L^{-1}$ to 2.6 $g.L^{-1}$) over a 19-km section, corresponding to a salinity range generally observed in natural rivers (PISCART et al. 2005). Hence, we examined the potential biological traits of the taxa selected along the salinity gradient using a "between-sites" comparison. This analysis was chosen to highlight the selection of different suites of biological characteristics by invertebrates submitted to different salinity concentrations and to provide insight into the evolution of invertebrate characteristics under the selective pressure of salinity.

Materials and Methods

Study site

The study was conducted in the Meurthe River, a sixth-order stream tributary of the Moselle River, in north-eastern France. The study area was a perennial-flow section, located upstream from the city of Nancy (48°41'52''N, 6°11'14''E). Chemical plants discharge only salt water into a 19-km-long section of the river. Four sites were chosen according to their proximity to these discharge points (PISCART et al. in press). Effluents, resulting from a soda production process, were composed exclusively of water and dissolved minerals (Cl, Ca, Na, and Mg). The first site (Damelevières, DAM), located upstream from the first discharge point and having a mean salinity of 0.21 ± 0.02 g total dissolved substances..L^{-1} in 2002, was considered as a reference site. The second (Rosières-aux-Salines, ROS) and third (St Nicolas-de-Port, STNIC) sites, exhibited intermediate salinity levels (0.50 ± 0.19 $g.L^{-1}$ and 1.37 ± 0.39 $g.L^{-1}$, respectively). The fourth site (Art-sur-Meurthe, ART) was located downstream from all the discharge points, and exhibited the highest salinity level (2.60 ± 0.46 $g.L^{-1}$).

Physico-chemistry of the water

Water samples were collected for analysis at each of the four sites, each month from January to October 2002, except in February. Water temperature, pH, conductivity and oxygen content were measured in the field using portable apparatuses (WTW pH ion 340i, Cond 330i and OXI597-S) on each sampling occasion. Water samples were stored at 4°C and analyzed on the following day for 22 physico-chemical parameters according to standard French protocols (AFNOR, 1995a and b). Salinity was expressed as total dissolved substances, converted from the measurement of electrical conductivity via arithmetic relationships: Salinity = 0.77 x Conductivity at the first two (reference and low impact) sites (EC < 1000 _$Sm.cm^{-1}$) and Salinity = 0.72 x Conductivity at the last two (high impact) sites (>1000 _$Sm.cm^{-1}$). Results concerning water chemistry were presented in a previous study which confirmed that only the sites' salinity levels differed significantly (PISCART et al. in press), and major parameters are presented here in Table I.

Invertebrate sampling

Invertebrates were collected each month from January to October 2002 (except for February) with a Surber net sampler (sampling area: 0.05 m^2, mesh size: 500 µm). The substratum within the sample was removed to a depth of about five centimetres. Large rocks were scraped and brushed free of moss and invertebrates. Nine or ten habitats were sampled on each occasion at each site: 'roots', 'sand' (Ø < 2 mm), 'gravel' (Ø <31 mm), 'boulders' (Ø > 124 mm), two replicates of 'plant litter', and three replicates of 'pebble' (Ø between 31 and 124 mm). An additional macrophyte sample was taken between June and October at each site. Samples were fixed with 4 % formaldehyde in the field. In the laboratory, all organisms were sorted under a stereomicroscope and preserved in 70 % ethanol. Most

macroinvertebrates were identified to genus level. Higher taxonomic units were used for Nematoda, Oligochaeta, Hydracarina and some Diptera.

Traits selected

We described the biological traits of benthic macroinvertebrates using seven traits (Table 2) previously described in USSEGLIO-POLATERA et al. (2000a). The biological information was coded for each taxon according to the biological ('maximum size', 'life cycle duration', 'potential number of generations per year'), physiological ('respiration' and 'reproduction' and behavioural ('feeding habits' and 'dispersal') traits of its life-history. Sufficient data from published papers, unpublished theses and personal communications from experts were available to characterize also the 'salinity preferences' of each taxon.

We applied a fuzzy coding procedure using expert knowledge and the literature to document the eight biological traits of each taxon (see CHEVENET et al. 1994 for details). We described a taxon's profile in each trait by assigning a value ranging from '0' for 'no affinity' to '5' for 'high affinity' for each modality. These values provide information on both the intensity of the link with each modality (i.e. high or low affinity) and the amplitude of the taxon's preference or tolerance (i.e. number of modalities concerned). For example, *Ephemera* species essentially occur in fresh waters even if certain species of the genus may live in oligohaline water, but none is ever observed in brackish water. Hence the 'salinity preferences' of the genus *Ephemera* were 3 for freshwater, 1 for oligohaline water and 0 for brackish water. These affinities may be expressed as relative frequencies, i.e. 75% for freshwater, 25% for oligohaline water, and 0% for brackish water. For each site, the relative frequencies of each taxon weighted by its abundances were summed to determine the relative frequency of each modality at the community level (see USSEGLIO-POLATERA et al. 2000b for further details). Our final trait set had a total of 37 categories (= modalities) grouped among seven traits (Table 2).

Statistical analyses

Our final data set provided a description of macroinvertebrate communities at each site as frequency distributions of affinities for trait modalities (expressed as percentages) weighted by taxa abundances. For statistical analyses of frequency distributions, we used a log(x +1) transformation of the abundances (x) to reduce the effect of dominant species.

The analysis of trait variability between communities was based on "between-sites" comparisons of the relative frequencies of each modality. Modality frequencies for each trait were compared by using non-parametric ANOVAs (i.e. Friedman's analyses), taking into account (i.e. "eliminating") seasonal variations in faunal composition. To compare two

modalities, we used non-parametric Wilcoxon tests for paired samples. In all cases, seasonal variations in macroinvertebrate communities may be statistically considered as paired data observed at each site and this justified the use of paired tests.

The relative specialization level of communities for a particular trait was described by the calculation of among-modality variance for each trait. We considered a high level of variance for a given trait to be an indicator of high heterogeneity in the use of trait modalities by species belonging to the same community. A high variance among the modalities of a trait indicated a preference for one or some of the modalities and an aversion for the others, hence a specialization. Consequently, we considered that higher variance indicated a higher specialization level of the community. On one hand, a high variance indicated that the community was specialized for some modalities of a given trait, with highly represented modalities and modalities not or weakly observed. On the other hand, a low variance characterized a "generalist" community because taxa used more equally the different modalities of a given trait. The statistical significance of differences in variance was tested with a Friedman's analysis.

Results

Physico-chemistry of the water

Most of major physico-chemical parameters exhibited only slight variations along the river section (Table I), but the salinity levels differed sharply among sites (One-way ANOVA; $p \leq 0.0001$) from 0.21 upstream to 2.60g.L-1 downstream (Table I). Thus, salinity could be considered the most variable physico-chemical parameter between sites and the main factor changing along the upstream-downstream section.

Changes in modality frequencies

Twenty-one of the thirty-seven modalities were affected by rising salinity, exhibiting a relative frequency significantly modified along the gradient (Table 2). Most trait profiles (except life cycle duration) were affected to a greater or lesser extent, reflecting different selection pressures. The "salinity preference" trait was logically the most affected. All the modalities of this trait were affected by salinity (Table 2), with a significant increase in the "oligohaline" (+5.6%) and "brackish" (+5.2%) water preferences of macroinvertebrate communities (Figure 1). In addition, the frequency of small-sized individuals (< 0.5 cm) decreased (Table 2) and the proportion of the largest organisms (≥ 4cm) increased along the

salinity gradient, though these modalities represented a small number of organisms in the community (<5%).

The use of most modalities of the reproductive technique changed along the salinity gradient (Table 2). The most important change was observed for the "ovoviviparity" strategy (Figure 2b) which was used more often in more salty sites (e.g. +9.7% in ART). In contrast, the production of cemented or fixed clutches, which was the most common reproductive modality in the communities (Table 2), decreased significantly along the gradient (-11.1%, Figure 2b). Other reproductive modality, such as laying clutches in vegetation or asexual reproduction, increased. Furthermore, a 9.8% decrease in taxa having one generation per year was observed; monovoltin organisms upstream were progressively replaced by polyvoltine organisms ones downstream (Figure 2a).

Taxa respiration techniques and dissemination strategies changed slightly along the salinity gradient. We observed a slight increase of aquatic passive dispersal (+4.3%), whereas active aerial dispersal decreased (-4.5%; Table 2). Most feeding habits were modified by salinity. Only the proportion of predators and parasites was found to be similar at all sites (Table 2). Significant changes included a reduction of scrapers (-5.9%; Figure 3) and piercers (-2.2 %) in favour of shredders (+3.3%), deposit feeders (+1.8%), and filter-feeders (+1.2%) along the salinity gradient. The highest proportion of filter-feeders was observed at the third site, which presented an intermediate level of salinity (Figure 3).

Changes in variance

Variance did not vary for "maximum size" ($p=0.352$), "potential number of generations per year" ($p=0.269$) or "feeding habits" ($p=0.392$). However, the variances in "salinity level preferences" and "reproductive technique" significantly decreased ($p<0.001$) along the salinity gradient, in high salinity levels (Figure 4). In contrast, the variances in "dispersal mechanisms" ($p<0.001$) and respiration techniques ($p=0.025$) increased with increasing salinity.

Discussion

Salinity is one of the major factors regulating the structure of freshwater macroinvertebrate assemblages. The salinity range at our sites was broad enough to be representative of a variety of fresh-water systems (PISCART et al. in press). Therefore, our results can be considered as representing of potential changes in combinations of biological traits for most

natural, benthic macroinvertebrate communities submitted to similar stress. In a previous study, we have clearly shown that rising salinity affects the structure of bio/ecological profile of net-spinning caddisflies (PISCART et al. 2005). We hence highlighted changes in relative frequencies of bio/ecological groups defined by USSEGLIO et al (2000a; 2001). This study shows that salt concentration modifies the biological profile of benthic communities. Rising salinity selected taxa with a broader range of physiological tolerances. This trend was confirmed by the decreasing specialization level of communities in high salinity environments.

We observed that freshwater, salt-sensitive communities included more specialized taxa than salt-tolerant communities, gathering species with primitive characteristics such as asexual reproduction or multivoltine cycles. This trend was confirmed by the response pattern observed in amphibiotic insects found in the Meurthe River (Diptera, Odonata, Trichoptera, Ephemeroptera or Plecoptera) which represent the most evolved aquatic invertebrate species which were also sensitive to high salinity levels. Indeed, a species' sensitivity to salinity depends on the physiology of its taxonomic group, with insect larvae being the most sensitive organisms (HART et al. 1991; BUNN & DAVIES 1992; HALSE et al. 1998). Within-insect differences in salinity tolerance should be noticeable on lower taxonomic scales, such as order or family levels. Hence, most Diptera were halotolerant, while orders like Plecoptera, Ephemeroptera, Coleoptera or Trichoptera presented higher sensitivity (HYNES 1970; HART et al. 1991; BUNN & DAVIS 1992; GALLARDO-MAYENCO 1994; LELAND & FEND 1998, KEFFORD et al. 2003). Among non-insect invertebrates, the Achaeta, which are the most highly specialized annelids (RUPPERT & BARNES 1994), were sensitive while less-specialized Oligochaeta were more tolerant. Crustaceans, which are not specialized in freshwater and present a majority of marine species, were tolerant (BARNES et al. 2001). Hence, crustacean species at salty sites were represented exclusively by non-indigenous, brackish water species such as *Chelicorophium curvispinum* (ROMANOVA 1975), *Gammarus tigrinus* (BOUSFIELD 1958) and salt-tolerant species such as *Asellus aquaticus* (BEREZINA 2003). The same pattern was observed for mollusc assemblages which were dominated by the brackish water bivalve *Corbicula fluminalis* (MORTON 1977) and the salt tolerant gastropod and *Potamopyrgus antipodarum* (KEFFORD et al. 2003). This pattern in aquatic macroinvertebrates is congruent with the biological traits we found to be selected at high-salinity levels.

Most reproductive modalities were affected by salinity level, with higher levels promoting multivoltine species and selecting the "ovoviviparity" strategy in particular. This selection may be explained by an increase in efficiency of this reproductive modality in more salty environments. Several authors have shown that young individuals may be less sensitive to salinity than eggs (KEFFORD et al. 2004) whose outer membrane is not hardened (O'BRIEN

1997) or whose jelly is permeable for some time beyond the initial period following laying (HINTON 1981). The internal development of eggs in females protects the young by isolating the eggs from external salt concentrations. Thus eggs hatching within the female are exclusively osmoconformers. In a salt-poor environment, this reproductive modality, which leads to physiological constraints and limits fecundity, is restricted.

Another important change concerned the feeding habits of macroinvertebrates. Only those habits linked to animal-type resources did not change. Predation and parasitism were not affected by salinity. These organisms presumably found prey or hosts regardless of the salinity level. The main change in other feeding groups was a great decrease in scraping. The disappearance of scrapers may be explained by a decrease of periphyton (HART et al., 1991). At the same time, we found an increase in filter-feeding at intermediate salinity levels and an increase in deposit-feeding thereafter. This sequence is due in part to the higher density of salt-tolerant filter feeders - such as bivalves – found at higher salinity levels. Their filtering activity modifies the food web by concentrating nutrients on the river bottom (DERMOTT & KEREC 1996; RASMUSSEN et al. 1997). This shift in nutrient concentration, from pelagos to benthos, promotes an increase in filter feeders and a subsequent increase in the deposit feeder population. We assumed that this trophic cascade induced the major changes observed in feeding habit variations.

We have shown that salinity plays a role in the selection of several biological traits in freshwater invertebrate communities and influences most biological characteristics represented in a community. The salinity level contributes to the selection of more primitive aquatic taxa to the prejudice of amphibiotic and specialized taxa. This work documents the role of salinity in the functioning of freshwater communities. However it would be necessary to extend our study to a broader salinity range to better understand the mechanisms in selection processes underlying the origin of the freshwater fauna. From an applied point of view, this approach provides a basis for predicting and interpreting the evolution of the present inland water fauna under the pressure of global change.

Acknowledgements

This study was supported by the French Ministry of Ecology and Sustainable Development, as part of the 2001-2003 Biodiversity Program.

References

A.F.N.O.R. (1995a): Qualité de l'eau - Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, orthophosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous, par chromatographie des ions en phase liquide - Partie 1 : méthode applicable pour les eaux faiblement contaminées. Association Française de Normalisation - norme homologuée T 90-042 (EN ISO 10304-1).

A.F.N.O.R. (1995b) : Qualité de l'eau - T 90-005. Association Française de Normalisation - norme homologuée T 90-005.

ATTRILL, J.M. (2002): A testable linear model for diversity trends in estuaries. J. Anim. Ecol. **71:** 262-269.

ATTRILL, J.M., RUNDLE, S.D. & THOMAS, R.M. (1996): The influence of drought-induced low freshwater flow on an upper-estuarine macroinvertebrate community. Water Res., **30**: 261-268.

BARNES, R.S.K., CALOW, P., OLIVE, P.J.W., GOLDING, D.W., & SPICER J.I. (2001): The Invertebrates: a Synthesis. Blackwell Edition, Oxford.

BEREZINA, N. A. (2003): Tolerance of freshwater invertebrates to changes in water salinity. Russ. J. Ecol. **34:** 261-266.

BOUSFIELD, E.L. (1958): Freshwater crustaceans of glaciated North America. Can. Field Nat. **72**: 55-113.

BUNN, S.E. and DAVIES, P.M. (1992): Community structure of macroinvertebrate fauna and water quality of a saline river system in south-western Australia. Hydrobiologia **248:** 143-160.

CHEVENET, F., DOLEDEC, S. & CHESSEL, D. (1994): A fuzzy coding approach for the analysis of long-term ecological data. Freshwat. Biol. **31**: 295-309.

DERMOTT, R. & KEREC, D. (1996): Changes to the deepwater benthos of eastern Lake Erie since the invasion of *Dreissena*: 1979-1993. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **54:** 922-930.

GALLARDO-MAYENCO, A. (1994): Freshwater macroinvertebrate distribution in two basins with different salinity gradients (Guadalete and Guadaira river basins, south-western Spain). Int. J. Salt Lake Res. **3:** 75-91.

HALSE, S.A., SHIEL, R.J. & WILLIAMS W.D. (1998): Aquatic invertebrates of Lake Gregory, northwestern Australia, in relation to salinity and ionic composition. Hydrobiologia **381:** 15-29.

HART, B.T., BAILEY P., EDWARDS R., HORTLE K., JAMES K., MCMAHON A., MEREDITH C. & SWADLING K. (1990): Effects of salinity on river, stream and wetland ecosystems in Victoria, Australia. Water Res. **24:** 1103-1117.

HART B.T., BAILEY P., EDWARDS R., HORTLE K., JAMES K., MCMAHON A., MEREDITH C. & SWADLING K. (1991): A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota. Hydrobiologia, **210:** 105-144.

HINTON, H.E. (1981): Biology of Insect Eggs in Three Volumes. Pergamon Press, Oxford.

HYNES, H.B.N. (1970): The Ecology of Running Waters. Toronto, Toronto University Press.

KEFFORD, B.J., DALTON, A., PALMER, C.G. & NUGEGODA, D. (2004): The salinity tolerance of eggs and hatchlings of selected aquatic macroinvertebrates in south-east Australia and South Africa. Hydrobiologia **517:** 179-192.

KEFFORD, B.J., PAPAS, P.J. & NUGEGODA D. (2003): Relative salinity tolerance of macroinvertebrates from the Barwon River, Victoria, Australia. Mar. Freshwater Res. **54:** 755-765.

LELAND, H.V. & FEND S.V. (1998): Benthic invertebrate distributions in the San Joaquin River, California, in relation to physical and chemical factors. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **55:** 1051-1067.

METZELING, L. (1993): Benthic macroinvertebrate community structure in streams of different salinities. Aust. J. Mar. Fresh. Res. **44:** 335-351.

MORTON, B.S. (1977): Freshwater fouling bivalves. Proceedings of the First International *Corbicula* Symposium, Texas Christian Uni., Fort Worth, Texas USA, pp 1-14.

O'BRIEN, T. (1997): Assessment of the impact of saline drainage on key fish species. In: R.J. BANENS & LEHANE, R. (Eds) Riverine Environment Research Forum, Muary Darling Basin Commission Report, Canberra, pp 43-46.

ODUM, W.E. (1988): Comparative ecology of tidal freshwater and salt marshes. Annu. Rev. Ecol. Syst., **19:** 147-176.

PISCART, C., LECERF, A., USSEGLIO-POLATERA, P., MORETEAU, J.C. & BEISEL, J.N. (2005): Biodiversity patterns along a salinity gradient: The case of net-spinning caddisflies. Biodiv. Conserv., **14**: 2235-2249.

PISCART, C., MORETEAU, J.C. & BEISEL, J.N. In press : Biodiversity and structure of macroinvertebrate communities along a small permanent salinity gradient (Meurthe River, France). Hydrobiologia.

RASMUSSEN, J.B., RICCIARDI, A. & WHORISKEY, F.G. (1997): The role of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in structuring macroinvertebrate communities on hard substrata. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **54:** 2596-2608.

ROMANOVA, N.N. (1975): Quantitative distribution and ecology of corophiids of the Caspian Sea region. Bymoa **80:** 51-63.

RUPPERT, E. E. & BARNES, R. D. (1994): Invertebrate Zoology, Saunders College Publishing, Orlando.

USSEGLIO-POLATERA, P., M. BOURNAUD, P. RICHOUX, & H. TACHET. (2000a): Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates: relationships and definition of groups with similar traits. Freshwat. Biol. **43:** 175-205.

USSEGLIO-POLATERA, P., BOURNAUD, M., RICHOUX, P. & TACHET, H. (2000b): Biomonitoring through biological traits of benthic macroinvertebrates: how to use species trait databases? Hydrobiologia, **422/423:** 153-162.

USSEGLIO-POLATERA, P., P. RICHOUX, ET AL. (2001): "A functional classification of benthic macroinvertebrates based on biological and ecological traits: application to river condition assessment and stream management." Archiv. Hydrobiol., **139**: 53-83.

WILLIAMS, D.D., WILLIAMS, N.E. & CAO, Y. (1999): Road salt contamination of groundwater in a major metropolitan area and development of a biological index to monitor its impact. Water Res. **34:** 127-138.

WILLIAMS, W.D. (1987): Salinization of rivers and streams: an important environmental hazard. Ambio, **16:** 181-185.

WILLIAMS, W.D. (1999): Salinisation: A major threat to water resource in the arid and semi arid regions. Lakes & Reservoirs: Res. and Manage. **4:** 85-91.

WILLMER, P., STONE, G. & JOHNSTON, I. (2000) Environnemental Physiology of Animals. Blackwell Edition, Oxford.

List of figures

Figure 1: Frequency of the "salinity preference" modalities (freshwater, oligohaline water, brackish water) in benthic communities along the salinity gradient. Annual mean deviation (%) from the mean frequency at the four sites with salinity increasing from left to right. Standard deviations give information on the seasonal variability.

Figure 2: Modalities exhibiting a deviation (%) from the mean frequency higher than 10% along the salinity gradient.

Figure 3: Modalities exhibiting a deviation (%) from the mean frequency higher than 5% along the salinity gradient. "Feeding habits" of invertebrate communities.

Figure 4: Box and whiskers representing the range of between-modality variance (mean ± SE ± SD) of invertebrate communities that changed significantly along the salinity gradient.

Table 1. Physico-chemical variables of the four sampling sites (mean ± SD). Results of between-site ANOVA on variables measured at each site on nine sampling dates (N=36).

	DAM	**ROS**	**STNIC**	**ART**	ANOVA *p-value*
Temperature °C	14.1 ± 6.9	14.6 ± 7.1	15.9 ± 7.2	15.8 ± 7.2	0.935
Conductivity at 25°C ($\mu S.cm^{-1}$)	277 ± 32	703 ± 246	1807 ± 543	3422 ± 649	<0.001
Salinity ($g.L^{-1}$)	0.21 ± 0.25	0.50 ± 0.19	1.37 ± 0.39	2.60 ± 0.46	<0.001
pH	7.9 ± 0.2	7.9 ± 0.2	8.1 ± 0.2	8.2 ± 0.2	0.222
Dissolved O_2 ($mg.L^{-1}$)	8.2 ± 1.3	8.1 ± 1.8	8 ± 2.1	8.2 ± 2.2	0.992
Organic N ($mg.L^{-1}$)	0.7 ± 0.3	0.9 ± 0.9	0.9 ± 0.4	1 ± 0.3	0.374
Total P ($mg.L^{-1}$)	0.10 ± 0.04	0.20 ± 0.06	0.20 ± 0.06	0.20 ± 0.05	0.590
Suspended matter ($mg.L^{-1}$)	11.7 ± 6.7	13.9 ± 7.2	15.3 ± 7.7	14.2 ± 5.2	0.696
COD ($mg.L^{-1}$)	15.6 ± 3.2	16.9 ± 3.5	17.1 ± 2.4	18.5 ± 4.6	0.373

Table 2: Species traits, their modalities, the relative frequencies of modalities obtained at each site (DAM, ROS, STNIC and ART) and results of a Friedman's ANOVA of the between-sites modality differences. NS: Not significant, *: $p<0.05$, **: $p<0.01$

Traits	Modalities	DAM	ROS	STNIC	ART	*P*
Salinity preferences	Freshwater (< 1g.L^{-1})	54.0 ± 1.4	50.7 ± 1.4	46.1 ± 2.3	43.2 ± 3.2	**
	Oligohaline water (< 1–3g.L^{-1})	31.4 ± 1.0	32.3 ± 0.8	36.1 ± 0.9	37.0 ± 1.3	**
	Brackish water (> 3g.L^{-1})	14.6 ± 1.0	17.0 ± 1.4	17.8 ± 1.4	19.8 ± 1.9	**
Maximum size	< 0.25 cm	3.6 ± 1.8	3.1 ± 1.2	2.3 ± 0.8	2.4 ± 0.9	*
	< 0.25–0.5 cm	17.0 ± 1.9	17.4 ± 2.2	14.4 ± 1.5	15.1 ± 1.6	*
	< 0.5–1 cm	31.6 ± 2.3	29.9 ± 2.5	32.2 ± 2.3	33.5 ± 2.4	NS
	< 1–2 cm	32.8 ± 3.1	34.3 ± 2.5	33.1 ± 3.4	33.4 ± 3.0	NS
	< 2–4 cm	12.3 ± 1.2	11.6 ± 1.7	13.5 ± 2.9	11.9 ± 1.3	NS
	> 4 cm	2.7 ± 0.7	3.7 ± 0.8	4.4 ± 1.0	3.7 ± 0.7	**
Life cycle duration	< 1 year	72.0 ± 2.6	68.7 ± 3.1	69.0 ± 4.0	69.3 ± 2.8	NS
	> 1 year	28.0 ± 2.6	31.3 ± 3.1	31.0 ± 4.0	30.7 ± 2.8	NS
Reproduction	Ovoviviparity	14.1 ± 2.3	18.9 ± 2.6	18.2 ± 3.2	23.6 ± 3.7	**
	Isolated eggs, free	5.6 ± 1.8	4.1 ± 0.5	5.5 ± 1.0	5.0 ± 0.9	NS
	Isolated eggs, fixed	12.8 ± 2.5	12.2 ± 2.9	12.2 ± 3.0	10.9 ± 2.4	NS
	Clutches, cemented or fixed	45.8 ± 4.0	43.6 ± 2.4	39.8 ± 3.2	34.7 ± 5.2	**
	Clutches, free	9.5 ± 1.8	9.2 ± 1.1	9.8 ± 2.1	10.6 ± 1.8	*
	Eggs or clutches in vegetation	3.2 ± 1.2	4.6 ± 1.2	5.6 ± 1.3	6.3 ± 1.8	**
	Clutches, terrestrial	5.9 ± 1.2	4.0 ± 1.2	4.9 ± 1.2	4.9 ± 0.8	NS
	Asexual reproduction	3.2 ± 0.6	3.5 ± 0.6	4.1 ± 0.7	4.1 ± 0.6	**
Potential number of reproductions per year	< 1	3.6 ± 1.1	3.7 ± 0.6	4.4 ± 2.2	2.5 ± 0.6	NS
	1	56.8 ± 3.2	55.4 ± 2.5	52.0 ± 2.3	47.0 ± 2.5	**
	> 1	39.6 ± 3.8	40.9 ± 2.9	43.6 ± 2.7	50.5 ± 2.9	**
Respiration	Tegument	49.0 ± 2.7	49.8 ± 2.3	51.6 ± 2.8	49.2 ± 2.8	NS
	Gill	42.0 ± 2.8	43.2 ± 2.7	42.1 ± 2.7	44.9 ± 2.8	NS
	Plastron	2.1 ± 0.8	2.5 ± 0.9	1.1 ± 0.4	1.2 ± 0.5	**
	Spiracle (aerial)	7.0 ± 1.1	4.6 ± 2.0	5.1 ± 2.1	4.7 ± 2.4	**
Dispersal	Aquatic passive	38.1 ± 2.8	40.6 ± 1.3	42.3 ± 2.3	42.4 ± 2.6	*
	Aquatic active	24.9 ± 1.7	25.4 ± 2.0	25.1 ± 2.5	26.5 ± 2.3	NS
	Aerial passive	14.9 ± 1.3	14.0 ± 1.1	13.9 ± 1.3	13.5 ± 1.1	NS
	Aerial active	22.1 ± 1.8	19.9 ± 1.6	18.7 ± 2.7	17.6 ± 1.8	**
Feeding habits	Deposit feeder	15.1 ± 1.3	13.5 ± 1.5	14.7 ± 2.3	16.9 ± 2.0	**
	Shredder	24.1 ± 2.0	24.9 ± 1.5	24.0 ± 1.7	27.4 ± 2.5	NS
	Scraper	22.8 ± 1.9	23.1 ± 1.1	17.7 ± 1.3	16.9 ± 1.5	**
	Filter-feeder	15.0 ± 1.3	15.7 ± 1.6	20.7 ± 3.4	16.2 ± 2.4	**
	Piercer	5.4 ± 1.7	4.1 ± 1.2	2.8 ± 1.8	3.2 ± 1.9	**
	Predator	13.9 ± 2.1	15.4 ± 1.2	16.5 ± 1.9	15.4 ± 2.5	NS
	Parasite	3.7 ± 0.9	3.3 ± 1.1	3.6 ± 0.7	4.0 ± 1.3	NS

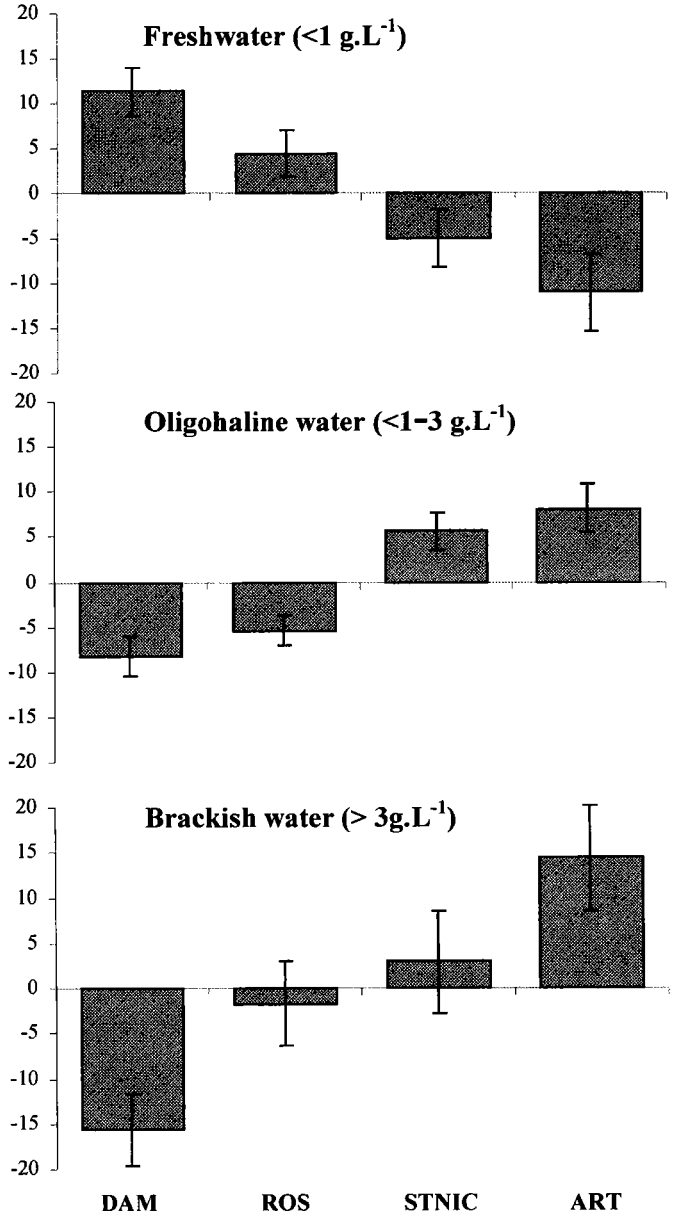


Figure 1

PISCART et al.

