



Structure des populations sur un réseau hydrographique dendritique

Audrey Chaput-Bardy

► To cite this version:

Audrey Chaput-Bardy. Structure des populations sur un réseau hydrographique dendritique. Interactions entre organismes. Université d'Angers, 2008. Français. NNT : . tel-00353363

HAL Id: tel-00353363

<https://theses.hal.science/tel-00353363>

Submitted on 15 Jan 2009

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

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

STRUCTURE DES POPULATIONS SUR UN RESEAU HYDROGRAPHIQUE DENDRITIQUE

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : **Biologie des organismes**

Présentée et soutenue publiquement

le 24 juin 2008

à l'Université d'Angers

par Audrey Chaput-Bardy

Devant le jury ci-dessous :

Xavier VEKEMANS, Rapporteur, Président du jury, Professeur, Université de Lille 1.

Stéphanie MANEL, Rapporteur, Maître de Conférences HDR, Université Joseph Fourier à Grenoble.

Eric PETIT, Examineur, Maître de Conférences HDR, INRA/Agrocampus Rennes/Université de Rennes 1.

Directeur de Thèse : Alain PAGANO, Maître de Conférences HDR, Université d'Angers.

Co-encadrant : Jean SECONDI, Maître de Conférences, Université d'Angers.

Co-encadrant : Cyril FLEURANT, Maître de Conférences, INHP à Angers.

Directeur de Thèse de 2004 à 2006 : Thierry LODE, Professeur, Université d'Angers/Université de Rennes 1

Laboratoire Paysages et Biodiversité, UFR Sciences, 2 bd Lavoisier, 49045 ANGERS Cedex

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier les membres du Jury, Xavier Vekemans, Stéphanie Manel et Eric Petit d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse. Notamment, mes rapporteurs pour leurs critiques constructives.

Je remercie mon principal encadrant sur ce travail, Jean Secondi pour m'avoir suivi et aidé durant ces années. Ce fut un travail d'équipe efficace. Je remercie également Cyril Fleurant sans qui la réalisation de *Gene-Net* n'aurait pu être possible et qui a su m'encourager dès que j'en avais besoin. Merci à Alain Pagano pour avoir repris la direction de cette thèse et sans qui le travail n'aurait pu aboutir, il est également notre fournisseur officiel de plaques de chocolat et nous a aidé à positiver, ce qui ne fut pas une mince affaire !

Je remercie Christophe Lemaire et Damien Picard pour avoir partagé avec moi leurs connaissances en génétique des populations. De plus, Christophe Lemaire a aidé à la réalisation du programme *Gene-Net* et poursuivra le traitement des données génétiques avec moi.

Merci à Olivier Pays pour son aide précieuse lors des traitements statistiques et son humour caustique. Une chose est sûre Olivier est toujours de bon conseil !

Je tiens à remercier Arnaud Grégoire pour avoir gentiment accepté de travailler avec nous sur les analyses de dispersion.

Merci à Jean-Alexandre Gassani, qui malgré la fin de sa thèse, a pris le temps de m'aider à préparer mes analyses sur AQUASPLATCHE.

A Thierry Lodé qui a eu l'idée du sujet de thèse et a permis l'obtention d'une partie des financements.

Une mention spéciale pour Viviane Hardouineau et Stéphane Sourice pour leur bonne humeur, leur dynamisme et leur grande sagesse, ils m'ont apporté une aide technique et un profond soutien moral !

Merci à mes « collègues » et amis Jean-Christophe Bain, Virginie Ducrot, Line Fillonneau, Aurélie Husté, Aurélie Johanet, Anita Lebrec, Jérôme Legentil, Rozenn Le Hir, Adeline Loyau, Delphine Mollard et Virginie Népoux pour leur présence, leurs conseils et pour certains leur aide sur le terrain ou la rédaction.

Je remercie chaleureusement les stagiaires Amélie Beckerd, Carole Beuze, Virginie Dupont, Aude Houssaille, Delphine Lorber, Thomas Sire, Constance Xhaard, qui ont enduré des conditions de travail pas toujours faciles (passer 10 heures à marcher sous un soleil de plomb et à se faire piquer par les orties, les moustiques et les taons). Sans oublier mon « ex-voisin » et ami Roger Avoledo, l'attrapeur de libellules le plus rapide de l'ouest de la France !

Merci à Hélène Tricoire-Leignel pour m'avoir aidé à trouver une méthode de purification de l'ADN peu onéreuse et surtout pour sa gentillesse.

Merci à Guillaume Chapron, Eric D'Arlhac, Charline Retore, Alexandre Robert qui ont participé à l'avancement du programme *Gene-Net*.

Les analyses génétiques ont été réalisées à la Plateforme Ouest-Génopole, sur place j'ai reçu l'aide précieuse de Solène Coedel, Isabelle Le Goff, Sophie Paillard et Marie-Thérèse Pavoine.

Merci à Véronique Chureau qui a veillé sur moi depuis mon arrivée à l'université d'Angers.

Je remercie également les membres du laboratoire Paysages et Biodiversité ainsi que les membres des autres laboratoires au sein de l'université d'Angers comme Bruno Lapied, Erica Pagano, Didier Peltier, Fabrice Redois, Claudie Ricoult, Sandrine Travier, pour leur gentillesse et leurs conseils.

Je souhaite beaucoup de courage à Aurélie Johanet et Cécile Patrelle pour leur fin de thèse (ce sera bientôt votre tour de rédiger des remerciements !), et merci d'avoir été là pour partager nos soucis de boulot. Qui peut mieux comprendre un thésard qu'un autre thésard ?

Je remercie du fond du cœur ma famille pour leur soutien et leurs encouragements permanents et plus particulièrement ma mère et ma sœur qui ont toujours cru en moi, sans qui je n'aurais pas réussi à mener à bien mes études. Ma mère m'a toujours répété : « ça prendra le temps qu'il faudra mais l'important c'est que tu fasses ce que tu aimes. » et « quoique tu fasses, je serai toujours fière de toi ». Ça m'a pris plus de 8 années..., et ça a valu à ma mère d'élever un futur « chercheur précaire, chercheur en colère » et une artiste. Je sais que je lui dois tout et je ne la remercierais jamais assez de m'avoir poussé à faire un métier qui me passionne.

Enfin, je remercie Sylvain, ma moitié, pour m'avoir supporté durant la période difficile qu'est la fin de thèse. Il est mon « garde-fou »... Ou alors, il me drogue à mon insu.

Ce travail a été financé par la Région des Pays de la Loire, et une partie des analyses génétiques à la plateforme Ouest-Génopole a été financée par la Région Bretagne.

« Il vaut mieux mobiliser son intelligence sur des conneries que mobiliser sa connerie sur des choses intelligentes » (Devise Shadok).

SOMMAIRE

Contexte et objectifs de la thèse.....	1
Chapitre I	
Influence des caractéristiques des réseaux hydrographiques sur la dynamique et la génétique des populations d'espèces dulçaquicoles.....	5
Bassin versant : topologie des réseaux hydrographiques.....	5
Réseaux hydrographiques et écologie.....	7
Ecologie du paysage et génétique des populations.....	14
Simulation de la dispersion et du flux génique sur un réseau hydrographique artificiel.....	21
Fragilité et préservation des rivières.....	23
Le bassin de la Loire comme aire d'étude.....	24
Les insectes aquatiques comme modèle biologique : le cas du <i>Calopteryx splendens</i>	28
Distribution spatiale des adultes le long des cours d'eau chez <i>C. splendens</i>	31
Chapitre II	
Variations morphologiques chez <i>Calopteryx splendens</i> et gradients écologiques sur le bassin de la Loire.....	38
Article 1 : Morphological cline in dendritic landscape.....	39
Chapitre III	
Caractéristiques de dispersion et survie chez une demoiselle – implications sur la structure des populations à l'échelle du bassin.....	51
Article 2 : Dispersal and survival in a damselfly – implications for population structure in hydrographic networks.....	52
Chapitre IV	
Flux de gènes sur un réseau hydrographique chez un insecte aquatique.....	74
Article 3 : In-stream and overland dispersal across a river network influences gene flow in a freshwater insect, <i>Calopteryx splendens</i>	75
Chapitre V	
Gene-Net : un programme simulant la dispersion et le flux de gènes sur un réseau hydrographique artificiel.....	103
Article 4 : Gene-Net: an individual-based model to simulate dispersal and gene flow in synthetic river networks.....	104
Chapitre VI	

Conclusion générale et perspectives.....	114
Bibliographie.....	123

Contexte et objectifs de la thèse

Les réseaux hydrographiques sont des éléments complexes du paysage, car ils sont caractérisés par des habitats hétérogènes, des régimes de perturbations (inondations et sécheresses) et par une structure hiérarchique de type dendritique (dendros = arbre en Grec, ramifié). Non seulement ces caractéristiques influencent l'abondance et la distribution des organismes d'eau douce, mais aussi affectent les traits d'histoire de vie des populations (la survie, le développement des individus ou la dispersion). Les variations environnementales sur les réseaux hydrographiques peuvent être discrètes dans l'espace (types d'habitats) et le temps (inondations), ou graduelles (largeur des cours d'eau, courant et caractéristiques physico-chimiques de l'eau). Les gradients environnementaux résultent principalement de la dimension longitudinale entre l'amont et l'aval, alors que les variations discrètes sont liées à l'isolement des branches du réseau hydrographique. Par conséquent, chez les organismes d'eau douce, les processus écologiques tels que la dynamique des populations ou la dispersion et les processus génétiques, tel que le flux de gènes, vont dépendre de la structure du réseau hydrographique et des conditions environnementales du milieu.

Des études sur le fonctionnement des populations, sur les bassins versants, sont actuellement nécessaires afin de mieux comprendre comment les populations ou les individus répondent à la géométrie des réseaux hydrographiques. En effet, il est important de savoir sous quelles conditions la géométrie d'un réseau hydrographique et les variables environnementales associées influencent la dynamique et la différenciation génétique des populations.

Ce travail de recherche porte sur l'influence des caractéristiques des réseaux hydrographiques (la topologie et les conditions environnementales) sur les populations d'organismes inféodés au cours d'eau. Nous avons étudié (i) l'influence de la topologie du réseau hydrographique sur la dispersion et le flux de gènes, et (ii) l'effet des gradients environnementaux sur les traits phénotypiques liés à la dispersion chez un insecte aquatique. Afin de savoir (i) comment les déplacements le long et entre les branches du réseau hydrographique affectent la structure génétique des populations et (ii) quels sont les paramètres de l'habitat qui influencent la distribution et la taille des individus. Déterminer les variables environnementales facilitant ou limitant les déplacements des individus permet de mieux comprendre les patrons de dispersions et d'identifier les barrières aux flux de gènes.

Les objectifs de la thèse étaient :

1/ Au moyen d'une approche empirique – analyser les flux de gènes et la structure des populations à l'échelle d'un bassin versant de l'ampleur de celui de la Loire.

Pour répondre à cet objectif un insecte aquatique a été choisi comme modèle biologique. Le *Calopteryx splendens* est une demoiselle inféodée au cours d'eau de par son cycle de vie, les larves étant aquatiques. Il s'agit d'une espèce de libellule qui est commune en France. Les adultes aériens sont facilement identifiables et leurs déplacements sont limités. Cette espèce exploite deux types de milieu (aquatique et terrestre) et est capable de se déplacer dans deux dimensions (le long et entre les cours d'eau). Il a donc été analysé :

1.1. La variation morphologique des traits liés à la dispersion en fonction des caractéristiques environnementales.

1.2. La relation entre le phénotype et la dispersion des individus.

1.3. La structure génétique des populations et la mise en évidence des différents flux de gènes sur un réseau hydrographique.

Dans le cas d'une espèce dont la dispersion est limitée, contrainte par le nombre de ramifications du réseau et le sens unidirectionnel du courant, une structuration des populations en sous-bassins était attendue. De plus, le flux de gènes devrait avoir lieu principalement entre les populations les plus proches le long du cours d'eau (isolement par la distance en une dimension). Une différenciation génétique plus importante en tête de bassin était également attendue chez les populations isolées et fragmentées par le nombre de ramifications. Chez une espèce capable de disperser entre les cours d'eau, les attendus seront différents des précédents. Le flux de gènes peut se produire entre les populations les plus proches entre les cours d'eau (isolement par la distance en deux dimensions). Par conséquent, la structure géographique des populations à l'échelle du bassin hydrographique serait bouleversée.

2/ Au moyen d'une approche théorique – développer une application permettant d'explorer l'effet la géométrie des réseaux hydrographiques, en interaction avec les caractéristiques biologiques des espèces (démographie et dispersion), sur la structure génétique des populations.

Après un chapitre de synthèse sur les problématiques d'écologie du paysage et de génétique des populations sur les réseaux hydrographiques (Chapitre I), cette thèse s'articule autour de quatre chapitres complémentaires. Dans un premier temps (Chapitre II), les variations morphologiques ont été analysées à l'échelle du bassin versant afin de mettre en évidence une structuration potentielle des populations suivant la structure du réseau hydrographique. De plus, les variables environnementales qui affectent les traits phénotypiques des individus (morphologie) ont été déterminées, notamment ceux liés à la dispersion.

Dans un second temps (Chapitre III), une étude de capture-marquage-recapture a été réalisée. L'objectif était (i) de déterminer les paramètres démographiques (dispersion et survie) avant de les implémenter dans les simulations (Chapitre V) et de (ii) déterminer les facteurs influençant la dispersion chez les insectes aquatiques. L'étude s'est particulièrement concentrée sur les facteurs suivant : la taille, la survie et la densité des individus.

Dans un troisième temps (Chapitre IV), la structure génétique des populations a été étudiée sur le bassin versant dans le but de vérifier si cette structure reflétait ou non la structure morphologique et/ou la structure du réseau hydrographique. De plus, il a été mis en évidence les différentes modalités des flux de gènes sur le réseau hydrographique qui expliquent la structure observée.

Enfin (Chapitre V), le logiciel *Gene-Net* est présenté. Ce logiciel a été développé pour tester l'effet de la géométrie du réseau hydrographique sur la structure génétique des populations d'organismes dont la dispersion s'opère le long des cours d'eau.

Glossaire :

Biocénose : ensemble d'êtres vivants de toutes espèces, végétales et animales, coexistant dans un espace défini (le biotope), et qui offre les conditions extérieures nécessaires à leur vie. Un biotope et une biocénose constituent un écosystème.

Dispersion : est le mouvement d'un organisme de son site de naissance à son ou ses site(s) de reproduction.

Flux génique : mouvement des gènes entre les populations. Cela nécessite la migration des individus d'une population à une autre et la réussite subséquente de la reproduction.

Isolement par la distance : il se produit quand la différenciation génétique entre individus (ou populations) augmente avec la distance géographique, quand le flux de gène diminue avec la distance.

Lentique : désigne les eaux calmes à faible courant (étangs, lacs ou petits cours d'eau).

Ligérien : relatif à la Loire, d'après le nom du fleuve en latin, Liger.

Migration : la migration s'exprime grâce au taux m , qui correspond à la contribution des individus migrants aux variations de fréquences alléliques en un locus (emplacement d'un gène sur un chromosome).

Métapopulation : groupe de sous-populations échangeant des migrants occasionnellement et qui peuvent être sujettes à des extinctions et des recolonisations locales. En génétique des populations, une métapopulation est généralement représentée par le modèle en îles, où toutes les sous-populations échangent des migrants, ou par le modèle de pas japonais, où seulement les sous-populations adjacentes échangent des migrants.

Plasticité phénotypique : gammes de variations phénotypiques (traits observables, telle que la morphologie) possibles s'exprimant à partir d'un même génotype (formes alléliques d'un gène).

Traits d'histoire de vie : les traits d'histoire de vie d'une espèce décrivent le mode de vie d'une espèce, son régime alimentaire, les caractéristiques de sa reproduction, de sa dispersion et autres aspects de sa biologie.