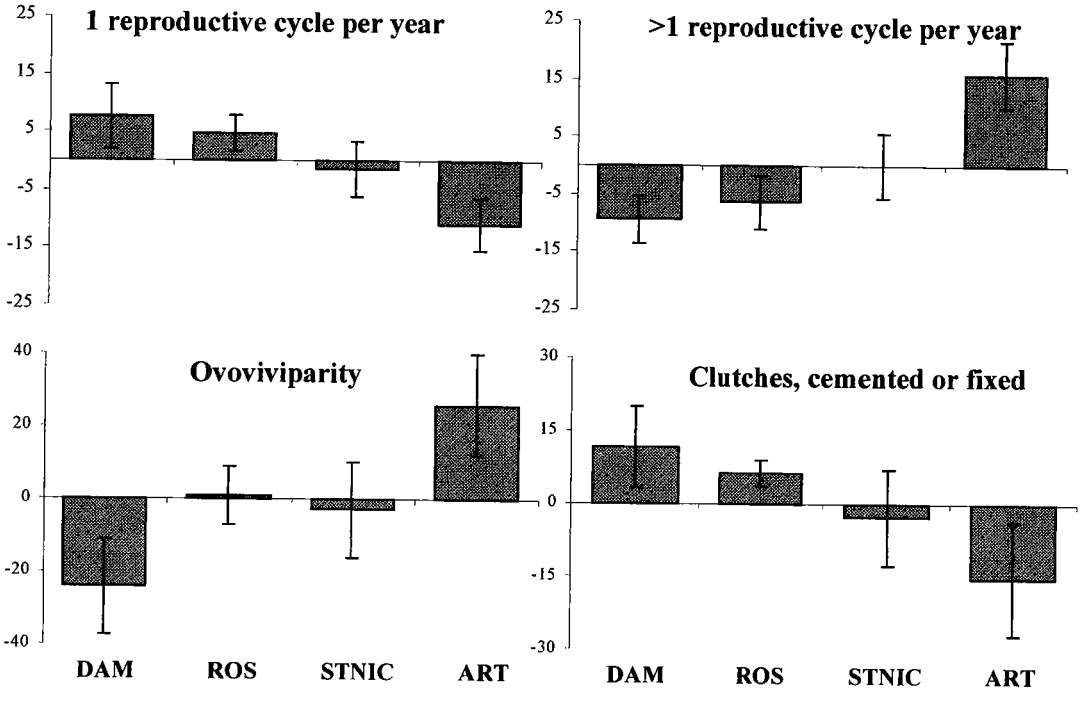


Figure 2

PISCART et al.

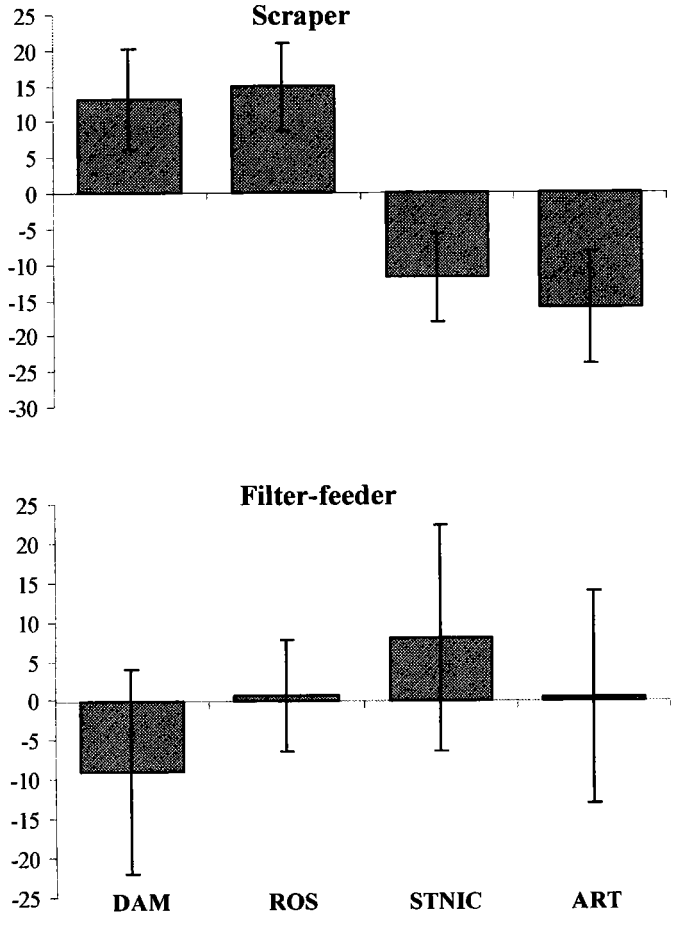


Figure 3

PISCART et al.

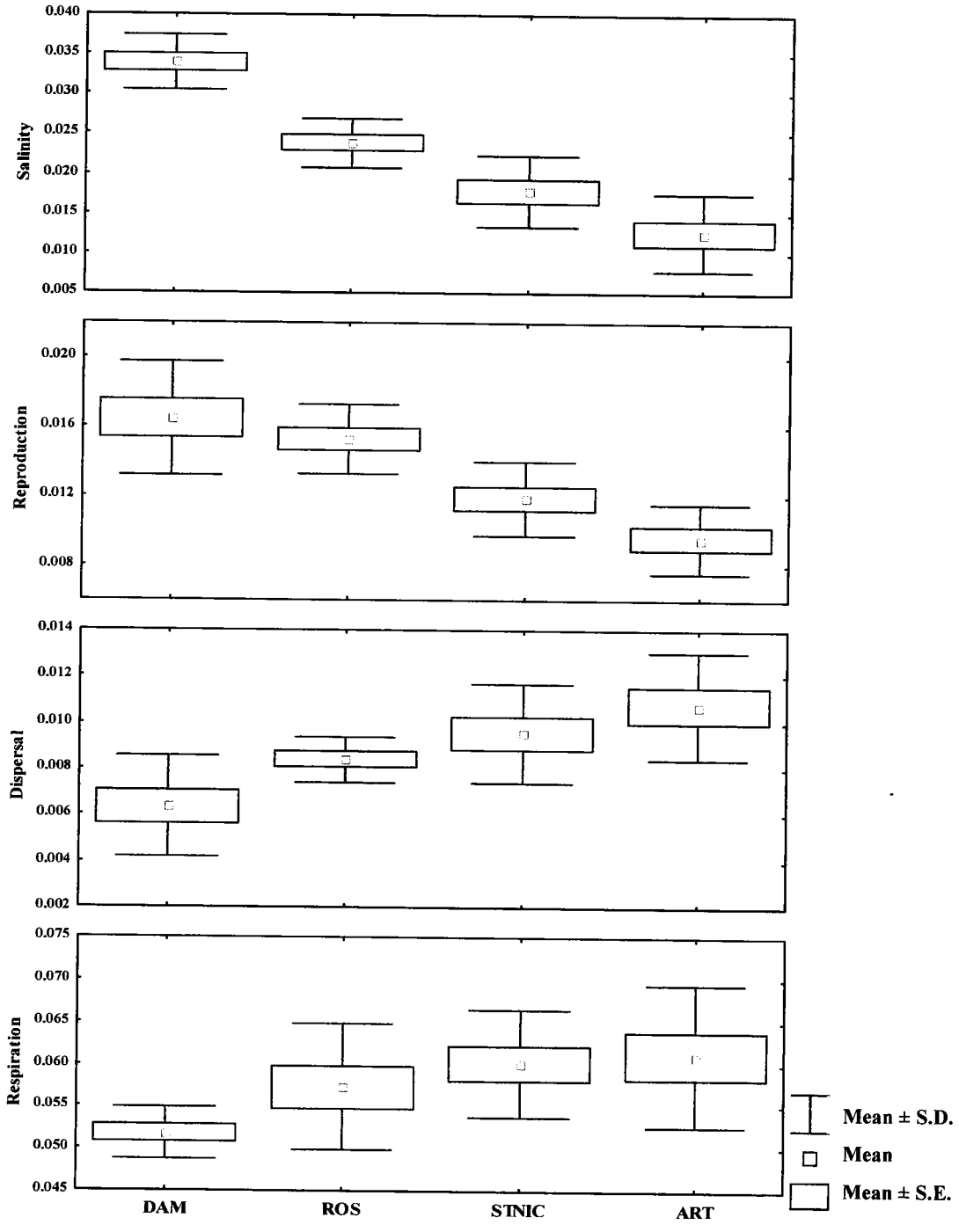


Figure 4

PISCART et al.

Annexe VI: Salinization consequences in running waters: the use of 'sentinel substrate' as bioassessment method.

Piscart, C.; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N.

Journal of the North American Benthological Society, accepté avec corrections en 2004, révisé en 2005.

Abstract

The salinization process has been disturbing increasing numbers of inland waterways and new analytical tools are needed to survey water quality and to better assess the impact of salinization. In order to reduce the cost of existing assessment methods, researchers have developed new protocols, which reduce the number and type of samples required. Our study contributes to this effort with a primary objective: to identify a single, unique river bottom substrate to detect the impact of rising salinity on macroinvertebrate assemblages. Hence, we hoped to define a new concept of 'sentinel substrate', in other words a substrate with an invertebrate assemblage which would signal an increase in salinity levels, as well as a site scale assemblage useful for impact assessment. We worked on the Meurthe River which presents a significant salinity gradient (from 0.2 to 2.6 $g.L^{-1}$) over a stretch section of only 19 km, with all other physico-chemical parameters remaining stable in the same section. We sampled substrates present at each of four sites along the salinity gradient in 2002. This study allowed us to describe the consequences of rising salinity on each substrate type. Pebbles were the single substrate type exhibiting the same assemblage responses at site scale and corresponding to essential features such as high invertebrate diversity as compared to other substrates, or low variation between seasons.

Key words: mesohabitat, substratum, biomonitoring, macroinvertebrates, freshwater

Introduction

Observations and documentation have confirmed that a salinization process has affected arid and semi-arid regions covering approximately one-third of the world's land area (Williams 1987, 1999). This proportion will probably increase with conditions expected to result from global warming, considering that an increase in carbon dioxide and other greenhouse gas concentrations in the atmosphere will certainly affect hydrological regimes and promote the natural salinization process of inland waters (Goldammer 1999, Kershaw et al. 2003). In addition, anthropogenically-induced salinization, such as that due to irrigation (Silva and Davies 1997, 1999, Leland and Fend 1998), the use of de-icing salt (Williams et al. 1999, Löfgren, 2001) or certain chemical plant discharges (Pringle et al. 1981, Silva et al. 2000, Piscart et al. 2005) affect an increasing number of continental hydrological networks. Therefore, the development of tools to assess the impact of salinity on the aquatic biodiversity of freshwater ecosystems has become an important priority for aquatic ecologists.

Benthic macroinvertebrates are the aquatic organisms used most often for the assessment of river integrity (Hellawell 1986, Rosenberg and Resh 1993). Invertebrates are susceptible to the degradation of water, sediment and habitat, and therefore serve as good indicators of localized environmental conditions. Nevertheless, one of the difficulties of biological assessment methods is the high variability in sampling (Resh and Rosenberg 1989). This variability is due essentially to a highly aggregated distribution of most benthic macroinvertebrate species at the micro/mesohabitat scales. Microdistribution is an outcome of a series of responses to a set of interacting variables such as hydraulic constraints, substrate type, food availability or biotic interactions (Cummins 1962, Rabeni and Minshall 1977, Palmer et al. 1997). The influence of each of these variables seems to be imposed hierarchically, with an order of influence, which varies from one species to another (Minshall and Minshall 1977). Among physical variables, substrate type is one of the most important and determines the spatial patchiness on pattern and process in aquatic ecosystems (Pringle et al. 1988, Townsend 1989, Death 1995, Death and Winterbourn 1995, Beisel et al. 1998, Lake 2000). Common taxa showed substratum preferences even when differences in velocity were eliminated (Reice 1980). The relationship between benthic invertebrate distribution and substrate type depends on physical properties such as porosity, stability to shear stress or complexity. As early as 1962, Cummins(1962) pointed out that measurement of a substrate's physical composition should be an integral part of all benthic investigations.

Despite the importance of substrate for the structure of lotic macroinvertebrate communities, only a handful of studies to date have been devoted to the comparison of substrate assemblages in biological assessment protocols (Harper 1995, Pardo and Armitage 1997, Harper et al. 1998). Nevertheless, to reduce assessment method costs, researchers have developed protocols calling for reduced numbers and types of samples, such as the rapid bioassessment protocol used in the United States (Plafkin et al, 1989) or the macroinvertebrate community index developed in New Zealand (Stark 1993). Thus, sampling may be confined to a particular habitat, but care must be taken not to introduce systematic errors, which could alter a study's results if sampling is limited spatially (Green 1979, Kerans et al. 1992). For example, if a human impact, such as salinity stress, is specific to a particular habitat or functional group, and sampling is restricted to an adjacent habitat/group, the measurement of that impact may be biased.

Within this context, our main objectives were to study the response of different substrate type assemblages along a salinity gradient in terms of faunal and structural impairments, and to evaluate whether a particular substrate could be qualified as a "sentinel substrate", i.e. a substrate showing a faunal difference along the salinity gradient. We defined an ideal 'sentinel substrate' as one exhibiting at least the following five features: (1) occurring widely in streams and easily sampled using classic methods (Stout and Vandermeer 1975); (2) available throughout the year, regardless of environmental conditions (Death and Winterbourn 1995); (3) hosting an assemblage representing the entire site in terms of structure, composition and sensitivity of invertebrates, thus overrepresenting neither sensitive species nor tolerant ones (Kerans et al. 1992); (4) providing an assemblage with relatively high richness in order to highlight the impairment of macroinvertebrate structures; and (5) capable of being sampled without contamination by animals either from other substrates or from drift (Doeg and Lake 1981). Our results and discussion are focused on these particular features in order to identify the best 'sentinel substrate' for use in detecting salinity stress on freshwater macroinvertebrate assemblages.

Material and Methods

Study sites: location and characteristics

The study was conducted in the Meurthe River, a sixth-order stream tributary of the Moselle River, in northeastern France. The study area is a perennial-flow section, located upstream from the city of Nancy (48°41'52''N, 6°11'14''E). Chemical plants discharge salt water along a 19 km long

section of the river. Four sites were chosen according to their proximity to various chemical plant discharge points. Effluents, resulting from a soda production process, were composed exclusively of water and dissolved minerals (Piscart et al. 2005). The first site chosen, in the city of Damelevières (DAM), located upstream from the first discharge point, was employed as a reference site. The second site was near Rosières-aux-Salines (ROS), and third was near the city of St Nicolas-de-Port (STNIC). The fourth site was located near the city of Art-sur-Meurthe (ART), downstream from all discharge points. Water samples were collected for analysis at each of the four sites, each month from January to October 2002, except in February. Water samples were stored at 4°C and analyzed the following day for 22 physico-chemical parameters according to standard French protocols (AFNOR, 1995a, b). Water chemistry results were presented in detail in a previous study (Piscart et al. 2005), and major parameters are presented here in Table I.

Invertebrate sampling

In 2002, invertebrates were collected on the same day each month as the water samples with a Surber net sampler (0.05 m^2, 500 µm mesh size). The substrate within the sampler was removed to a depth of about five centimeters. Large rocks were scraped and brushed free of moss and invertebrates. Six mesohabitats were sampled on each date at each site: sand (diameter < 2 mm), gravel (diameter <31 mm), pebble (Ø between 31 and 124 mm) and boulder (Ø > 124 mm) for mineral substrates, and litter and tree roots for organic substrates (216 samples). Additional samples of macrophyte substrate were taken between June and October at each site; these 20 supplementary samples adding up for a total of 236 macroinvertebrate samples. When a choice was possible between different current velocities, the substrate in the mean current velocity was sampled. No replications were made for a given date, but the variability of samples was estimated, based on between-month variations (9 dates during 2002).

Each sampling point was described in terms of depth (m), substrate type, current velocity ($cm.s^{-1}$) and distance from the nearest bank (m). Samples were fixed with 4 % formaldehyde in the field. In the laboratory, organisms were sorted and preserved in 70 % ethanol. All macroinvertebrates were identified to species or genus level, but higher taxonomic levels were used for Nematoda, Oligochaeta, Hydracarina and certain Diptera.

Data analysis

The first part of our analysis analyzed taxa richness, Shannon diversity and Simpson dominance (see Magurran 1988 for details) to summarize aspects of the community structure of our 236 samples. The aim was to detect a substrate assemblage with a relatively high richness at the reference site to help detect the impairment of macroinvertebrate structures

('sentinel substrate' feature number 3 in the Introduction). The between-site and between-substrate differences of each index were compared using Friedman non-parametric ANOVA tests because indices were not normally distributed and showed non homogeneous variances. Either months (for the between-site variations in individual substrates) or the site and the sampling months (for the between-substrate analyses) were used as blocking factors during the statistical procedures. A non-parametric Mann-Whitney test for paired samples was used to test differences between two sites or substrates. To compare one site with each of the other three sites, a Bonferroni adjustment for multiple comparisons was realized for each *p*-value. All possible combinations of sampling site and substrate were tested, but only the results between successive sites were presented.

The seasonal variability in each substrate type assemblage was evaluated by examining the coefficient of variation (CV), CV being the standard deviation expressed as a percentage of the mean. A Jaccard similarity coefficient (J) was calculated using the equation $J=\frac{a}{(a+b+c)}$, where, a was the number of taxa present at the two samples, b was the number of taxa present only at the first sample and c the number present only at the second sample. Jaccard similarity coefficients were determined for each substrate for each date and each site between the sample faunal list and the cumulative list corresponding to all seven substrates for each site. This index allowed us to determine whether the macroinvertebrate assemblage of a particular substrate was representative of that site's assemblages in terms of composition ('sentinel substrate' feature number 4).

An original, quantitative approach enabled us to verify that the macroinvertebrate assemblage of a given substrate gave a reliable overview of the macroinvertebrates at the site without overrepresenting either sensitive or tolerant species (second part of 'sentinel substrate' feature number 4). For this purpose, we used IndVal indices as defined by Dufrêne and Legendre (1997), calculated for each species to determine its preference for a site. We considered that the more- or less-marked preference of a given species for a given site would reflect its ability to tolerate a range of salinity (Shelford law, Shelford, 1911). Accordingly, the IndVal index allowed us first to determine the characteristic species at each site (i.e. species for which the IndVal value was highest at a given site). For example, the IndVal values for *Glossiphonia* sp. were 8.7 for DAM, 2.8 for ROS, 0.6 for STNIC and 0.2 for ART. Thus, *Glossiphonia* sp. was considered a characteristic species at DAM. This process allowed us to assign each species to a site and to consider species number at a given site as corresponding to the

richness in characteristic species at that site. Finally, we calculated the richness of characteristic species of invertebrate assemblages for each substrate type expressed as a percentage of the total number of characteristic species found at the sampling station. For example, a value of 100 % for roots in STNIC indicated that all the characteristic species at that site were present in the invertebrate assemblage collected in roots. A low between-site variance of this relative richness in characteristic species indicated that the invertebrate assemblages of a given substrate did not over-represent characteristic species whatever the salinity level and thus did not induce bias in the bioassessment method. This choice is driven by the statistical wish to found a trade off between type I and type II errors in the assessment of a salinity impact. The use of indicator value involves the test of a null hypothesis stating that there is no change in indicator value between reference conditions and the observed conditions (Sandin & Johnson, 2000). Type I error (α) is the probability of rejecting the null hypothesis when it is in fact true (i.e. there is no difference with reference conditions). On the contrary, the type II error (β) is the probability to fail to reject the null hypothesis when in fact it is false (i.e. an impact occurred but has not been detected). To achieve acceptable types I and II error rates and to avoid the magnification or the diminution of macroinvertebrate response, the choice of a sentinel substrate has been objectively adjusted on the community response at the station level. Type II error is sometimes considered as much more costly than type I error because an environmental degradation occurs before the real impact is noticed (Mapstone, 1995). However, our ability to detect objectively an environmental change with biomonitoring is essential to implement unbiased aquatic resource management.

Results

Most of major physico-chemical parameters exhibited only slight variations along the river section (Table I), but the salinity levels differed sharply among sites (One-way ANOVA; $p \leq 10^{-5}$) from 0.21 upstream to 2.60g.L^{-1} downstream (Table I). Salinity and conductivity were the only physico-chemical parameters that were significantly correlated with taxonomic richness (Table 1). Neither diversity nor dominance showed significant rank correlations with any of the physico-chemical parameters in Table 1 (results not shown). Both salinity and conductivity showed upstream-downstream gradients (Table 1).

A total of 225,410 macroinvertebrate specimens belonging to 128 taxa were collected during the field sampling campaign in the Meurthe River. Considering faunal communities at the site scale (Table 2), no structural differences between the first two sites were observed (p= 0.678) but the difference between ROS and STNIC were significant (p=0.038). The most disturbed site (ART) was significantly less rich than all the other sites (p< 0.001, corrected value of the Mann-Whitney test).

At the mesohabitat scale, the between-site differences in terms of richness were highly significant (p<0.04) in pebbles, litter, roots and boulders (Table 3), which hosted the richest assemblages (Fig 1). In addition, a trend toward progressive erosion of richness along the salinity gradient was observed in pebbles, boulders and litter (Fig. 1), but not in roots for which the richness of the two upstream sites did not vary the same way. The variation coefficient, calculated on between-dates mean and variance showed that the seasonal CV's were the lowest in pebbles (< 20%), while the CV for litter ranged from 23 % to 46 % (Fig 1b).

Inter-site differences were significant for diversity (p< 0.001) but not for the dominance index (p=0.067, Table 2). However, pebble and boulder substrates presented some significant between-site differences for diversity and dominance (Table 3, Figs 2a & 2b). Community diversity in pebbles decreased significantly between ART and all upstream sites (corrected p-values <0.001 for each of the other 3 sites). The diversity in boulders tended to decrease progressively downstream, though a significant difference was observed only between ROS and ART (p= 0.008) and between the last two downstream sites, STNIC and ART (p= 0.017). Conversely, the dominance in pebbles increased progressively along the salinity gradient, even though significant differences were observed only between the two upstream sites and ART (respectively p= 0.008 and p= 0.028). In boulders, the communities showed unchanging dominance at the three upstream sites (p> 0.606), which were significantly different from the downstream site ART (p< 0.001, corrected value of the Mann-Whitney test).

Jaccard similarities between each substrate community and the corresponding whole faunal list of the site showed that the macroinvertebrate assemblages observed in roots and pebbles presented a composition closest to that of the site community, relative to the other substrates (Fig. 3). The similarity varied between 52.6 % and 58.3 % for roots and from 42.1 % to 50.0 % for pebbles. Conversely, the Jaccard similarity for sand was between 15.9 % and 18.9 %. Jaccard similarities calculated on the whole faunal lists of each site were not

significantly different between sites along the salinity gradient ($p > 0.176$, Friedman 2-ways ANOVA).

The proportion of species belonging specifically to a given site was largest for roots with at least 83.3 % of characteristic species of each site (Table 4) and the between-site variances in these proportions showed that pebbles had the lowest variable results (and did not over-represent the characteristic species of a particular site) while boulders, for example, over-represented characteristic species of STNIC (Table 4).

Discussion

Interest in the impact of salinity on freshwater invertebrates has increased since the 1990's. Our study, in agreement with previous studies (Piscart et al. in press), found that richness decreased with increasing salinity level, even though it was difficult to pinpoint the specific value at which a significant decrease was observed. Several authors fixed this limit between 0.3 and 0.5 $g.L^{-1}$ (Bunn and Davies 1992, Gallardo-Mayenco 1994, Halse et al. 1998, Leland and Fend 1998) while others observed it at 1.0 $g.L^{-1}$ (Hart *et al.* 1990, 1991, Metzelin 1993, Rundle et al. 1998) or 1.5 $g.L^{-1}$ (Munoz and Prat 1994). The salinity at our sites, ranging from 0.2 to 2.6 $g.L^{-1}$ was sufficiently high to induce a decrease in biological diversity. Physico-chemical parameters other than salinity remained stable or varied only slightly and were not considered to affect the macroinvertebrate community (Piscart et al. in press). This particular 19km section of the Meurthe River gives us an exceptional opportunity to study the effect of rising salinity at the mesohabitat scale. This stretch section is located entirely within the metapotamon part of the river (Illies and Botosaneanu 1963) and all observed changes in community structure may be attributed to salinity disturbance.

The aggregated distribution of invertebrates on a river bottom, their preference in terms of mesohabitats (Minshall 1984) and the salinity sensitivity of particular species explained to a large extent the differences observed between salinity studies (Kefford et al. 2003, 2005). A substrate such as macrophyte provides shelter for halotolerant species, which are less sensitive to salinity than those species sampled on pebbles or boulders, such as Ephemeroptera and Trichoptera (Piscart et al. 2005). The use of a substrate with tolerant assemblages to highlight variations in salinity could be detrimental to the accuracy of environmental assessment studies. This kind of approach increases intra-site variability (e.g. between-substrate variability) at the expense of between-site sensitivity (Parsons and Norris 1996). To avoid these disadvantages and to reduce the resulting variability, sampling could

be confined to a particular habitat (Plafkin et al. 1989, Kerans et al. 1992), and the use of a single habitat type to reduce variability was proposed in several assessment protocols. Among these, the best-known is the United States Environmental Protection Agency's (EPA) Rapid Biological Assessment Protocol (Plafkin et al. 1989) which has been applied successfully in several States. In New Zealand, a study of the performance of the Macroinvertebrate Community Index, based only on the stony riffles in 23 streams, has shown that a stony substrate alone could be used in the environmental assessment of water quality (Stark 1993).

Taking these approaches to reduce intra-site variability due to the sampling of all substrates and to improve between-site comparisons into account, we looked for a 'sentinel substrate' able to highlight impairments in macroinvertebrate communities subjected to environmental stresses. We proposed an ideal 'sentinel substrate' with at least five main features to be used in a biological assessment protocol (Table 5). A first feature, though there is no hierarchical order, consists in being widespread in streams and sampled easily using classical methods (Stout and Vandermeer 1975). The use of a single substrate to survey several sites improves between-site analyses but requires that substrate to be present at all sites concerned.

The second feature of a 'sentinel substrate' is to be present throughout the year (Death and Winterbourn 1995) because temporal stability increases the stability of invertebrate assemblages and allows for monitoring regardless of season. Death and Winterbourn (1995) and Matthaei et al. (2000) showed that benthic invertebrate communities were influenced by habitat stability and species richness peaked at sites with the greatest stability. Furthermore, the salinization process could be limited in time (for example, the effect of de-icing salt used only during the winter) and would thus demand a biological assessment protocol efficient for that time period/season.

The 'sentinel substrate' must also host a sensitive macroinvertebrate assemblage, which highlights impairments when salinity increases (feature 3). However, it must represent the entire site in terms of the structure and composition of invertebrates, without over-representing either sensitive or tolerant species (Kerans et al. 1992) to avoid the magnification or the diminution of macroinvertebrate response. Hence, acceptable types I and II error rates are achieved in the sense that the potential error in the detection of an environmental change will be the same at the habitat and at the station scales.

A 'sentinel substrate' should also host an assemblage with relatively high richness (feature 4) in order to show a numerical response to highlight the impairment of macroinvertebrate structures. A higher number of taxa allows for more accurate assessment, whereas a substrate with poor taxonomic richness could offer a limited-sensitivity, binary response (disturbance or not) without intermediate levels. Furthermore, the effective management of freshwater ecosystems requires early warning

bioassessment methods, which are sensitive enough to detect even subtle changes that may occur within a community subject to low disturbance levels.

Finally, from a practical point of view, the available area of the 'sentinel substrate' must be sufficiently large to be sampled without the risk of contamination by animals from other substrates or drift (feature 5, Doeg and Lake 1981) which can introduce bias into the analysis and decrease the repeatability of the sampling protocol.