CHAPITRE I

Influence des caractéristiques des réseaux hydrographiques sur la dynamique et la génétique des populations d'espèces dulçaquicoles

Bassin versant : topologie des réseaux hydrographiques

Dans un espace tridimensionnel, un cours d'eau est caractérisé par sa largeur, sa longueur et sa profondeur. Un cours d'eau peut également être représenté par une série de segments linéaires (branches) qui se rejoignent en confluence au niveau de nœuds pour former un réseau ramifié dit « dendritique » (Ganio, Torgerser & Gresswell, 2005) (Fig. 1). Ce réseau hydrographique se termine par un seul exutoire. La géométrie d'un réseau hydrographique peut être caractérisée par des règles simples basées sur la structure hiérarchique de ses affluents (ses segments) organisés en ordres. Les segments dont l'extrémité amont est une source, sont d'ordre 1, le segment résultant de la confluence de deux cours d'eau de même ordre i est d'ordre $i+1$, et le segment résultant de la confluence de deux cours d'eau d'ordres différents conserve l'ordre du cours d'eau dont l'ordre est le plus grand (Strahler, 1957) (Fig. 1). L'ordre du bassin versant correspond à l'ordre du segment le plus élevé. Par exemple, le fleuve Amazone est un bassin versant d'ordre 12. Les hydrologues se sont appuyés sur cette classification pour mettre en évidence des lois géométriques générales d'organisation des réseaux hydrographiques. Ainsi, Strahler (1957), a montré que lorsqu'on note N_i le nombre de segments d'ordre i et $\overline{L}_i$ la longueur moyenne des N_i

segments d'ordre i , le rapport de confluence $R_C = \frac{N_{i-1}}{N_i}$ et le rapport de longueur $R_L = \frac{\overline{L}_i}{\overline{L}_{i-1}}$

sont sensiblement identiques pour un réseau hydrographique donné ; ces deux rapports de Horton (Horton, 1945), peuvent donc être considérés comme caractéristiques de l'organisation naturelle du réseau hydrographique. Ces rapports sont stables et varient entre 3 et 5 pour R_C et entre 1,5 et 3,5 pour R_L .

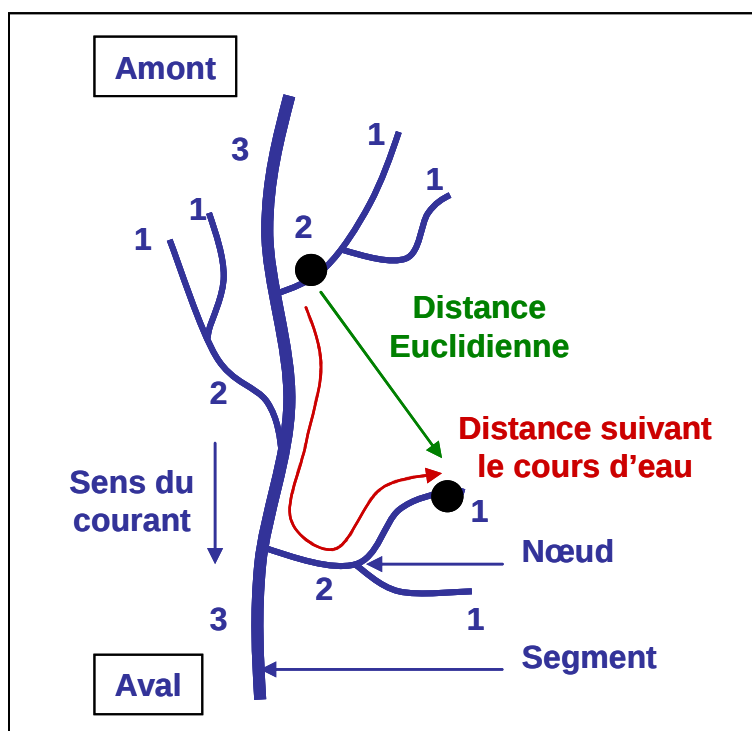


Fig. 1 Représentation schématique d'un réseau hydrographique dendritique comprenant 3 niveaux d'ordre. Les chiffres indiquent le niveau d'ordre du segment. La distance Euclidienne et la distance suivant le cours d'eau sont représentées entre deux sites (points noirs)

La configuration des connexions sur le réseau hydrographique est appelée la topologie (Ganio *et al.*, 2005). Les notions de connexion et de distance entre les sites sur un réseau hydrographique diffèrent de celles d'un système linéaire non ramifié ou plan. Biologiquement, on considère que la distance entre deux points le long du réseau ne peut être représentée par la plus petite distance « à vol d'oiseau », ou distance Euclidienne, entre ces points, car elle ne représente pas la distance réelle parcourue en suivant le cours d'eau. Celle-ci est en réalité déterminée par la configuration géométrique du réseau (Fagan, 2002). C'est pour cette raison que la distance suivant le cours d'eau (Little, Edwards & Porter, 1997) et le niveau d'ordre (Gardner, Sullivan & Lembo, 2003) sont importants lorsque l'on considère les flux (des organismes) sur le réseau ou les variations des caractéristiques physico-chimiques et biotiques.

Un réseau hydrographique répète plusieurs fois les mêmes unités géométriques dans l'espace (ramifications) à différentes échelles (bassin, sous bassin ou rivière). Afin d'étudier n'importe quel processus se déroulant sur un bassin hydrographique, il est nécessaire

d'utiliser une dimension tenant compte de la longueur des branches et du nombre de ramifications. C'est pourquoi la notion d'objet fractal s'est rapidement appliquée aux objets ramifiés, et tout particulièrement aux réseaux hydrographiques (La Barbera & Rosso, 1989). D'un point de vue statistique, toute partie d'un réseau hydrographique est similaire à l'ensemble. Une telle propriété d'auto-similarité (Mandelbrot, 1982) est aussi appelée invariance d'échelle. La description des réseaux hydrographiques à travers la géométrie fractale est bien documentée (La Barbera *et al.*, 1989; Tarboton, Bras & Rodriguez-Iturbe, 1990; Rosso, Bacchi & La Barbera, 1991; Rodriguez-Iturbe & Rinaldo, 1997). Cependant, il faut insister sur le fait que les réseaux hydrographiques sont des objets fractals naturels, leur invariance d'échelle est donc limitée. La forme des réseaux hydrographiques n'est pas définie *a priori* et peut donc varier selon le hasard des processus de morphogenèse, contrairement aux fractales mathématiques dont la forme est totalement prévisible. Comme expression de la dimension fractale d'un réseau hydrographique, La Barbera et Rosso (1989) proposent l'expression suivante : $D = \frac{\ln R_C}{\ln R_L}$, où R_C et R_L sont les rapports de confluence et de longueur

définis ci-dessus. D'après Mandelbrot (1982) et La Barbera et Rosso (1989), la valeur de D pour un réseau hydrographique tend vers 2 quand le réseau approche de sa maturité, mais, dans la pratique, les contraintes du relief et de la géologie rendent cette maturité inaccessible. L'analyse fractale des réseaux hydrographiques reste un outil intéressant pour étudier l'invariance d'échelle des processus hydrologiques. C'est à partir de ces paramètres que les réseaux artificiels sont générés.

Réseaux hydrographiques et écologie

Hétérogénéité spatiale et temporelle des habitats

Les cours d'eau ont longtemps été considérés comme des éléments linéaires du paysage et cartographiés de la même manière que les axes routiers. Or, les réseaux hydrographiques sont des éléments dynamiques du paysage et sont caractérisés par leur hétérogénéité spatiale et temporelle (Ward, 1998; Gomi, Sidle & Richardson, 2002; Tockner *et al.*, 2002; Ward *et al.*, 2002; Wiens, 2002).

L'hétérogénéité spatiale reflète la diversité de structure des paysages. Cette mosaïque est caractérisée par l'associations des variations géomorphologiques (chenaux, îles, et bancs de sable) et la diversité des habitats aquatiques (type de sédiment, herbiers, courant et débit) et terrestres (prairies humides, boisements, cultures, *etc.*) (Ward, 1998; Tockner *et al.*, 2002). La géomorphologie d'un réseau hydrographique engendre des gradients longitudinaux, latéraux et verticaux (Ward, 1998). Un cours d'eau naturel présente une dimension longitudinale (Fig. 2A) et peut être considéré comme un système continu dans lequel les paramètres abiotiques (comme les caractéristiques de l'eau, la pente, le débit et la granulométrie du fond du lit) varient constamment de la source à l'embouchure. Les cours inférieurs, en amont, sont caractérisés par un substrat homogène, une eau turbide et pauvre en oxygène. A l'inverse, les cours moyens, plus larges, sont caractérisés par un éclaircissement et une quantité de nutriments plus importants (la production primaire augmente sous l'effet d'une luminosité accrue par un meilleur ensoleillement), un substrat constituant une mosaïque d'habitats, une eau claire et une variation thermique importante (Ward, 1998). Une variation des habitats et une succession de différentes biocénoses sont observées le long du cours d'eau (Vannote *et al.*, 1980a).

Les cours d'eau sont en relation étroite avec le milieu terrestre environnant. En effet, une dimension latérale (Fig. 2B) subsiste lorsque la topographie du réseau permet une extension en largeur du cours d'eau. La connectivité latérale est particulièrement importante dans les zones alluviales naturelles, qui sont sans cesse remodelées par les crues et présentent une grande richesse d'habitats pour la faune terrestre, amphibie et aquatique (Amoros & Petts, 1993). La zone de transition entre le milieu terrestre et le milieu aquatique y joue un rôle prépondérant. Les arbres et arbustes de la rive ne constituent pas seulement une source d'énergie pour les organismes aquatiques et terrestres, ils fournissent également du bois mort qui contribue à l'hétérogénéité spatiale des petits cours d'eau (Ward *et al.*, 2001b).

La dimension verticale des cours d'eau (Fig. 2C) comprend la zone hyporhéique (zone de transition entre les eaux de surface et les eaux souterraines). Elle constitue un habitat spécifique pour certains animaux et microorganismes. Les biofilms microbiens sont en particulier chargés de la nitrification et de la dégradation de composés organiques (Brunke & Gonser, 1998). Comme les zones alluviales, la zone hyporhéique est remodelée par les crues.

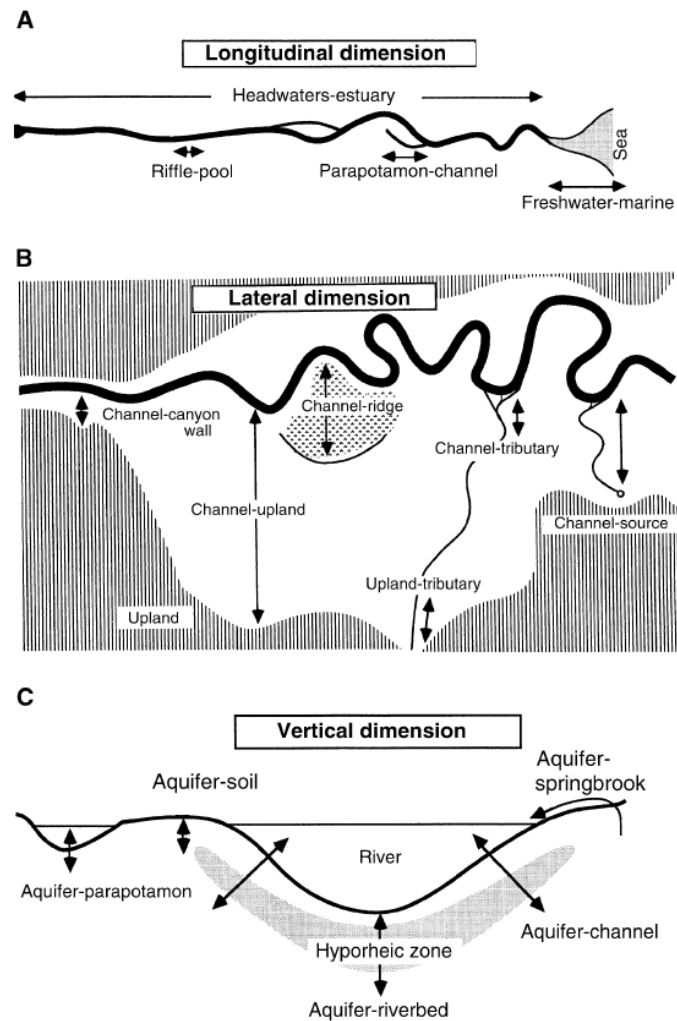


Fig. 2. Voies d'échanges de matériels, d'énergie et d'organismes selon la dimension longitudinale (A), latérale (B), et verticale (C) sur une rivière (Ward & Wiens, 2001c).

L'hétérogénéité temporelle (Fig. 3) dépend non seulement de la topologie (pente du réseau hydrographique) mais aussi du régime d'écoulement et du charriage. Des débits élevés provoquent un déplacement de sédiments qui induit la formation de nouveaux habitats parallèlement à la destruction d'anciens habitats. Les crues constituent les perturbations temporelles les plus courantes des cours d'eau (Ward, 1998). Si les inondations sont fréquentes, la biodiversité est plus faible et ce sont les espèces à cycle vital court et à forte capacité d'expansion qui dominent (Amoros *et al.*, 1993). L'alternance entre les périodes de crues ou d'étiages engendre des variations des caractéristiques physico-chimiques et biotiques de l'eau. En été, par exemple, la température de l'eau augmente ainsi que la concentration en dioxyde de carbone, due à l'activité photosynthétique, ce qui tend à augmenter le pH de l'eau.

La photosynthèse elle-même est fonction de l'éclairement, de la température, de la quantité de nutriment et de la biomasse algale.

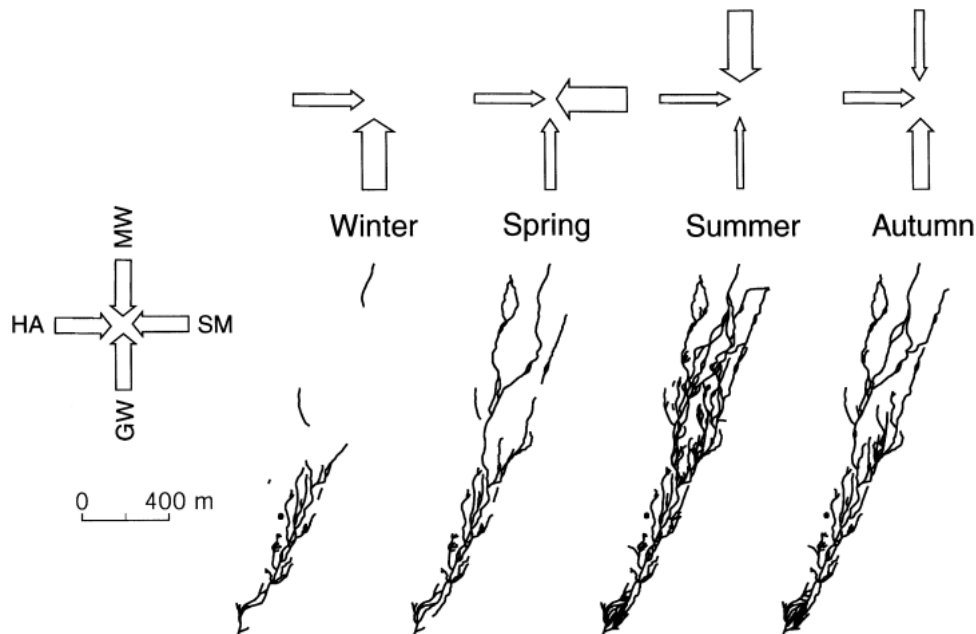


Fig. 3. Cycles d'expansion et de contraction d'un réseau hydrographique durant les 4 saisons (hiver, printemps, été et automne) et contributions relatives des différents apports en eau se déversant dans les prairies inondables. HA: nappe phréatique; MW: fonte des glaces; GW: charriage; SM: fonte des neiges.

Impact de l'hétérogénéité du paysage sur les communautés

L'hétérogénéité spatiale des habitats aquatiques et terrestres, entre l'amont et l'aval, influence la répartition des espèces et la composition des communautés animales (Belliard, Boët & Tales, 1997; Hawkins *et al.*, 1997; Ward & Tockner, 2001a; Benda *et al.*, 2004; Grenouiller, Pont & Hérissé, 2004; Lowe, Likens & Power, 2006) et végétales (Cornell, 1978; Vannote *et al.*, 1980a; Nilsson *et al.*, 1989; Renöfält, Nilsson & Jansson, 2005).

L'intensité et la fréquence des inondations (Naiman & Décamps, 1997; Renöfält *et al.*, 2005) et le sens unidirectionnel du courant (Nilsson & Jansson, 1995) affectent la richesse spécifique de la ripisylve (végétation de la rive). La composition des communautés de macrophytes (plantes aquatiques) est également fonction de la distance entre l'amont et l'aval, la topologie (Demars & Harper, 2005), la taille du bassin versant (Riis, Sand-Jensen & Vestergaard, 2000), le substrat (French & Chambers, 1996), et la fréquence des inondations (Barrat-Segretain & Amoros, 1996; Riis & Biggs, 2003). Généralement, chez les poissons

d'eau douce, la richesse spécifique augmente localement suivant le gradient amont-aval. Cette augmentation est parfois attribuée à l'augmentation de taille des habitats en aval et/ou à la diversité de l'habitat (Belliard *et al.*, 1997; Oberdorff *et al.*, 2001; Grenouiller *et al.*, 2004). Si la structure du réseau hydrographique contraint la distribution des espèces, il peut également influencer leurs interactions (Johnson, Hatfield & Bruce, 1995) en réduisant, par exemple, le taux d'interactions prédateur-proie (Cuddington & Yodzis, 2002). En effet, les prédateurs peuvent être incapables de répondre aux variations spatiales des densités de proies, augmentant la variation du taux de reproduction local, la persistance des populations et l'équilibre des densités de proies (Cuddington *et al.*, 2002).

L'hétérogénéité du paysage influence enfin les caractéristiques physico-chimiques et biotiques de l'eau sur le bassin versant. Ces caractéristiques varient graduellement et affectent la composition des communautés de macrophytes, c'est le cas de l'alcalinité (Riis *et al.*, 2000), de la conductivité, de la concentration en ions calcium et magnésium (Murphy *et al.*, 2003), et de la concentration des nutriments (Murphy *et al.*, 2003). Les variations des caractéristiques physico-chimiques et biotiques (interactions intra et interspécifiques) de même que la ripisylve avoisinante affectent également la répartition et l'abondance des populations d'insectes d'eau douce (Hawkins *et al.*, 1997; Malmqvist, 2002). La répartition des taxa sur le bassin versant dépend de l'oxygène, de la température, des concentrations en nitrate et ammonium, du pH, de la conductivité et des conditions hydrauliques estivales (Franken, Storey & Williams, 2001; Usseglio-Polatera & Beisel, 2002).

Impact de l'hétérogénéité du paysage sur les populations

N'importe quelle variation de l'un des facteurs vus précédemment (topologie, géomorphologie, caractéristiques physico-chimiques et biotiques de l'eau) peut influencer la répartition des populations le long du réseau hydrographique mais aussi modifier les traits d'histoire de vie de ces populations tels que le temps de développement, la phénologie, la reproduction et la dispersion des individus. Parmi les espèces inféodées au cours d'eau, les insectes aquatiques sont particulièrement sensibles à l'hétérogénéité de l'habitat. En effet, ils présentent un cycle de vie complexe (plusieurs mues et une métamorphose) ce qui les rend vulnérables aux variations environnementales (température, nourriture, crues, sécheresses et pollutions) durant leur développement (Hentschel, 1999). De plus, ils exploitent deux types de

milieux, aquatique et terrestre, les exposant ainsi aux variations de ces deux environnements. Chez les insectes, il existe une corrélation positive entre l'hétérogénéité de l'habitat et la variation des traits phénotypiques, notamment les traits morphologiques liés à la dispersion (Roff, 1990; Wagner & Liebherr, 1992). C'est-à-dire que plus l'habitat sera hétérogène et plus la taille des ailes des individus sera variable. Par conséquent, les populations d'insectes peuvent présenter des divergences morphologiques via la plasticité phénotypique (West-Eberhard, 2003; Ananthakrishnan & Whitman, 2005).

De nombreux facteurs environnementaux influencent la plasticité phénotypique des individus : la température (Atkinson, 1994), la qualité des ressources alimentaires (Anholt, 1991), la densité des individus (Peckarsky & Cowan, 1991), et la présence de prédateurs (Ball & Baker, 1996). Les insectes aquatiques étant des ectothermes (la température du corps varie en fonction de la température du milieu), leur physiologie, leur fitness (valeur sélective ou succès reproducteur) et leur abondance dépendent de la température (Vannote & Sweeney, 1980b). Chez de nombreux insectes, comme les éphémères, les libellules et les perles (plécoptères), la croissance a surtout lieu durant les stades larvaires. Le taux de croissance de ces stades larvaires est influencé par la température (Vannote *et al.*, 1980b; Atkinson, 1994; Corbet, 1999; Angilletta *et al.*, 2003). Les individus exposés à des températures plus chaudes grandissent plus rapidement et peuvent atteindre précocement leur taille adulte (Perry, Perry & Stanford, 1987; Gregory, Beesley & Van Kirk, 2000).

Chez les insectes, la morphologie et plus particulièrement la longueur des ailes et l'importance des muscles thoraciques sont associées aux capacités de dispersion (Harrison, 1980; Marden, 1989; Spedding, 1992; Berwaerts, Van Dyck & Aerts, 2002). Généralement, les individus possédant des ailes plus longues dispersent sur de plus grandes distances par rapport aux individus plus petits (Fernando, 1958; den Boer, 1970; Malmqvist, 2000). Un habitat pauvre en nourriture ou l'évitement des prédateurs induisent parfois une taille plus petite à émergence (Anholt, 1991; Ball *et al.*, 1996). La compétition intraspécifique chez les premiers stades larvaires peut également augmenter la variation de taille (Peckarsky *et al.*, 1991). Ces facteurs seraient responsables de variations phénotypiques plus ou moins importantes sur les réseaux hydrographiques. Toutefois, les gradients des caractéristiques physico-chimiques et biotiques sur les cours d'eau peuvent engendrer des variations morphologiques graduelles et ainsi générer des capacités de dispersion différentes entre les populations à l'échelle du réseau hydrographique.

Réseaux hydrographiques et dispersion

Les réseaux hydrographiques sont caractérisés par une multitude de passages longitudinaux, latéraux et verticaux (Fig. 2) et donc de possibilités d'échanges dans ces trois dimensions (Wiens, 2002). Les mouvements des individus peuvent suivre deux voies sur un réseau dendritique: soit le long des segments du réseau (déplacements le long des cours d'eau), soit entre les branches du réseau (entre les cours d'eau, distance « à vol d'oiseau ») (Malmqvist, 2002). Les déplacements des poissons, des larves d'insectes aquatiques, des crustacés, et parfois des graines (par hydrochorie) se limitent à l'intérieur du réseau. De nombreux taxa montrent des déplacements préférentiels le long des cours d'eau tels que des papillons dans des milieux ouverts non forestiers (Haddad, 1999). Toutefois, certains insectes aquatiques adultes (Miller, Blinn & Keim, 2002; Macneale, Peckarsky & Likens, 2005), tout comme les oiseaux, les mammifères ou les plantes, via le pollen (Kitamoto *et al.*, 2005), sont capables de se déplacer entre les branches du réseau.

La structure d'un réseau hydrographique est donc susceptible d'influencer les patrons de dispersion (Fagan, 2002; Campbell Grant, Lowe & Fagan, 2007). L'isolement spatial des branches, imposé par la topologie du réseau hydrographique, affecte la mobilité des individus ainsi que la connectivité entre les populations (Fagan, 2002; Campbell Grant *et al.*, 2007). Par exemple, la géométrie du réseau hydrographique peut limiter le déclin des populations par l'apport de migrants aux points de confluence (Campbell Grant *et al.*, 2007). En revanche, l'architecture du réseau peut entraver la recolonisation des branches en amont, de par le sens unidirectionnel du courant, chez les espèces aquatiques restreintes aux mouvements le long des branches du réseau (Fagan, 2002). La dispersion vers l'aval des organismes aquatiques peut être également influencée par l'arrangement spatial des zones d'eau stagnantes (bras morts, mares ou boires) sur le cours d'eau (Bond, Perry & Downes, 2000). Ces milieux favorables temporaires serviraient « d'étape » pour les individus et faciliteraient leur dispersion.

Les insectes aquatiques, de par leur cycle de vie peuvent présenter deux types de mouvements. Les larves présentent une dispersion passive induite par la dérive le long du cours d'eau (Mackay, 1992; Jackson, McElravy & Resh, 1999) et les adultes aériens présentent une dispersion active. Les adultes volent généralement le long du cours d'eau lors de la reproduction (les pontes étant aquatiques) (Kopp, Jeschke & Gabriel, 2001; Caudill,

2003). Les insectes dont les larves sont sujettes à la dérive vers l'aval peuvent voler vers l'amont à l'état adulte (Anholt, 1995). Cette dispersion vers l'amont est probablement favorisée par des fortes densités d'individus en aval, à cause de la dérive des larves, alors que les sections en amont du cours d'eau sont dépeuplées (Anholt, 1995). Les adultes ailés sont également capables de se déplacer entre les cours d'eau au travers des habitats terrestres (Sode & Wiberg-Larsen, 1993; Kovats, Ciborowski & Corkum, 1996; Miller *et al.*, 2002). Ces deux types de déplacement peuvent affecter la distribution et la génétique des populations. Macneale, Peckarsky et Likens (2005) mirent en évidence que le degré de connectivité entre les populations d'insectes aquatiques est fonction de l'orientation des déplacements des adultes volant le long des cours d'eau. Chez les espèces capables de déplacements en dehors du réseau hydrographique, la relation entre la répartition des populations et les angles de bifurcation des branches du réseau dendritique peuvent jouer un rôle clé dans la régulation de la colonisation des branches adjacentes (Campbell Grant *et al.*, 2007). Cependant cette relation n'a pas été testée.

Etudier la dispersion et le flux de gènes des individus en relation avec la structure hiérarchique du réseau hydrographique peut aider à la compréhension des effets de la taille, du nombre et des angles de bifurcation des branches sur la dispersion et le flux de gène des populations (Campbell Grant *et al.*, 2007).

Ecologie du paysage et génétique des populations

« Landscape genetics » ou génétique dans les paysages

Les principaux processus génétiques qui peuvent être observés parmi les populations naturelles sont le flux de gènes, la dérive génétique et la sélection. Le flux de gènes correspond aux mouvements d'individus entre groupes résultant en des échanges de gènes (Endler, 1973; Hedrick, 2005). La dérive génétique est la variation des fréquences alléliques et génotypiques par le simple fait de l'échantillonnage aléatoire des gamètes, de génération en génération, dans une population de taille infinie. La dérive est supposée avoir le même effet sur l'ensemble des locus du génome. Si la taille efficace de la population est petite, alors les fréquences alléliques vont subir de fortes variations au fil des générations jusqu'à la fixation

ou la perte aléatoire d'un allèle (Hedrick, 2005). La sélection correspond à la variation au cours du temps des fréquences alléliques et génotypiques due aux différences de valeur reproductive des individus portant différents génotypes (Endler, 1986). La sélection, qui peut opérer à tous les stades d'un cycle de vie, est la force qui provoque l'adaptation évolutive des populations, en conduisant à l'augmentation de la fréquence des allèles ou génotypes avantageux et à la diminution de la fréquence des allèles ou génotypes délétères (Endler, 1986).

Détecter des discontinuités génétiques et déterminer la relation de ces discontinuités avec les caractéristiques paysagères et environnementales sont les deux étapes clés de la « landscape genetics » (Manel *et al.*, 2003). La « landscape genetics » est l'association de deux disciplines, la génétique des populations et l'écologie du paysage (Manel *et al.*, 2003). Les patrons génétiques les plus connus en « landscape genetics » sont les cline (Clarke, 1996), l'isolement par la distance (IBD) (Rousset, 1997) et les barrières au flux génique (Fig. 4) (Piertney *et al.*, 1998).

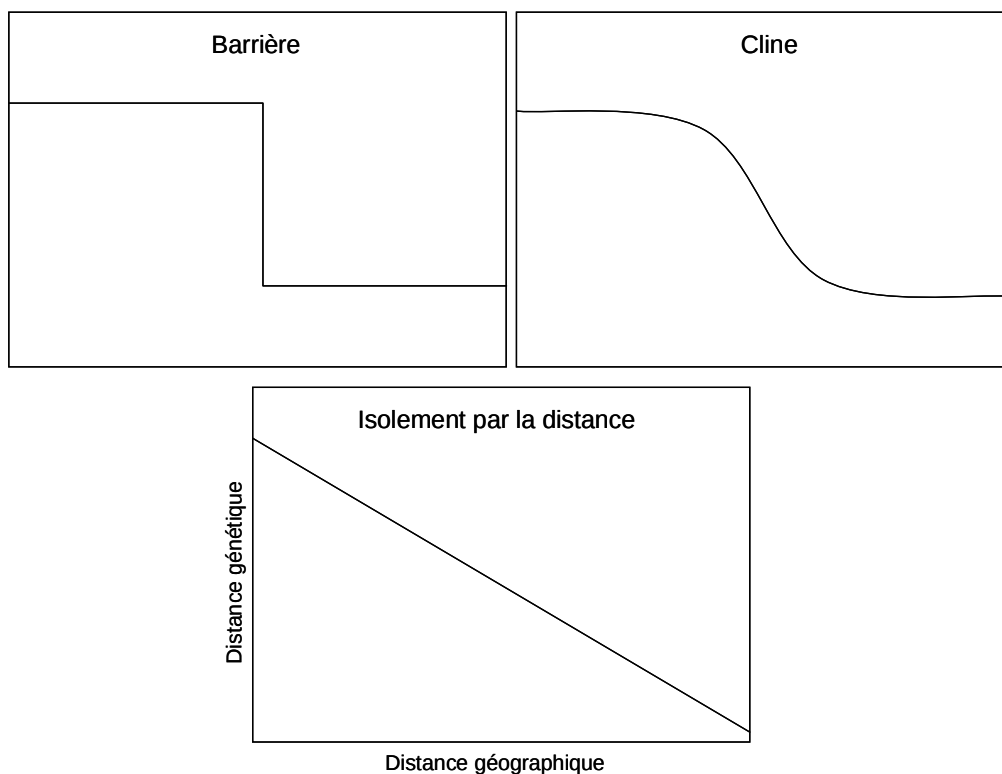


Fig. 4. Patrons génétiques (barrière, IBD et cline) observés dans le cadre d'études de génétique des populations en relation avec la distribution des individus dans l'espace.

Les réseaux hydrographiques forment des paysages complexes de par leur hétérogénéité spatio-temporelle et leur géomorphologie. Précédemment il a été vu que ces structures paysagères influençaient la distribution et les déplacements des individus, par conséquent on peut se demander si les caractéristiques de ces réseaux influencent les processus génétiques.

La probabilité d'échange de migrants entre deux populations, sur un même bassin, est supposée être influencée par des facteurs intrinsèques tels que le sens du courant et la distance entre les populations. Généralement le flux de gènes est bien plus important vers l'aval que vers l'amont, le courant facilitant la dispersion vers l'aval (Hernandez-Martich *et al.*, 1995). De plus, la structure géométrique des réseaux hydrographiques tend à isoler les populations vivant sur différents bassins ou sous-bassins (McGlashan, Hugues & Bunn, 2001). En effet, un fort isolement démographique et génétique est attendu entre les sites proches « à vol d'oiseau » (distance euclidienne) mais éloignés du point de vue de la distance suivant les branches du réseau (distance suivant le cours d'eau) (Fagan, 2002; Rissler, Wilbur & Taylor, 2004). Chez les organismes aquatiques tels que les poissons, le flux de gènes est contraint par le courant, la topologie du réseau hydrographique, le niveau d'ordre du bassin versant et les barrières physiques à la dispersion (barrages) (Slatkin, 1985). Ainsi, les déplacements vers l'aval permettent de concentrer et mélanger les individus au niveau des confluences. A l'inverse les déplacements vers l'amont séparent les individus au niveau des bifurcations les isolant les uns des autres (Power & Dietrich, 2002). Ces deux types de déplacements ont pour effet (i) de diminuer la diversité génétique vers l'amont sur un bassin versant (Schmidt, Hughes & Bunn, 1995), (ii) de contribuer à la différenciation génétique entre les cours d'eau et les sous-bassins (Power *et al.*, 2002). En outre, les populations en tête de bassin, de par leur isolement géographique et une migration favorisée vers l'aval, sont plus vulnérables à la dérive génétique (Fraser, Lippe & Bernatchez, 2004). Pour les espèces dispersant préférentiellement le long du cours d'eau, le flux de gènes se fera surtout au sein d'un même bassin et non entre différents bassins (Ward, Woodward & Skibinski, 1994; Bilton, Freeland & Okamura, 2001; Beck & Pruett-Jones, 2002; Power *et al.*, 2002; Peckarsky *et al.*, 2005). En terme de patron génétique, le flux de gènes ayant principalement lieu entre les sites les plus proches le long du cours d'eau, un IBD est attendu sur cette dimension longitudinale, si l'équilibre entre la dérive génétique et le flux de gène est atteint (Wright, 1943). Par exemple, chez les plantes, à l'échelle du bassin versant, la dispersion régionale effectuée par les graines

(et le pollen) engendre des variations génétiques graduelles le long du cours d'eau principal ou le long des différents affluents (Smulders *et al.*, 2008).