Organic substrates, such as roots, litter or macrophytes did not satisfied the "widespread" distribution criteria because they depend upon the presence of bank vegetation (trees, shrubs) and/or they are not present all year long (Table 5). Moreover, macrophytes hosted tolerant macroinvertebrate assemblages, which could increase the risk to fail to detect a change due to salinity when in fact a change occurred. Among the mineral substrates, only those with coarse particles such as gravel, pebbles and boulders may be used throughout the year,. However, gravel had lower overall richness than pebbles and boulders in the low-salinity site, a richness which was not sufficient to show a significant erosion of diversity. Only pebble and boulder assemblages showed large differences in the macroinvertebrate community structures (e.g. richness, diversity and dominance) along the salinity gradient in terms of either microhabitat distribution of salinity compared to other substrates. A common feature was that boulder and pebble assemblages did not over-represent either sensitive or halotolerant species. However, boulder assemblages seemed to be less sensitive than pebbles to lower stress levels. Thus, pebbles were found to be the most sensitive substrate, as well as exhibiting the lowest variable between seasons, a result found by Armitage and Gunn (1996). In conclusion, pebbles corresponded best to the 'sentinel substrate' profile we suggested.

The sampling of individual pebble to quantify benthic community structure was recommended by Scrimgeour et al. (1993) because the processing efforts could be reduced and the variations due to substratum heterogeneity and organism dispersion could be estimated and reduced. Moreover, the use of pebble assemblages provided several sampling advantages (Lake et al. 1985). These assemblages could be sampled without contamination by animals living on other substrates or drifting downstream (Doeg and Lake 1981) and they comprise a unit that can be sampled consistently from stream to stream (Stout and Vandermeer 1975). Pebles are recognized as relatively easy to manipulate in experiments (Fox 1977), and are a relevant habitat for many benthic species (Rader and Ward 1990, Pardo and Armitage 1997). They present high taxa richness (Harper 1995, Harper et al. 1998) and Downes et al. (1993) has shown that pebble richness remained stable in two Australian streams over several spatial scales ranging from microhabitat to site.

To conclude, we have found that substrate macroinvertebrate assemblages react differently to rising salinity in the Meurthe River. Although most substrates reflected an impact on richness, only a

small number of them could reflect more subtle differences in terms of diversity or dominance. Pebbles were found to be the best candidate for 'sentinel substrate' (Table 5) but further research in other river systems and on other disturbances and biogeographical areas (i.e., other specific assemblages) are needed to validate this finding. The use of a 'sentinel substrate' could reduce the cost of, and sampling variability in, biological assessment protocols. However, while possessing several advantages, a 'sentinel substrate' sampling requires the presence of that particular substrate and it cannot be used to assess the impact of certain disturbances (bank rectification or dam construction), which may modify the type of substrate present on the stream bottom (Armitage and Gunn 1996). From a practical point of view, we recommend the use of pebbles when possible. However, considering the ranks found in Table 5, another substrate, such as boulders or roots, could be substituted. The five criteria used in this study are not equally important when it comes to a sampling strategy. The representativeness of the entire site is, in our view, an essential criterion when implementing a sampling method based on a unique substrate. As a consequence, and in the absence of pebbles, the 'sentinel substrate' concept may be adopted according to field conditions (availability of roots and the ability to sample boulders without contamination). When in doubt, or when all three potential sentinel substrates are absent, the best alternative remains the collection of biological samples from the various substrates representing the river bottom. Another alternative could be the use of artificial pebble substrates, but further study is needed to prove their accuracy and usefulness in monitoring the impact of rising salinity.

Acknowledgements

This study was supported by the French Ministry of Ecology and Sustainable Development (Ministère de l'Ecologie et du Développement durable), as part of the 2001-2003 Biodiversity program. We wish to thank the editor (John Van Sickle) and anonymous referees for helpful comments and advice concerning an earlier version of this paper. We are especially grateful to Anna Matheny-Cartier for her revision of the manuscript.

Literature Cited

A.F.N.O.R. 1995a. Qualité de l'eau - Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, orthophosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous, par chromatographie des ions en phase liquide - Partie 1 : méthode applicable pour les eaux faiblement contaminées. Association Française de Normalisation - norme homologuée T 90-042 (EN ISO 10304-1).

A.F.N.O.R. 1995b. Qualité de l'eau - T 90-005. Association Française de Normalisation - norme homologuée T 90-005.

Armitage, P. D., and R. J. M. Gunn. 1996. Differential response of benthos to natural and anthropogenic disturbances in 3 lowland streams. International Revue der Gesamten Hydrobiologie 2: 161-181.

Beisel, J. N., P. Usseglio-Polatera, S. Thomas, and J. C. Moreteau. 1998. Stream community structure in relation to spatial variation: the influence of mesohabitat characteristics. Hydrobiologia 389: 73-88.

Bunn, S. E., and P. M. Davies. 1992. Community structure of macroinvertebrate fauna and water quality of saline river system in south-western Australia. Hydrobiologia 248: 143-160.

Cummins, K. W. 1962. An evaluation of some techniques for the collection & analysis of benthic samples with special emphasis on lotic waters. The American Midland Naturalist 67: 477-504.

Death, R. G. 1995. Spatial patterns in benthic invertebrate community structure: products of habitat stability or are they habitat specific? Freshwater Biology 33: 455-467.

Death, R. G., and M. J. Winterbourn. 1995. Diversity patterns in stream benthic invertebrate communities: the influence of habitat stability. Ecology 76: 1446-1460.

Doeg, T. J., and P. S. Lake. 1981. A technique for assessing the composition and density of the macroinvertebrate fauna of large stones in streams. Hydrobiologia, 80: 3-6.

Downes, B. J., P. S. Lake, and E. S. G. Schreiber. 1993. Spatial variation in the distribution of stream invertebrates: implications of patchiness for models of community organization. Freshwater Biology, 30: 119-132.

Dufrêne, M., and P. Legendre. 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. Ecological Monographs 67: 345-366.

Fox, L. R. 1977. Species richness in streams - an alternative mechanism. American Naturalist, 111: 1017-1021.

Gallardo-Mayenco, A. 1994. Freshwater macroinvertebrate distribution in two basins with different salinity gradients (Guadalete and Guadaira river basins, south-western Spain). International Journal of Salt Lake Research 3: 75-91.

Goldammer, J. G. 1999. Forests on fire. Science 284: 1782.

Green, R. H. 1979. Sampling Design and Statistical Methods for Environmental Biologists. Wiley & Sons, New York: 257 pp.

Halse, S. A., R. J. Shiel, and W. D. Williams. 1998. Aquatic invertebrates of Lake Gregory, north-western Australia, in relation to salinity and ionic composition. Hydrobiologia 381: 15-29.

Hart, B. T., P. Bailey, R. Edwards, K. J. K. Hortle, A. McMahon, C. Meredith, and K. Swadling. 1990. Effects of salinity on river, stream and wetland ecosystems in Victoria, Australia. Water Research 24: 1103-1117.

Hart, B. T., P. Bailey, R. Edwards, K. J. K. Hortle, A. McMahon, C. Meredith, and K. Swadling. 1991. A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota. Hydrobiologia 210: 105-144.

Harper, D. 1995. River bottom habitats: biological reality and practical value in river management. Biologia, 91: 35-45.

Harper, D., C. Smith, J. Kemp, and G. Crosa. 1998. The use of 'functional habitats' in the conservation, management and rehabilitation of rivers. Pages 315-326 *in* G. Bretschko, and J. Helesic (Editors), Advances in River Bottom Ecology. Backhuys, Leiden.

Hellawell, J. 1986. Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management. Elsevier, London, 546 pp.

Illies, J. and L. Botosaneanu. 1963. Probèmes et méthodes de la classification et de la zonation écologique des eaux courantes, considérées surtout du point de vue faunistique. Verhandlungen der Internationale Vereinigung für Limnologie. 12: 1-57.

Kefford, B. J., P. J. Papas, and D. Nugegoda. 2003. Relative salinity tolerance of macroinvertebrates from the Barwon River, Victoria, Australia. Marine and Freshwater Research 54:755-765.

Kefford, B. J., C. G. Palmer, and D. Nugegoda. 2005. Relative salinity tolerance of freshwater macroinvertebrates from the south-east Eastern Cape, South Africa compared with the Barwon catchment, Vicoria, Australia. Marine and Freshwater Research 56:163-171.

Kerans, B. L., J. R. Karr, and S. A. Ahlstedt. 1992. Aquatic invertebrate assemblages: spatial and temporal differences among sampling protocols. Journal of the North American Benthological Society 11: 377-390.

Kershaw, P., P. Moss, and S. Van Der Kaars. 2003. Causes and consequences of long-term climatic variability on the Australian continent. Freshwater Biology 48: 1274-1283.

Lake, P. S. 2000. Disturbance, patchiness, and diversity in streams. Journal of the North American Benthological Society 19: 573-592.

Lake, P. S., T. Doeg, and D. W. Morton. 1985. The macroinvertebrate community of stones in an Australian upland stream. Verhandlungen der Internationale Vereinigung für Limnologie 22: 2141-2147.

Leland, H. V., and S. V. Fend. 1998. Benthic invertebrate distributions in the San Joaquin River, California, in relation to physical and chemical factors. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 55: 1051-1067.

Löfgren, S. 2001. The chemical effects of de-icing salt on soil and stream water of five catchments in south-east Sweden. Water, Air, and Soil Pollution 130: 863-868.

Magurran, A. E. 1988. Ecological Diversity and Its Measurement. Princeton University Press, Princeton, NJ: 179 pp.

Mapstone, B. D. 1995. Scalable Decision Rules for Environmental Impact Studies: Effect Size, Type I, and Type II Errors. Ecological Applications 5:401-410.

Matthaei, C. D., C. J. Arbuckle, and C. R. Townsend. 2000. Stable surface stones as refugia for invertebrates during disturbance in a New Zealand stream. Journal of the North American Benthological Society 19: 82-93.

Metzelin, L. 1993. Benthic macroinvertebrate community structure in streams of different salinities. Australian Journal of Marine and Freshwater Research 44: 335-351.

Minshall, G. W. 1984. Aquatic insect substratum relationships. Pages 358-400 *in* V. H. Resh and D. M. Rosenberg (editors). The Ecology of Aquatic Insects. Praeger, New York.

Minshall, G. W., and J. N. Minshall. 1977. Microdistribution of benthic invertebratres in a rocky mountain (U.S.A.) stream. Hydrobiologia, 55: 231-249.

Munoz, I., and N. Prat. 1994. Macroinvertebrate community in the lower Ebro river (NE Spain). Hydrobiologia 286: 65-78.

Palmer, M. A., C. C. Hakenkamp, and K. Nelson-Baker. 1997. Ecological heterogeneity in streams: why variance matters. Journal of the North American Benthological Society, 16(1): 189-202.

Pardo, I., and P. D. Armitage. 1997. Species assemblages as descriptors of mesohabitats. Hydrobiologia, 344: 111-128.

Parsons, M., and R. H. Norris. 1996. The effect of habitat-specific sampling on biological assessment of water quality using a predictive model. Freshwater Biology 36: 419-434.

Piscart, C., A.Lecerf, P. Usseglio-Polatera, J. C. Moreteau, and J. N. Beisel. 2005. Biodiversity patterns along a salinity gradient: The case of net-spinning caddisflies. Biodiversity and Conservation, 14: 2235-2249.

Piscart, C., J. C. Moreteau, and J. N. Beisel. In press. Biodiversity and structure of macroinvertebrate communities along a small permanent salinity gradient, Meurthe River, France. Hydrobiologia.

Plafkin, J. L., M. T. Barbour, K. D. Porter, S. K. Gross, and R. M. Hughes. 1989. Rapid bioassessment protocols for use in streams and rivers: benthic macroinvertebrates and fish. EPA /444/4-89-001, United States Environmental Protection Agency, Washington.

Pringle, C. M., White, D. S., Rice, C. P. and Tuchman, M. L. (1981) The biological effects of chloride and sulfate with a special emphasis on the Laurentian Great Lakes. Great Lakes Research Division Publication. No. 20. Great Lakes Fishery Commission, Ann Arbor, Michigan: 51pp.

Pringle, C. M., R. J. Naiman, G. Bretschko, J. R. Karr, M. W. Oswood, J. R. Webster, R. L. Welcomme, and M. J. Winterbourn. 1988. Patch dynamics in lotic systems: the stream as a mosaic. Journal of the North American Benthological Society 7: 503-524.

Rabeni, C. F., and G. W. Minshall. 1977. Factors affecting microdistribution of stream benthic insects. Oikos, 29: 33-43.

Rader, R. B., and J. V. Ward. 1990. Mayfly growth and population density in constant and variable temperature regimes. Great Basin Naturalist, 50: 97-106.

Reice, S. E. 1980. The role of substratum in benthic macroinvertebrate microdistribution and litter decomposition in a woodland stream. Ecology 61: 580-590.

Resh, V. H., A. V. Brown, and A. P. Covich. 1988. The role of disturbance in stream ecology. Journal of the North American Benthological Society 7: 433-455.

Resh, V. H., and D. M. Rosenberg. 1989. Spatial-temporal variability and the study of aquatic insects. Canadian Entomology 121: 941-963.

Rosenberg, D. M. and Resh, V. H. 1993. Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates. Chapmann and Hall, New York. 488 pp.

Rundle, S. D., M. J. Attrill, and A. Arshad. 1998. Seasonality in macroinvertebrate community composition across a neglected ecological boundary, the freshwater-estuarine transition zone. Aquatic Ecology 32: 211-216.

Sandin, L. and R. K. Johnson. 2000. The statistical power of selected indicator metrics using macroinvertebrates for assessing acidification and eutrophication of running waters. Hydrobiologia 422/423: 233-243.

Scrimgeour, G. J., J. M. Culp, and N. E. Glozier. 1993. An improved technique for sampling lotic invertebrates. Hydrobiologia 254: 65-71.

Shelford V.E. 1911. Ecological succession. I. Stream fishes and the method of physiographic analysis. Biological Bulletin, Marine Biological Laboratory, Woods Hole, 21: 9-35.

Silva, E. I. L. and R. W. Davies. 1997. The effects of irrigation effluent on a Western Canadian prairie river. Hydrobiologia 344: 103-109.

Silva, E. I. L. and R. W. Davies. 1999. The effects of simulated irrigation induced changes in salinity on metabolism of lotic biota. Hydrobiologia 416: 193-202.

Silva, E. I. L., A. Shimizu, and H.Matsunami. 2000. Salt pollution in a Japanese stream and its effects on water chemistry and epilithic algal chlorophyll-a. Hydrobiologia 437: 139-148.

Stark, J. D. 1993. Performance of the macroinvertebrate community index: effects of sampling method, sample replication, water depth, current velocity, and substratum on index values. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 27: 463-478.

Stout, V. M., and J. Vandermeer. 1975. Comparisons of species richness for stream-inhabiting insects in tropical and mid-latitude streams. American Naturalist, 109: 263-280.

Townsend, C. R. 1989. The patch dynamics concept of stream ecology. Journal of the North American Benthological Society 8: 36-50.

Williams, W. D. 1987. Salinization of rivers and streams: An important environmental hazard. Ambio, 16: 181-185.

Williams, W. D. 1999. Salinisation: A major threat to water resource in the arid and semi-arid regions. Lakes & Reservoir : Research and Management 4: 85-91.

Williams, D. D., N. E. Williams, and Y. Cao. 1999. Road salt contamination of groundwater in a major metropolitan area and development of a biological index to monitor its impact. Water Research 34: 127-138.

Table 1. Physico-chemical variables of the four sampling stations (mean ± SD). Results of between-site ANOVA on variables measured at each site on nine sampling dates (N=36). Spearman rank correlations were calculated between the taxonomic richness and each physico-chemical parameter (N= 36). * Significant correlations after Bonferroni adjustment.

	DAM	**ROS**	**STNIC**	**ART**	ANOVA *p-value*	Spearman *p-value*
Temperature °C	14.1 ± 6.9	14.6 ± 7.1	15.9 ± 7.2	15.8 ± 7.2	0.935	0,150
Conductivity at 25°C ($\mu S.cm^{-1}$)	277 ± 32	703 ± 246	1807 ± 543	3422 ± 649	<0,001	<0,001*
Salinity ($g.L^{-1}$)	0.21 ± 0.25	0.50 ± 0.19	1.37 ± 0.39	2.60 ± 0.46	<0,001	<0,001*
PH	7.9 ± 0.2	7.9 ± 0.2	8.1 ± 0.2	8.2 ± 0.2	0.222	0,257
Dissolved O_2 ($mg.L^{-1}$)	8.2 ± 1.3	8.1 ± 1.8	8 ± 2.1	8.2 ± 2.2	0.992	0,668
Organic N ($mg.L^{-1}$)	0,7 ± 0,3	0,9 ± 0,9	0,9 ± 0,4	1 ± 0,3	0.374	0,157
Total P ($mg.L^{-1}$)	0,10 ± 0.04	0,20 ± 0,06	0,20 ± 0,06	0,20 ± 0,05	0.590	0,257
Suspended matter ($mg.L^{-1}$)	11.7 ± 6.7	13.9 ± 7.2	15.3 ± 7.7	14.2 ± 5.2	0.696	0,153
COD ($mg.L^{-1}$)	15.6 ± 3.2	16.9 ± 3.5	17.1 ± 2.4	18.5 ± 4.6	0.373	0,243

Table 2: Mean ± SD of structural indices for each site sampled, calculated on the whole faunal list obtained after pooling all sub-stratums. Results of Friedman non-parametric ANOVA by rank on structure indices calculated for each site at each sampling date. Combinations of sampling date and substrate were used as a blocking factor.

	DAM	**ROS**	**STNIC**	**ART**	*n*	**P *values***
	Mean ± s.d.	Mean ± s.d.	Mean ± s.d.	Mean ± s.d.		
Richness	52.4 ± 7.8	53.8 ± 5.9	46.6 ± 5.5	35.1 ± 4.7	236	<0.001
Shannon's diversity	3.1 ± 0.5	3.1 ± 0.6	2.9 ± 0.6	2.6 ± 0.7	236	<0.001
Dominance	0.21 ± 0.07	0.23 ± 0.11	0.24 ± 0.11	0.27 ± 0.16	236	0.067

Table 3: P-values of Friedman 2-way ANOVA for between-site differences in structure indices within each substrate. Sampling date was used as a blocking factor.

		Sand	**Gravel**	**Pebbles**	**Boulder**	**Litter**	**Root**	**Macrophyte**
	N	9	9	9	9	9	9	5
Richness	*p value*	0.282	0.156	0.008	0.041	0.011	0.018	0.028
Diversity	*p value*	0.705	0.168	0.002	0.008	0.241	0.241	0.948
Dominance	*p value*	0.644	0.319	0.012	0.017	0.564	0.466	0.782

Table 4: Total richness of each substrate expressed in percentage of characteristic species of each site. The characteristic species were defined by computing the IndVal index of Dufrêne and Legendre (1997).

	Sand	**Gravel**	**Pebbles**	**Boulder**	**Litter**	**Root**	**Macrophyte**
DAM	62.1	66.7	56.1	66.7	28.8	83.3	34.8
ROS	64.3	71.4	60.7	67.9	46.4	89.3	57.1
STNIC	75.0	75.0	66.7	83.3	66.7	83.3	66.7
ART	61.1	55.6	61.1	55.6	50.0	94.4	55.6
Variance	40.8	71.5	18.8	130.4	241.3	28.7	179.6

Table 5: List of five criteria used to select sentinel substrate. *: Criteria tested in the present study.

Criteria	**Sand**	**Gravel**	**Pebbles**	**Boulder**	**Litter**	**Root**	**Macrophyte**
Wide-spread in hydrological networks	Yes	Yes	Yes	No	No	No	Yes
Present throughout the year*	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Sensitive and representing the entire site*	No	No	Yes	Yes	No	Yes	No
Host high taxonomic richness*	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Sampled without contamination	Yes	Yes	Yes	No	Yes/No	Yes	Yes

Figure legends

Figure 1: (a) Mean ± SD (panel a), and coefficient of variation (panel b) of richness over time, for each site and substrate. For each substrate, significant differences in between-site richness are indicated by different letters ($p<0.05$, Mann-Whitney test).

Figure 2: Mean ± SD of diversity (a) and dominance (b) for pebble and boulder substrates.

Figure 3: Mean ± SD, with respect to month, of Jaccard's similarity between a given substrate faunal list and the site faunal list for (a) DAM, (b) ROS, (c) STNIC and (d) ART.

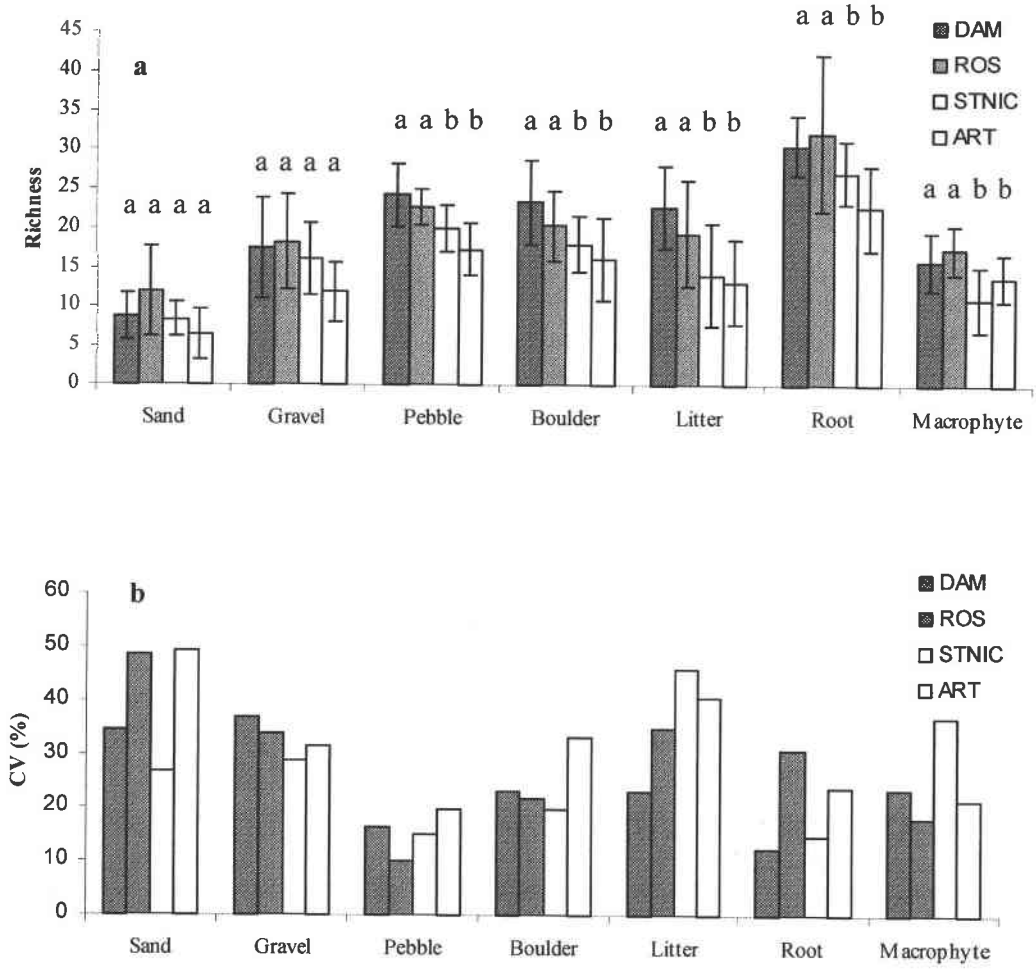


FIGURE 1: PISCART *et al.*

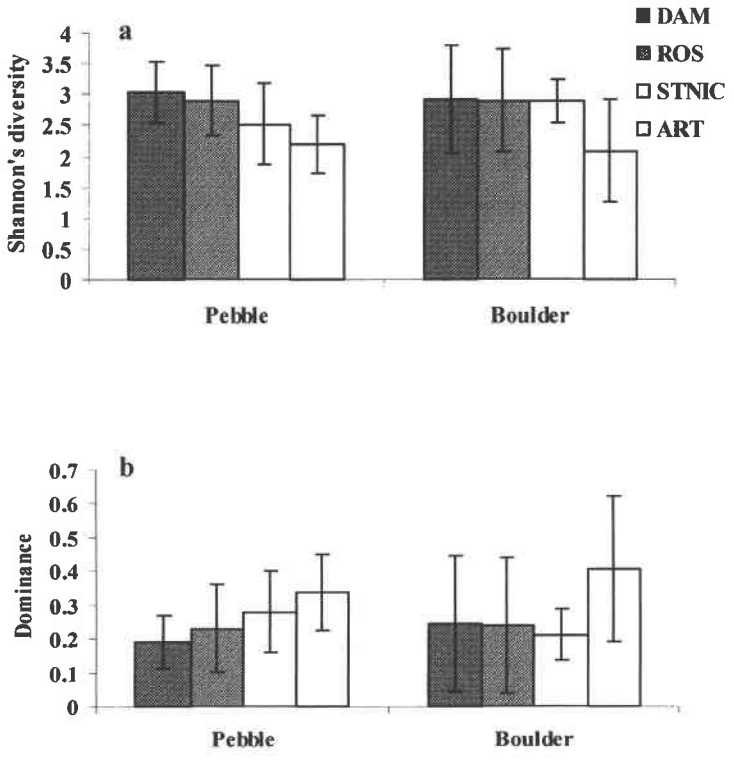


FIGURE 2: PISCART *et al.*

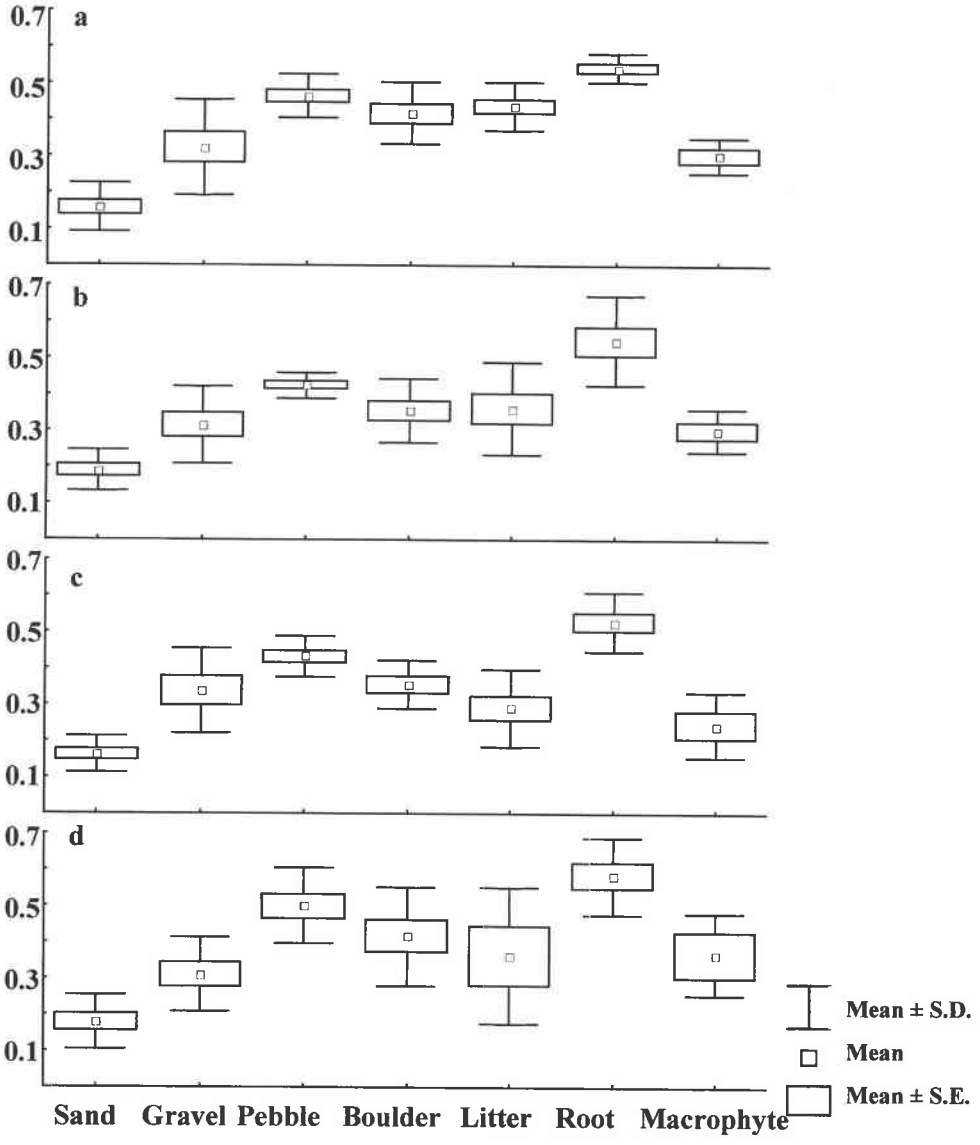


FIGURE 3: PISCART *et al.*

Annexe VII: Monitoring changes in freshwater macroinvertebrate communities along a salinity gradient using artificial substrates.