Pour les espèces qui se déplacent préférentiellement le long des branches du réseau hydrographique, les patrons génétiques peuvent refléter les contraintes imposées par l'architecture du bassin (Rissler *et al.*, 2004; Lowe *et al.*, 2006). Ainsi, la structure génétique des populations est supposée refléter la structure hiérarchique du réseau hydrographique (Meffe & Vrijenhoek 1988). C'est notamment le cas de 56 % des espèces de poissons (Avisé, 2000), de l'écrevisse à pattes blanches, *Austropotamobius pallipes*, en Europe (Grandjean *et al.*, 1997) et des crevettes d'eau douce en Australie (Cook, Hughes & Bunn, 2002). Toutefois, les patrons génétiques de certaines espèces de poissons (Hurwood & Hughes, 1998; McGlashan & Hughes, 2000; Waters *et al.*, 2001) et de crustacés (Hurwood & Hughes, 2001) ne sont pas expliqués par la structure hiérarchique du réseau. La différenciation génétique de ces espèces a été attribuée aux aménagements du bassin (Hurwood *et al.*, 1998; Waters *et al.*, 2001) et à la dispersion terrestre entre les cours d'eau (Hurwood *et al.*, 2001). Par conséquent, la structure génétique des populations sur un réseau hydrographique dépend de la structure du réseau, des patrons de dispersion de l'espèce et des barrières à la dispersion présentes sur le bassin versant.

De par l'arrangement spatial des habitats sur les cours d'eau, les populations d'espèces dulçaquicoles, aux capacités de dispersion limitées, sont considérées comme discrètes (Bilton *et al.*, 2001; Fagan, 2002). De telles populations peuvent connaître des événements d'extinction locale et de (re)colonisation dus aux crues, étiages, aménagements ou pollutions. Tous ces facteurs (distribution discontinue, faible dispersion et extinction locale) contribuent à la théorie selon laquelle les organismes inféodés au cours d'eau présentent une dynamique de type métapopulationnel (Fagan, 2002; Lowe, 2002; Bohonak & Jenkins, 2003). Ainsi, chez la roquette d'Autriche, *Sisymbrium austriacum* (Brassicacées), les populations récemment installées sur le lit mineur (limité par les berges), où les événements d'extinction-colonisation sont récurrents suite aux inondations, présentent un niveau de différenciation génétique moindre en comparaison des populations installées sur le lit majeur du cours d'eau qui sont touchées par les eaux en hiver (Jacquemyn *et al.*, 2006).

Chez les organismes aquatiques, une structure populationnelle de type « source-puits » est également attendue sur les réseaux hydrographiques. Ce concept s'appliquerait pour les

flux de gènes des petites populations vers les populations de grande taille, dans le cadre d'une dispersion dépendante de la densité et donc en fonction de la qualité de l'habitat (Fraser *et al.*, 2004; Hansen *et al.*, 2007). Cependant ce n'est pas toujours le cas, un flux de gènes asymétrique peut également se produire selon la dimension longitudinale des cours d'eau et non selon la qualité de l'habitat, les populations en amont envoyant des migrants vers l'aval via le sens du courant (Hänfling & Weetman, 2006; Neville, Dunham & Peacock, 2006). Ainsi, les populations présentes sur le bassin peuvent être issues de plusieurs populations sources en amont et non d'une seule. Un tel processus a été démontré chez les plantes, les mélanges de graines provenant de différentes populations sources par l'intermédiaire du transport de l'eau (hydrochorie) (Kudoh & Whigham, 2001; DeWoody, Nason & Smith, 2004). Par conséquent, le sens du flux de gènes sur un réseau hydrographique peut dépendre du type de déplacements (déplacements longitudinaux ou transversaux), de la qualité de l'habitat, de la dimension longitudinale (sens du courant) et de la topologie (nombres de branches pouvant accueillir ou envoyer des migrants) du réseau hydrographique.

Méthodes d'analyse de la structuration génétique des populations dans l'espace.

Les réseaux hydrographiques posent des difficultés concernant l'utilisation des méthodes d'analyses traditionnelles de génétique des populations, car ce ne sont ni des paysages strictement linéaires en une dimension, ni des paysages en deux dimensions. Le modèle théorique permettant d'estimer la migration le long des cours d'eau serait un modèle de pas japonais (Kimura & Weiss, 1964), où les échanges de migrants se produisent entre les populations les plus proches dans un paysage linéaire, tandis que les échanges de migrants entre les branches du réseau seraient proche d'un modèle en îles (Wright, 1951), où toutes les sous-populations échangeraient des migrants. De plus, la relation entre des F_{ST} (indice de différenciation génétique) et Nm (le nombre de migrants) donnée par le modèle en îles ($F_{ST} = 1/(4Nm+1)$), se révèle plus robuste dans le cas d'une dispersion limitée comme chez de nombreux organismes dulçaquicoles (Slatkin & Barton, 1989; Whitlock & McCauley, 1999).

L'estimation des F_{ST} reste la méthode la plus utilisée pour étudier la structure génétique des populations. Il est estimé à partir de la variation génétique entre les groupes, v_b et parmi les groupes, v_w : $F_{ST} = v_b / (v_b + v_w)$. Cet indice de différenciation génétique permet également de mettre en évidence des IBD grâce à la relation $1/(1-F_{ST})$ en fonction de la

distance géographique (habitat linéaire) ou du logarithme népérien de la distance (habitat en deux dimensions) (Rousset, 1997). Le logiciel Genpop (Raymond & Rousset, 1995) détecte les IBD en réalisant des régressions linéaires entre la différenciation génétique et la distance géographique. Il effectue également des tests de corrélations entre les matrices de distances génétiques (matrices de différenciations génétiques, matrices de F_{ST}) et les matrices de distances géographiques (test de Mantel).

D'autres estimateurs, tels que les coefficients de parenté (« kinship coefficient », F_{ij}) permettent également d'étudier la structure génétique des populations. Le coefficient de parenté F_{ij} est estimé selon la formule suivante : $F_{ij} = (Q_{ij} - Q_m) / (1 - Q_m)$, où Q_{ij} est la probabilité que deux gènes, i et j , tirés aléatoirement soient identiques par état et Q_m est la probabilité moyenne que les gènes soient identiques par état chez les individus tirés aléatoirement au sein des sites échantillonnés (Vekemans & Hardy, 2004). Les analyses de la structure spatiale des données génétiques, à partir du coefficient de parenté, sont réalisées par le logiciel SPAGeDi (Hardy & Vekemans, 2002). Ce programme met en évidence l'existence d'IBD ou de clines en utilisant des autocorrélations spatiales.

L'analyse de variance moléculaire, AMOVA (Schneider, Roessli & Excoffier, 2000) est également régulièrement utilisée lors d'études sur la structure génétique des populations, notamment sur les cours d'eau (Watts *et al.*, 2004; Schultheis & Hughes, 2005; Watts *et al.*, 2006). Cette analyse attribue la part de diversité génétique entre les sous-bassins, entre les sites d'un même sous-bassin et entre les individus d'un même site.

La structure génétique ne reflète pas toujours la proximité géographique des individus. Par exemple, la présence de barrières au flux génique engendre une structuration génétique chez des populations dont la distribution est continue. De même, des individus montrant des localisations, des phénotypes et des comportements différents ne sont pas nécessairement génétiquement différenciés (Petit, Balloux & Goudet, 2001). Une méthode basée sur l'approche Bayésienne permet d'étudier la structure génétique des populations lorsque celles-ci semblent cryptiques. Cette approche est basée sur la probabilité *a posteriori* que les individus soient assignés à K populations, $Pr(X/K)$ où X est le génotype des individus échantillonnés. Le programme STRUCTURE (Pritchard, Stephens & Donnelly, 2000) utilise cette méthode pour détecter des unités populationnelles. Cependant, ce programme ne tient pas compte de la localisation géographique des individus contrairement aux logiciels BAPS

(Corander & Marttinen, 2006) et GENELAND (Guillot *et al.*, 2005) qui détectent des unités populationnelles dans l'espace en assignant également les individus à des groupes selon la méthode Bayésienne.

Lorsque des entités génétiques, ou populations ont été définies, il est intéressant de pouvoir déterminer les éléments du paysage pouvant isoler les populations. Le calcul de l'algorithme de maximum de différences de Monmonier (Monmonier, 1973) ou le wombling (Womble, 1951) permettent de localiser les barrières au flux génique sur une carte géographique. Le wombling est basé sur l'utilisation des polynômes locaux pour estimer les fréquences alléliques localement. Le programme WOMBSOFT (Crida & Manel, 2007) utilise le wombling et identifie les variations locales des fréquences alléliques. Le logiciel BARRIER (Manni, Guerard & Heyer, 2004) grâce à l'algorithme de Monmonier permet de visualiser sur une carte les données contenues dans une matrice de distances génétiques. Ces barrières au flux de gènes résultent parfois de facteurs environnementaux. GESTE (Foll & Gaggiotti, 2006) peut identifier les facteurs environnementaux influençant la structure génétique des populations. Ce programme utilise une méthode Bayésienne pour évaluer l'effet des facteurs biotiques et abiotiques (distances géographiques, température, altitude, *etc.*) sur la structure génétique des populations.

Ces méthodes d'analyses sont adaptées aux marqueurs codominants comme les microsatellites. Ces marqueurs identifient des allèles homologues permettant de dénombrer les homozygotes et les hétérozygotes et donc d'estimer les fréquences alléliques. Cependant la plupart des méthodes citées précédemment sont également adaptées à l'analyse de marqueurs dominants comme les AFLP, Amplified Fragment Length Polymorphism (Vos *et al.*, 1995). Ces marqueurs moléculaires permettent de balayer une plus grande partie du génome, jusqu'à plus de 1000 locus étudiés, en comparaison des microsatellites qui se limitent à une vingtaine de locus (Bensch & Akesson, 2005). Toutefois, l'information génétique obtenue avec les AFLP est relativement pauvre étant donné que ces marqueurs sont bialléliques par rapport aux microsatellites qui peuvent présenter plus d'une dizaine d'allèles. En effet, pour obtenir des valeurs de F_{ST} semblables entre AFLP et microsatellites, quatre à dix fois plus de marqueurs doivent être utilisés (Bensch *et al.*, 2005). Par conséquent, à partir d'une centaine de marqueurs et 50 individus échantillonnés, les estimations de F_{ST} s'avèrent plus robustes (Bonin, Ehrich & Manel, 2007). Des études ont récemment démontré que les AFLP sont d'excellents marqueurs pour estimer la parenté entre les individus (Hardy, 2003)

et pour déterminer la structure génétique des populations dans l'espace (Tero *et al.*, 2003; Sander *et al.*, 2006; Garoia *et al.*, 2007; Jump & Penuelas, 2007). De plus, les AFLP se sont révélés plus efficaces que les microsatellites lors de la détection de structure génétique à petite échelle géographique (Garoia *et al.*, 2007; Jump *et al.*, 2007).

Simulation de la dispersion et du flux génique sur un réseau hydrographique artificiel

La modélisation est une représentation (physique, conceptuelle ou symbolique) de processus complexes. En dynamique des populations on rencontre principalement deux types de modèles, les modèles déterministes et les modèles individus centrés.

Les modèles déterministes sont généralement basés directement sur un système discret non linéaire, ce qui conduit à un système d'équations différentielles résolu par des méthodes numériques issues du calcul matriciel (Grimm & Railsback, 2005). Ces types de modèle utilisent habituellement un nombre restreint de paramètres. Ils ont pour objectif de reproduire des dynamiques de populations en exploitant peu de données quantitatives sur les populations étudiées. Ils nécessitent de connaître la biologie de l'espèce et son cycle de vie à partir de quoi il sera possible d'estimer des paramètres démographiques importants, tel que le taux de croissance de la population. Ces modèles font abstraction de certains processus se déroulant à l'échelle des individus, et cherchent à décrire les phénomènes macroscopiques au niveau des populations (Grimm *et al.*, 2005).

Les modèles individus centrés reproduisent les interactions entre les individus et l'environnement, ou entre les individus uniquement. Ils permettent d'implémenter dans le système les différences génétiques ou comportementales entre les individus. Ces modèles reproduisent fidèlement des processus naturels simples, mais ils nécessitent des capacités de calcul plus importantes (Grimm *et al.*, 2005). Les modèles individus centrés sont spatialement explicites lorsque le modèle tient compte de la répartition géographique des individus sur un paysage donné (Dunning *et al.*, 1995).

De nombreuses études ont abordé la modélisation des processus écologiques et génétiques tels que la dispersion (Blackwell, 1997; Tischendorf, 1997; Railsback *et al.*, 1999; Tyre, Possingham & Lindenmayer, 1999; Wu *et al.*, 2000; Gardner & Gustafson, 2004; Vuilleumier & Metzger, 2006; Vuilleumier & Fontanillas, 2007) et le flux de gènes au travers de différents paysages (Nuismer, Thompson & Gomulkiewicz, 2003; Ceddia, Bartlett & Perrings, 2007; Vuilleumier *et al.*, 2007), mais l'influence de la structure hiérarchique des réseaux hydrographiques sur la génétique des populations reste peu documentée.

Les modèles hiérarchiques des cours d'eau (« Stream Hierarchy Models », SHM) sont les premiers modèles mathématiques décrivant l'influence de la structure hiérarchique des réseaux hydrographiques sur la répartition de la diversité génétique des espèces aquatiques (Meffe & Vrijenhoek, 1988). La dispersion des individus aquatiques suivant le cours d'eau peut être modélisée par des équations de diffusion sur un réseau artificiel (Johnson *et al.*, 1995). Ce réseau artificiel a été généré de 2 manières : (i) selon une méthode de maillage en quinconce, réseau de Scheidegger et (ii) selon une représentation fractale, « limited-diffusion deposit model » (Johnson *et al.*, 1995). Un modèle déterministe basé sur des calculs matriciels a été développé pour simuler la migration et la démographie de la truite commune, *Salmo trutta*, sur un réseau dendritique d'ordre 4 (Charles *et al.*, 1998, , 2000). Mais ces modèles restent insuffisants pour expliquer les patrons de diversité génétique entre les populations, notamment pour les espèces capables de se déplacer entre les branches du réseau (Finn *et al.*, 2006). En dépit de l'essor de l'utilisation des modèles individus centrés, des programmes doivent être développés afin de mieux comprendre l'influence de la structure hiérarchique des réseaux hydrographiques sur les processus génétiques des organismes d'eau douce (Campbell Grant *et al.*, 2007).

La dispersion et le flux génique sont fonction du nombre d'intersections, de la taille des branches et de la géométrie du réseau hydrographiques (Lowe *et al.*, 2006; Campbell Grant *et al.*, 2007). Les modèles de dispersion en une dimension ou en deux dimensions ne sont pas adaptés aux hydrosystèmes (Fagan, 2002; Neuenschwanger, 2006). Les réseaux hydrographiques peuvent être considérés comme linéaires mais étant donné qu'ils présentent de nombreuses branches leur dimension est supérieure à un. Les modèles semi-linéaires semblent mieux adaptés à la topologie et à la structure hiérarchique des réseaux hydrographiques (Neuenschwanger, 2006). AQUASPLATCHE (Neuenschwanger, 2006) est le premier logiciel développé pour simuler les événements de colonisation sur un réseau

hydrographique naturel et générer. La diversité génétique qui en résulte est basée sur le processus de coalescence (méthode aléatoire de généalogie décrivant les relations de parenté). Il s'agit d'un modèle déterministe basé sur des équations différentielles. Cependant ce programme ne permet pas de tester l'effet de la topologie du bassin sur la diversité génétique. Un de nos objectifs était de développer un logiciel permettant de tester l'effet de la géométrie sur la structure génétique des populations d'organismes inféodés au cours d'eau. Ce programme est le premier modèle individus centrés développé pour simuler le flux de gènes sur des réseaux hydrographiques dont la taille et le nombre de branches varient.