Environmental Monitoring and Assessment (2005) xxx: 1–14 © Springer 2005

MONITORING CHANGES IN FRESHWATER MACROINVERTEBRATE COMMUNITIES ALONG A SALINITY GRADIENT USING ARTIFICIAL SUBSTRATES

CHRISTOPHE PISCART[1,*], JEAN-CLAUDE MORETEAU[2] and JEAN-NICOLAS BEISEL[2]

[1]*UMR CNRS ECOBIO-Université de Rennes1 – Campus Beaulieu, 263 Avenue du Général Leclerc, 35042 RENNES cedex, France;* [2]*Université de Metz – UFR SciFA – Laboratoire BFE – Campus Bridoux, Avenue du Général Delestraint, 57070 METZ, France*

*(*author for correspondence, e-mail: christophe.piscart@univ-rennes1.fr)*

(Received 18 January 2005; accepted 19 May 2005)

Abstract. Scientists strive to develop efficient sampling protocols, reducing both the number of samples and processing time required, which can be adapted for use in a broad range of ecosystems. We investigated the accuracy and usefulness of artificial substrates in monitoring the impact of rising salinity on freshwater macroinvertebrate communities. We sampled seven sites along a salinity gradient (from 0.2 g L^{-1} to 2.6 g L^{-1}) over a 19-km stretch of the Meurthe River, in northeastern France. All other parameters remained stable in this section of the river. Artificial substrate samples, each consisting of six liters of pebbles, were removed from the river at one-month intervals and examined. Results obtained indicated the same qualitative impairments as those found in samples collected using a Surber net. The use of artificial substrates was found to be a viable alternative method for assessing biological changes in river quality due to increasing salinity disturbance when Surber sampling cannot be performed.

Keywords: assessment, invertebrate, salinity, sampling methods

1. Introduction

The objectives of environmental monitoring are to assess the nature, severity and extent of impacts arising from environmental stress. During the second half of the last century, biological assessment methods were developed to evaluate the quality of freshwater ecosystems. Benthic macroinvertebrates are often chosen for use in bioassessment (Rosenberg and Resh, 1993) because they are highly susceptible to water, sediment, and habitat degradation and are therefore good indicators of environmental conditions.

Earlier studies performed along a salinity gradient in the Meurthe River located in northeastern France found a 30 percent decrease in macroinvertebrate taxonomic richness downstream from a site with a salinity concentration of 1.4 g L^{-1} (Piscart *et al.*, 2005b). Eight taxa assemblages were identified according to invertebrate salinity tolerances deduced from density variations along the gradient. The appearance of exotic, halotolerant species was favoured at the saltiest site (2.6 g L^{-1}).

TECHBOOKS Journal: EMAS MS Code: 275R1 PIPS No: DO00017669 DISK 2-6-2005 6:9 Pages: 14

Piscart *et al.* (unpublished data) described the salinity impact on the substrate scale at the same sites. The impairments observed in macroinvertebrate assemblages in pebble substrates were similar to those seen on the site scale. These results suggested the development of a new bioassessment protocol based on the sampling of pebbles, considered as 'sentinel substrate' (i.e. a substrate showing a faunal difference along the salinity gradient as well as on the site scale when all substrate samples were pooled). The importance of the type of substrate chosen for sampling appeared crucial to a proper evaluation of the effects of rising salinity and the optimal method for studying changes in a quality gradient is to sample the same type of habitat at each location. However, a sampling method based solely on pebbles could prove inappropriate for some ecosystems, such as large rivers which are too deep to allow qualitative collection of bottom samples (De Pauw *et al.*, 1994; Muñoz and Prat, 1994; Rempel *et al.*, 2000). Several studies also pointed out that the evaluation of rising salinity's impact on large rivers could not be accomplished with a classic quantitative sampler: Muñoz and Prat (1994) used artificial substrates and Leland and Fend (1998) used Hester-Dendy multiple-plate samplers to enhance the sampling of invertebrates in particular habitats.

The development of bioassessment tools adapted to large hydrosystems or sites with heterogeneous substrate types to monitor a salinity impact on macroinvertebrate communities remains an important issue. Observation and research have confirmed that salinization already affects one-third of the world's land areas (Williams 1987, 1999) and this proportion is expected to increase due to global warming (Kershaw *et al.*, 2003). The aim of this study was to investigate the accuracy and usefulness of artificial substrates in detecting the impact of rising salinity on freshwater macroinvertebrate communities.

2. Methods

2.1. Study site and physico-chemical analysis

The study was conducted in the Meurthe River, a sixth-order stream tributary of the Moselle River, in north-eastern France. The river section studied is perennially flowing, upstream from Nancy (48°41′52″N, 6°11′14″E). Soda production plants discharge saline water into this river section from pk (kilometric point) 951 to pk 970; the physical characteristics of this river section being detailed by Piscart *et al.* (2005a). Seven sampling sites were chosen according to their proximity to discharge points (Figure 1). The discharges contained dissolved minerals (Cl^-, Ca^{2+}, Na^+, and Mg^{2+}) exclusively. Two sites located upstream from the first discharge point, in Damelevières (DAM) and at the Morteau dam (MOR), were designated as reference sites. The third and fourth sites, located upstream (ROS1) and downstream (ROS2) from Rosières-aux-Salines, as well as the fifth site, near Dombasle (DOMB), respectively and the sixth site, located near Saint Nicolas-de-Port

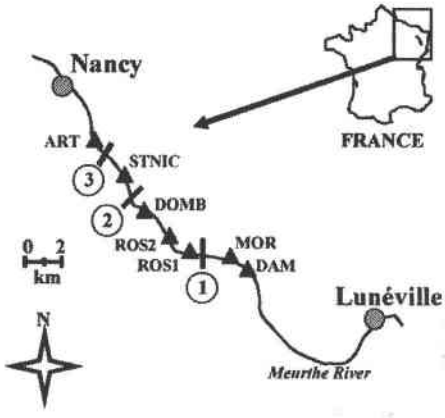


Figure 1. Study site locations (black triangles) on the Meurthe River, France. Circled numbers indicate saltwater discharge points from upstream (1) to downstream (3).

(STNIC), exhibited intermediate levels of disturbance. The last site, located near Art-sur-Meurthe (ART), furthest downstream from all the discharge points, corresponded to a high level of disturbance.

2.2. PHYSICO-CHEMISTRY OF THE WATER

Water samples were collected for chemical analysis at each of the seven sites, each month from January to October 2002, except in February. Water samples were stored at 4 °C and analysed the next day. Water temperature, pH, conductivity and oxygen content were measured in the field (WTW model pH ion 340i, Cond 330i and OXI597-S). Organic-N, ammonium, nitrite, dissolved phosphate, total phosphate and chlorophyll *a* were measured by colorimetry following French standards (AFNOR, 1995), as were Chemical Oxygen Demand (COD), suspended matter and alkalinity. Calcium, magnesium, sodium and potassium levels were determined by atomic absorption spectrometry and sulphate, chloride and nitrate levels by ionic chromatography (AFNOR, 1995). Salinity was expressed as total dissolved substances, converted from the measurement of electrical conductivity via arithmetic relationships: Salinity $= 0.77 \times$ Conductivity at the reference and low impact sites (EC $< 1000\,\mu\mathrm{Sm\,cm^{-1}}$) and Salinity $= 0.72 \times$ Conductivity at the high impact sites ($>1000\,\mu\mathrm{Sm\,cm^{-1}}$).

2.3. INVERTEBRATE SAMPLING

Invertebrates were collected from artificial substrates contained in 8-litre ($0.2 \times 0.2 \times 0.2$ m), cube-shaped plastic baskets (2 mm mesh on lower half and 2 cm

on upper half) filled with 61 of pebbles (Ø between 31 and 124 mm). Several baskets were sunk to between 1 and 2 m in depth at a distance of 4 metres from the bank. A previous study conducted on this river section showed that pebble substrate highlights salinity disturbance best (Piscart *et al.*, unpublished data). On each sampling occasion, the artificial substrate from two of the containers, which had been left undisturbed for 28 days and attached securely to the river bank, were collected. This exposure time, based on an examination of the literature (see Rosenberg and Resh, 1982; De Pauw *et al.*, 1994), is considered sufficient to allow for complete colonisation. All the artificial substrates were carefully removed each month from January to October 2002 (except February) but just two were brushed free of invertebrates. The additional substrates had been in place to ensure that a minimum of two substrates would be available for sampling should loss due to vandalism or natural conditions occur. Each collection point was described in terms of depth (m), substrate type, current velocity ($cm\,s^{-1}$) and distance from the nearest bank (m). Samples were fixed with 4% formaldehyde in the field. In the laboratory, organisms were sorted and preserved in 70% ethanol. Most of the macroinvertebrates were identified to the genus level, but higher taxonomic units were used for Nematoda, Oligochaeta, Hydracarina and some Diptera.

2.4. STATISTICAL ANALYSES

A decision was made not to use twelve physico-chemical parameters (ionic concentrations, alkalinity, chlorophyll *a*) in the multivariate analysis because, taken together, they inflated the relative weight given to the salinity of the sites. As a consequence, a normalised principal component analysis (nPCA) was performed using only 10 chemical parameters, thus excluding those highly correlated to salinity (9 dates × 7 sites × 10 parameters).

Indices (richness, Shannon's diversity and Simpson's dominance – see Magurran 1988 for details) were calculated for 126 samples (9 dates × 7 sites × 2 artificial substrates). Jaccard's similarity coefficient (J) was computed for pairs of faunal assemblages collected using either the artificial substrates or a Surber sampler (Piscart *et al.*, 2005b). To compare the qualitative composition of assemblages from both the artificial substrates and the river bottom, we calculated the relative abundance of species from three salinity-tolerance classes: salt-sensitive, insensitive and relative salt-tolerant species as defined by Piscart *et al.* (2005b).

Between-site differences of each index were compared statistically using Wilcoxon's tests for paired samples, with seasonal variations and upstream/downstream site positions on the river considered as pairing factors. For the same reason, a Friedman non-parametric ANOVA by rank was used for between-site comparison.

A second approach was based on a factorial correspondence analysis (FCA) of faunal composition along the salinity gradient. This approach allowed for both qualitative (sampling locations and dates) and quantitative (relative abundance)

comparison of the artificial substrate assemblages. In order to illustrate the position of the salinity axis on the factorial plan, the salinity measurements taken on each date at each site were added to the FCA analysis as a supplementary variable. The multivariate analysis was performed using ADE-4 software (Thioulouse *et al.*, 1997).

3. Results

3.1. PHYSICO-CHEMICAL ANALYSES

The range of physico-chemical parameters, other than ionic concentrations, did not show important variations along the salinity gradient (Table I). In the nPCA, two factorial axes were selected according to the decrease in eigenvalues (48.7% and 18.3% of total inertia respectively – Figure 2a). The first component described seasonal variations in water chemistry along the Meurthe River section. Temperature, suspended matter, organic N, chlorophyll a and oxygen concentration varied in the same way (significant correlation to the F1 axis), at right angles to the salinity gradient (Figure 2b). The F2 axis was correlated to salinity and pH variations among sites (Figure 2a). The high heterogeneity among sites was related mostly to the very conspicuous upstream-downstream gradient from DAM to ART (Figure 2c). Salinity differed greatly between sites (Friedman non-parametric ANOVA; $p \leq 10^{-3}$), but pH ranged insignificantly from 7.9 ± 0.2 at DAM to 8.2 ± 0.2 at ART (Table I). Thus, salinity and ionic concentrations could be considered the most variable physico-chemical parameters between sites and the main factors changing along the upstream-downstream section.

3.2. CHANGES IN MACROINVERTEBRATE COMMUNITY STRUCTURE

A total of 228,077 individuals from 122 taxa were present in the 126 artificial substrate samplings (7 sites $\times$ 9 dates $\times$ 2 artificial substrates). A Friedman non-parametric ANOVA test on species richness suggested that the number of species differed significantly between the seven sites ($p < 0.001$). Among the physical-chemical parameters in the nPCA, the species richness was only correlated to salinity (Spearman correlation, $p = 0.026$), decreasing along the salinity gradient except for STNIC which presented higher richness than the other disturbed sites located upstream ($p = 0.03$) and downstream ($p = 0.003$). The comparison with the richness of each site (Table II) indicated that macroinvertebrate richness in artificial substrates ranged from 50.4% (ROS2) to 62.0% (STNIC) of the site's richness, but the loss in total richness in artificial substrates along the salinity gradient (34%) was the same as those observed on the river bottom (30%). The Jaccard similarity index values for the faunal compositions of the river bottom and the artificial substrates ranged from 41.9% (ROS2) to 47.1% (STNIC), but didn't vary significantly along the salinity gradient ($p = 0.062$; Table II).

TABLE I
Values (mean ± SD) of physical and chemical variables at the seven sampling sites in 2002 ($n = 9$)

	Reference sites		Low impact sites			High impact sites	
Sampling location	DAM	MOR	ROS1	ROS2	DOMB	STNIC	ART
Temperature (°C)	14.1 ± 6.9	14.2 ± 7.0	14.4 ± 7.1	14.6 ± 7.1	14.1 ± 6.9	15.9 ± 7.2	15.8 ± 7.2
Salinity (g L^{-1})	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.42 ± 0.18	0.50 ± 0.19	0.60 ± 0.40	1.37 ± 0.39	2.60 ± 0.46
PH	7.9 ± 0.2	7.8 ± 0.2	7.9 ± 0.2	7.9 ± 0.2	8.0 ± 0.2	8.1 ± 0.2	8.2 ± 0.2
Dissolved O_2 (mg L^{-1})	8.2 ± 1.3	8.2 ± 1.6	8.0 ± 1.8	8.1 ± 1.8	8.3 ± 1.7	8.0 ± 2.1	8.2 ± 2.2
Chlorophyll *a* (μg L^{-1})	3.9 ± 4	4.8 ± 4.1	6.3 ± 5.3	7.0 ± 5.6	6.3 ± 5.5	5.8 ± 3.9	8.3 ± 6.3
Susp. matter (mg L^{-1})	11.7 ± 6.7	10.8 ± 4.2	13.3 ± 8.0	13.9 ± 7.2	12.6 ± 7.1	15.3 ± 7.7	14.2 ± 5.2
Alkalinity (mEq L^{-1})	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.2	1.3 ± 0.5	1.4 ± 0.2	1.8 ± 0.3	2.1 ± 0.5
COD (mg L^{-1})	15.6 ± 3.2	16.5 ± 2.8	17.7 ± 3.6	16.9 ± 3.5	17.1 ± 3.3	17.1 ± 2.4	18.5 ± 4.6
SO_4 (mg L^{-1})	43.3 ± 10.5	45.3 ± 8.0	47.8 ± 7.2	51.5 ± 9.0	50.0 ± 8.2	71.1 ± 12.5	78.0 ± 23.1
Cl (mg L^{-1})	14.0 ± 6.0	12.8 ± 2.8	107.3 ± 65.2	154.0 ± 66.0	162.2 ± 79.9	540 ± 127	964 ± 201
NH_4 (mg L^{-1})	0.10 ± 0.03	0.13 ± 0.04	0.12 ± 0.05	0.10 ± 0.06	0.12 ± 0.06	0.20 ± 0.11	0.30 ± 0.11
NO_2 (mg L^{-1})	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.02
NO_3 (mg L^{-1})	3.8 ± 2.7	4.2 ± 2.7	4.1 ± 2.6	3.9 ± 2.5	3.8 ± 2.4	5.7 ± 3.2	5.9 ± 3.8
Organic N (mg L^{-1})	0.70 ± 0.32	0.70 ± 0.23	0.62 ± 0.17	0.90 ± 0.89	0.72 ± 0.27	0.90 ± 0.41	1.00 ± 0.29
Total P (mg L^{-1})	0.10 ± 0.04	0.15 ± 0.05	0.14 ± 0.08	0.20 ± 0.06	0.16 ± 0.06	0.20 ± 0.06	0.20 ± 0.05
Dissolved P (mg L^{-1})	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.10 ± 0.02
Ca (mg L^{-1})	31.3 ± 5.0	31.2 ± 6.7	60.1 ± 25.6	75.9 ± 27.4	75.1 ± 26.2	207.3 ± 78.4	373.3 ± 101.7
Mg (mg L^{-1})	8.7 ± 1.1	9.2 ± 1.1	9.6 ± 1.3	9.7 ± 1.3	9.9 ± 1.4	13.4 ± 1.9	14.2 ± 1.8
Na (mg L^{-1})	10.1 ± 2.6	9.6 ± 1.6	28.3 ± 15.3	38.0 ± 16.6	45.6 ± 19.6	148.8 ± 37.4	272.3 ± 43.3
K (mg L^{-1})	2.9 ± 0.6	2.9 ± 0.4	3.6 ± 0.8	3.9 ± 0.9	4.1 ± 1.0	6.9 ± 1.2	9.7 ± 1.5

TABLE II
Biocenotic indices (mean ± SD) and Jaccard similarity index at each site

		Richness		Shannon's diversity		Simpson's dominance		Jaccard similarity (%)
	Site	Artificial substrates	Site	Artificial substrates	Site	Artificial substrates	Site	
Reference sites	DAM	40.7 ± 5.9	69.2 ± 9.2	2.9 ± 0.6	3.59 ± 0.56	0.53 ± 0.10	0.21 ± 0.07	47.1 ± 6.0
	MOR	35.4 ± 6.2	–	2.6 ± 0.6	–	0.50 ± 0.13	–	–
Low impact sites	ROS1	31.3 ± 5.8	–	2.7 ± 0.8	–	0.52 ± 0.14	–	–
	ROS2	34.9 ± 7.5	69.2 ± 6.8	2.9 ± 1.0	3.40 ± 0.52	0.54 ± 0.18	0.23 ± 0.11	41.9 ± 7.9
	DOMB	30.9 ± 6.5	–	2.6 ± 0.5	–	0.52 ± 0.01	–	–
High impact sites	STNIC	37.7 ± 4.6	60.8 ± 7.9	3.0 ± 0.5	3.24 ± 0.51	0.55 ± 0.08	0.24 ± 0.11	46.9 ± 6.3
	ART	26.9 ± 4.6	48.4 ± 4.4	2.5 ± 0.7	3.00 ± 0.58	0.50 ± 0.13	0.27 ± 0.16	45.6 ± 7.9
	P values	<0.001	<0.001	0.279	0.081	0.982	0.396	0.062

Jaccard similarity calculated comparing macroinvertebrate assemblages of artificial substrates and those of the river bottom obtained by Surber Sampler (detailed in Piscart *et al.*, 2005b). *P*-values present the results of a between-site comparison with a Friedman non-parametric ANOVA ($n = 9$ sampling dates).

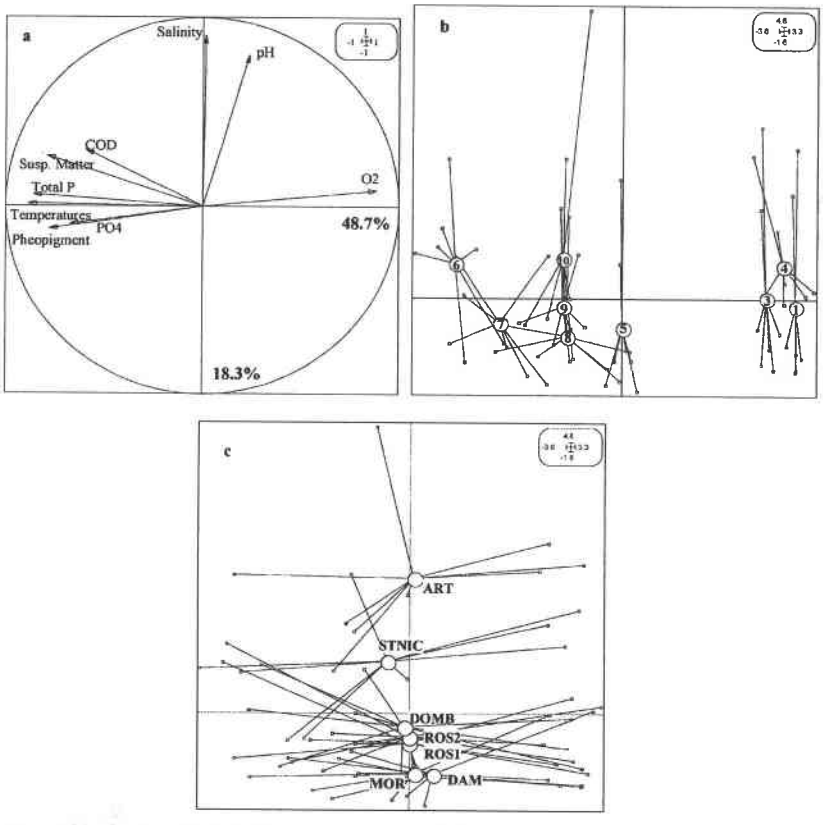


Figure 2. Results of the Principal Component Analysis on physical and chemical variables. (a) Correlation circle. (b) Distribution of sampling dates on the F1–F2 factorial plane. Dates (in circles) are positioned at the weighted average of the seven sites (squares); solid lines link the sites to the corresponding date. Circled numbers represent sampling month (e.g. 1 = January; 3 = March, etc). (c) Distribution of sampling sites on the F1–F2 factorial planes. Each site (circle) is positioned at the weighted average of the 9 corresponding samples (boxes). Solid lines link the dates to the corresponding site. DAM and MOR are reference sites, ROS1, ROS2 and DOMB are low-impact sites, STNIC and ART are high-impact sites.

The relative abundance of salt-sensitive taxa decreased greatly in the artificial substrates along the salinity gradient (Figure 3; $p < 0.001$), whereas the relative abundance of salinity insensitive taxa increased slightly (Figure 3; $p = 0.043$) and most salt-tolerant taxa increased greatly (Figure 3; $p < 0.001$). The changes in the relative abundance in these categories exhibited the same pattern as those observed at the site scales along the salinity gradient (Figure 3). The decrease observed for sensitive species was significant at STNIC, a site with an average

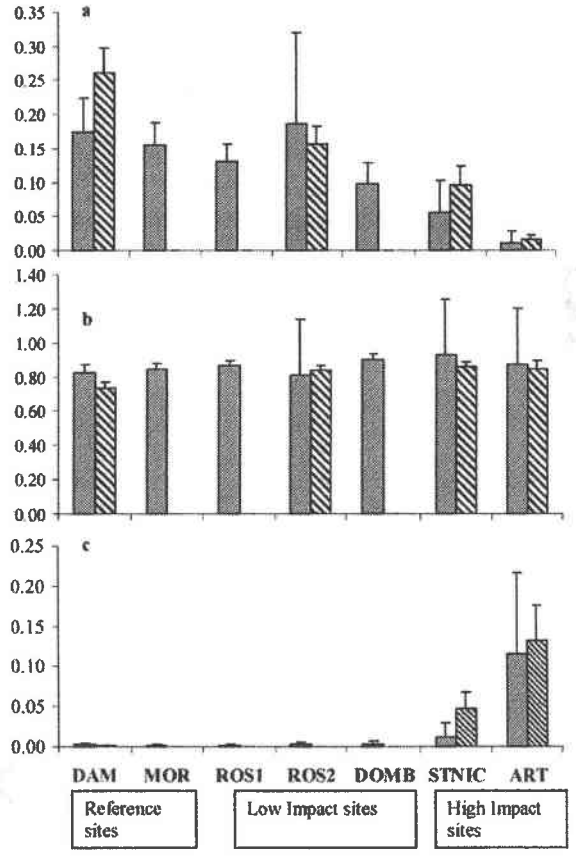


Figure 3. Relative frequency distributions (mean ± SD) of macroinvertebrate groups defined according to salinity tolerances (details in Piscart *et al.*, 2005b). Results concerning macroinvertebrate assemblages in artificial substrates at seven sites (grey bars) and Surber net samples at four sites (striped bars): (a) sensitive, (b) insensitive and (c) highly tolerant species.

183 salinity of $1.4 \pm 0.4\,g\,L^{-1}$ (standard deviation), both for invertebrate assemblages
184 from artificial and site substrates ($p = 0.008$). At the same salinity level, we
185 observed an increase in insensitive species in the invertebrate assemblages from
186 artificial and site ($p = 0.011$) substrates. However, the increase in highly tolerant
187 species was only significant for both sampling methods at ART ($p = 0.008$), a site
188 with a mean salinity of $2.6 \pm 0.5\,g\,L^{-1}$ (standard deviation).
189 Results of the Friedman non-parametric ANOVA on the other biocenotic in-
190 dices (Shannon's diversity and Simpson's dominance) did not show changes along
191 our gradients either for artificial substrates or for site invertebrate assemblages

(Table II). However Simpson's dominance values were highest in artificial substrates ($p = 0.044$), whereas Shannon's diversity values were lowest in artificial substrates ($p = 0.004$).

3.3. Changes in macroinvertebrate composition

The first two factorial axes of the FCA accounted for 10.7% and 8.9% respectively of the total inertia of the data analyzed (Figure 4a). The first component was correlated to the salinity (Figure 4b), while the second axis described seasonal variations of macroinvertebrates in this Meurthe River section (Figure 4c). The high heterogeneity among sites was related mostly to a very conspicuous upstream-downstream gradient from DAM to ART (Figure 4b). ART distinguished itself from the other sites (Figure 4b) with a significant number of specific taxa such as *Dendrocoelum lacteum, Acroloxus lacustris, Gammarus tigrinus, Chelicorophium curvispinum, Microvelia* sp., *Tinodes waeneri* and *Ecnomus tenellus* (Figure 4a). All the *G. tigrinus, D. lacteum* and *T. waeneri* collected during this study were found exclusively at ART, where we observed 80% of *A. lacustris* collected. 74% of *C. curvispinum* and 67% of *E. tenellus* and *Microvelia* sp.. In terms of seasonal variations, we observed changes in macroinvertebrate compositions (Figure 4c), but these changes were not correlated to the between-site differences.

4. Discussion

The salinization process is disturbing a growing number of continental, aquatic systems and the development of tools to assess salinity's impact on the biodiversity of freshwater ecosystems has become an important priority for biologists. The physico-chemical parameters of the Meurthe River show a clear, significant salinity gradient along the section studied. The pattern of physical and chemical variables at the seven study sites confirmed results obtained in a previous study of the DAM, ROS2, STNIC and ART sites (Piscart *et al.*, 2005b). Only salinity changed drastically from upstream to downstream, while other physical, chemical and environmental parameters varied within a narrow range. The salinity increased from 0.2 to 2.6 $g\,L^{-1}$, a gradient capable of inducing major changes in macroinvertebrate communities. Indeed, several studies have shown that macroinvertebrate assemblages could be modified when salinity ranged from 1 to 3 $g\,L^{-1}$ (Hart *et al.*, 1990, 1991; Williams *et al.*, 1990; Gallardo-Mayenco, 1994; Leland and Fend, 1998; Williams *et al.*, 1999).

The results obtained for artificial substrates accord with those obtained for quantitative Surber net samples. We pinpointed a significant decrease in macroinvertebrate richness along the rising salinity gradient, with a maximal loss of 34 percent in taxonomic richness at the downstream site. This loss in richness is comparable with the results obtained from a Surber sampling which found a 30 percent decrease

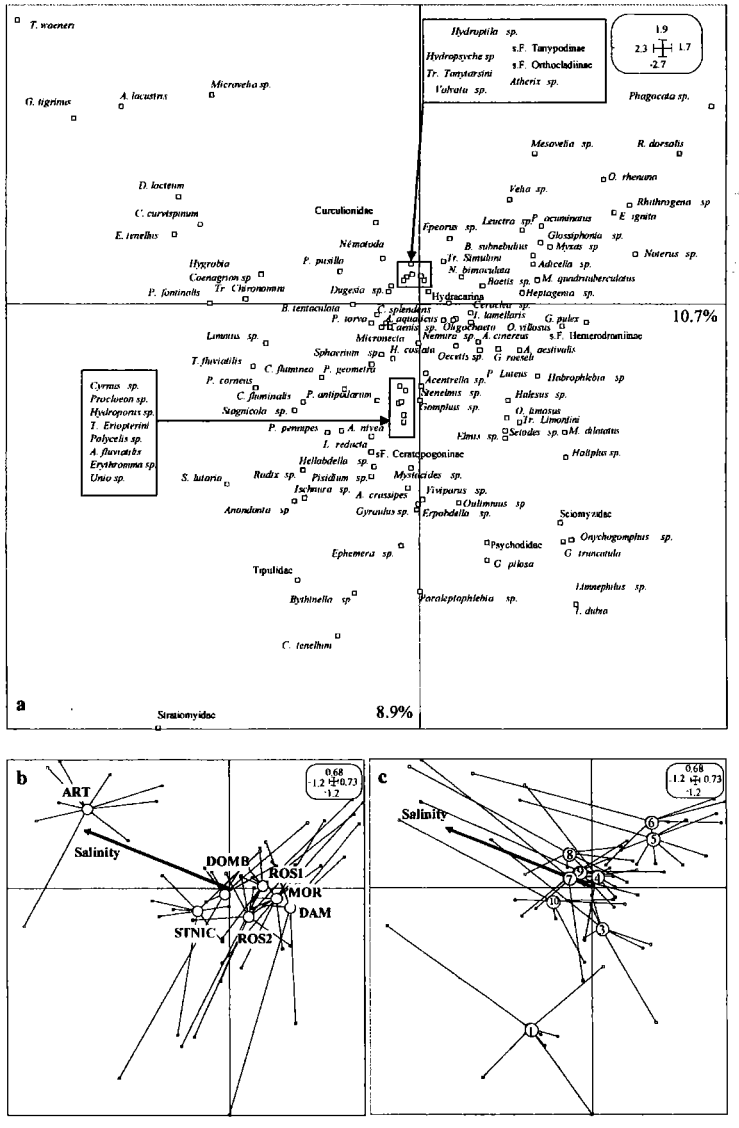


Figure 4. Results of the Factorial Correspondence Analysis (FCA) on invertebrate communities. (a) Distribution of each taxon on the F1-F2 factorial planes. (b) Distribution of sampling sites on the F1–F2 factorial planes. Each site (circle) is positioned at the weighted average of the 9 corresponding samples (boxes). Solid lines link dates to corresponding sites. (c) Distribution of sampling dates on the F1–F2 factorial planes of the FCA. Dates (circles) are positioned at the weighted average of the seven sites (boxes): solid lines link sites to corresponding dates (see Figure 1d).

in macroinvertebrate richness (Piscart *et al.*, 2005b). On the section scale, the total 122 taxa collected from artificial substrates was slightly less than the estimation from Surber samples (139 taxa). Slight variations in artificial substrate and river bottom richness can occur, but the same patterns are mentioned in the majority of published studies. For example, Benoît *et al.* (1998) found that artificial substrates provide for reasonable estimates of taxonomic richness at the sampled site. De Pauw *et al.* (1994) found taxa richness to be the same whether the assemblages had been collected from an artificial substrate of polyethylene net filled with pieces of brick or using hand nets in Belgium; in the Netherlands, they obtained lower richness but a similar pattern using artificial substrate in a stainless steel box filled with glass marbles. Pashkevich *et al.* (1996) found a similar numbers of species in artificial substrates and benthic samples collected with hand nets. Muzaffar and Colbo (2002) showed that the correlation between richness in sweep-net and rock-bag samples in Canadian ponds differed according to the characteristics of the pond itself which affected the macroinvertebrate community present. At the site scale in our study, the low taxonomic richness in artificial substrates, as compared to Surber samples, influenced the similarity between site benthic macroinvertebrate and artificial substrate assemblages. As for the other structural indices, the same pattern of results was obtained for artificial substrates as for Surber samples: Shannon's diversity and Simpson's dominance remained stable along the salinity gradient. De Pauw *et al.* (1994) also found a positive correlation between the diversity in artificial substrates and the diversity observed in hand net samples. However, these correlations were less significant than those obtained for taxa richness. The dominance calculated for the Meurthe River assemblages was most significant for the artificial substrates, essentially due to the proliferation of *Diptera*, especially the *Simulini* sp. in April and May.

Flannagan and Rosenberg (1982) pointed out the main advantage of artificial substrates: they allow for invertebrate sampling at locations (or habitats) that cannot be sampled effectively by other means. Thus, they facilitate comparison of environmental effects along watercourses where the macrohabitat is not constant. Slack *et al.* (1986) concluded that artificial substrates can also dramatically reduce the sampling efforts necessary to produce given, precise results. In our case, we were able to establish significant salinity gradient results after sampling only two artificial substrates at each site on each date, as compared to the 335 Surber samples required.

Despite these advantages, the use of artificial substrates also presents several drawbacks. They don't allow for a quantitative approach to taxonomic abundance of macroinvertebrates and produce only qualitative data. Because artificial substrates tend to be colonised largely by drifting organisms (Townsend and Hildrew, 1976; Rosenberg and Resh, 1982), they are selective for organisms prone to drift. This selectivity can modify stress impact observations for macroinvertebrates, but in our study the decrease in macroinvertebrate assemblage richness in artificial substrates appeared to reflect the decrease observed in assemblages collected on the river bottom. The substrate type chosen for use as artificial substrate had to be representative of the site (Way *et al.*, 1995; Jacobi et Langevin, 1996; Benoît *et al.*, 1998;

Schmude *et al.*, 1998; Solimini, 2000). To avoid any impairment due to substrate type, we used pebbles because their ability to serve as 'sentinel substrate' had been established at these sites by Piscart *et al.* (unpublished data).

In conclusion, this study clearly shows that the use of artificial substrate provides an accurate estimate of the impact of salinization on macroinvertebrate communities. We also found that this estimate follows the same pattern as conventional, quantitative Surber net sampling in terms of: (1) biocenotic indices; (2) relative abundance of species assemblages with different salinity tolerances; and (3) the presence/absence of exotic species found in the saltiest sites. In this context, the use of artificial substrates can serve as a sound alternative for monitoring environmental stress such as rising salinity.

Acknowledgment

We warmly thank Anna Matheny-Cartier for her linguistic corrections, and two anonymous referees for their valuable comments on the manuscript. This work was supported by the French Institute of Biodiversity as part of its Biodiversity Program (2001–2003).

References

A.F.N.O.R. 1995, Qualité de l'eau – T 90-005. Association Française de Normalisation – norme homologuée T 90-005.

Benoît, H. P., Post, J. R., Parkinson, E. A. and Johnston, N. T.: 1998, 'Colonization by benthic macroinvertebrates: Evaluating colonization process using artificial substrates and appraising applicability of the technique'. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**, 2425–2435.

De Pauw, N., Lambert, V., Van Kenhove, A. and Bij de Vaate, A.: 1994, 'Performance of two artificial substrate samplers for macroinvertebrates in biological monitoring of large and deep rivers and canals in Belgium and the Netherlands', *Environ. Monit. Assess.* **30**, 25–47.

Flannagan, J. F. and Rosenberg, D. M.: 1982, 'Types of artificial substrates used for sampling freshwater benthic invertebrates', in *Artificial Substrates* J. Cairns Jr. (eds), Ann Arbor Science, Ann Arbor, Michigan 279 pp.

Gallardo-Mayenco, A.: 1994, 'Freshwater macroinvertebrate distribution in two basins with different salinity gradients (Guadalete and Guadaira river basins, south-western Spain)', *Int. J. Salt Lake Res.* **3**, 75–91.

Hart, B. T., Bailey, P., Edwards, R., Hortle, K., James, K., McMahon, A., Meredith, C. and Swadling, K.: 1990, 'Effects of salinity on river, stream and wetland ecosystems in Victoria, Australia', *Wat. Res.* **24**, 1103–1117.

Hart, B. T., Bailey, P., Edwards, R., Hortle, K., James, K., McMahon, A., Meredith, C. and Swadling, K.: 1991, 'A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota', *Hydrobiologia* **210**, 105–144.

Jacobi, C. M. and Langevin, R.: 1996, 'Habitat geometry of benthic substrata: Effects on arrival and settlement of mobile epifauna', *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **206**, 39–54.

Kershaw, P., Moss, P. and Van Der Kaars, S.: 2003, 'Causes and consequences of long-term climatic variability on the Australian continent', *Freshwat. Biol.* **48**, 1274–1283.

Leland, H. V. and Fend, S. V.: 1998, 'Benthic invertebrate distributions in the San Joaquin River, California, in relation to physical and chemical factors', *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**, 1051–1067.

Magurran, A. E.: 1988, *Ecological Diversity and its Measurement*, Princeton University Press, Princeton, N.J.: 179 pp.

Muñoz, I. and Prat, N.: 1994, 'Macroinvertebrate community in the lower Ebro River (NE Spain)', *Hydrobiologia* **286**, 65–78.

Muzaffar, S. B. and Colbo, M. H.: 2002, 'The effects of sampling technique on the ecological characterization of shallow, benthic macroinvertebrate communities in two Newfoundland ponds', *Hydrobiologia* **477**, 31–39.

Pashkevich, A., Pavluk, T. and bij de Vaate, A.: 1996, 'Efficiency of a standardized artificial substrate for a biological monitoring of river water quality', *Environ. Monit. Assess.* **40**, 143–156.

Piscart, C., Lecerf, A., Usseglio-Polatera, P., Moreteau, J. C. and Beisel, J. N.: 2005a, Biodiversity patterns along a salinity gradient: The case of net-spinning caddisflies, *Biodiv. Conserv.* In press.

Piscart, C., Moreteau, J. C. and Beisel, J. N.: 2005b, Biodiversity and structure of macroinvertebrate communities along a small permanent salinity gradient, Meurthe River, France, *Hydrobiologia*. In press.

Rempel, L. L., Richardson, J. S. and Healey, M. C.: 2000, 'Macroinvertebrate community structure along gradients of hydraulic and sedimentary conditions in a large, gravel-bed river', *Freshwat. Biol.* **45**, 57–73.

Rosenberg, D. M. and Resh, V. H.: 1982, 'The use of artificial substrates in the study of freshwater benthic macroinvertebrates', in *Artificial substrates*. J. Cairns Jr. (eds), Ann Arbor Science, Ann Arbor, Michigan 279 pp.

Rosenberg, D. M. and Resh, V. H.: 1993, *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*, Chapman Hall, New York, 488 pp.

Schmude, K. L., Jennings, M. A., Otis, K. J. and Piette, R. R.: 1998, 'Effects of habitat complexity on macroinvertebrate colonization of artificial substrates in northern temperate lakes', *J. N. Am. Benthol. Soc.* **17**, 73–80.

Slack, K. V., Ferreira, R. F. and Averett, R. C.: 1986, 'Comparison of four artificial substrates and the Ponar grab for benthic invertebrate collection', *Wat. Res. Bull.* **22**, 237–248.

Solimini, A. G.: 2000, 'Performance of different biotic indices and sampling methods in assessing water quality in the lowland stretch of the Tiber River', *Hydrobiologia* **422**, 197–208.

Thioulouse, J., Chessel, D., Dolédec, S. and Olivier, J. M.: 1997, 'ADE-4: A multivariate analysis and graphical display software', *Stat. comput.* **7**, 75–83.

Townsend, C. R. and Hildrew, A. G.: 1976, 'Field experiments on the drifting, colonization and continuous redistribution of stream benthos', *J. Anim. Ecol.* **45**, 459–472.

Way, C. M., Burky, A. J., Bingham, C. R. and Miller, A. C.: 1995, 'Substrate roughness, velocity refuges, and macroinvertebrate abundance on artificial substrates in the lower Mississippi River', *J. N. Am. Benthol. Soc.* **14**, 510–518.

Williams, W. D.: 1987, 'Salinization of rivers and streams: An important environmental hazard', *Ambio* **16**, 181–185.

Williams, W. D.: 1999, 'Salinization: A major threat to water resource in the arid and semi-arid regions', *Lakes & Reservoir : Res. Manag.* **4**, 85–91.

Williams, W. D., Boulton A. J. and Taaffe R. G.: 1990, 'Salinity as a determinant of salt-lake fauna: A question of scale', *Hydrobiologia* **197**, 257–266.

Williams, D. D., Williams, N. E. and Cao, Y.: 1999, 'Road salt contamination of groundwater in a major metropolitan area and development of a biological index to monitor its impact', *Wat. Res.* **34**, 127–138.

Annexe VIII: Biodiversity patterns along a salinity gradient: The case of net-spinning caddisflies.

Biodiversity and Conservation **14:** 2235–2249, 2005.
DOI 10.1007/s10531-004-4783-9
© Springer 2005

Biodiversity patterns along a salinity gradient: the case of net-spinning caddisflies

CHRISTOPHE PISCART[1,*], ANTOINE LECERF[2], PHILIPPE USSEGLIO-POLATERA[1], JEAN-CLAUDE MORETEAU[1] and JEAN-NICOLAS BEISEL[1]

*[1]Université de Metz, UFR SciFA, Laboratoire BFE, Campus Bridoux, Av. du Général Delestraint, F-57070 METZ, France; [2]CNRS – UPS, Laboratoire Dynamique de la Biodiversité, 29, rue Jeanne Marvig, F-31055 Toulouse Cedex 4, France; *Author for correspondence (e-mail: piscart@sciences.univ-metz.fr; fax: +33-387378423)*

Received 2 June 2003; accepted in revised form 17 March 2004

Key words: Biodiversity, Biological and ecological traits, Freshwater ecology, Intermediate Disturbance Hypothesis, Net-spinning caddis larvae, Salinity

Abstract. Many studies have shown that salinity reduces diversity and abundance of, and alters trophic structures in freshwater macroinvertebrate communities. However, the role of salinity in interactions among coexisting species is poorly documented. We investigated the faunal response of net-spinning caddisfly larvae to a salinity gradient (ranging from 0.21 ± 0.02 to 2.60 ± 0.46 g $\cdot l^{-1}$), using common descriptors such as species richness and diversity, but also innovative tools such as bio/ecological trait combinations. Net-spinning caddis larvae were sampled each month in 2002 at four sites, differing only in salinity level, located on the Meurthe River (France). A total of 11 different net-spinning caddisflies species, representing eight different genera, were sampled in 2002. The highest taxonomic diversity and equitability were observed for an intermediate salinity level. The study of the distribution of bio/ecological traits of species corroborates this observation and we postulate that results are in accordance with the Intermediate Disturbance Hypothesis.

Introduction

The longitudinal distribution of macroinvertebrates along a stream is a major research topic in running water ecology (Hynes 1970). The most important environmental factors usually taken into consideration in this process are water temperature, flow and salinity. While the role played by water temperature and stream hydraulics has been studied widely (Vannote et al. 1980; Statzner and Higler 1986; Townsend 1996), the role of salinity remains unknown in part (Hart et al. 1990, 1991; Williams et al. 1990, 1999; Gallardo-Mayenco 1994; Leland and Fend 1998). Most studies have shown that salinity reduces the diversity and abundance of macroinvertebrates and modifies the trophic structure of communities (Munoz and Prat 1994). However, these results have not described the role of salinity in interactions among coexisting species, biological relationships which influence the spatial and temporal distribution of aquatic fauna (Wissinger et al. 1999; Adler and Mosquera 2000; Jeffries 2002).

This study was performed in a river section that varied only in terms of salinity level. The quantity of dissolved salts generally increases from upstream to downstream, selecting fauna adapted to this constraint along the gradient. The organisms studied were net-spinning caddis larvae, a homogeneous group both in terms of biological traits and phylogenetics. Abiotic conditions are often considered the main factors affecting distribution, abundance, diversity and life-history traits of net-spinning caddis larvae (Edington 1968; Williams and Hynes 1973; Feminella and Resh 1990; Georgian and Thorp 1992; Downes and Jordan 1993; Englund and Olsson 1996; Ivol et al. 1997). Within a restricted area, Müller's (1954, 1982) colonisation cycle theory suggests that holobiotic insects in a given site have the opportunity to colonise areas downstream by drifting during their larval stages, or upstream by flying during adulthood (Collier and Smith 1998; Petersen et al. 1999). Thus, the permanent absence of a species at a site in a restricted river section can be attributed mainly to an incompatibility of that species with local environmental conditions. In this context, the case of closely related species is of particular interest, since sympatric species must exhibit slight differences in their ecological demands (i.e., ecological niches) to be able to coexist.

The aim of this study was to investigate the faunal response pattern of net-spinning caddisfly larvae to a salinity gradient. In particular, we tested if the upstream/downstream salinity gradient corresponded to an impoverishment of species richness and species diversity expressed in terms of taxonomic structure but also in terms of bio/ecological trait combinations. Indeed, relating species traits to habitat characteristics can provide important insights into the structure and functioning of stream communities (Townsend and Hildrew 1994; Statzner et al. 2001), due to the coupling of local environmental conditions and the set of adaptations among local taxa.

Material and methods

Study area

The study was conducted in the Meurthe River, a sixth-order stream tributary of the Moselle River, in northeastern France. The study area is a perennial-flow section, located upstream from the city of Nancy (48°41′52″N, 6°11′14″E). Chemical plants discharge salt water into this section of the river from pk (kilometric point) 951 to 970. The bedrock geology and mineral composition of derived soils are homogeneous in the study area (the soils are composed primarily of upper and mid-Muschelkalk limestone, with several outcroppings of Lias sandstone) and give the water its specific features. The high solubility of calcium in these rocks and derived soils results in runoff with a high concentration of dissolved solids.

Four sites were chosen according to their relative position to various chemical plant discharge points. The discharges, resulting from a soda

production process, were composed exclusively of water and dissolved minerals (Cl, Ca, Na, Mg). The first site chosen, located upstream from the first discharge point, in the city of Damelevières (DAM), was used as a reference site. The second site in Rosières-aux-Salines (ROS) and the third site, near the city of St. Nicolas-de-Port (STNIC), exhibited intermediate levels of disturbance. The fourth site, located near the city of Art-sur-Meurthe (ART), downstream from all discharge points, corresponded to a high level of disturbance.

Physico-chemistry of the water

Water samples were collected for chemical analysis at each of the four sites, each month from January to October 2002, except in February. Water samples were stored at 4 °C and analysed the next day. Water temperature, pH, conductivity and oxygen content were measured in the field using portable apparatus (WTW model pH ion 340i, Cond 330i and OXI597-S) on each sampling occasion. Organic-N, ammonium, nitrite, dissolved phosphate, total phosphate and chlorophyll *a* were measured by colorimetry following standard French procedures, as were Chemical Oxygen Demand (COD), suspended matter and alkalinity. calcium, magnesium, sodium and potassium levels were determined by atomic absorption spectrometry and sulphate, chloride and nitrate levels by ionic chromatography. Salinity was expressed as total dissolved substances, converted from the measurement of electrical conductivity via an arithmetic relationship.

Invertebrate sampling

Invertebrates were collected each month from January to October 2002 (except for February) with a Surber net sampler (0.05 m^2, 500 μm mesh size). The substrate within the sampler was removed to a depth of about 5 cm. Large rocks were scraped and brushed free of moss and insects. Six mesohabitats were sampled on each date at each site: sand (Ø < 2 mm), gravel (Ø < 31 mm), boulder (Ø > 124 mm) and three replicates for pebble (Ø between 31 and 124 mm). An additional macrophyte sample was taken between June and October at each site. Each sampling point was described in terms of depth (m), substrate type, current velocity (cm s^{-1}) and distance from the nearest bank (m). Samples were fixed with 5% formaldehyde in the field. In the laboratory, organisms were sorted and preserved in 70% ethanol. All net-spinning caddis larvae were identified to the species level and counted.

Statistical analyses

Eight of the 22 potential physico-chemical parameters were not significantly correlated to salinity (Spearman correlation not significant, $p > 0.05$). The

corresponding array (36 samples × 8 parameters) was analysed by standardised PCA.

Biocenotic indices (relative abundance, richness, Hurlbert's evenness and Shannon's diversity – see Magurran (1988) for details) were calculated with faunal lists for each site and each sampling date. Between-site differences for each index were compared statistically using Mann–Whitney *U*-tests. Kruskal–Wallis non-parametric ANOVAs were used to compare the four sites.

The analysis of bio/ecological trait variability in species assemblages was based on two functional typologies of European macroinvertebrate genera proposed by Usseglio-Polatera et al. (2000a, 2001). Because trade-offs among species traits make it difficult to predict accurately the functional diversity of freshwater communities, many authors advocate working with groups of organisms as similar as possible in terms of relationships among traits (Stearns 1992; Roff 1993; Resh et al. 1994; Townsend and Hildrew 1994; Statzner et al. 1997). In that way, Usseglio-Polatera et al. (2000a) used multivariate analyses to divide 472 European macroinvertebrate taxa into seven uniform functional groups (A–G) and 13 sub-groups with combinations of ecological traits which should be successively more adequate in habitats from the main channel to temporary waters, and from the crenon to the potamic sections of rivers and to systems situated outside the river floodplain. In addition, Usseglio-Polatera et al. (2001) defined six functional groups (α to ζ) and nine sub-groups according to a biological versus ecological trait ordination, which highlighted reproductive traits (K to r strategists), respiration (aquatic to aerial), food (animal to plant material) and feeding habits (piercer to scraper and deposit-feeder to shredder), as well as saprobity, lateral distribution and longitudinal distribution of taxa (from channel to peat-bogs and from crenon to potamon, respectively), current velocity (from running waters to stagnant habitats) and trophic status of freshwaters as 'significant' factors determining the composition of groups. As a result, these groups represent adaptative macroinvertebrate response patterns to biotic and abiotic constraints in their environment; individual responses of macroinvertebrates to environmental gradients shaping biological and ecological characteristics of populations. Furthermore, the bio/ecological diversity of benthic macroinvertebrate communities can be compared in terms of relative frequency distribution of groups or sub-groups with similar traits over a harshness gradient (i.e., the salinity level). A diversity index (e.g., Shannon–Weaver index) can be used to compare the communities' bio/ecological trait structure.

Results

Water chemistry

Physico-chemical parameters not correlated to salinity did not show much variation sharply along the salinity gradient (Table 1). In PCA, two factorial

Table 1. Ranges (minimum to maximum) and average (mean ± SD) values of physico-chemical parameters at the four sampling sites.

	Range values				Average values			
	DAM	ROS	STNIC	ART	DAM	ROS	STNIC	ART
Temperature (°C)	2.3–24.5	2.4–25.6	3.5–25.1	3.5–25.9	14.1 ± 6.9	14.6 ±7.1	15.9 ± 7.2	15.8 ± 7.2
Conductivity ($\mu S.cm^{-1}$)	240–342	420–1238	674–2350	2240–4365	277 ± 32	703 ± 246	1807 ± 543	3422 ± 649
Salinity ($mg\ l^{-1}$)	185–245	301–939	483–1787	1699–3311	213 ± 25	503 ± 189	1371 ± 389	2596 ± 465
pH	7.7–8.4	7.8–8.3	7.8–8.4	7.9–8.5	7.9 ± 0.2	7.9 ± 0.2	8.1 ± 0.2	8.2 ± 0.2
Dissolved O_2($mg\ l^{-1}$)	6.4–10.0	5.5–10.2	5.4–10.3	5.3–11.0	8.2 ± 1.3	8.1 ± 1.8	8.0 ± 2.1	8.2 ± 2.2
Chlorophyll a ($\mu g\ l^{-1}$)	0.3–13.8	0.5–18.7	0.9–12.3	1.1–19.0	3.9 ± 4	7.0 ± 5.6	5.8 ± 3.9	8.3 ± 6.3
Suspended matter ($mg\ l^{-1}$)	3.8–27.0	5.1–29.0	5.3–28.0	7.2–22.0	11.7 ± 6.7	13.9 ± 7.2	15.3 ± 7.7	14.2 ± 5.2
Alkalinity ($mEq\ l^{-1}$)	1.3–1.8	0.1–1.9	1.4–2.3	1.8–3.2	1.4 ± 0.2	1.3 ± 0.5	1.8 ± 0.3	2.1 ± 0.5
COD ($mg\ l^{-1}$)	10.5–20.4	10.7–22.5	13.0–20.1	14.2–27.5	15.6 ± 3.2	16.9 ± 3.5	17.1 ± 2.4	18.5 ± 4.6
SO_4 ($mg\ l^{-1}$)	29.3–60.0	38.6–67.7	49.6–84.1	49.5–110.2	43.3 ± 10.5	51.5 ± 9.0	71.1 ± 12.5	78.0 ± 23.1
HCO_3 ($mg\ l^{-1}$)	40.9–109.8	8.4–114.7	59.8–141.5	97.6–146.4	80.6 ± 18.0	75.2 ± 30.9	105.1 ± 22.9	117.2 ± 13.9
Cl ($mg\ l^{-1}$)	8.4–27.6	93.4–298.8	298.8–695.8	563.8–1162.1	14.5 ± 6.0	153.6 ± 65.6	540.2 ± 127.2	963.6 ± 201.2
NH_4 ($mg\ l^{-1}$)	0.1–0.2	0.1–0.2	0.1–0.5	0.2–0.5	0.10 ± 0.03	0.10 ± 0.06	0.20 ± 0.11	0.30 ± 0.11
NO_2 ($mg\ l^{-1}$)	0.01–0.03	0.02–0.03	0.02–0.05	0.02–0.07	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.02
NO_3 ($mg\ l^{-1}$)	1.3–7.3	1.3–7.8	2.2–9.1	2.2–12.9	3.8 ± 2.7	3.9 ± 2.5	5.7 ± 3.2	5.9 ± 3.8
Organic N ($mg\ l^{-1}$)	0.2–1.2	0.2–3.2	0.3–1.8	0.5–1.4	0.70 ± 0.32	0.90 ± 0.89	0.90 ± 0.41	1.00 ± 0.29
Total P ($mg\ l^{-1}$)	0.1–0.2	0.1–0.2	0.1–0.2	0.1–0.2	0.10 ± 0.04	0.20 ± 0.06	0.20 ± 0.06	0.20 ± 0.05
Dissolved P ($mg\ l^{-1}$)	0.03–0.10	0.02–0.09	0.03–0.10	0.03–0.10	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.10 ± 0.02
Ca ($mg\ l^{-1}$)	23.4–40.5	45.2–138.7	45.5–269.0	212.5–501.5	31.3 ± 5.0	75.9 ± 27.4	207.3 ± 78.4	373.3 ± 101.7
Mg ($mg\ l^{-1}$)	7.4–11.0	8.5–12.1	11.1–16.6	11.9–17.4	8.7 ± 1.1	9.7 ± 1.3	13.4 ± 1.9	14.2 ± 1.8
Na ($mg\ l^{-1}$)	8.2–15.9	20.7–73.8	64.6–207.5	191.0–336.0	10.1 ± 2.6	38.0 ± 16.6	148.8 ± 37.4	272.3 ± 43.3
K ($mg\ l^{-1}$)	2.3–4.0	3.2–6.0	4.6–8.7	7.0–12.1	2.9 ± 0.6	3.9 ± 0.9	6.9 ± 1.2	9.7 ± 1.5

2240

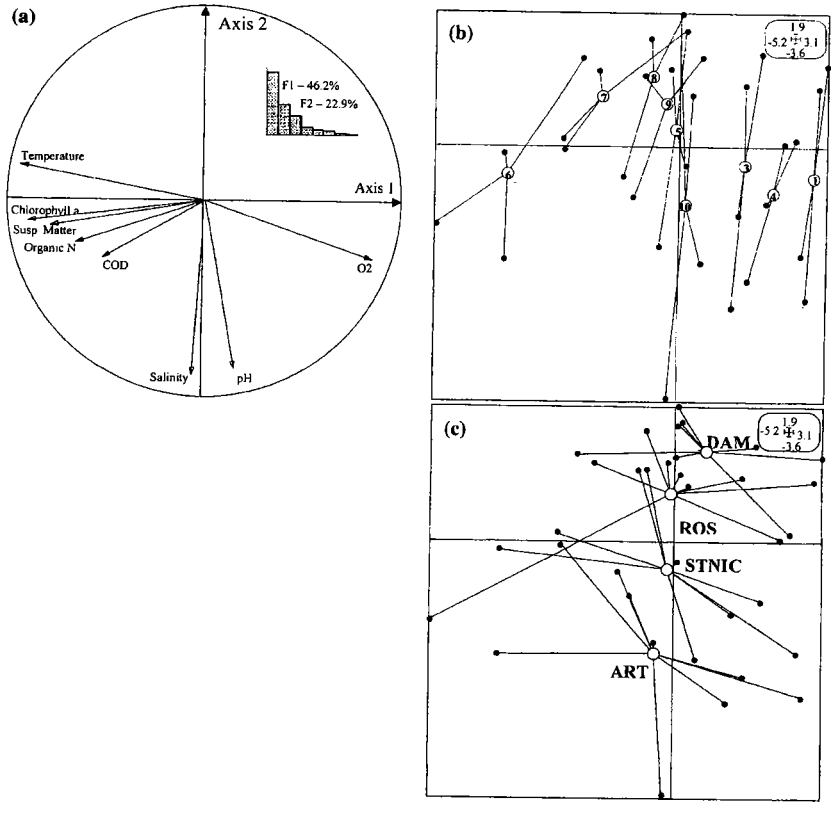


Figure 1. Results of the principal component analysis on physico-chemical parameters. (a) Correlation circle (b) Distribution of sampling dates on the F1–F2 factorial plane of the correspondence analysis. Dates (white circles) are positioned at the weighted average of the four sites (black circles); solid lines link the sites to the corresponding date. Numbers in the white circles represent the sampling month (e.g., 1 – January; 3 – March). (c) Distribution of sampling sites on the F1–F2 factorial plane of the correspondence analysis. Each site (white circle) is positioned at the weighted average of the nine corresponding samples (black circle). Solid lines link the dates to the corresponding site.

axes were selected according to the decrease in eigenvalues (46.2 and 22.9%, respectively of total inertia – Figure 1a). The first component described seasonal variations in water chemistry in the Meurthe River section. The same variations, in terms of temperature, suspended matter, organic N, chlorophyll *a* and oxygen concentration were observed at all four sites simultaneously (Figure 1b). The second component was correlated to salinity and pH variations among sites (Figure 1a). The high heterogeneity among sites was related mostly to a very conspicuous upstream–downstream gradient from DAM to ART (Figure 1c). Salinity differed sharply between sites (Friedman

non-parametric ANOVA; $p \leq 10^{-5}$), but pH ranged insignificantly from 7.9 ± 0.2 at DAM to 8.2 ± 0.2 at ART (Table 1). Thus salinity could be considered the most variable physico-chemical parameter between sites and corresponding to an upstream–downstream gradient.

Patterns of invertebrate species

A total of 9717 individuals belonging to 11 species were present in the 240 samples collected. Five net-spinning caddis larvae families were represented: Hydropsychidae (four species), Polycentropodidae (two species), Psychomyiidae (three species), Ecnomidae (one species) and Philopotamidae (one species) (Table 2). A Kruskal–Wallis non-parametric ANOVA test on species richness (Table 3) suggested that the numbers of species did not vary significantly between the four sites ($p = 0.6080$). The rank-frequency distribution diagram showed that two species were dominant in the river section: *Psychomyia pusilla* and *Ecnomus tenellus*, representing 41.4 and 27%, respectively of the total abundance of net-spinning caddisflies (Table 2). In addition, total abundances were similar at each of the four sites ($p = 0.1690$). However, both Shannon's diversity and Hurlbert's evenness indices differed significantly along the upstream–downstream gradient. In each case, the highest value was obtained for the site exhibiting an intermediate level of disturbance (STNIC, Table 3).