Fragilité et préservation des rivières

Les cours d'eau et les zones humides qui s'y rattachent font parties des écosystèmes les plus menacés sur la planète (Sala *et al.*, 2000). En Europe occidentale une grande partie des zones humides et des annexes hydrauliques des principaux cours d'eau ont disparu au cours des deux derniers siècles (Grand & Boudot, 2006). La plupart des cours d'eau ont été modifiés, aménagés, dragués et endigués pour lutter contre les inondations et permettre la navigation (Grand *et al.*, 2006). Les extractions de granulats ont accentué la chenalisation des cours d'eau, modifié l'écoulement des eaux et détruit les bancs d'alluvions (Grand *et al.*, 2006). On estime à plus de 99% la disparition des forêts rivulaires en Europe (Lefèvre *et al.*, 1998; Hughes & Rood, 2003) de par l'activité humaine (contrôle de la dynamique des rivières, déboisement et présence de bétails) au profit de prairies ou de peupleraies de productions. Des espèces étrangères ont parfois été introduites comme l'Elodée du Canada (*Elodea canadensis*), la Tortue de Floride (*Trachemys scripta elegans*), l'Ecrevisse américaine (*Orconectes limosus*) et la Grenouille-taureau (*Rana catesbeiana*). Enfin, la pollution des eaux est un facteur aggravant la modification et la perte d'habitat et essentiellement responsable de la régression de certaines espèces d'insectes aquatiques comme les Odonates (Grand *et al.*, 2006).

Les populations dépendantes des réseaux hydrographiques sont particulièrement vulnérables à la perte d'habitat. En effet la perte d'habitat limite la connectivité entre les populations. Par exemple, les aménagements consistant à réguler les flux hydriques et

contrôler les inondations ont contribué à diminuer la connectivité entre les rivières et les prairies inondables qui les entourent (Ward, 1998). L'assèchement des zones humides tend à fragmenter ces milieux et à constituer des barrières à la dispersion le long du cours d'eau ou entre les sous-bassins (Ward, 1998). En effet, la présence d'habitats aquatiques en dehors du réseau hydrographique (mares, lacs, fossés) permet la colonisation de nouvelles branches du réseau (Lowe *et al.*, 2006) et faciliterait la dispersion sur le réseau (Bond *et al.*, 2000). La topologie des réseaux hydrographiques tend naturellement à isoler les populations d'organismes aquatiques distribués sur les différentes branches, la fragmentation de l'habitat sur de tels paysages aurait pour résultat de produire de nombreux fragments de petite taille (Fagan, 2002). Par conséquent, l'augmentation de l'isolement des populations diminue le flux de gènes entre les populations (Sltakin, 1995). Si le flux de gènes diminue, la différenciation entre les populations peut augmenter via l'effet de la dérive génétique (Hedrick, 2005). De plus, la dérive génétique peut entraîner une perte de la variabilité génétique au sein des populations, ainsi le taux de consanguinité peut augmenter chez les petites populations isolées (Hedrick, 2005). Enfin, ces populations montreraient un taux d'extinction local plus important (Frankham, Ballou & Briscoe, 2002).

Etudier les processus génétiques est essentiel dans la compréhension des patrons de dispersion et le maintien des populations. La dynamique des populations sur les systèmes hydrographiques souffre d'un manque d'études. Savoir si une tache sur le cours d'eau est une source ou un puits pour les dispersants et comment les sources et les puits sont répartis à l'échelle du bassin hydrographique restent à déterminer (Lowe *et al.*, 2006).

Le bassin de la Loire comme aire d'étude

Le travail de thèse a été mené sur le bassin moyen de la Loire (Fig. 5). La Loire est le fleuve le plus grand de France. Elle s'écoule sur 1012 km de long drainant un bassin versant de 117000 km². Le fleuve prend sa source en Ardèche et se jette dans l'océan Atlantique à St-Nazaire. Il est caractérisé par des régimes de perturbations importants comprenant des étiages sévères en été et des crues de forte amplitude au printemps et en hiver. Les crues sont générées par des tempêtes sur les cours montagneux en amont, par de fortes précipitations apportées par les dépressions en provenance de l'Atlantique, et par la fonte des neiges et des

glaciers à la source. A la station hydrologique de Tours (à 760 km de la source), le débit moyen est de $374 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ et d'environ $1500 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ lors de fortes inondations (Rodrigues *et al.*, 2007).

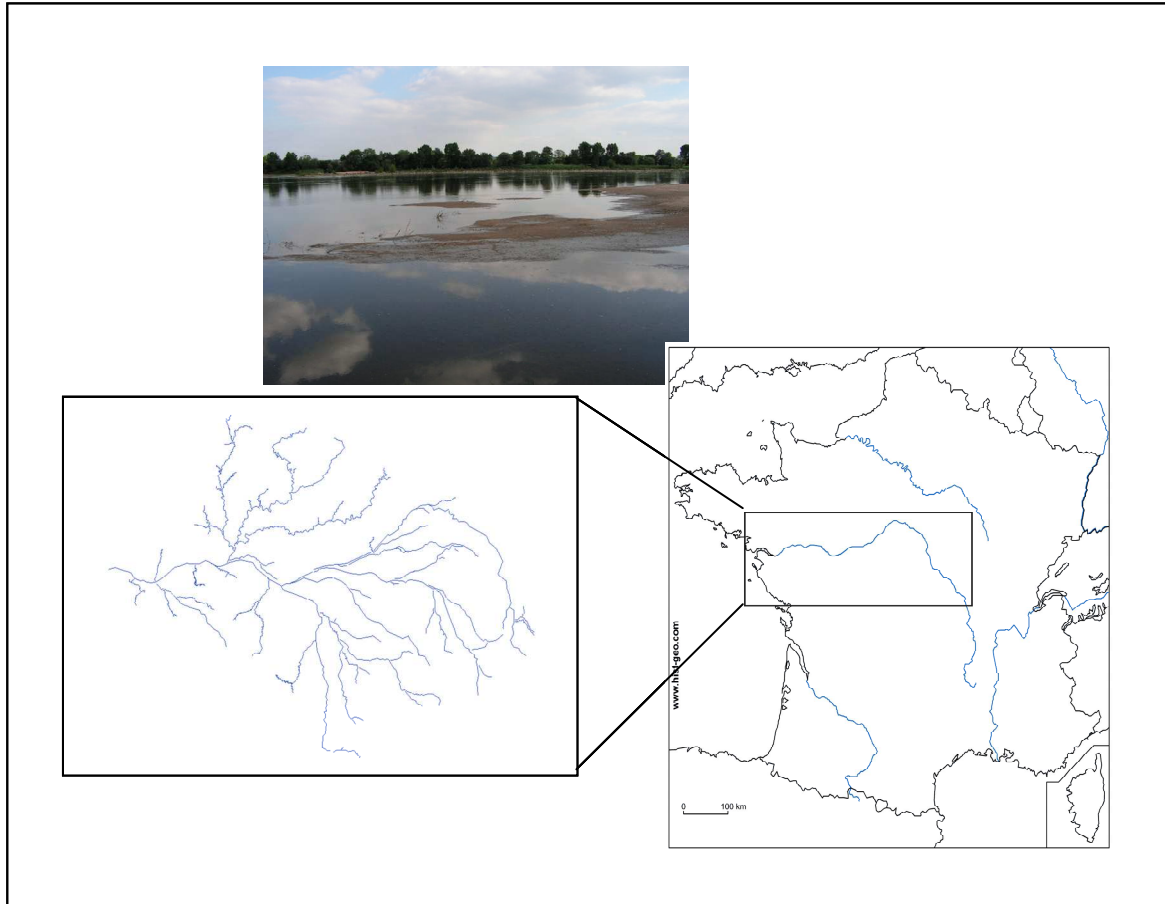


Fig. 5. Aire d'étude, bassin de la Loire. La Loire moyenne et inférieure jusqu'à l'estuaire.

Les cours d'eau faisant un minimum de 15 m de large ont été retenus pour l'étude, limitant à l'ordre 4 le niveau de ramification du bassin hydrographique. Un total de 22 rivières, 7 sous bassins et le cours principal de la Loire ont été échantillonnés, se répartissant sur 3 régions administratives (Pays de la Loire, Poitou-Charentes et Centre). Dans ces 3 régions les principaux affluents de la Loire ont été échantillonnés. Il s'agit de la Sèvre Nantaise, la Maine, le Layon, le Thouet, la Sarthe, le Loir, la Mayenne, l'Huisne, la Vienne, la Creuse, la Gartempe, l'Indre et le Cher.

La Loire moyenne est caractérisée par des sections en amont et en aval larges et étendues présentant des îles, des anastomoses (connexion entre deux bras d'un même cours d'eau) et des chenaux secondaires, tandis que les sections intermédiaires sont plus étroites et plus uniformes (Picard & Lair, 2005). La Loire n'a pas subi d'aménagements lourds de chenalisation, mais est toutefois soumise à certaines perturbations physiques, notamment une perte de connectivité latérale suite à la chenalisation et l'enfoncement du lit mineur. D'un point de vue chimique, la Loire est fortement touchée par l'eutrophisation (enrichissement du milieu en éléments nutritifs tels que les phosphates et les nitrates du fait de l'activité agricole), avec des pics de concentration en chlorophylle (Moatar & Maybeck, 2005). Les aménagements les plus perturbants du bassin se situent sur des affluents de taille plus modeste tels que le Loir, la Mayenne, la Sarthe, l'Indre, et le Thouet (Source : le conservatoire régional des rives de la Loire et de ses affluents, CORELA).

Le bassin de la Loire est caractérisé par ses fortes amplitudes de niveau d'eau mais aussi par d'importantes variations saisonnières de ses caractéristiques physico-chimiques. Si celles-ci varient graduellement entre l'amont et l'aval, les affluents présentent des variations plus ou moins grandes selon leur situation géographique et leur niveau d'ordre. Ainsi, la température (Fig. 6) et la concentration en oxygène dissout (Fig. 7) montrent une variation synchrone entre les cours d'eau au cours de l'année, même si d'autres paramètres comme le pH ne présentent pas ce patron de variation temporel (Fig. 7). Ces variations saisonnières sont connues pour affecter profondément la distribution des espèces ligériennes (Ivol *et al.*, 1997; Picard *et al.*, 2005; Lasne, Lek & Lafaille, 2007).

De part sa taille, sa topologie (fleuve d'ordre 4), ses régimes de perturbations, ses variations physico-chimiques et biotiques (distribution des espèces et productivité), ses anastomoses et ses paysages rivulaires variés (coteaux, plaines et vallées encaissées), la Loire représente une aire d'étude favorable à l'analyse de l'influence de la structure des réseaux hydrographiques sur la dispersion et le flux génique.

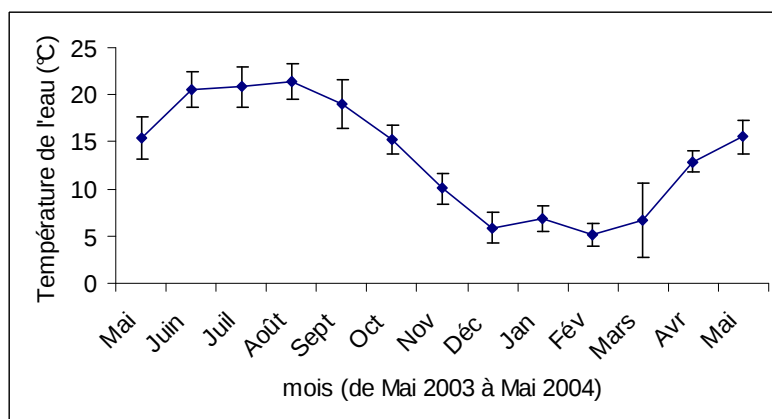


Fig. 6. Variation annuelle de la température de l'eau sur le bassin moyen de la Loire (Source : Réseau de Bassins de Données sur l'eau Loire-Bretagne, RBDE). Valeur moyenne mensuelle ($\pm$ écart type) calculée pour 16 des 22 rivières échantillonnées.

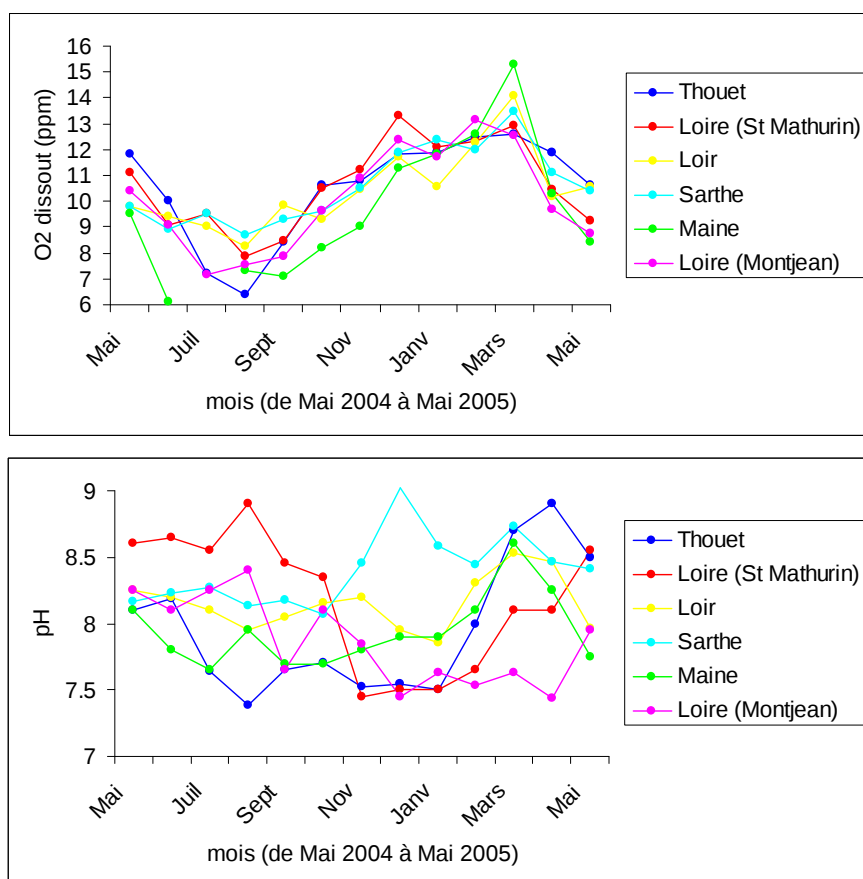


Fig. 7. Variation annuelle de l'oxygène dissout (en haut) et du pH (en bas) sur la Loire et 4 de ses affluents (Source : Réseau de Bassins de Données sur l'eau Loire-Bretagne, RBDE). Les deux stations sur la Loire sont distantes de 40 km (distance Euclidienne).

Les insectes aquatiques comme modèle biologique : le cas du *Calopteryx splendens*

Pourquoi des insectes aquatiques ?

Les insectes aquatiques sont de bons modèles pour aborder notre problématique, à savoir étudier l'effet de la géométrie et des gradients écologiques du réseau hydrographique sur les caractéristiques et la structure génétique des populations. Les insectes présentent généralement des populations abondantes et ils ont un temps de génération court. En se reproduisant rapidement et en ayant de nombreux descendants, ils possèdent une capacité importante de colonisation des milieux, si les conditions environnementales sont favorables. Ces caractéristiques favorisent également l'adaptation génétique face à de nouvelles contraintes externes (Ananthakrishnan *et al.*, 2005). Ils possèdent aussi un cycle de vie complexe comportant plusieurs mues à l'état larvaire et une métamorphose entre le stade larvaire et le stade adulte. Ce cycle de vie rend les insectes sensibles aux variations environnementales, et plus particulièrement au cours du développement des larves (Hentschel, 1999). De plus, les insectes sont des ectothermes, c'est-à-dire que leur activité et leur développement dépendent de la température du milieu (Atkinson, 1994). Ainsi, les insectes montrent des phénotypes variables (différences morphologiques) en fonction des conditions du milieu (plasticité phénotypique) (Ananthakrishnan *et al.*, 2005). Par conséquent, les insectes aquatiques par l'intermédiaire de leur génotype et de leur phénotype nous renseignent sur l'effet des variations environnementales sur les populations.

De nombreux ordres d'insectes comme les Odonates, les Trichoptères, les Diptères, les Epheméroptères et les Plécoptères ont des représentants dont le stade larvaire est aquatique et le stade adulte aérien (Fig. 8). Ils peuvent donc montrer deux types de déplacements, le long des cours d'eau et entre les cours d'eau (par la voie terrestre). Les déplacements le long du cours d'eau sont réalisés lors de la dérive des larves suivant le courant et lors de la quête alimentaire ou la recherche d'un site de reproduction chez les adultes (Mackay, 1992; Jackson *et al.*, 1999; Kopp *et al.*, 2001; Caudill, 2003). Les mouvements entre les cours d'eau ne concernent que les phases adultes (Sode *et al.*, 1993; Petersen *et al.*, 2004). Même si ces deux types de dispersion ont été mis en évidence, l'effet des déplacements entre les branches du réseau sur la structure génétique des populations reste à déterminer.

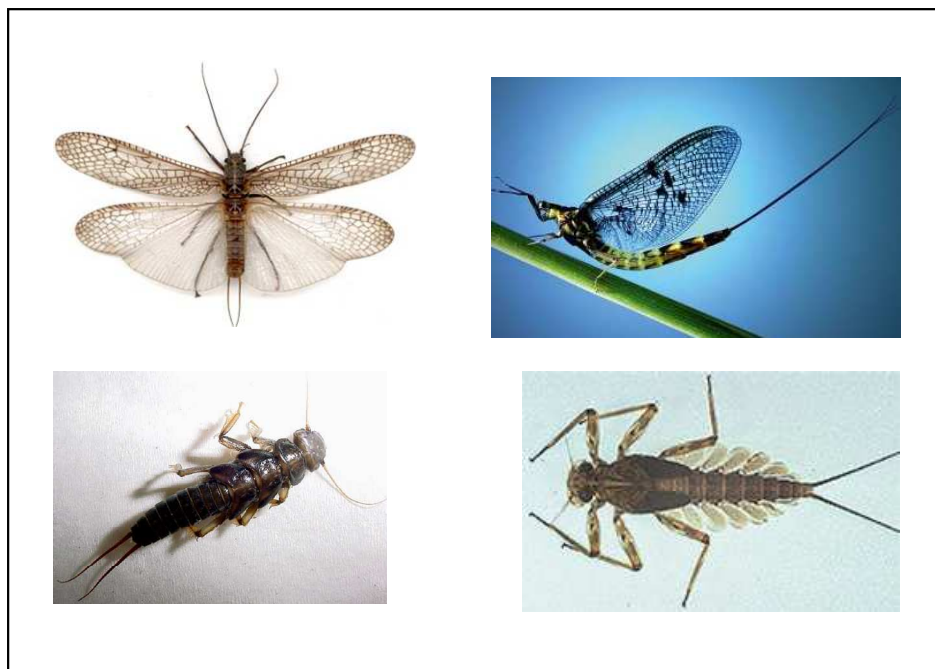


Fig. 8. Plécoptère (à gauche) et Ephéméroptère (à droite) à l'état adulte (en haut) et à l'état larvaire (en bas).

Le Caloptéryx éclatant

L'ordre des Odonates se subdivise en deux sous ordres : les Anisoptères ou libellules vraies et les Zygoptères ou demoiselles. Le Caloptéryx éclatant, *Calopteryx splendens*, (Harris, 1782) est un Zygoptère appartenant à la famille des Caloptérygides. L'aire de répartition de cette espèce comprend l'Europe occidentale, où elle est commune à basse et moyenne altitude, la Sibérie centro-méridionale et le sud de la Mongolie (Grand *et al.*, 2006). En France, elle est présente sous forme de populations localisées mais reste une espèce commune (Aguilar & Dommanget, 1998). On la retrouve le long des eaux courantes et ensoleillées de basse et moyenne altitude (jusqu'à 1200 m), des grands fleuves aux petits cours d'eau (Grand *et al.*, 2006). L'espèce se développe préférentiellement dans les milieux lenticques (Aguilar & Dommanget, 1998). Il existe un dimorphisme sexuel lié à la couleur chez ces demoiselles, les mâles ont un corps bleu métallique et leurs ailes portent une tache noire (Fig. 9) et les femelles ont un corps vert métallique avec des ailes généralement hyalines (Fig. 9). De plus, les femelles sont plus grandes que les mâles.

Sous nos latitudes le Caloptéryx éclatant est une espèce univoltine, c'est à dire qu'elle produit une seule génération par an (Aguilar & Dommanget, 1998). Les pontes de *C. splendens* sont endophytiques, les oeufs sont déposés dans les feuilles ou les tiges des plantes aquatiques (Corbet, 1999). Une femelle peut pondre une centaine d'œufs voire jusqu'à un millier dans des conditions optimales (Corbet, 1999; Cordero & Andrés, 2002; Tsubaki, Kato & Shintani, 2006). Les œufs éclosent 6 à 9 semaines après la ponte. Au terme de sa croissance, après 12 stades larvaires successifs, la larve quitte le milieu aquatique, grimpant sur une plante ou tout autre support aérien, et subit une dernière mue ou mue imaginale qui la métamorphosera en adulte (ou imago) ailé immature (Aguilar & Dommanget, 1998). L'imago va subir une période de maturation sexuelle de quelques jours. Pendant la maturation sexuelle la masse corporelle des individus augmente et les ailes durcissent. On retrouve ces immatures à l'écart du cours d'eau, dans les prairies, les lisières de bois et les clairières des forêts attenantes (Kirkton & Schultz, 2001). Lorsque la maturation sexuelle est achevée, les adultes retournent vers le milieu aquatique et les mâles prennent possession d'un territoire. La durée de vie des adultes varie de 5 à 6 semaines (Aguilar *et al.*, 1998).

Le comportement territorial est surtout lié à la reproduction car le territoire est avant tout un site potentiel d'oviposition (Kirkton & Schultz, 2001). Pendant la période de reproduction les mâles ne migrent pas, ils défendent leur territoire des intrusions de leurs congénères mâles (Beukema, 2002b). Cependant, par mauvais temps et durant la nuit, les individus s'abritent dans la ripisylve environnante (Aguilar & Dommanget, 1998).



Fig. 9. « Cœur copulatoire » formé par le mâle (corps bleu métallique et tache noire sur les ailes) et la femelle (corps vert métallique et ailes hyalines) *Calopteryx splendens* (à droite) et larve de *Calopteryx*

Le caloptéryx éclatant est un excellent modèle pour répondre aux questions de la thèse. C'est un animal inféodé aux cours d'eau, commun, dont l'identification et la capture sont relativement aisées, ce qui facilite le travail de capture-marquage-recapture abordé dans le Chapitre III. Une distribution discontinue des populations et des capacités de dispersion limitées, sur moins de 100 m pour la plupart des individus (Stettmer, 1996), en font également un modèle intéressant dans le cadre de l'analyse de la structure génétique (Chapitre IV). En outre, en dépit de l'absence de marqueurs microsatellites pour cette espèce, une étude précédente a démontré l'efficacité des marqueurs AFLP dans l'analyse de la structure génétique des populations de cette espèce (Svensson *et al.*, 2004).

Distribution spatiale des adultes le long des cours d'eau chez *C. splendens*

La distribution des odonates est souvent discontinue, en « taches », le long des cours d'eau de part l'isolement des pontes (Stettmer, 1996; Corbet, 1999; Bilton *et al.*, 2001). De plus, les demoiselles se déplacent sur de courtes distances, généralement sur moins de 100 m pour *C. splendens* (Stettmer, 1996; Ward & Mill, 2007). Cette structure spatiale associée à une dispersion limitée pourrait favoriser des extinctions locales. Les adultes aériens sont toutefois capables de coloniser assez rapidement des taches d'habitat vides avoisinantes (Kovats *et al.*, 1996; Miller *et al.*, 2002; Purse *et al.*, 2003; Macneale, Peckarsky & Likens, 2004). On considère donc généralement que les populations de zygoptères présentent une dynamique de type métapopulationnel (Stettmer, 1996; Bohonak *et al.*, 2003).

Les adultes matures ont tendance à rester fidèles à leur site de ponte (Kirkton *et al.*, 2001). Les caractéristiques de l'habitat peuvent jouer un rôle sur cette fidélité. Par exemple, si les conditions environnementales changent, les individus vont se déplacer et chercher des sites plus propices à leur reproduction (Peckarsky, Taylor & Caudill, 2000). La sélection de l'habitat est un processus par lequel l'animal va s'installer à un endroit où il pourra vivre et effectuer l'ensemble de son cycle biologique. Cette sélection dépend de la taille et de la mobilité des espèces ainsi que de la structuration spatiale de l'environnement (Ward & Mill, 2005). En effet, certains éléments du paysage peuvent constituer des freins, voire des barrières à la dispersion des espèces. Les macrophytes, essentielles pour la ponte des œufs, jouent un

rôle important dans la détermination de la structure de l'habitat des odonates (Corbet, 1999). Cependant, chaque espèce d'odonate a ses propres exigences écologiques. D'après Stettmer (1996), les variables favorisant l'installation du caloptéryx sont (i) la hauteur de la végétation sur la berge (40 à 60 centimètres de végétation) et (ii) un écoulement régulier du cours d'eau, tandis que la présence d'arbres influence négativement sa présence (Ward *et al.*, 2005). Chez une autre espèce de demoiselle, *Coenagrion mercuriale*, la densité d'individus est associée au pourcentage de recouvrement des dicotylédones émergentes, monocotylédones et les dicotylédones héliophytes de la berge (Rouquette & Thompson, 2005). Les racines des dicotylédones émergentes semblent être l'habitat de prédilection pour le développement des larves (Rouquette *et al.*, 2005).

Une étude a été menée sur une section longue d'un cours d'eau afin de (i) établir le mode de distribution des sites de reproduction et (ii) tester l'effet de variables de l'habitat aquatique et terrestre sur la présence de *C. splendens*. Il était important de déterminer le mode de distribution de l'espèce afin de mieux comprendre le fonctionnement des populations et par la suite aider à interpréter les résultats des analyses génétiques.

Méthodes

L'étude s'est déroulée de mi Mai à mi Juin 2006, cette période correspondant au début de la période d'émergence des adultes *C. splendens*. Les comptages de libellules ont été réalisés lorsque les températures étaient supérieures à 20°C et lorsqu'il ne pleuvait pas. Ces conditions météorologiques correspondraient aux conditions optimales permettant d'observer l'espèce. En effet, la température et la pluie influencent le taux d'émergence ainsi que le taux de survie des larves et des adultes, et l'activité de vol des adultes (Stettmer, 1996; Beukema, 2002b; Angelibert & Giani, 2003).

La zone d'étude est située sur le Loir, un affluent de la Loire. Une section de 30 km a été délimitée sur la rive gauche du Loir entre Briollay, en aval (0°31'31,3"W 47°33'22,3"N) et Durtal, en amont (0°20'52,3"W 47°37'28,4"N). Les berges du Loir présentent un paysage hétérogène constitué d'une alternance de prairies humides, de peupleraies, de cultures, de boisements, de haies, de bâtis et de cours d'eau. Un échantillonnage systématique a été effectué sur la zone d'étude. Nous avons positionné 47 demi-cercles de 300 m de rayon non

chevauchants sur la rive gauche de la rivière (Fig. 10). Un rayon de 300 m correspond à la moyenne de la distance de dispersion du caloptéryx (Stettmer, 1996). La localisation des sites et le calcul du pourcentage de recouvrement de chaque type d'habitat (prairies humides, de peupleraies, de cultures, de boisements, de haies, de bâtis et de cours d'eau) ont été effectués à partir de photos aériennes (Maine et Loire, IGN, 2003).

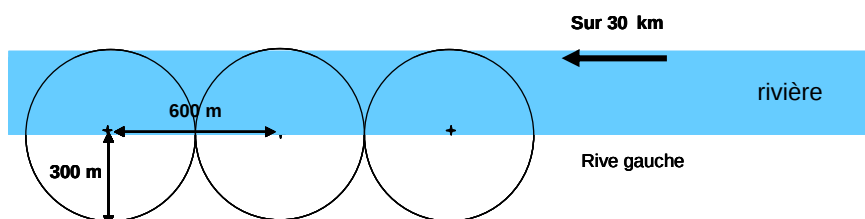


Fig. 10. Schéma du plan d'échantillonnage

Sur le terrain, une caractérisation de la végétation présente sur la berge a été réalisée à partir de la méthode des quadrats par points (Henderson, 2003), afin de calculer les pourcentages de recouvrement. Un transect de 100 m de long a été effectué parallèlement au cours d'eau à partir du centre du demi-cercle de 300 m de rayon. Sur ce transect, tous les 10 mètres, perpendiculairement au cours d'eau, sur une distance de 5 m, il est noté tous les 50 cm, le type de plante (une dicotylédone ou une monocotylédone) et sa hauteur (0 à 1 m, 1 à 2 m et plus de 2 m) (Fig. 11). Le pourcentage de recouvrement des macrophytes (phalaris, massettes, nénuphars, élodée ou potamot) présentes sur 100 m de cours d'eau a été calculé pour chaque site.

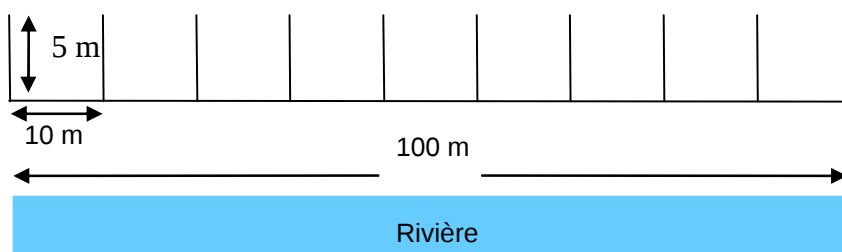


Fig. 11. Méthode d'échantillonnage de la végétation présente sur la berge à partir de la méthode des quadrats par points.

Sur chaque site, la densité de caloptéryx a été calculée. La densité correspondait au nombre d'individus observés sur le transect de 100 m réalisé pour la caractérisation de la végétation. Les observations ont été menées entre 10h et 17h.

Afin de déterminer les variables de l'habitat (paysage et végétation au sol) susceptibles d'influencer la densité de caloptéryx, des Modèles Linéaires Généralisés (GLM) ont été réalisés. Ces analyses ont été effectuées avec le logiciel SAS (SAS, 1999). Deux modèles ont été construits. Le premier modèle a permis de tester l'effet des variables paysagères sur la densité. Le second modèle a permis de tester l'effet de la végétation ripariale sur la densité. Afin de déterminer le modèle minimal, une sélection descendante a été réalisée à partir des modèles complets.

Enfin, il a été vérifié s'il existait une relation entre la localisation des sites et la densité de caloptéryx observés.

Résultats

Les variables paysagères dominantes sur les 30 km de cours d'eau étaient les prairies humides ($50 \% \pm 25 \%$; moyenne $\pm$ écart type), les peupleraies ($25 \% \pm 25 \%$) et les bois ($20 \% \pm 20 \%$), mais l'occupation du sol variait énormément d'un site à l'autre. Parallèlement, concernant la végétation de la berge, la strate herbacée de moins d'un mètre était majoritairement représentée ($60 \% \pm 25 \%$) et les arbres couvraient $20 \% (\pm 20 \%)$ de la berge sur les 30 km.

Aucune variable de l'habitat n'a eu d'effet sur la densité de *C. splendens*, ni pour les variables du paysage ($X^2 < 1,97$; ddl = 1 ; $p > 0,160$), ni pour les variables de la végétation sur la berge ($X^2 < 1,78$; ddl = 1 ; $p > 0,128$). Cependant, une corrélation négative significative a été observée entre la position géographique des sites et la densité des individus (coefficient de corrélation des rangs de Spearman, $R = -0,363$; $p = 0,014$), plus on s'éloigne de l'aval et moins on observe d'individus. En effet, la distribution des individus sur les 30 km de cours d'eau est discontinue (Fig. 12 et 13). Les individus sont plus concentrés en aval alors qu'en amont les sites présentant des individus sont plus éloignés les uns des autres (Fig. 12).