The relative abundance of caddisflies by site showed important differences along the longitudinal gradient (Figure 2) with *Psychomyia pusilla*, the dominant species upstream, being replaced progressively by *Ecnomus tenellus* downstream. *Philopotamus variegatus* was only present at the upstream site. The abundance of several other species decreased significantly in relation to the salinity level: *Hydropsyche contubernalis* decreased from 14.0 ± 4.4% of

Table 2. Total and relative abundances of net-spinning caddisfly species in the studied section of the Meurthe River.

	Species	Total abundance	Relative abundance (%)
Ecnomidae	*Ecnomus tenellus* (Rambur, 1842)	2627	27.0
Hydropsychidae	*Hydropsyche contubernalis* (McLachlan, 1865)	845	8.7
	Hydropsyche pellucidula (Curtis, 1834)	647	6.8
	Hydropsyche exocellata (Dufour, 1841)	791	8.1
	Hydropsyche siltalai (Döhler, 1963)	6	0.1
	Hydropsyche sp*	445	4.6
Philopotamidae	*Philopotamus variegatus* (Scopoli, 1763)	2	<0.1
Polycentropodidae	*Cyrnus trimaculatus* (Curtis, 1834)	242	2.5
	Neureclipsis bimaculata (Linnaeus, 1758)	21	0.2
Psychomyiidae	*Lype reducta* (Hagen, 1868)	39	0.4
	Psychomyia pusilla (Fabricius, 1781)	4021	41.4
	Tinodes waeneri (Linnaeus, 1758)	21	0.2

*445 *Hydropsyche* larvae were too young to be identified at the species level.

Table 3. Structural indices (mean ± SD) of caddisfly assemblages collected at four sites on the Meurthe River (between-site comparison by Kruskal–Wallis non-parametric ANOVA).

	DAM	ROS	STNIC	ART	*n*	*p*
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD		
Richness	6.11 ± 1.27	6.56 ± 1.90	6.56 ± 1.00	5.70 ± 1.70	9	0.608
abundance	267 ± 187	161 ± 115	388 ± 390	264 ± 468	9	0.169
Shannon's diversity	1.31 ± 0.35	1.75 ± 0.30	1.90 ± 0.32	1.45 ± 0.72	9	0.024
Hurlbert's evenness	0.45 ± 0.12	0.60 ± 0.07	0.67 ± 0.13	0.51 ± 0.24	9	0.021

the assemblage at the upstream site to 1.6 ± 0.2 at the most downstream (Kruskal–Wallis ANOVA, $p = 0.0007$), and *H. pellucidula* from 9.6 ± 3.9% to 4.6 ± 1.1% ($p = 0.0007$). In contrast, the relative abundance of several species, such as *H. exocellata* (Kruskal–Wallis ANOVA $p = 0.055$) and *E. tenellus* ($p \leq 0.0001$), increased significantly. *Cyrnus trimaculatus* exhibited a marked change in density, increasing from DAM (0.5 ± 1.4%) to ROS (12.5 ± 3.0%) and then decreasing to a frequency of only 0.5 ± 0.1% at ART. The relative abundance frequency of other species was too insignificant to be expressed statistically. 3.3 Patterns of invertebrate ecological and bio/ ecological groups

The 11 net-spinning caddisfly species present in the studied section of the Meurthe River (Table 4) belonged to six ecological sub-groups (A, C1, C2, D2, E and F3) and five bio/ecological sub-groups ($\alpha 2$, β, $\delta 2$, $\gamma 1$, ζ). Four indices used for the species' structure were applied to the ecological and bio/ecological structure of caddisfly assemblages. The within-year range of ecological and bio/ ecological group richness did not differ significantly among sites (Kruskal–Wallis ANOVA, respectively, $p = 0.3949$ and 0.3040). Total abundance varied more sharply than richness among sites, but differences were not statistically significant ($p = 0.1637$ and $p = 0.1640$, respectively). However, a clear up-stream–downstream gradient in relative abundance was observed both for

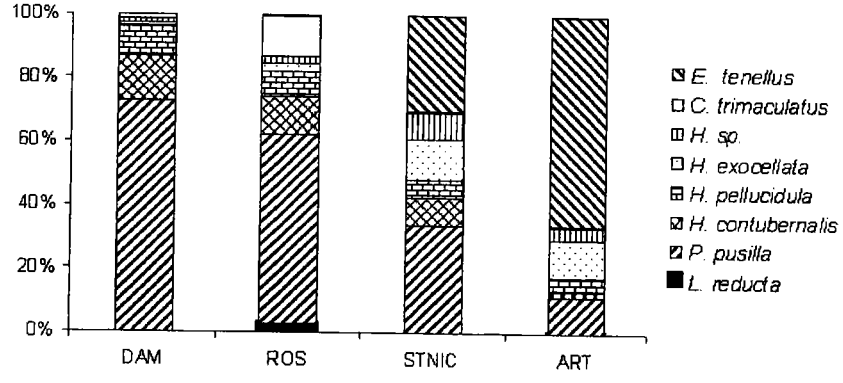


Figure 2. Relative abundance of the main taxa (abundance ≥ 1%) collected in the Meurthe River.

Table 4. List of net-spinning caddisfly species observed in the Meurthe River and main features of the corresponding ecological and bio/ecological groups.

Group	Code	Species observed	Ecological characteristics	Biological characteristics
Ecological	A	*P. variegatus*	Rheophilous Xeno-oligosaprobic Cold water Upper part of mountain rivers	–
	C1	*H. contubernalis*	Hyporithonic, epipotamic	–
		H. pellucidula	Lowland rivers	
		H. exocellata	Eurythermic	
		H. siltalai	Mesotrophic	
	C2	*P. pusilla*	Metarithronic	–
			Lowland rivers	–
			Eurythermic	
			Oligotrophic	
	D2	*N. bimaculata*	Rithronic	–
		L. reducta	Lowland rivers	
		T. waeneri	Lentic habitats	
			Oligotrophic or mesotrophic	
	E	*E. tenellus*	Lowland rivers	–
			Eurythermic	
			Mesosaprobic	
			Tolerate brackish water	
	F3	*C. trimaculatus*	Lowland rivers	–
			Eurythermic	
			Mesosaprobic	
			Lentic or stagnant habitats	
Bio/ ecological	α 2	*P. variegates*	See ecological group A	Medium-sized Mono-semivoltine Psychrophilic Cemented eggs or clutches Scrapers or shredders
	β	*H. contubernalis*	Rithronic	Small to medium-sized
		H. pellucidula	Lowland rivers	Psychrophylic-eurythermic
		H. exocellata	Lentic habitats	Scrapers or shredders
		H. siltalai	Mesosaprobic	Gills were more often used
	δ2	*C. trimaculatus*	See ecological group F3	Medium-sized Eurythermic Polyvoltine Piercers, shredders, engulfers
	γ 1	*N. bimaculata*	Rithronic and potamic	Medium-sized
		L. reducta	Eurythermic	Eurythermic
		T. waeneri	Mesosaprobic	Scrapers or shredders
		P. pusilla	Lentic or stagnant habitats	Gills were more often used
	ζ	*E. tenellus*	See ecological group E	Mono-plurivoltine Eurythermic-thermophilic Gills or tegumental respiration Filter-feeders or deposit feeders

The taxonomic composition and ecological or bio-ecological profiles of these groupings were detailed in Usseglio-Polatera et al. (2000a, 2001). Codes are those proposed by the authors.

ecological (Figure 3a) and for bio/ecological groups (Figure 3b). In the downstream section, Group E replaced groups C1 and C2 which dominated in upstream sites.

The Hurlbert's evenness index was constant for ecological groups (p = 0.0995), but differed for bio/ecological groups (p = 0.0296). Shannon's diversity index varied among sites both for ecological groups (p = 0.0059) and for bio/ecological groups (p = 0.0075). The response pattern was similar for both typologies: the highest values were obtained for an intermediate disturbance level (ROS and STNIC) and the lowest values for the reference site (DAM) and the heavily disturbed site (ART) (Figure 4).

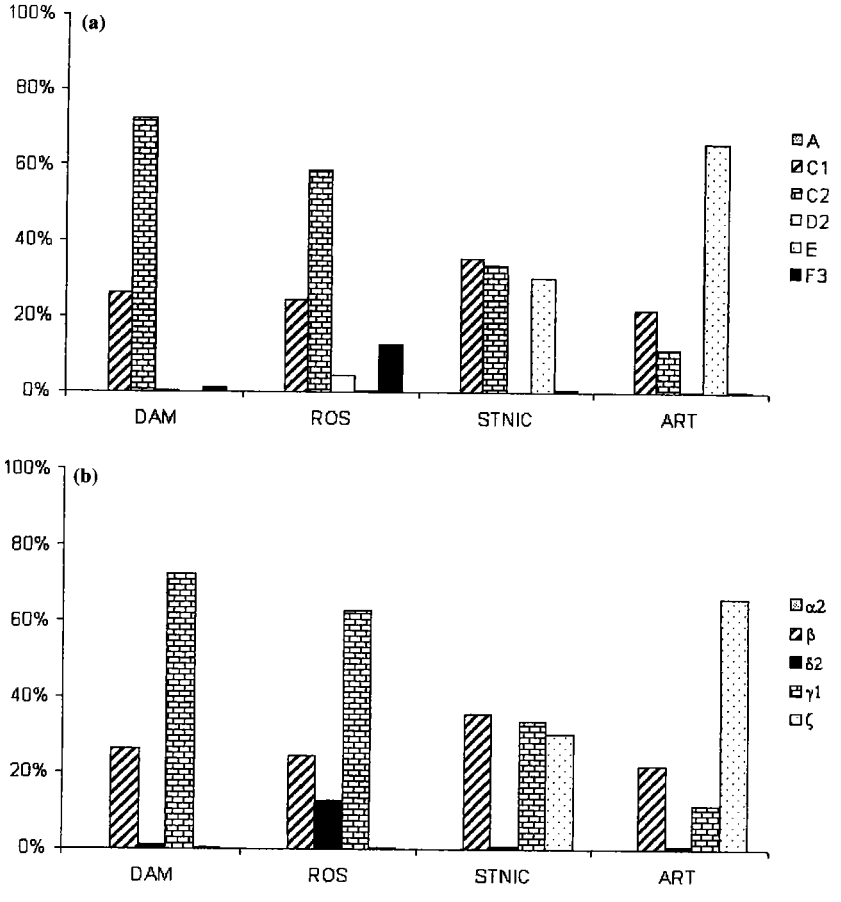


Figure 3. Abundances of ecological groups (a) and bio/ecological groups (b) as defined by Usseglio-Polatera et al. (2000a, 2001) sampled at the four sites studied in 2002.

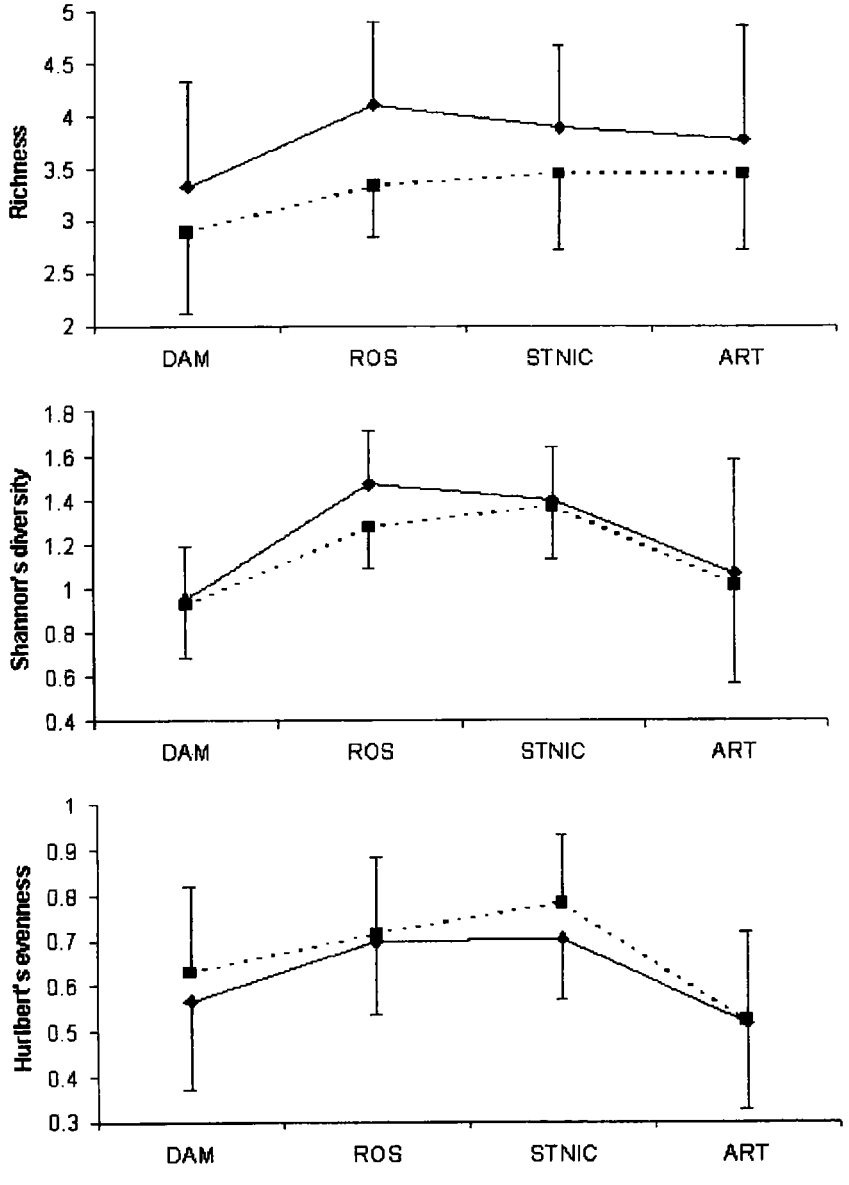


Figure 4. Between-site biodiversity analysis: structural indices calculated for ecological groups (continuous lines) and bio/ecological groups (dotted lines) defined by Usseglio-Polatera et al. (2000a, 2001).

Discussion

The section of the Meurthe River studied offers the major advantage of providing a salinity gradient equivalent to a broad continuum of natural river conditions within a very small geographical scale (19 km). Only salinity changed significantly from upstream to downstream, while other physico-chemical and environmental parameters varied within a weak range. The salinity range from the third to the fourth site (1.37–2.60 $g \cdot L^{-1}$) corresponded to the salinity level capable of inducing various changes in the macroinvertebrate assemblages. In fact, most studies to date have shown that macroinvertebrate assemblages begin to be modified when salinity ranges from 1 to 3 $g\ l^{-1}$ (Hart et al. 1990, 1991; Williams et al. 1990, 1999; Gallardo-Mayenco 1994; Leland and Fend 1998).

The Meurthe River is rich in net-spinning caddis larvae. The species collected were abundant and represented all five net-spinning caddis larvae families observed in France. Only *Philopotamus variegatus* was no longer observed beyond the upstream reference site, and species richness remained stable along the salinity gradient. Analyses performed on the changes in assemblage structure and biodiversity of net-spinning caddisfly assemblages have shown complementary results. Thus, for both community characteristics, the maximum value was obtained for an intermediate level of disturbance, whereas sites with contrasted salinity (the lowest and highest salinity) were less diversified.

Structural diversity generally includes two components, species richness and species evenness. Our results have shown that among taxonomical indices of structure, only evenness varied along the salinity gradient, leading to the observed modification of Shannon's diversity. The analysis of diversity in terms of evenness and relative abundance of bio/ecological groups exhibited the same pattern. We postulate that these results are in accordance with the Intermediate Disturbance Hypothesis (IDH) proposed by Connell (1978) which states that intermediate levels of disturbance maximize species diversity because competitively dominant species exclude subordinate species at lower disturbance levels. In the same way, a high constraint level leads to local extinctions. Thus there is a trade-off between a species' ability to tolerate disturbance and its ability to compete. We suggest that diversity was highest at an intermediate level of salinity because both halotolerant species and freshwater species co-occurred. The IDH has received empirical and experimental support from work on diverse communities, including river macroinvertebrates (Townsend et al. 1997; McCabe and Gotelli 2000). However, Death and Winterbourn (1995) found the IDH unsuitable for describing the diversity of 10 New Zealand stream invertebrate communities. In fact, this hypothesis assumes that disturbance affects only competing species at a single trophic level, and consequently, IDH predictions may not be upheld when species from different trophic levels are analysed (Wootton 1998). The use of homogeneous net-spinning caddisfly assemblages within a set of sites with similar environmental conditions allowed us to limit our observations to the disturbance impact on taxa within a sole trophic level.

The use of an organism's biological and ecological traits as an alternative measure of disturbance effects in streams has been supported by several studies (Townsend and Scarsbrook 1997; Charvet et al. 2000; Usseglio-Polatera et al. 2000b). This 'species traits' approach, considering the biological and/or ecological similarity – rather than the taxonomic link – of related taxa, evaluates diversity from an original point of view. This approach highlighted an original aspect of the IDH prediction, by regarding species/habitat relationships and species interactions throughout functional trait combination variations in ecosystems, and demonstrated that faunal assemblages exhibited a higher functional diversity for an intermediate disturbance magnitude than for a lower (i.e., high habitat stability) or a higher (i.e., low habitat stability) disturbance level.

In summary, our analysis has shown that intermediate salinity disturbance increases the species diversity of stream net-spinning caddisflies assemblages in accordance with the IDH. Results obtained by applying a traditional taxonomic method were confirmed by a distribution analysis of bio/ecological groups along the salinity gradient. The IDH has important practical implications for the maintenance of biodiversity (Townsend et al. 1997), as it highlights environmental conditions that favour the coexistence of numerous species with a large set of bio/ecological profiles, and consequently, may host diversified communities. We have demonstrated that an intermediate level of salinity may be a major environmental feature in generating a relatively high level of biodiversity in macroinvertebrate communities.

Acknowledgments

This study was supported by the French Ministry of Ecology and Sustainable Development (Ministère de l'Ecologie et du Développement durable), as part of the 2001–2003 Biodiversity program.

References

Adler F.R. and Mosquera J. 2000. Is space necessary? Interference competition and limits to biodiversity. Ecology 8: 3226–3232.

Charvet S., Statzner B., Usseglio-Polatera P. and Dumont B. 2000. Traits of benthic macroinvertebrates in semi-natural French streams: an initial application to biomonitoring in Europe. Freshwater Biology 43: 277–296.

Collier K.J. and Smith B.J. 1998. Dispersal of adult caddisflies (Trichoptera) into forests alongside three New Zealand streams. Hydrobiologia 361: 53–65.

Connell J.H. 1978. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. Science 199: 1302–1309.

Death R.G. and Winterbourn M.J. 1995. Diversity patterns in stream benthic invertebrate communities: the influence of habitat stability. Ecology 76: 1446–1460.

Downes B.J. and Jordan J. 1993. Effects of stone topography on abundance of net-building caddisfly larvae and arthropod diversity in an upland stream. Hydrobiologia 252: 163–174.

Edington J.M. 1968. Habitat preferences in net-spinning caddis larvae with special reference to the influence of water velocity. Journal of Animal Ecology 675–692.

Englund G. and Olsson T.I. 1996. Treatment effects in a predator caging experiment: influence of predation rate and prey movements. Oikos 77: 519–528.

Feminella J.W. and Resh V.H. 1990. Hydrologic influences, disturbance, and intraspecific competition in a stream caddisfly population. Ecology 71: 2083–2094.

Gallardo-Mayenco A. 1994. Freshwater macroinvertebrate distribution in two basins with different salinity gradients (Guadalete and Guadaira river basins, south-western Spain). International Journal of Salt Lake Research 3: 75–91.

Georgian T. and Thorp J.H. 1992. Effects of microhabitat selection on feeding rates of net-spinning caddisfly larvae. Ecology 73: 229–240.

Hart B.T., Bailey P., Edwards R., Hortle K., James K., McMahon A., Meredith C. and Swadling K. 1990. Effects of salinity on river, stream and wetland ecosystems in Victoria, Australia. Water Research 24: 1103–1117.

Hart B.T., Bailey P., Edwards R., Hortle K., James K., McMahon A., Meredith C. and Swadling K. 1991. A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota. Hydrobiologia 210: 105–144.

Hynes H.B.N. 1970. The Ecology of Running Waters. Liverpool University Press, Liverpool.

Ivol J.M., Guinand B., Richoux P. and Tachet H. 1997. Longitudinal changes in Trichoptera and Coleoptera assemblages and environmental conditions in the Loire River. Archiv für Hydrobiologie 138: 525–557.

Jeffries M.J. 2002. Evidence for individualistic species assembly creating convergent predator: prey ratios among pond invertebrate communities. Journal of Animal Ecology 71: 173–184.

Leland H.V. and Fend S.V. 1998. Benthic invertebrate distributions in the San Joaquin River, California, in relation to physical and chemical factors. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 55: 1051–1067.

Magurran A.E. 1988. Ecological Diversity and Its Measurement. Princeton University Press, Princeton 179 pp.

McCabe D.J. and Gotelli N.J. 2000. Effects of disturbance frequency, intensity, and area on assemblages of stream macroinvertebrates. Oecologia 124: 270–279.

Müller K. 1954. Investigations on the organic drift in North Swedish streams. Report, Institute of Freshwater Research, Drottningholm 35: 133–148.

Müller K. 1982. The colonization cycle of freshwater insects. Oecologia 52: 202–207.

Munoz I. and Prat N. 1994. Macroinvertebrate community in the lower Ebro River (NE Spain). Hydrobiologia 286: 65–78.

Petersen I., Winterbottom J.H., Orton S., Friberg N., Hildrew A.G., Spiers D.C. and Gurney W.S.C. 1999. Emergence and lateral dispersal of adult Plecoptera and Trichoptera from Broadstone Stream, UK Freshwater Biology 42: 401–416.

Resh V.H., Hildrew A.G., Statzner B. and Townsend C.R. 1994. Theoretical habitat templets, species traits, and species richness: a synthesis of long-term research on the Upper Rhône River in the context of concurrently developed ecological theory. Freshwater Biology 31: 539–554.

Roff D.A. 1993. The Evolution of Life Histories. Theory and Analysis. Kluwer Academic Publishers, Boston, 536 pp.

Statzner B., Bis B., Dolédec S. and Usseglio-Polatera P. 2001. Perspectives for biomonitoring at large spatial scales: a unified measure for the functional composition of invertebrate communities in European running waters. Basic and Applied Ecology 2: 73–85.

Statzner B. and Higler B. 1986. Stream hydraulics as a major determinant of benthic invertebrate zonation patterns. Freshwater Biology 16: 127–139.

Statzner B., Hoppenhaus K., Arens M.F. and Richoux P. 1997. Reproductive traits, habitat use and templet theory: a synthesis of world-wide data on aquatic insects. Freshwater Biology 38: 109–135.

Stearns S.C. 1992. The Evolution of Life Histories. Oxford University Press, Oxford, 262 pp.

Townsend C.R. 1996. Concepts in river ecology: pattern and process in the catchments hierarchy. Archiv für Hydrobiologie 113(Suppl.): 3–12.

Townsend C.R. and Hildrew A.G. 1994. Species traits in relation to a habitat templet for river systems. Freshwater Biology 31: 265–275.

Townsend C.R. and Scarsbrook M.R. 1997. Quantifying disturbance in streams: alternative measures of disturbance in relation to macroinvertebrate species traits and species richness. Journal of the North American Benthologic Society 16: 531–544.

Townsend C.R., Scarsbrook M.R. and Doledec S. 1997. The Intermediate Disturbance Hypothesis, refugia, and biodiversity in streams. Limnology and Oceanography 42: 938–949.

Usseglio-Polatera P., Bournaud M., Richoux P. and Tachet H. 2000a. Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates: relationships and definition of groups with similar traits. Freshwater Biology 43: 175–205.

Usseglio-Polatera P., Richoux P., Bournaud M. and Tachet H. 2000b. Biomonitoring through biological traits of benthic macroinvertebrates: how to use species trait database? Hydrobiologia 422/423:153–162.

Usseglio-Polatera P., Bournaud M., Richoux P. and Tachet H. 2001. A functional classification of benthic macroinvertebrates based on biological and ecological traits: application to river condition assessment and stream management. Archiv für Hydrobiologie 139(Suppl.): 53–83.

Vannote R.L., Minshall G.W., Cummins J.R., Sedell J.R. and Cushing C.E. 1980. The river continuum concept. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 37: 130–137.

Williams D.D., Williams N.E. and Cao Y. 1999. Road salt contamination of groundwater in a major metropolitan area and development of a biological index to monitor its impact. Water Research 34: 127–138.

Williams N.E. and Hynes H.B.N. 1973. Microdistribution and feeding of net-spinning caddisflies (Trichoptera) of a Canadian stream. Oikos 24: 73–84.

Williams W.D., Boulton A.J. and Taaffe R.G. 1990. Salinity as a determinant of salt lake fauna: a question of scale. Hydrobiologia 197: 257–266.

Wissinger A.S., Whiteman H.H., Sparks G.B., Rouse G.L. and Brown W.S. 1999. Foraging trade-offs along a predator-permanence gradient in subalpine wetlands. Ecology 80: 2102–2116.

Wootton J.T. 1998. Effects of disturbance on species diversity: a multitrophic perspective. American Naturalist 152: 803–825.

Annexe IX: Fluctuating asymmetry of natural populations of aquatic insects along a salinity gradient.

Piscart, C.; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N.

Aquatic Sciences, soumis en 2005.

ABSTRACT

The evaluation of the impact of gradual environmental changes, such as the salinisation of freshwaters, requires measures that are sensitive enough to detect the subtle changes that may be occurring within a population. Fluctuating asymmetry (FA) has been used widely to investigate questions regarding fitness and behaviour, and to study the effects of environmental pollution. Aquatic insects have been used to answer questions in both fields, but few attempts have been made to use FA of aquatic insects in natural populations as an indicator of environmental stress. Asymmetries in the femur lengths of *Calopteryx splendens* (Odonata) larvae, in the femur lengths, the tibia lengths and the pygopod widths of *Hydropsyche exocellata* and *H. contubernalis* (Trichoptera) larvae were studied at three sites along a salinity gradient of the Meurthe River (France). The analysis of physico-chemical measurements has shown that the difference in salinity between the sites (ranging from 0.21 to 2.60 $g.L^{-1}$) is the only parameter varying to a degree significant enough to potentially affect damselfly or caddisfly development and their population densities. The FA level in larvae did not vary in a same way that the observed pattern of damselfly and caddisfly population densities along the salinity gradient. Thus, the fluctuating asymmetry of natural population of these insects seems to be a poor indicator of the salinity stress.

Keywords: Fluctuating asymmetry, salinity, environmental stress, *Calopteryx splendens*, *Hydropsyche exocellata, Hydropsyche contubernalis*,

1. INTRODUCTION

The role of salinity in the regulation of aquatic macroinvertebrate assemblages has been studied extensively throughout the world (Munoz and Prat, 1994; Kefford, 1998; Leland and Fend, 1998; Williams et al., 1999; Piscart et al., *in press*). These studies showed that salinity, defined in terms of total dissolved substances, reduces the diversity and the abundance of freshwater macroinvertebrates and modifies the trophic structures of communities. However, these results rarely describe the role of salinity at low levels. Moreover, field studies focusing on the impact of salinity on freshwater insect population levels are scarce (Chadwick and Feminella, 2001; Bonada and Williams, 2002; Greenwood and Wood, 2003; Bonada et al., 2005).

The evaluation of the impact of gradual environmental changes on natural ecosystems, such as the salinisation process defined by Williams (1987), requires measures that are sensitive enough to detect the subtle changes that may be occurring within a resident population. Though population density of a given species is most commonly used, it is often too variable to provide a reliable measure of gradual, sub-lethal environmental changes and/or perturbations. In terms of alternative methods, fluctuating asymmetry (FA) is considered as an indicator of an individual's ability to buffer genetic or environmental stress during its development (Palmer and Strobeck, 1986; Palmer, 1994). Thus, FA provides a good measure of developmental stability. The use of average fluctuating asymmetry appears to be a viable alternative for assessing non-lethal or subtle environmental stress at the level of a population (for a review see Parsons, 1992).

Numerous studies have been devoted to the assessment of FA in adult insects (Hardersen et al., 1999; Hardersen, 2000; Mpho et al., 2001). Most of these studies used damselfly adults and focused particularly on the consequences of FA on sexual behaviour (Beck and Pruett-Jones, 2002) or on individual fitness (Leung and Forbes, 1997; Rantala et al., 2000). Studies concerning the role of perturbations on FA levels are scarce (Hardersen and Wratten, 1998; Hardersen et al., 1999; Hardersen, 2000; Servia et al., 2004). Hardersen and Wratten (1998) showed that exposure to Carbaryl during the final larval instars induced significant FA in adults. However negative results were found for *Culex quinquefasciatus* (Diptera) adults exposed to an insecticide at varying temperatures (Mpho et al., 2001) and for *Nemoura trispinosa* (Plecoptera) in relation to environmental temperatures (Hogg et al., 2001). Concerning the use of FA in insect larvae, Bonada and Williams (2002) address the impact of anthropogenic pollution on certain Ontario Rivers over a 48-year period. In this study, these authors found a positive correlation between larvae of *Hydropsyche morosa* (Trichoptera) FA and an increase in conductivity or nitrogen or chloride concentrations. The links between FA and chloride concentrations have been recently confirmed with larvae of *Hydropsyche exocellata* by Bonada et al. (2005).

Although a common practice, the use of adults in studies presents certain drawbacks; they can disperse broadly in the environment and can be found several kilometres away from their emergence area. Under these conditions, the sampling effort required to obtain a robust estimation of population FA can be prohibitive and limited in time to emergence periods. A logical solution for working with natural populations is the use of larvae which are more easily sampled year-round.