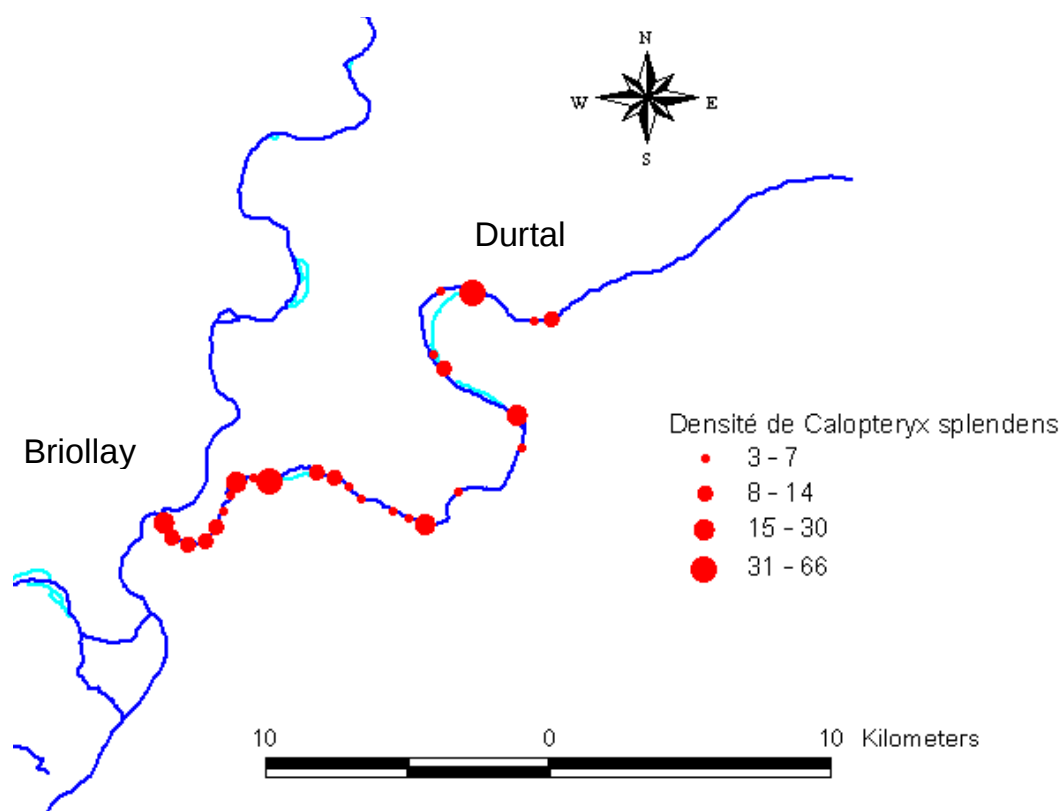


Fig. 12. Distribution de *C. splendens* sur la rive gauche du Loir.

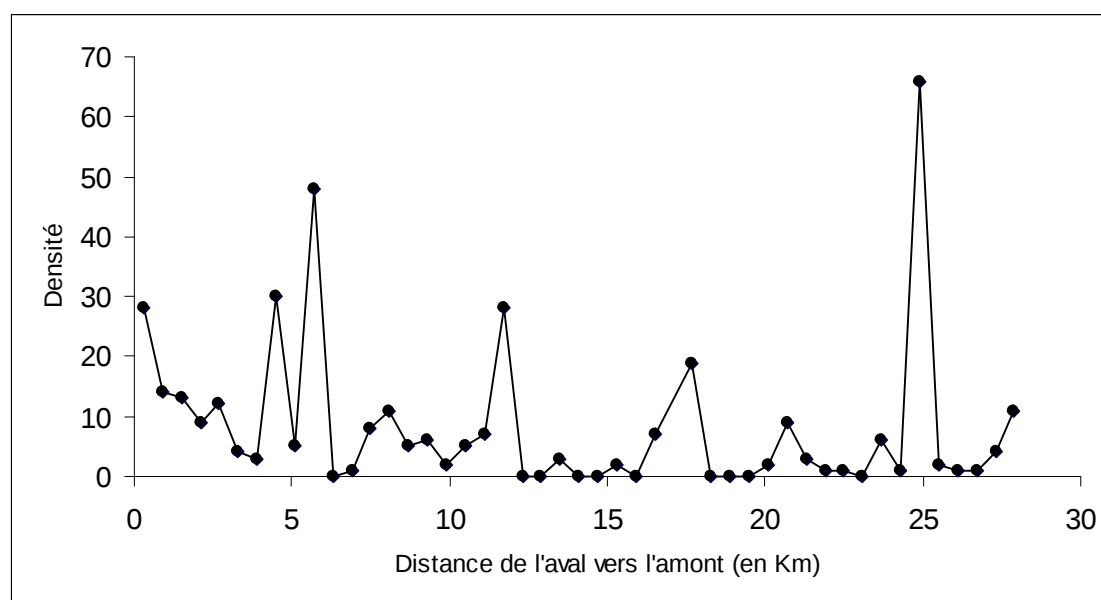


Fig. 13. Densité de *C. splendens* sur 30 km de cours d'eau.

L'oscillation de la densité de caloptéryx entre l'amont et l'aval représente la distribution en taches des individus sur le cours d'eau (Fig. 13).

Discussion

C'est la première fois, à notre connaissance, qu'une étude de l'influence de l'habitat sur une espèce de zygoptère est menée à si grande échelle (30 km de cours d'eau). Contrairement aux études précédentes (Stettmer, 1996; Ward *et al.*, 2005), réalisées sur moins de 2 km, les modèles linéaires généralisés n'ont pas révélé d'effet significatif des variables du paysage ni de la structure de la végétation. En effet, les demoiselles étaient présentes aussi bien dans les prairies que dans les peupleraies. Cependant, aucune libellule n'a été observée dans les zones fortement boisées, difficiles d'accès en amont. De tels boisements pourraient donc constituer des barrières à la dispersion. Cette hypothèse demanderait à être testée.

Ces premiers résultats indiqueraient que les variables d'habitat sélectionnées ne seraient pas des facteurs déterminants de la présence de l'espèce. Les facteurs influençant la présence des caloptéryx sont probablement associés à l'habitat aquatique. La répartition de l'espèce le long des cours d'eau reflèterait la présence d'habitats aquatiques favorables au développement des larves (Jonsen & Taylor, 2000). Cependant ces variables n'ont pas été mesurées.

Quant à la distribution des individus sur le cours d'eau, elle est discontinue, sous forme de taches. Les sites présentant des individus sont plus proches en aval qu'en amont. Cette répartition pourrait s'expliquer par la grégarité des individus qui seraient attirés par les sites contenant déjà une forte densité de leurs congénères (Rouquette *et al.*, 2005). Rouquette & Thompson (2005) ont montré une relation négative significative, chez *Coenagrion mercuriale*, entre la probabilité de disperser et la distance entre les sites, ce qui renforcerait l'isolement des individus en amont. De manière, entre autres, à vérifier l'existence d'une relation négative entre densité et dispersion, une étude de capture-marquage-recapture a été menée (Chapitre III). De plus, la présence de nombreux individus en aval par rapport à l'amont pourrait appuyer l'existence d'une dispersion passive des larves sur le cours d'eau via le courant (Anholt, 1995; Beukema, 2002a). Ces informations relatives à la distribution des

taches sur les cours d'eau permettent de mieux appréhender les résultats des analyses des patrons de dispersion (Chapitre III) et de génétique des populations (Chapitre IV).

CHAPITRE II

Variations morphologiques chez *Calopteryx splendens* et gradients écologiques sur le bassin de la Loire

Cette étude teste l'effet de variables environnementales et de la structure hiérarchique du réseau hydrographique (distances géographiques et niveau d'ordre) sur les variations morphologiques de *Calopteryx splendens*. Il a été étudié l'effet des facteurs aquatiques (température de l'eau, pH, concentration en nitrate et caractéristiques du substrat) et terrestres (caractéristiques de la berge) pouvant influencer le développement larvaire et à terme la taille des adultes à l'émergence. Environ 30 individus ont été mesurés (taille de l'aile, de l'abdomen, du thorax et du fémur) à chaque niveau de ramification du bassin hydrographique, constituant un total de 33 sites, 7 sous-bassins et 998 individus. Ce travail conclue sur les conséquences des variations graduelles des conditions environnementales d'un bassin versant sur la variation de traits phénotypiques liés aux capacités de dispersion des individus.

Ce chapitre a fait l'objet d'une publication dans le journal « Freshwater Biology ».

Morphological clines in dendritic landscapes

A. CHAPUT-BARDY*, O. PAYS*, T. LODÉ[†] AND J. SECONDI*

*Laboratoire Paysages et Biodiversité, UFR Sciences, Angers, France

[†]UMR-CNRS Ethologie éVolution Ecologie, Université de Rennes 1, Rennes, France

SUMMARY

1. In complex landscapes such as river networks, organisms usually face spatio-temporal heterogeneity and gradients in geomorphological, water, ecological or landscape characteristics are often observed at the catchment scale. These environmental variables determine developmental conditions for larval stages of freshwater insects and influence adult phenotypic characteristics. Environmental clines are therefore expected to generate morphological clines. Such a process has the potential to drive gradual geographical change in morphology-dependent life history traits, such as dispersal.

2. We studied the influence of aquatic and terrestrial environmental factors on morphological variations in *Calopteryx splendens* across the Loire drainage. To investigate these effects we took explicitly into account the hierarchical structure of the river network.

3. We analysed eight morphological traits. Results showed significant body size variation between tributaries and the presence of a morphological cline at the drainage scale. We observed an effect of pH and water temperature on body size. Individuals in downstream sites were larger than individuals in upstream sites, and adults whose larval stages were exposed to alkaline pH and high temperatures during summer were larger.

4. Body size affects flight abilities in insects. Thus, our results suggest that morphological clines may generate an asymmetric dispersal pattern along the downstream–upstream axis, downstream populations dispersing farther than upstream ones. Such a process is expected to influence population genetic structure at the drainage scale if larval drift and floods do not balance an asymmetrical dispersal pattern of adults along the downstream–upstream gradient. To assess the influence of environmental gradients on the variation of life history traits it is important to understand the population biology of freshwater insects, and more generally of riverine organisms. It is also essential to integrate such data in conservation or restoration programmes.

Keywords: abiotic factors, *Calopteryx splendens*, environmental gradients, odonates, river network

Introduction

Environmental heterogeneity or ecological gradients can generate phenotypic variations in many organisms (Smith *et al.*, 1997; Smith, Schneider & Holder, 2001; West-Eberhard, 2003). Factors affecting metabolism are crucial because they strongly influence key aspects of the life cycle like development or repro-

duction (Anholt, Marden & Jenkins, 1991; Atkinson, 1994; Angilletta *et al.*, 2003). As a consequence, spatial variation of environmental conditions can induce differentiation of life history traits between populations (dispersal, survival rate, reproductive success). In order to predict population processes from landscape to regional levels, it is therefore necessary to identify gradients or discrete large-scale variations of the environment and to quantify phenotypic responses to heterogeneity.

Large rivers often undergo disturbances associated with flooding or drought, but they are also characterized by other sources of spatio-temporal heterogeneity

Correspondence: Audrey Chaput-Bardy, Laboratoire Paysages et Biodiversité, UFR Sciences, 2 Bd Lavoisier, 49045 Angers cedex 01, France. E-mail: audrey.chaput-bardy@univ-angers.fr; chaput_bardy_audrey@hotmail.com

(Ward, 1998; Gomi, Sidle & Richardson, 2002; Tockner *et al.*, 2002; Ward *et al.*, 2002; Wiens, 2002). A river exhibits variation in geomorphological features, landscape structure and seasonal variation (water level, current flow regime, chemical characteristics). On the one hand, a river network is a dynamic element included in a larger system, with riparian zones commonly forming a mosaic of habitats related to flood regime, vegetation, or soil hydromorphology and composition whose variation induces species-specific responses among aquatic organisms (Ward *et al.*, 2002). On the other hand, the geomorphology of a river network produces longitudinal gradients in substrate, soil moisture or water characteristics (Ward, 1998). Lower reaches are characterized by homogeneous substrate, high turbidity and oxygen deficits. In the middle reaches, by contrast, light and nutrient levels are higher, water is clearer, substrate is often patchy and thermal variance is maximal (Ward, 1998).

Spatial heterogeneity in aquatic and terrestrial habitats between upstream and downstream reaches influences both species distribution and community composition (Hawkins *et al.*, 1997; Ward & Tockner, 2001; Benda *et al.*, 2004; Lowe, Likens & Power, 2006). Variations in physicochemical and biological (i.e. food availability) water characteristics and the surrounding terrestrial landscape features affect stream insect populations (Hawkins *et al.*, 1997; Malmqvist, 2002). Oxygen, nitrate and ammonium concentrations, pH, conductivity and summer hydraulic conditions strongly influence the distribution of taxa in a river (Franken, Storey & Williams, 2001; Usseglio-Polatera & Beisel, 2002). The aquatic environment, and especially water temperature, is well known to affect larval development and therefore size of emerging adults of freshwater insects whose adult stage is terrestrial (Atkinson, 1994; Angilletta *et al.*, 2003). As a consequence, any longitudinal gradient of a variable influencing development may differentially affect the characteristics of populations distributed along the river network. On land, the width and composition of riparian vegetation can influence movements of freshwater insects into the riparian zone (Wiens, 2002). Hence, many authors have described a positive correlation between habitat heterogeneity and morphological traits related to flight (Roff, 1990; Wagner & Lieberr, 1992; Roff, 1994a; Taylor & Merriam, 1995). Variation in such traits is expected to change population dispersal characteristics. Among species living in

river network landscapes, freshwater insects are of particular interest because they exploit riverine and riparian landscapes, exposing them to variations in both environments. Insects undergo dramatic changes (metamorphosis) during their life cycle and are prone to population divergence via phenotypic plasticity (West-Eberhard, 2003; Ananthakrishnan & Whitman, 2005). Thus, spatial variation in aquatic and terrestrial environments is likely to generate population phenotypic variation in species exploiting river networks.

Biotic factors such as interspecific interactions and resource availability can influence population characteristics too. Low food levels or predator avoidance often induce a smaller size at metamorphosis (Anholt, 1991; Ball & Baker, 1996). Intraspecific interference affects survival and growth rates at high population densities (Gribbin & Thompson, 1990), as well as larval distribution. Similarly, competition between early-instar stonefly larvae increases body size variance even if this effect is attenuated before emergence (Peckarsky & Cowan, 1991).

The larval development of odonates is aquatic and their adult stage is terrestrial. However, the conditions of larval development influence age and size at maturity. Many biotic and abiotic factors affect larval development. Among biotic factors, high larval density (Corbet, 1999), food availability (Anholt, 1991; Mikolajewski *et al.*, 2005) and predator presence (Werner & Anholt, 1993; Mikolajewski *et al.*, 2005) increase development time and decrease size at emergence. Growth and distribution of stream insects are also very sensitive to abiotic factors (Hawkins *et al.*, 1997; Corbet, 1999). For instance, water temperature strongly influences emergence date and can influence body size of adults. The genus *Calopteryx* (Odonata: Zygoptera) is particularly interesting because morphology reflects population response to environmental factors (Taylor & Merriam, 1995; Svensson *et al.*, 2004). For instance, Taylor & Merriam (1995) compared flight abilities of *Calopteryx maculata* between forest and pasture and showed that wing morphology was related to landscape structure.

Investigating how the environment acts on phenotypic traits at the catchment scale is fundamental to predict population processes such as dispersal or adaptation. To our knowledge, no study has explored the influence of ecological gradients and river network structure on morphological variation and few data on population variation across an entire

catchment area are available for semi-aquatic species (Hugues *et al.*, 1999; McGlashan, Hugues & Bunn, 2001; Bohonak & Jenkins, 2003; Svensson *et al.*, 2004). In this context, we investigated the pattern of morphological variation in the banded damselfly, *Calopteryx splendens* (Harris, 1782), across a large dendritic drainage to investigate the effect of clinal environmental factors on adult phenotypic variation. We focused on adults because individuals have accumulated environmental effects at this stage. We applied a dichotomous sampling strategy, reflecting the hierarchical drainage structure, and developed a statistical analysis reflecting the nested structure of river networks, focusing on abiotic factors suspected or known to influence adult morphology.