In the present study, the relationships between the larval densities of natural populations of *Calopteryx splendens* Harris (Odonata, Calopterygidae), *Hydropsyche exocellata* Dufour, *H. contubernalis* McLachlan (Trichoptera, Hydropsychidae) and their physiological tolerances to salinity are investigated. The study of three species allowed investigating a potential gradient of tolerance and intolerance for two holometabolous insects, and a potential gradient of intolerance for a hemimetabolous species. The river section studied presents the peculiarity of a defined salinity gradient, with other environmental factors remaining constant or varying only within a weak range (Piscart et al., 2005). The assessment of three sites over a one-year period allowed for the observation of a clear density pattern along the salinity gradient for each species (Piscart et al., *in press*). The density patterns were studied to see if they resulted from an environmental pressure gradient due to high salinity levels for these species. We investigated if the physiological tolerance of each species can be expressed in terms of larvae developmental instability and measured using average FA in a given population.

2. METHODS

Study site and physico-chemical analysis

The study was conducted in the Meurthe River, a sixth order stream tributary of the Moselle River, in northeastern France. The study area is a perennial-flow section located from 30 to 49 km of the source, upstream from the city of Nancy (48°41'52''N, 6°11'14''E). Chemical plants discharge salt water into this section of the river. Three sites were chosen for study according to their position in relation to various discharges from chemical plants. The discharges, resulting from a soda production process, are composed exclusively of water and dissolved minerals (Cl, SO4, Ca, Na, and Mg). The first site, located upstream from the first discharge point, in the city of Damelevières (DAM), was used as a reference. The second site, near the city of St Nicolas-de-Port (STNIC), experiences an intermediate level of perturbation. The third site, located near the city of Art-sur-Meurthe (ART), is downstream from all the discharge points and corresponds to a high level of perturbation.

Water samples were collected for chemical analysis each month, at each of the three sites from January to December 2002, except for the month of February. Water samples were stored at 4°C and analysed the following day. Water temperature, pH, conductivity and

oxygen content were measured on each sampling date using portable apparatus (WTW model pH ion 340i, Cond 330i and OXI597-S). Organic N, Ammonium, Nitrite, dissolved Phosphate, total Phosphate and Chlorophyll *a* were measured by colorimetry following standard French procedures (AFNOR 1995a; 1995b), as were the Chemical Oxygen Demand (COD), the suspended matter and Alkalinity. Calcium, Magnesium, Sodium and Potassium levels, were determined by atomic absorption spectrometry and Sulphate, Chloride and Nitrate, by ionic chromatography. Salinity was measured as total dissolved substances, converted from the measurement of electrical conductivity via an arithmetic relationship. In complement to a descriptive approach previously published (Piscart et al., 2005), we analysed the main chemical characteristics to test if the salinity can be considered as the principal chemical factor influencing natural macroinvertebrate populations between sites. To this aim we analysed eight of the measured variables: salinity (expressed as total dissolved substances), water temperature, pH, oxygen content, N-organic, dissolved phosphate, Chemical Oxygen Demand (COD), and suspended matter. The 14 chemical parameters not taken into account were correlated with at least two of the eight variables analysed (Spearman Rank correlation, $p<0,01$).

A discriminant analysis was carried out using the eight chemical variables to identify if salinity well differentiated sites when all descriptors are considered altogether. We evaluated the joint impact of site and date on chemical parameters by performing a multivariate analysis of variance (MANOVA), with subsequent separate univariate ANOVAs with site and date as explanatory variables and the eight parameters as dependent variables. When differences were significant, we compared between sites levels with Tukey HSD post hoc tests (Sokal and Rohlf, 1995).

Insects sampling and study of density

At each of the three sites and at each water sampling, larvae were collected using a Surber net sampler and artificial substrates constituted with plastic boxes of six litres filled with pebbles (Ø between 25 and 80 mm) placed one month on the river bottom). Surber samples (0.05 m^2) were taken at each occasion within the same panel of nine different mesohabitats. All samples were preserved in 4% formaldehyde before separation and identification of insects.

Hydropsyche abundances were estimated with the 81 Surber samples by site. For the FA analysis, we kept *Hydropsyche* individuals collected in May and June, before the emergence period, so as to work on larvae of the maximum size. The densities of *Calopteryx* larvae were

estimated considering the 81 Surber samples and the 18 artificial substrates by site. *Calopteryx* larvae used for the FA measurements were chosen among the individuals with the biggest size. As Surber provided only a few small individuals, animals used were largely from the artificial substrates.

Larvae used for FA were sorted and preserved in 70% ethanol before measurement. Between 30 and 33 individuals by site were used to measure the asymmetry level of each species.

The survival of larvae over a 72-h period in standard laboratory conditions was used as a measure of salinity tolerance to highlight that insect densities depend on a specific affinity for different salt concentrations. The protocol applied was previously used and described by Kefford et al. (2003). For each species, 180 larvae were taken on the first site (DAM) for *H. contubernalis* and the third site (ART) for *H. exocellata* allowed to determine the salinity tolerance of larvae. Lethal concentration of 50 % of individuals (LC50) was determined by fitting a Standard logistic regression (Agresti, 1990) between the 10 tested salinities (x) and the probability of survival (y).

Measurement of FA

To measure FA levels, legs and pygopods were cut off proximally to the basal end and placed carefully between two microscope slides without distorting the features. Each slide was positioned on a stereomicroscope coupled with a high resolution CCD analogical video camera (IAC 500 of i2S™). The image was displayed on a computer equipped with Scion Image software (Scion corporation™) to measure the maximum length of the right (R) and left (L) of each anatomical piece (femur, tibia or pygopod) on the digital image. Hence, asymmetries in the femur lengths of *Calopteryx splendens* (Odonata) larvae, in the femur lengths, the tibia lengths and the pygopod widths of *Hydropsyche exocellata* and *H. contubernalis* (Trichoptera) larvae have been estimated. Because the FA level is generally in the order of few percent (Møller and Swaddle 1997), it is essential to have an accurate estimate of the measurement error. In this study, to check the accuracy of the procedure, three blind measurements of each image were made in a random order on each individual. The second and third measurements were made without knowing the value of the previous one.

Statistical analyses

The statistical analysis was consistent with the procedure initially proposed by Palmer (1994) and improved by Palmer and Strobeck (2003). The data were inspected for robustness and statistically significant outliers were rejected before conducting later analyses. Individual presenting significant aberrant values for trait sizes or asymmetry were also rejected.

A first step to investigate in detail FA variation is to test for the absence of anti-symmetry and directional symmetry. A Kolmogorov-Smirnov statistic was used to test the normality of the

(R-L) values to show the lack of anti-symmetry. The absence of directional asymmetry was tested with a t-test comparing the mean (R-L) to zero. A second step is to test the measurement error. To have any hope of detecting meaningful differences in FA among groups, the between-sides differences due to FA must be shown to be significantly greater than the between-sides differences due to the measurement errors (ME). To test for this, a two-way ANOVA (sides x individuals) on untransformed replicate measurements for each trait and each site was conducted. The ME estimation is essential to test the significance of FA relative to ME. To have confidence that differences in R-L among individuals reflect real differences in underlying developmental instabilities and not just sampling error, requires an estimate of the hypothetical repeatability (Van Dongen, 1998). ME was estimated using the measure repeatability with the ME4 descriptor of Palmer and Strobeck (2003), estimated from the previous ANOVA by taken into account all individuals for each trait.

The relation between FA and a trait size was tested by the Spearman rank correlation for each trait at each site to verify if a correction for size-dependence was necessary.

Finally, differences in FA between traits and sites, for each species, have been showed by a mixed model ANOVAs on the transformed $|\ln(R)-\ln(L)|$ values to reduce the importance of trait-size variations. FA17 of Palmer and Strobeck (2003) ($\Sigma|\ln(Rj)-\ln(Lj)|$/number of traits, where j is the individual measured) is a multiple traits index showing the developmental stability. From a statistical point of view, a multiple traits analysis, or composite fluctuating analysis, provided much greater power than analyses based on single traits. A Levene's test of heterogeneity of variance was applied on FA17 to validate results of the ANOVAs.

2. RESULTS

Physico-chemical analyses and population densities

The discriminant analysis gave an optimal combination of the chemical variables to differentiate the three sites. The first function (root 1) provided a strong between-sites discrimination (Table 1) with no overlap between the 99 % confidence interval of site root scores. The first canonical root (99% of the associated variance extracted) was positively correlated with salinity ($p<0.001$) and in a less extent with dissolved oxygen ($p=0.045$); any other chemical variables was excluded from the first root. Statistical analyses highlighted that chemicals characteristics differentiated both sites and dates (MANOVA, $p< 0.001$). The

analysis of each chemical parameter showed that salinity, temperature, pH, Organic N and COD varied between sites (Table 2). In contrast, dissolved oxygen, dissolved phosphate and suspended matter did not differ between stations (ANOVAs, p>0,45). The temperature, pH and organic nitrogen increased significantly from upstream to downstream, within relative slight ranges (+1.6 °C, +0.34, +0.33 $mg.L^{-1}$ respectively). All parameters except salinity had similar values between STNIC and ART. On the contrary, the salinity increased by 12.4 fold over the 19-km river section studied, from 0.21 ± 0.02 at DAM (mean ± SD) to 1.4 ± 0.4 $g.L^{-1}$ (STNIC), and 2.6 ± 0.5 $g.L^{-1}$ at ART.

A total of 268 *C. splendens* larvae were collected all year long: 172 larvae at DAM, 52 at STNIC and 44 at ART with the same sampling effort on each site (Figure 1). The total abundances of *C. splendens* at the three sites showed a decrease according to the salinity level, with a reduction of 69.8% between DAM and STNIC and of 15.4% between STNIC and ART. However, the low number of individuals sampled did not allow us to collect individuals at each date and we did not be able to test this trend according to the salinity concentration. The mean abundance of *Hydropsyche contubernalis* ranged between 37.6 individuals upstream and 4.2 downstream (Figure 1), the site with the highest salinity (Friedman non-parametric ANOVA, p=0.007). Conversely, *H. exocellata* exhibited its lowest density (Friedman non-parametric ANOVA, P=0.007) at DAM (upstream) and a mean values > 36.7 individuals for the two downstream sites (Figure 1).

The results concerning the LC50 in terms of acute toxicity were in accordance with the pattern of larvae abundances. *H. contubernalis* (LC50 = 10.7 $g.L^{-1}$) had strikingly lower LC50 values (ANCOVA, $p<10^{-4}$) than *H. exocellata* (LC50 = 13.8 $g.L^{-1}$) .

Fluctuating Asymmetry

FA is characterised by a normal distribution of signed R-L (Right–Left) differences around a mean of zero. The normality of the data was tested by performing a Kolmogorov-Smirnov test on R-L differences. Our results showed that each segment asymmetry of each species was normally distributed (p>0.1, not shown) and t-tests revealed that asymmetry means did not differ significantly from zero (p>0.08, not shown). These analyses clearly showed the absence of both directional asymmetry and anti-symmetry, and the occurrence of FA for each species, each anatomic piece and each salinity level.

The ME4 descriptor expresses FA variation as a proportion of the total between-sides variation. This descriptor is a different way of measuring repeatability. The repeatability (ME4) of our results was very high with values from 91.7 to 99.6% for *H. contubernalis*, from 84.3 to 98.8 % for *H. exocellata* and from 98.4 to 100% for *C. splendens*.

We didn't find any associations between trait asymmetry and trait size (Spearman rank correlation; p>0.05) for each traits at each site.

Results of the mixed-model two-way ANOVA (sites x traits) on the transformed values of FA show that *C. splendens* FA did not differ significantly between traits (p=0.33; Table 4) and between sites (p=0.43, Table 4). The same analysis on *H. contubernalis* showed that FA differed significantly between traits but not between sites (p=0.64, Table 4). The same statistical analysis on *H. exocellata* showed that FA differed significantly between traits and between sites (p=0.001, Table 4), but, for each trait, FA reached the lowest value for the intermediate salinity level in STNIC.

The same results were obtained with the multiple traits index FA17, showing a developmental instability. FA17 values were not statistically different between DAM, STNIC and ART for *C. splendens* and *H. contubernalis* (Kruskal-Wallis non-parametric ANOVA, p=0.30 and p=0.63 respectively), but differed between sites for *H exocellata* (p=0.0009). FA17 reached the lowest value for the site with the intermediate level of salinity (Figure 2 and Table 2) and was not significantly different between the two others (Kruskal-Wallis, p=0.0122). Finally, even if a true FA was observed for each species, each site and each anatomical piece, no relationships were observed between FA and the salinity gradient, as illustrated with the multiple trait index FA17 (Figure 2).

4. DISCUSSION

The application of individual-based assessment techniques, such as FA measurements, to detect ecosystem stress is becoming increasingly popular (Leary and Allendorf 1989). Indeed, Clarke (1993) has suggested that when such an analysis indicates no biological stress, it would be reasonable to assume that the population is not being adversely affected.

We postulate that only salinity could induce the effect we observed on developmental stability (Piscart et al., 2005, *in press*). The variation in other environmental parameters, other than salinity, was negligible and therefore unlikely to affect invertebrate development. For example, two studies have shown that changes in temperature did not induce FA with an increase from 2 to 3.5°C (Hogg et al., 2001) and to 5°C (Mpho et al. 2001). In addition, Schütte and Schrimpf (2002) have shown that the odonate species we studied are well adapted to high temperatures and prefers the downstream section of rivers.

In our study, the role played by salinity could be determined because it was the main parameter which changed along the upstream-downstream gradient to a degree significant enough to potentially affect damselfly or caddisfly populations (Piscart et al. *in press*). We postulate that this environmental gradient induces a physiological stress that reduces

invertebrate's ability to survive in this environment. This assumption is support by the salinity tolerances of Hydropsychid larvae in experimental conditions. The LC50 values for acute toxicity tests were in accordance with the abundance pattern of both species: the salinity tolerance of *H. contubernalis* (abundant upstream) was lower than the tolerance of *H. exocellata* (abundant downstream, where the salinity is highest).

The present work explored the usefulness of FA analysis and allowed us to envision a relationship between a decrease in natural population densities and an environmental stress using the 'ecological niche' concept. A niche represents the range of conditions and resource qualities within which an individual, or a species, can survive and reproduce. According to Hutchinson (1957), the activity range of any given species could be described in terms of each dimension of the environment, whether physical, chemical or biological. Each of these dimensions may be thought of as a dimension in space, characterised by a 'niche breadth'. The niche breadth is represented by the width of each population distribution, and represents the extent of the variety of resources used, or the range of conditions tolerated by the individuals in that particular population. We can consider that the salinity gradient of the Meurthe River represents a part of the niche breadth between adequate conditions upstream, with the highest density of *H. contubernalis* and *C. splendens* and a high degree of tolerance of these species, and less favourable conditions and the lowest population densities downstream. The opposite pattern was observed for *H. exocellata* (Piscart et al., 2005). However, our study has not shown that FA provides a potential explanation for minimal densities, highlighting a potential environmental stress not observed for the sites with potential adequate salinity conditions. The FA level in larvae with the maximal size did not vary in a way showing density variations of natural damselfly and caddisfly populations.

Our results differ from those of Bonada and Williams (2002) on FA levels of *Hydropsyche morosa*. These authors observed that change in conductivity or chloride concentrations was associated with a high FA and thus can serve as a useful tool to reveal a salinity stress in insect larvae. Recently, Bonada et al. (2005) confirmed the link between FA of *H. exocellata* and Chloride concentration but these authors did not been able to highlight a same correlation between FA and conductivity. Besides, the response patterns to different stresses are probably taxon- and trait-specific (Woods et al., 1999; Hosken et al., 2000). Fluctuating asymmetry is a consequence of random right-left variation in the absence of actual symmetry breaking at macroscopic scales. Symmetry may be broken at microscopic scales without obvious consequences at the macroscopic scale (Graham et al., 2003). Because of these uncertainties,

it is difficult to rule out the possibility that FA levels in our populations could not be highlighted by measuring our selected traits.

In this study we used FA as a potential tool to link a decrease in population density and an environmental stress in an aquatic environment. FA did not vary in accordance with the salinity gradient, indicating that usefulness of FA measurement should be tested on other insect's larvae and other traits to be validated or invalidated as an early warning system for an aquatic endangered species.

Acknowledgements

This study is supported by the French institute of Biodiversity as part of the 'Biodiversity' (2001-2003) program.

REFERENCES

Agresti, A., 1990. Categorical Data Analysis. John Wiley & Sons, New York, 576 p.

A.F.N.O.R., 1995a. Qualité de l'eau - Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, orthophosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous, par chromatographie des ions en phase liquide - Partie 1 : méthode applicable pour les eaux faiblement contaminées. Agence Française de Normalisation - norme homologuée T 90-042 (EN ISO 10304-1).

A.F.N.O.R., 1995b. Qualité de l'eau - T 90-005. Agence Française de Normalisation - norme homologuée T 90-005.

Beck, M.L., and S. Pruett-Jones 2002. Fluctuating asymmetry, sexual selection and survivorship in male dark-winged damselflies. Ethology **108**: 779-791.

Bonada, N., S. Vives, M. Rieradevall and N. Prat, 2005. Relationship between pollution and fluctuating asymmetry in the pollution-tolerant caddisfly *Hydropsyche exocellata* (Trichoptera, Insecta). Arch. Hydrobiol. **162**: 167-185

Bonada, N. and D.D. Williams, 2002. Exploration of the utility of fluctuating asymmetry as an indicator of river condition using larvae of the caddisfly *Hydropsyche morosa* (Trichoptera: Hydropsychidae). Hydrobiologia **481**: 147-156.

Chadwick, M.A. and J.W. Feminella, 2001. Influence of salinity and temperature on the growth and production of a freshwater mayfly in the Lower Mobile River, Alabama. Limnol. Oceanogr. **46:** 532-542.

Clarke, G.M., 1993. Fluctuating asymmetry of invertebrate populations as a biological indicator of environmental quality. Environ. Pollut. **82:** 207-211.

Graham, J.H., J.M. Emlen and D.C. Freeman, 2003 Nonlinear Dynamics and Developmental Instability. In M. Polak (ed.), Developmental instabilities: causes and consequences, Oxford University Press, Oxford, pp. 35-50.

Greenwood, M.T. and P.J. Wood, 2003. Effects of seasonal variation in salinity on a population of *Enochrus bicolor* Fabricius 1792 (Coleoptera: Hydrophilidae) and implications for other beetles of conservation interest. Aquat. Conserv. **13**: 21-34.

Hardersen, S., 2000. The role of behavioural ecology of damselflies in the use of fluctuating asymmetry as a bioindicator of water pollution. Ecol. Entomol. **25**: 45-53.

Hardersen, S. and S.D. Wratten, 1998. The Effects of Carbaryl Exposure of the Penultimate Larval Instars of *Xanthocnemis Zealandica* on Emergence and Fluctuating Asymmetry. Ecotoxicology **7**: 297-304.

Hardersen, S., S.D. Wratten and C.M. Frampton, 1999. Does carbaryl increase fluctuating asymmetry in damselflies under field conditions? A mesocosm experiment with *Xanthocnemis zealandica* (Odonata: Zygoptera). J. Appl. Ecol. **36**: 534-543.

Hogg, I.D., Eadie, J.M., Williams, D., Turner, D., 2001. Evaluating fluctuating asymmetry in a stream-dwelling insect as an indicator of low-level thermal stress: a large-scale field experiment. J. Appl. Ecol. **38**: 1326-1339.

Hutchinson, G.E., 1957. Concluding remarks. Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology **22**: 415-427.

Kefford, B.J., 1998. The relationship between electrical conductivity and selected macroinvertebrate communities in four river systems of southwest Victoria, Australia. Int. J. Salt Lake Res. **7**: 153-170.

Kefford, B.J., P.J. Papas and D. Nugegoda, 2003. Relative salinity tolerance of macroinvertebrates from the Barwon River, Victoria, Australia. Mar. Freshwater Res. **54**: 755-765.

Leary, R.F. and F.W. Allendorf, 1989. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. TREE **4**: 214-217.

Leland, H.V. and S.V. Fend, 1998. Benthic invertebrate distributions in the San Joaquin River, California, in relation to physical and chemical factors. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **55**: 1051-1067.

Leung, B. and M.R. Forbes, 1997. Fluctuating asymmetry in relation to indices of quality and fitness in the damselfly, *Enallagma ebrium* (Hagen). Oecologia **110**: 472-477.

Møller, A.P. and J.P. Swaddle, 1997. Asymmetry, Developmental Stability and Evolution. Oxford University Press, Oxford, pp. 291.

Mpho, M., G.J. Holloway and A. Callaghan, 2001. A comparison of the effects of organophosphate insecticide exposure and temperature stress on fluctuating asymmetry and life history traits in *Culex quinquefasciatus*. Chemosphere **45**: 713-720.

Munoz, I. and N. Prat, 1994. Macroinvertebrate community in the lower Ebro River (NE Spain). Hydrobiologia **286**: 65-78.

Palmer, A.R., 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In T. A. Markow (ed.), 'Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications'. Kluwer, Dordrecht, pp. 335-364.

Palmer, A.R. and C. Strobeck, 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. Ann. Rev. Ecol. Syst. **17**: 391-421.

Palmer, A. R. and C. Strobeck, 2003. Fluctuating asymmetry analyses revisited. In M. Polak (ed.), 'Developmental instability: causes and consequences'. Oxford University Press, Oxford, pp. 279-319.

Parsons, P.A., 1992. Fluctuating asymmetry : a biological monitor of environmental and genomic stress. Heredity **68**: 361-364.

Piscart, C., A. Lecerf, P. Usseglio-Polatera, J.C. Moreteau and J.N. Beisel, 2005. Biodiversity patterns along a salinity gradient, The case of net-spinning caddisflies. Biodivers. Conserv. **14**: 2235-2249.

Piscart, C., J.C. Moreteau, J.C. and J.N. Beisel, *In press*. Biodiversity and structure of macroinvertebrate communities along a small permanent salinity gradient, Meurthe River, France. Hydrobiologia.

Rantala, M.J., J. Koskimäki, J. Taskinen and K. Tynkkynen, 2000. Immunocompetence, developmental stability and wingspot size in the damselfly *Calopteryx splendens* L. P. Roy. Soc. Lond. B Bio. **267**: 2453-2457.

Schütte, C. and L. Schrimpf, 2002. Explaining species distribution in running water systems: larval respiration and growth of two *Calopteryx* species (Odonata, Zygoptera). Arch. Hydrobiol. **153**: 217-229.

Servia, M.J., F. Cobo and M.A. González, 2004. Multiple-Trait Analysis of Fluctuating Asymmetry Levels in Anthropogenically and Naturally Stressed Sites: A Case Study Using *Chironomus Riparius* Meigen, 1804 Larvae. Environ. Monit. Assess. **90**: 101-112.

Sokal, R.R. and F.J. Rohlf, 1995. Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. Freeman, New York, pp.887.

Williams, D.D., N.E. Williams and Y. Cao, 1999. Road salt contamination of groundwater in a major metropolitan area and development of a biological index to monitor its impact. Water Res. **34**: 127-138.

Williams, W.D., 1987. Salinisation of rivers and streams: An important environmental hazard. Ambio **16**: 181-185.

Figure 1. Range of monthly abundances (Mean ± SE) of *H. contubernalis*, *H. exocellata* and *C. splendens* sampled along a salinity gradient.

Figure 2. Mean scores of FA17 ($\Sigma|\ln(Rj) - \ln(Lj)|$/number of traits) with standard error for *H. contubernalis* (striped bars), *H. exocellata* (black bars) and *C. splendens* (open bars) and three sites, DAM, St NIC and ART (mean salinity of 0.21, 1.37 and 2.60 $g.L^{-1}$ respectively).

Table 1. Discriminant analysis of the three sites as a function of eight chemicals variables. (a) Wilks' λ, approximate F-value and P-value for univariate tests of each variable include in the model. (b) Multivariate statistic to determine whether sites differed as a function of the variables included in (a).

(a) Variables	Wilks' λ	F-value	P-value
Salinity ($mg.L^{-1}$)	0.54	134.9	<0.0001
Temperature (°C)	0.04	0.03	0.979
pH	0.04	1.10	0.351
Dissolved O_2 ($mg.L^{-1}$)	0.05	3.63	0.045
Organic N	0.04	1.08	0.358
Dissolved P ($mg.L^{-1}$)	0.04	0.35	0.711
COD ($mg.L^{-1}$)	0.04	2.01	0.160
Suspend. matter ($mg.L^{-1}$)	0.04	1.23	0.314
(b) Statistic	0.036	10.5	< 0.0001

Table 2. Values of the eight measurements (2002) of physical and chemical parameters (mean ± SD) at the three sampling sites. The last two columns present *P*-values from Tuckey HSD post hoc tests following individual one-way ANOVAs testing between sites chemical differences.

	DAM (1)	ST NIC (2)	ART (3)	**Post-hoc comparison: p-value**		
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	*(1) vs (2)*	*(2) vs (3)*	*(1) vs (3)*
Salinity ($mg.L^{-1}$)	0.21 ± 0.02	1.36 ± 0.4	2.63 ± 0.48	0.0001	0.0001	0.0001
Temperature (°C)	13.5 ± 6.8	15.1 ± 7.2	15.1 ± 7.2	0.00018	ns (p=0.97)	0.0002
pH	7.7 ± 0.4	8.0 ± 0.4	8.1 ± 0.4	0.006	ns (p=0.39)	0.0005
Dissolved O_2 ($mg.L^{-1}$)	8.5 ± 1.5	8.3 ± 2.2	8.5 ± 2.2	ns (p=0.70)	ns (p=0.65)	ns (p=0.99)
Organic N	0.61 ± 0.31	0.86 ± 0.42	0.94 ± 0.3	0.018	ns (p=0.55)	0.001
Dissolved P ($mg.L^{-1}$)	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.03	0.06 ± 0.02	ns (p=0.30)	ns (p=0.84)	ns (p=0.60)
COD ($mg.L^{-1}$)	15.1 ± 3.3	16.9 ± 2.3	17.9 ± 4.6	ns (p=0.10)	ns (p=0.43)	0.007
Suspend. matter ($mg.L^{-1}$)	12.5 ± 6.8	16.1 ± 7.7	14.4 ± 4.9	ns (p=0.07)	ns (p=0.53)	ns (p=0.44)

Table 3. Results of the two-way mixed model ANOVAs (sites X traits) on the |ln(R)-ln(L)| values and a one-way ANOVAs on the FA17 values. These analyses were applied for each trait and three sites (DAM, STNIC, ART).

Species		df	F	Minimal p value
H. contubernalis	Sites	2	0.575	0.56
	traits	6	55.79	<0.0001
	FA17	2	0.453	0.637
H. exocellata	sites	2	8.07	0.003
	traits	6	40.71	<0.0001
	FA17	2	7.519	0.0009
C. splendens	sites	2	1.026	0.435
	traits	2	1.107	0.333
	FA17	2	2.216	0.3002

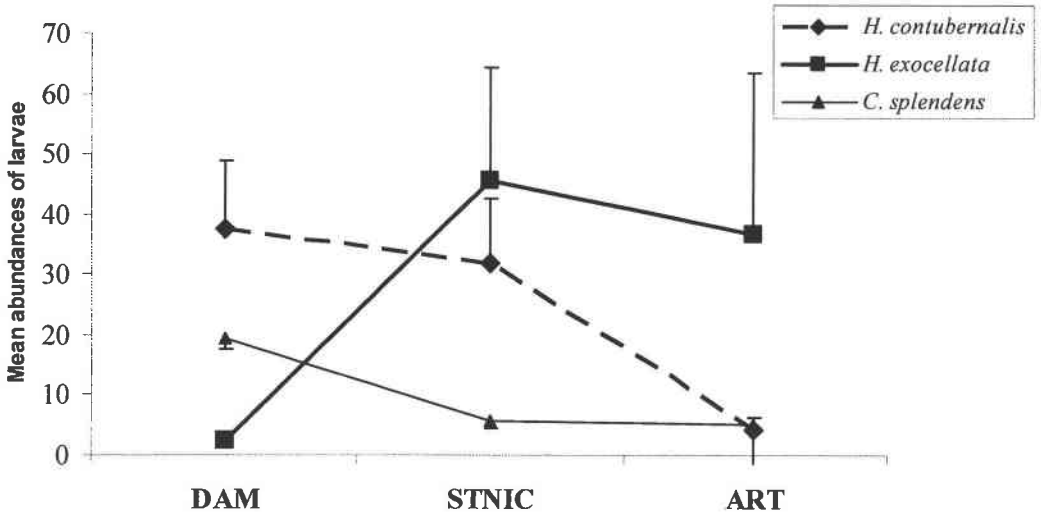


Figure 1. Piscart *et al.*

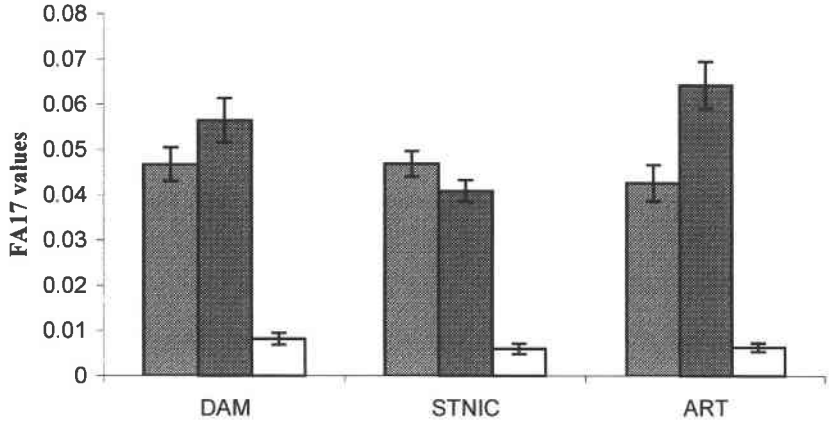


Figure 2 : Piscart

Annexe X: Decrease of fluctuating asymmetry among larval instars in an aquatic, holometabolous insect.

Diminution de l'asymétrie fluctuante entre les stades larvaires chez in insecte aquatique holométabole.

Piscart, C.; Moreteau, J.C. et Beisel, J.N.

Comptes Rendus de biologie, soumis en 2005.

Résumé

L'utilisation de l'asymétrie fluctuante (AF) pour réveler un stress environnemental chez des populations naturelles a fait l'objet de nombreuses études au cours de la dernière décenie. Dans les écosystèmes aquatiques, de nombreuses investigations ont concerné des insectes amphibiotiques ayant des stades de développement larvaire en eaux douces. Pour expliquer l'importante variabilité des résultats de ces études, nous avons étudié le niveau d'AF chez une population naturelle d'*Hydropsyche exocellata* (Insecte: Trichoptère) et ceux-ci pour quatre stades de développement, du premier stade larvaire à l'adulte. Le niveau d'AF diminue entre les stades larvaires mais reste constant entre le dernier stade larvaire et les adultes. La présence de mécanisme de croissance compensatoire ou l'élimination des individus asymétriques par la sélection naturelle sont les deux hypothèses qui pourraient expliquer cette observation.

Mots clés: asymétrie fluctuante, salinité, population naturelle, *Hydropsyche exocellata,* développement holométabole.

Abstract

The use of fluctuating asymmetry (FA) to reveal environmental stress in natural populations has been investigated extensively over the past decade. In aquatic ecosystems, many investigations involve amphibiotic insects with a larval development stages in freshwater. To explain the important variability in study results, we investigated the FA level of a natural *Hydropsyche exocellata* (Insecta: Trichoptera) population at four different stages, from first larval instar to adult. The level of FA decreased between larval stages, but remained constant between the last larval instar and the adult. The presence of a compensational growth mechanism or the elimination of asymmetric individuals by natural selection are two hypotheses that could explain this observation.

Key words: Fluctuating asymmetry, salinity, natural population, *Hydropsyche exocellata,* holometabolous development.

1. Introduction

Fluctuating asymmetry (FA) is defined as small, random deviations from symmetry in bilaterally symmetrical characters [1]. FA is thought to be the outcome of developmental instability, the impressive expression of design due to perturbations during development [2, 3, 4]. Early interest in FA has been centered on its potential as an indicator of environmental stress [5, 6, 7, 8, 9]. FA has considerable appeal as an indicator because it is relatively easy to estimate and it can be used to measure the effect of multiple stressors in natural populations [10]. Indeed, Clarke [10] suggested that when an analysis of FA indicates no biological stress, it would be reasonable to assume that the population, and hence the ecosystem, is not being adversely affected. However, this assumption has been criticized [11, 12, 13], for example because it is difficult to separate genetic from environmental components in FA [5, 9, 10, 14, 15] or because measurement errors can lead to unsupported conclusions [16, 17, 18].

In aquatic ecosystems, studies concerning the influence of environmental stress on FA levels are scarce, generally concern aquatic insects [15, 19, 20, 21] and have widely varying results. Hence, Mpho *et al.* [20] showed that exposure to an insecticide at varying temperatures induced significant FA in *Culex quinquefasciatus* (Insect: Diptera) while Hogg *et al.* [15] could not highlight an increase in FA level in *Nemoura trispinosa* (Insect: Plecoptera) subjected to temperature increases. Bonada & Williams [21] studied the impact of anthropogenic pollution on certain Ontarian rivers over a 48-year period and found a positive correlation between *Hydropsyche morosa* (Trichoptera: Hydropsychidae) FA and an increase in conductivity or nitrogen or chloride concentrations. However, only four of the twelve traits measured showed that responses were significantly, and positively correlated with increasing incidence of FA. Among the possible causes of such varied results, one hypothesis suggests that the developmental mechanism which establishes symmetry or asymmetry is based on feedback from the left and right sides of symmetrical organs [22, 23], but empirical data showing feedback regulation are inconclusive. Three studies measuring FA at successive stages of the same individuals pointed to a decrease in asymmetry over time, and thus suggested possible feedback regulation [23, 24, 25], while three other studies did not find similar patterns [26, 27, 28]. Concerning insects, Klingenberg & Nijhout [24] demonstrated the existence of different systems regulating the growth of symmetric structures

or regions in *Precis coenia* (Lepidoptera: Nymphalidae) and Servia *et al.* [25] showed such a mechanism in *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae).

The aim of our study was to characterise the evolution of FA during larval development in a natural population of *Hydropsyche exocellata* (Trichoptera: Hydropsychidae), a species belonging to one of the most cosmopolitan genera of aquatic insects, and to be able to highlight the effect of certain environmental stress [29]. Two main hypotheses to explain our results are discussed and advice about the use of FA to evaluate environmental stress on natural insect populations is given.

2. Material and methods

2.1 Hydropsyche exocellata sampling

We used three different larval instars and adult individuals of a natural population of *H. exocellata* sampled in 2003 in the Meurthe River, a sixth-order stream tributary of the Moselle River, in northeastern France. The study area is a perennial-flow section, located upstream from the city of Nancy (48°41'52''N, 6°11'14''E). A preliminary analysis based on 500 larvae collected in 2002 was done to determinate the five instars. The length and width of each individual's head capsule were measured to the nearest 0.01 mm using a stereomicroscope fitted with an eyepiece micrometer. The Bhattacharya method [30] was used to separate the length-frequency distribution into cohorts, with each cohort being defined as those individuals of the same larval instar.

To study the FA variation, larvae were collected in June and September 2003 using artificial substrates (six-litre plastic boxes filled with pebbles). *H. exocellata* is bivoltine (two generations per year) in this part of France [31] with adult emergence occurring from May to late July. According to the biology of the species, 5th instar larvae were collected in June, while 1st and 3rd instar larvae were sampled in September. Adults were collected in July with a Jermy-type light trap installed on the bank. An additional sample was collected using a butterfly net in the lighted area around the trap. All individuals were preserved in 70% ethanol and taken to the laboratory for measurement.

2.2 Measurement of fluctuating asymmetry

To measure FA levels, three pairs of legs were cut off each specimen to the basal end under a stereomicroscope and placed between two microscope slides. Each slide was positioned on a

stereomicroscope coupled with a high-resolution CCD analogical video camera (IAC 500 of i2S™). The image was displayed on a computer equipped with Scion Image software (Scion Corporation™) to measure the maximum right (R) and left (L) length of the six traits. Because the FA level is generally in the order of a few percent [17], it is essential to have an accurate estimate of the measurement error. In this study, three blind measurements were made to check the accuracy of the procedure.

2.3 Statistical analysis

The statistical analysis was consistent with the procedure initially proposed by Palmer [32] and improved by Palmer & Strobeck [33]. The data were inspected for robustness and statistically significant outliers were rejected before conducting later analyses. Two individuals presenting significant aberrant values for trait size or asymmetry were also rejected.

A first step to investigating FA variations in detail was to test the absence of anti-symmetry and directional symmetry. A Kolmogorov-Smirnov statistic was used to test the normality of the (R-L) values, traducing an anti-symmetry. The absence of directional asymmetry was tested with a T-test comparing the mean (R-L) to zero. The second step was to test the measurement error. To have any hope of detecting meaningful differences in FA among groups, the between-sides differences due to FA must be shown to be significantly greater than the between-sides differences due to measurement error (ME). To test this, a two-way ANOVA (Sides x Individuals) on untransformed replicate measurements for each trait and each site was conducted. ME was estimated using the ME3 descriptor and the measure repeatability with the ME4 descriptor of Palmer & Strobeck (2003), estimated from the previous ANOVA.

FA10b of Palmer & Strobeck (2003) $0.798\sqrt{2\sigma i^2}$ where $\sigma_i = (MS_{sj} - MS_m)/M$ = the estimated underlying developmental instabilities of a given side of individual *i*, and MS_{sj} = Side x Individual interaction and MS_m = measurement error, M = number of replicate measurements per side, from a Sides x Individual ANOVA on log transformed replicate measurements ln(R) and ln(L).

Finally, an ANOVA was also performed to verify the heterogeneity of variance of relative FA ([|R-L|/(R+L/2)]). Changes in relative FA of each trait were investigated with a post-hoc analysis based on the Tukey's HSD test.

3. Results

A total of 120 larvae and 37 *H. exocellata* adults (17 males and 20 females) were collected. For each trait, results of the two-way ANOVAs on repeated measurements (Sides x Individual) confirmed that between-sides variations were highly significant and greater than expected due to measurement error ($p<0.0001$). Kolmogorov-Smirnov tests on signed (R-L) differences showed that trait asymmetries were normally distributed ($p>0.05$) and T-tests revealed that asymmetry means did not differ significantly from zero ($p\leq0.05$). These analyses clearly showed the absence of both directional asymmetry and anti-symmetry, and the occurrence of FA in each trait for each developmental stage. No relationship was found between FA and trait lengths (Pearson's correlation, Spearman's correlation, $p>0.05$) except for the length of femur 1 in the fifth instar (Spearman's correlation, $p=0.033$) and the tibia in the first instar (Spearman's correlation, $p=0.027$). Femur FAs did not depend on femur size for either groups or traits. Similarly, tibia FAs did not depend on tibia size for either instar or other traits. After applying a sequential Bonferroni correction for multiple tests, no association remained significant.

Descriptor ME3 [33] expresses the average difference between replicate measurements as a percent of average difference between sides. This error variance differed between traits or groups and ranged only from 1.4 to 15.9 % (Table 1) which represents a small fraction of the between-sides variance. The ME4 descriptor [33] expresses FA variation as a proportion of the total between-sides variation. This descriptor is simply a different way of measuring repeatability. The repeatability (ME4) of our results was very high with values from 65.9 to 99.3 % (Table 1).

FA values are presented in Figure 1; the highest FA was observed in the first instar larvae and the lowest values in the fifth instar and the adults. We found a significant difference between the FA values of each group (Table 2, ANOVA, $F=3.53$, $p=0.0335$). Furthermore, individual FA decreased significantly after the third instar (t test for paired samples, $p=0.0031$).

Results of the second ANOVAs on the values of relative FA ([|R-L|/(R+L/2)]) confirm that most of the FA of each trait differed significantly between groups (Table 3). However, the FA level between the first and third instars and between the last instar and the adults were not significantly different (Table 3). The highest FA values were obtained for the first or third instar larvae while the lowest values were observed in the fifth instar larvae and the adults, except for the length of the first-leg's tibia and the second-leg's femur (Table 2).

4. Discussion

Fluctuating asymmetry could potentially offer advantages as a bioindicator of environmental stress because it is relatively easy to estimate and it can be used to measure the effects of multiple stressors in natural populations [10]. Over the past decade, many studies have been concerned with the improvement of FA analysis for use as a biomonitoring tool for environmental stress or perturbation. Numerous studies emphasized the measurement errors [14, 16, 17, 18, 34] and we adopted a rigorous and approved statistical method [32, 33]. We found a very low contribution of measurement error to FA variation and a high repeatability of our measurements. In FA analysis, the choice of traits is an essential step that has been widely studied [32, 33, 35, 36, 37, 38]. Several studies have shown that multiple traits provide a better approach for assessing stress effects [6, 32, 39, 40, 41]. However, the actual FA evolution process during development has received relatively little attention.

In our study, we found differences in FA according to the larval and adult stages indicating that asymmetry interacts with the larval development of *H. exocellata*. We observed a clear decrease in FA during larval development and a stabilization of FA level between the last larval instar and the adult stages. We suggest two hypotheses to explain this observation. The first hypothesis is that a feedback mechanism of compensational growth between left and right sides of characters [22, 23, 24, 25] exists. This mechanism of compensational growth could restore symmetry as traits reach their final growth stages. Our results are not fully in accordance with this hypothesis, considering that we observed a decrease in asymmetry only between the first two larval instars and not between the last two. Furthermore, the adult FA level is relatively important. *H. exocellata* is a holometabolous insect, as are all Trichoptera, and thus presents a real nymph stage before adult emergence. During this stage, the development of adult organs causes a profound reorganization of the insect's morphology. The presence of a compensational growth mechanism could correct asymmetry during this step and adults would be less asymmetric than larvae. We could not exclude the presence of compensational growth, but it seemed to play a marginal role in the asymmetry of our natural *Hydropsyche* population.

The second hypothesis is that there is natural selection of larvae which exhibit an important level of asymmetry. We may suppose that some larvae presenting extreme asymmetry didn't survive and only larvae with moderate asymmetry could achieve their development. It is well known that an important link exists between FA and survival (see [8] for a review). For

Hydropsychid larvae, several causes could explain this selection such as larval drift downstream or increased predation on these larvae. *Hydropsyche* larvae have a particular diet consisting of suspended organic matter and tiny organisms captured in a net. Asymmetric larvae may have some problems with net-spinning. Several authors observed that hydropsychid larvae nets are modified when larvae have been subjected to environmental stress [42]. However, no study could link the FA of larvae and the net spinning. The absence of change in FA level between the last larvae instar and adults may corroborate this hypothesis. In fact, the nymph is characterized by a stationary, non-feeding stage when larvae are enclosed in a cocoon fixed to the substrate. During this period, natural selection is reduced and the FA level is thus stabilized. Furthermore, larvae don't feed during the nymph instar. As a consequence, we postulate that in natural populations, the hypothesis of natural selection is more likely to influence the change of asymmetry throughout larval development. Considering our results, we recommend that researchers use the younger instars first, rather than adults or older instars which tend to underestimate the FA level in a natural population.

Acknowledgements

We thank Richard Palmer for his helpful comments on an earlier version of this paper.
This study was supported by the French Ministry of Ecology and Sustainable Development (Ministère de l'Ecologie et du Développement durable) as part of the 2001-2003 Biodiversity program.

References

[1] L. Van Valen, A study of fluctuating asymmetry. Evolution 16 (1962) 125-142.

[2] A.R. Palmer, C. Strobeck, Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: implications of non-normal distributions and power of statistical tests. Acta Zool. Fenn. 191 (1992) 57-72.

[3] D. Houle, A simple model between asymmetry and developmental stability. J. Evol. Biol. 13 (2000) 720-730.

[4] S.W. Gangestad, R. Thornhill, Fluctuating asymmetry, developmental instability and fitness: toward model-based interpretation. In: Polak, M. (ed.), Developmental Instability: Causes and Consequences, Oxford University Press, Oxford, 2003 pp. 62-80.

[5] A.R. Palmer, C. Strobeck, Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. Annu. Rev. Ecol. Syst. 17 (1986) 391-421.

[6] R.F. Leary, F.W. Allendorf, Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. Trends Ecol. Evol. 4 (1989) 214-217.

[7] P.A. Parsons, Fluctuating asymmetry: an epigenic measure of stress. Biol. Rev. 65 (1990) 131-145.

[8] G.M. Clarke, Relationships between developmental stability and fitness: application for conservation biology. Conserv. Biol. 9 (1995) 18-24.

[9] A.P. Møller, J.P. Swaddle, Asymmetry, Developmental stability, and Evolution. Oxford University Press, Oxford, 1997.

[10] G.M. Clarke, Fluctuating asymmetry of invertebrate populations as a biological indicator of environmental quality. Environ. Pollut. 82 (1993) 207-211.

[11] B. Leung, M.R. Forbes, Fluctuating asymmetry in relation to indices of quality and fitness in the damselfly, *Enallagma ebrium* (Hagen). Oecologia 110 (1997) 472-477.

[12] T.A. Bjorksten, K. Fowler, A. Pomiankowski, What does sexual trait FA tell us about stress? Trends Ecol. Evol. 15 (2000) 163-166.

[13] B. Leung, L. Knopper, P. Mineau, A critical assessment of the utility of fluctuating asymmetry as a biomarker of anthropogenic stress. In: Polak, M. (ed.), Developmental Instability: Causes and Consequences, Oxford University Press, Oxford, 2003 pp. 415-425.

[14] M. Whitlock, The heritability of fluctuating asymmetry and the genetic control of developmental stability. Proc. R. Soc. Lond. B 263 (1996): 849-854.

[15] I.D. Hogg, J.M. Eadie, D. Williams, D. Turner, Evaluating fluctuating asymmetry in a stream-dwelling insect as an indicator of low-level thermal stress: a large-scale field experiment. J. Appl. Ecol. 38 (2001) 1326-1339.

[16] J. Merilä, M. Björklund, Fluctuating asymmetry and measurement error. Syst. Biol. 44 (1995) 97-101.

[17] A.R. Palmer, From symmetry to asymmetry: Phylogenetic patterns of asymmetry variation in animals and their evolutionary significance. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 (1996) 14279-14286.

[18] S. Van Dongen, G. Molenberghs, E. Matthysen, The statistical analysis of fluctuating asymmetry: REML estimation of a mixed regression model. J. Evol. Biol. 12 (1999) 94-102.

[19] S. Hardersen, S.D. Wratten, C.M. Frampton, Does carbaryl increase fluctuating asymmetry in damselflies under field conditions? A mesocosm experiment with *Xanthocnemis zealandica* (Odonata: Zygoptera). J. Appl. Ecol. 36 (1999) 534-543.

[20] M. Mpho, G.J. Holloway, A. Gallaghan, A comparison of the effects of organophosphate insecticide exposure and temperature stress on fluctuating asymmetry and life history traits in *Culex quinquefasciatus*. Chemosphere 45 (2001) 713-720.

[21] N. Bonada, D.D. Williams, Exploration of the utility of fluctuating asymmetry as an indicator of river condition using larvae of the caddisfly *Hydropsyche morosa* (Trichoptera: Hydropsychidae). Hydrobiologia 481 (2002) 147-156.

[22] J.H. Graham, D.C. Freeman, J.M. Emlen, Antisymmetry, directional asymmetry, and dynamic morphogenesis. Genetica 89 (1993) 121-137.

[23] J.P. Swaddle, M.S. Witter, On the ontogeny of developmental stability in a stabilized trait. Proc. R. Soc. Lond. B 264 (1997) 329-334.

[24] C.P. Klingenberg, H.F. Nijhout, Competition among growing organs and developmental control of morphological asymmetry. Proc. R. Soc. Lond. B 265 (1998) 1135-1139.

[25] M.J. Servia, F. Cobo, M.A. Gonzalez, Ontogeny of individual asymmetries in several traits of larval *Chironomus riparius* Meigen, 1804 (Diptera, Chironomidae). Can. J. Zool. 80 (2002) 1470-1479.

[26] A.K. Chippindale, A.R. Palmer, Persistence of subtle departures from symmetry over multiple molts in individual brachyuran crabs: relevance to developmental stability. Genetica 89 (1993) 185-199.

[27] A.P. Møller, Development of asymmetry in tail feathers of the barn swallow *Hirundo rustica*. J. Evol. Biol. 9 (1996) 677-694.

[28] J.M. Aparicio, Patterns of fluctuating asymmetry in developing primary feathers: a test of the compensational growth hypothesis. Proc. R. Soc. Lond. B 265 (1998) 2353-2357.

[29] N. Bonada, S. Vives, M. Rieradevall, N. Prat, Relationship between pollution and fluctuating asymmetry in the pollution-tolerant caddisfly *Hydropsyche exocellata* (Trichoptera, Insecta). Arch. Hydrobiol. 162 (2005) 167-185

[30] C.G. Bhattacharya, A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. Biometrics 23 (1967) 115-135.

[31] H. Tachet, M. Bournaud, Cycles biologiques des Hydropsychidae et d'un Polycentropodidae (Trichoptera) dans le Rhône en amont de Lyon. Series Entomologica 20 (1981) 347-364.

[32] A.R. Palmer, Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In: Markow, T. A. (ed.), Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications, Kluwer, Dordrecht, 1994, pp. 335-364.

[33] A.R. Palmer, C. Strobeck, Fluctuating asymmetry analyses revisited. In: Polak, M. (ed.), Developmental Instability: Causes and Consequences, Oxford University Press, Oxford, 2003 pp. 279-319.

[34] S. Van Dongen, L. Lens, Symmetry, size and stress. Trends Ecol. Evol. 15 (2000) 330-331.

[35] M.S. Sullivan, P.A. Robertson, N.A. Aebischer N.A., Fluctuating asymmetry measurement. Nature 361 (1993) 409-410.

[36] L. Leamy, Morphological integration of fluctuating asymmetry in the mouse mandible. Genetica 89 (1993) 139-153.

[37] C.P. Klingenberg, S.D. Zaklan, Morphological integration between developmental compartments in the *Drosophila* wing. Evolution 54 (2000) 1273-1285.

[38] C.P. Klingenberg, A developmental perspective on developmental instability: theory, models, mechanisms. In: Polak, M. (ed.), Developmental Instability: Causes and Consequences, Oxford University Press, Oxford, 2003 pp. 14-34.

[39] B. Leung, M.R. Forbes, D. Houle, Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: Comparing efficacy of analyses involving multiple traits. Am. Nat. 155 (2000) 101-115.

[40] A.A. Hoffmann, R.E. Woods, Trait variability and stress: canalization, developmental stability and the need for a broad approach. Ecol. Lett. 4 (2001) 97-101.

[41] A.A. Hoffmann, R.E. Woods, Associating Environmental stress with dervelopmental stability: problems and patterns. In: Polak, M. (ed.), Developmental Instability: Causes and Consequences, Oxford University Press, Oxford, 2003 pp. 387-401.

[42] L.B.M. Petersen, R.C. Petersen, Anomalies in hydropsychid capture nets from polluted streams. Fresh. Biol. 13 (1983) 185-192.

Figure Captions

Figure 1. Fluctuating asymmetry level (mean ± SE) obtained with the FA10b index ($0.798\sqrt{2\sigma i^2}$) of each group of *Hydropsyche exocellata* collected in the Meurthe River in 2003.

Table 1. Measurement error (ME3) and repeatability (ME4) calculated from results of the two-way mixed model ANOVAs (Sides x Individuals) on untransformed repeated measurements for six traits: femur length and tibia length of the first leg (FL1, TL1), the second leg (FL2 and TL2) and the third leg (FL3, TL3) for each group of *Hydropsyche exocellata* (see [33], for a complete explanation of the statistical approach).

Index	Group	*n*	FL1	TL1	FL2	TL2	FL3	TL3
ME3 (%)	1st instar larvae	40	8.3	9.8	4.8	8.2	12	7.2
	3rd instar larvae	40	7.3	3.8	6.7	9.3	6.5	5.2
	5th instar larvae	40	3.0	7	3.2	3.1	1.4	6.0
	Adults	37	1.7	8.6	7.3	15.9	2.2	2.1
ME4 (%)	1st instar larvae	40	93.2	84.8	92.4	87.3	90.1	87.3
	3rd instar larvae	40	81.5	67.3	89.3	65.9	87.7	73.0
	5th instar larvae	40	98.1	92.0	97.1	95.0	98.3	94.4
	Adults	37	99.1	91.9	95.4	90.6	99.3	98.3

Table 2. Relative FA ([|R-L|/((R+L)/2]*100) (mean ± SD) calculated for six traits: femur length and tibia length of the first leg (FL1, TL1), the second leg (FL2 and TL2) and the third leg (FL3, TL3) for each group of *Hydropsyche exocellata.*

	TL1	FL1	TL2	FL2	TL3	FL3
1st instar larvae (%)	2.7 ± 2.0	4.4 ± 3.3	3.5 ± 2.9	5.3 ± 3.9	4.8 ± 4.0	4.6 ± 4.5
3rd instar larvae (%)	3.0 ± 2.2	2.1 ± 1.7	2.1 ± 2.0	6.2 ± 5.0	3.7 ± 3.2	3.9 ± 3.8
5th instar larvae (%)	1.5 ± 1.8	2.1 ± 2.7	2.1 ± 2.3	3.4 ± 3.4	2.7 ± 2.9	2.9 ± 2.3
Adults (%)	2.2 ± 1.9	3.9 ± 3.0	2.4 ± 2.4	2.7 ± 1.8	1.9 ± 1.7	2.3 ± 1.7

Table 3. Results of the Tukey's HSD tests following the ANOVA II (Traits x Instars) on the relative FA ([|R-L|/(R+L/2)]) values. These analyses were applied for six traits: femur length and tibia length of the first leg (FL1, TL1), the second leg (FL2 and TL2) and the third leg (FL3, TL3) for each group of *Hydropsyche exocellata.*

	1st instar larvae	3rd instar larvae	5th instar larvae	Adults
1st instar larvae	-			
3rd instar larvae	N.S.	-		
5th instar larvae	<0.0001	0.0136	-	
Adults	<0.0001	0.0289	N.S.	-

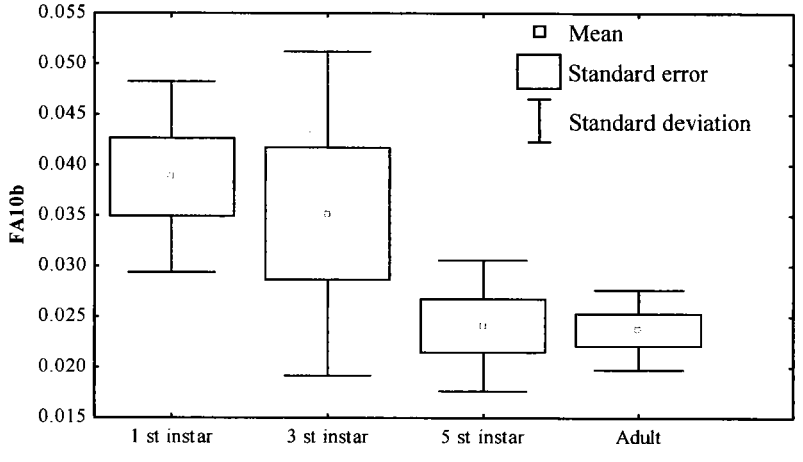


Figure 1.

Piscart *et al.*

Résumé

Un intérêt croissant est porté aux conséquences des modifications du climat et de la température sur les milieux aquatiques continentaux. Une augmentation de la salinité des eaux est envisagée dans un contexte de changements globaux, due en particulier à l'augmentation de l'évaporation, la remonté du niveau marin et des aquifères souterraines, les changements d'occupation des sols et les processus d'érosion des bassins versants. Malgré cette perspective, le rôle de la salinité dans les écosystèmes d'eaux douces est mal connu, en particulier en niveau d'écosystèmes situés en climat tempéré. L'objectif principal de ce travail doctoral est de contribuer à une meilleure connaissance du rôle et des conséquences de l'augmentation de la salinité sur la faune des eaux. Des spécificités régionales ont permis d'étudier *in situ*, le rôle de la salinité dans la régulation de la biodiversité des communautés de macroinvertébrés d'une rivière, la Meurthe, présentant sur une faible distance géographique (environ 19 Km) un important gradient de salinité (0,2 à 2,6 $g.L^{-1}$).

La première partie de ce travail documente nos connaissances sur l'évolution des communautés de macroinvertébrés le long du gradient de salinité en terme de biodiversité et de structure mais aussi en termes de caractéristiques bio/écologiques des peuplements macrobenthiques. L'impact de la salinité a été mis en évidence à partir d'une concentration en sels supérieure à 1,4 $g.L^{-1}$ avec, notament, l'installation d'espèces exotiques. Dans une seconde partie, des études aux niveaux populationnel et individuel ont permis d'expliquer les changements observés à l'échelle communautaire, notamment par l'intermédiaire de tests de tolérance à la salinité réalisés en conditions contrôlées sur 60 taxons appartenant à l'ensemble des groupes faunistiques. Plusieurs outils diagnostiques tels que l'utilisation d'habitats sentinelles et de substrats artificiels adaptés à l'étude de la salinisation ont été développés au cours de ce travail. Des investigations originales ont également été réalisées sur la possibilité d'utiliser des mesures d'asymétrie fluctuante en tant qu'indicateur d'instabilité de développement des populations naturelles soumises à un stress salin.

Abstract

One of the consequences of the climat changes and rising temperatures on continental aquatic environments will be an increase their salinity levels. This salinization process is due to multiple factors such as an increase of evaporation, a rise of the sea level and the subterranean aquifers or a change of land use and erosonial process of drainage basins. In spite of its importance, the role of the salinity in freshwater ecosystems is poorly known, in particular in temperate ecosystems. The main objective of this sudy is to improve our knowledge of the role and consequences of a rising salinity on the freshwater biota. A particular section of the Meurthe River allowed us to study on the field the role played by the salinity in the regulation of biodiversity of the macroinvertebrate community. This section of 19 Km presents a salinity gradient ranging from 0.21 to 2.60 $g.L^{-1}$.

The first part of this study document our knowledge on the change of macroinvertebrate communities along a salinity gradient in term of biodiversity and structure but also in terms of bio/ecological characteristics of macroinvertebrate assemblages. In the second part, the study is focused on the populationnal and individual scales to explain the observed changes in community scale, especially by using some laboratory tests of the salinity tolerance of 60 taxa belonging to all faunistic groups. From a practical point of view, we explored several bioassessment tools adapted to the study of salinization process such as the bused of sentinel substrate and artificial substrates. Some inovative investigations have also been realized on the use of fluctuating asymmetry to highlight developmental instabilities in natural population submitted to a salinity stress.