Methods

Study species and sites

The banded damselfly is common along streams in France. In western Europe, its larvae spend 1 year in the stream (Askew, 2004). Adults, which emerge from May to September, have a lifespan of 3–6 weeks. The

maturation stage lasts 2–3 days. Males (which have dark wing spots) and female damselflies differ in size and weight in their larval and adult life stages, females being larger than males (Corbet, 1999).

The study was carried out in western France along the River Loire (Fig. 1). In order to investigate the effect of dendritic landscape structure on population morphological variation, we captured adult *C. splendens* at thirty-three sites distributed on the main channel and in seven tributaries in the lower part of the Loire drainage. We chose sites based on stream width and stream order, only including streams wider than 15 m from a hydrographical database (BD CARTHAGE © IGN-MATE 2005). Our study area encompassed four stream orders, seven sub-catchments and 22 streams in the lowland section of the river. We observed the presence of mating and laying behaviour, exuvia and teneral at each site.

Adult morphometry

Using insect nets, we captured 998 individuals (about 30 individuals from each site), 662 males

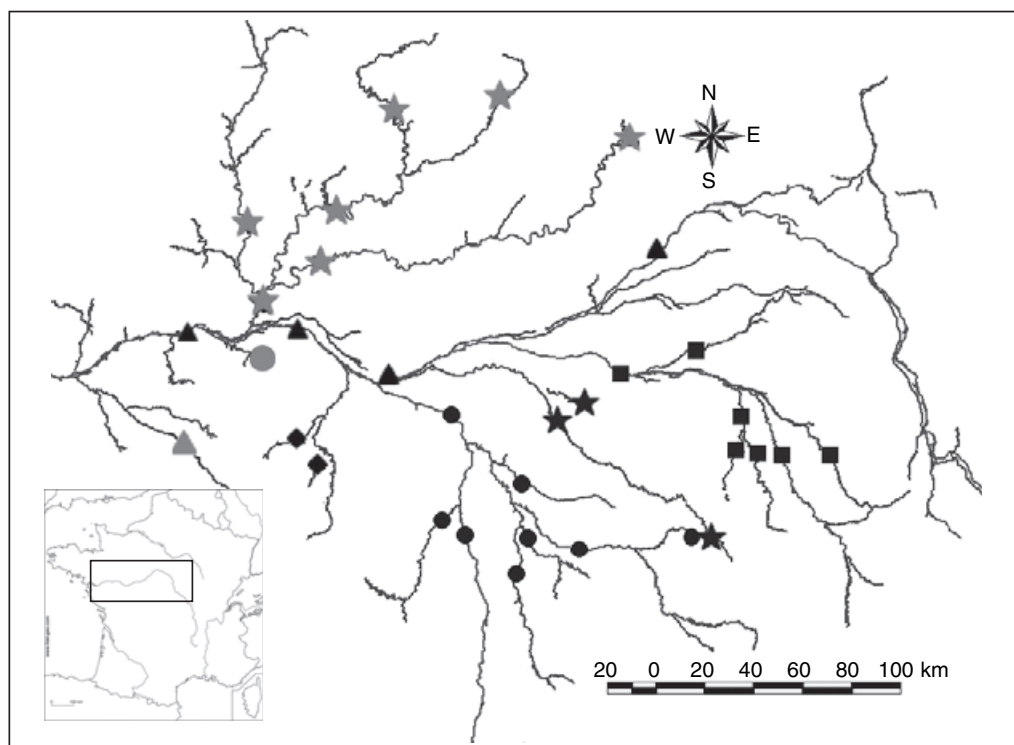


Fig. 1 Location of the 33 sites on the seven tributaries and on the main channel (black triangles) of the Loire drainage in western France (BD CARTHAGE © IGN-MATE 2005). A different symbol is used for each tributary.

and 336 females, from 26 May to 30 June 2005. We only collected mature damselflies because thoracic mass is fixed at this stage, whereas it increases during the maturation stage after emergence (Anholt *et al.*, 1991). Adults were caught on the riverbank because mating and oviposition take place exclusively on or close to the water surface (Corbet, 1999). We used a digital calliper (precision: 0.01 mm) to measure eight morphological characteristics, associated with flight ability, on the left side of each individual: forewing length (from the base to the tip of the wing), forewing width (measured along a perpendicular line from the nodus), maximal forewing width (longest perpendicular line), thorax length, thorax width and thorax mass, abdomen length and femur length of the hind-leg. Thoraces were stripped of wings, heads and all appendages, dried for 72 h at 50 °C and weighed (Taylor & Merriam, 1995).

Characteristics of the bankside

To investigate the influence of riparian habitat heterogeneity on morphology, we carried out 100-m transect surveys at each sampled site. We recorded the percentage cover of vegetation using the point quadrat method (Henderson, 2003). We placed a transect every 10 m along a 100-m section parallel to the stream. All transects were 5-m long and perpendicular to the stream. On each of them, we recorded at 50 cm intervals vegetation height (0–1, 1–2 or >2 m) and vegetation type (monocotyledonous or dicotyledonous). These variables were selected because of their known impact on density and distribution of species like the banded damselfly (Ward & Mill, 2005) or the southern damselfly, *Coenagrion mercuriale* (Rouquette & Thompson, 2005). We used the number of height strata and the percentage cover of each vegetal stratum to calculate the Shannon–Wiener diversity index, providing a measurement of riparian habitat heterogeneity at each site. In the case of *C. maculata*, individuals in pasture are larger, have heavier thoraces, and longer and wider wings than individuals in forest (Taylor & Merriam, 1995); thus, we noted tree coverage according to a two-level classification (<10% or >10%). We also scored bank slope according to a four-level classification (1: 0–25°, 2: 25–50°, 3: 50–75° and 4: >75°) every 10 m along a 100-m section parallel to the stream.

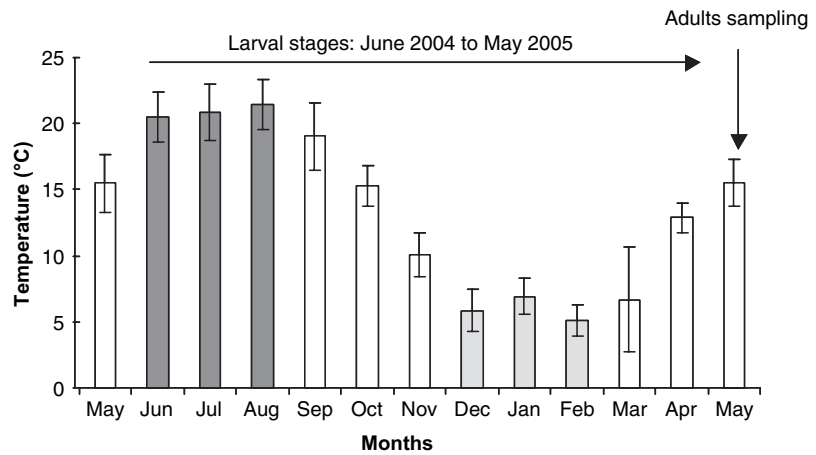
Characteristics of the watercourse

We recorded three physical or geographical variables at each capture site: dominant substratum (silt or sand), stream order (four classes from 1 to 4) and distance from the sea along the network pathway. We also recorded physical and chemical variables (pH, temperature and nitrate concentration of the water) reflecting the environmental conditions of larval development (from May 2004 to May 2005) experienced by the adults we sampled. Using monthly mean recordings from the database of the National Network of Water Data (RBDE Loire-Bretagne), we could extract data for 16 streams and 20 water sampling stations located on, or next to (mean $\pm$ SD = 7.29 km $\pm$ 1.48) our sampling sites. We focused our analyses on the periods of the year when environmental conditions are most influential for larval development (i.e. summer and winter). On the River Loire, the water level is usually high and temperature at its lowest during winter. In summer, the water level is low and temperature is high. The maximal (summer) and minimal (winter) monthly water temperatures, recorded during the year before adult sampling in 2005, respectively included June–August 2004 (hereafter referred to as summer) and December–February 2004 (hereafter referred to as winter) periods (Fig. 2). Summer and winter nitrate concentrations [NO_3^-] and summer and winter pH were also analysed. PH, which provides information about chemical stream conditions, as it may be correlated with salinity or conductivity (Cannings & Cannings, 1987, in Corbet, 1999), also may influence larval development and survival (Corbet, 1999). In contrast, nitrate concentration is related to trophic conditions and anthropogenic pressure on rivers.

Statistical methods

To investigate the effect of terrestrial and aquatic habitats on morphological variation, we first carried out a normalized Principal Component Analysis (PCA) with the eight morphological variables. We used PC1 and PC2 as new morphological variables (both having eigenvalues >1), to investigate the effect of environmental factors on adult morphology. No transformations of PC1 and PC2 were needed to meet the assumptions of normality and homoscedasticity. We used Linear Mixed-Effects Models (Laird & Ware,

Fig. 2 Mean monthly water temperature ($\pm$ SD) in all sampled streams. May 2005 corresponds to adult *Calopteryx splendens* sampling. The period of larval development of captured adults extended from June 2004 to May 2005. Dark shaded bars show the three warmest months (i.e. summer), light shaded bars, the three coldest months (i.e. winter).



1982) with environmental factors and sex as independent variables.

Because of the hierarchical structure of the dataset, three nested effects were included in each model: sampling site, nested in sampling date, overall nested in tributary. These three factors were considered as random effects. Sampling date was included in the model because adult body size tends to decrease with emergence date (Atkinson, 1994).

We categorized independent variables to improve the estimation of the relationship between the dependent (i.e. morphology) and the independent variables (i.e. environmental factors). Using independent variables as continuous variables requires estimation of a single coefficient across the whole variable range, but it assumes a linear relation between independent and dependent variables. Instead, when using categorical environmental variables, each class is considered as an independent level. The Shannon–Wiener index and all aquatic parameters were cate-

gorized (Table 1). For each categorical variable, classes were defined according to constant sample size.

Regarding the large number of independent variables in relation to the 998 individuals and three nested random effects (i.e. 33 sites, 17 dates and eight tributaries including the main channel), we computed three different models for each dependent variable PC1 and PC2. Model 1, which included sex, distance from the sea, habitat heterogeneity H' (Shannon–Wiener index), tree coverage, bank slope, substrate type and stream order, allowed us to test whether watercourse structure, surrounding terrestrial habitat and sex affect adult morphology. Two other models were performed to test whether aquatic habitat, distinguishing between summer and winter seasons, affects the morphology of damselflies. Model 2 included summer temperature, summer pH and summer nitrate concentration. Model 3 included winter temperature, winter pH and winter nitrate concentration.

From each complete model, we performed a backward selection, removing, at each step, the least significant factor at the threshold $\alpha = 0.05$. Statistical analyses were computed using R software (the R Foundation for Statistical Computing, 2005).

Table 1 Variables, number of classes, minimum and maximum of fixed variables included in Linear Mixed Effect Models

Fixed variable	Number of classes	Minimum	Maximum
Shannon–Wiener index	5	1.28	2.4
Summer temperature	5	17.95 °C	22.90 °C
Winter temperature	6	4.92 °C	7.43 °C
Summer pH	5	7.30	8.70
Winter pH	6	7.20	8.68
Summer [NO ₃]	5	1.27 mg L ⁻¹	56.33 mg L ⁻¹
Winter [NO ₃]	5	8.5 mg L ⁻¹	41.67 mg L ⁻¹

Results

Morphological variables: body size and body shape

The two principal axes of the normalized PCA, PC1 and PC2, respectively explained 39.5% and 18.8% (total 58.3%) of the overall morphological variation. Because all variable loadings were positive, PC1 can be seen as a measure of overall body size. In contrast,

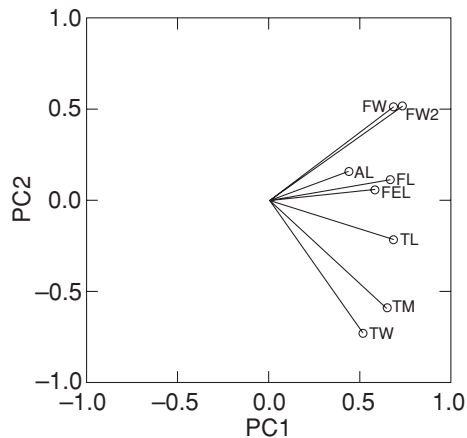


Fig. 3 Bivariate plot of variable loadings on PC1 (body size) and PC2 (body shape) from a normalized PCA based on 8 morphological measurements taken from adult *Calopteryx splendens*. FW, forewing width; FW2, maximal forewing width; FL, forewing length; FEL, femur length; TL, thorax length; TM, thorax mass; TW, thorax width; AL, abdomen length.

two sets of variables had opposite effects on PC2. The loadings of thorax variables (length, width and mass) were negative whereas the loadings of wing variables were positive. Thus, PC2 can be considered as a measure of general body shape (Fig. 3).

Effect of habitat on individual morphology

From Model 1, the minimal model retained both sex and distance from the sea (see Table 2 for statistical details). We found no significant effect of habitat heterogeneity H' (LME model, $F = 0.164$, d.f. = 4, $P = 0.931$), substrate type ($F = 0.0007$, d.f. = 1, $P = 0.994$), tree coverage ($F = 0.602$, d.f. = 1, $P = 0.467$), nor bank slope ($F = 1.148$, d.f. = 3, $P = 0.394$), or river order ($F = 0.582$, d.f. = 3, $P = 0.638$) on PC1. For PC2, the minimal model included sex only (Table 2). According to the negative coefficient derived for males (Table 2), females were significantly larger than males. The negative coefficient of distance from the sea indicates that downstream individuals were significantly larger than upstream. We detected no effect of habitat heterogeneity H' ($F = 0.222$, d.f. = 4, $P = 0.899$), bank slope ($F = 1.328$, d.f. = 3, $P = 0.364$), tree coverage ($F = 0.339$, d.f. = 1, $P = 0.577$), stream order ($F = 1.634$, d.f. = 3, $P = 0.249$), substrate ($F = 1.224$, d.f. = 1, $P = 0.290$), or distance from the sea ($F = 2.957$, d.f. = 1, $P = 0.106$)

on PC2. The model taking into account the hierarchical structure of the dataset (i.e. three nested random effects: sampling site, nested in sampling date, overall nested in tributary) shows for each sex the relationship between body size (PC1) and distance from the sea for individual (Fig. 4a), site (Fig. 4b) and tributary (Fig. 4c) levels. Figure 4c represents mean body size (PC1) for the seven tributaries and the main channel of the Loire drainage. Body size declined with distance from the sea, following the longitudinal downstream-upstream succession of tributaries (Fig. 4c,d). Mean body size of individuals sampled in the main channel (i.e. letter A, Fig. 4c,d) occupied a central position probably because of its connection with the seven tributaries.

Body shape (PC2) was affected by the sex of individuals only (Table 2). According to the positive coefficient derived for males (coefficient $\pm$ SE = 0.142 ± 0.058), body shape values were larger for males than for females.

Effect of water characteristics on morphology

The same statistical procedure was used to test for the effect of water characteristics on the morphology of individuals.

From Model 2, including summer water parameters, the minimal model retained temperature and pH. Adults were significantly larger (higher scores of PC1, i.e. body size) when their larval stages were exposed to high temperatures and pHs (Table 3). According to the correlation matrix for the summer period (Table 4), waters were significantly more alkaline at sites closer to the sea. Analyses revealed no effect of nitrate concentration ($F = 0.094$, d.f. = 1, $P = 0.775$) on PC1.

For PC2, the minimal model included temperature only (Table 3). In contrast, we detected no effect of nitrate concentration ($F = 0.158$, d.f. = 1, $P = 0.711$) or pH ($F = 3.160$, d.f. = 1, $P = 0.136$) on PC2. Interestingly, body shape seemed to be positively influenced by summer water temperature.

For Model 3, including winter temperature, nitrate and pH, we observed no significant effect on PC1 and PC2 ($F < 0.26$, $P > 0.63$). Therefore, winter temperature, winter nitrate concentration and winter pH during the larval stage, seem to have no effect on adult morphology.

Table 2 Effect of habitat, terrestrial and aquatic variables, on body size (PC1) and body shape (PC2)

	Value	SE	numDF	denDF	F-value	P-value
PC1						
(Intercept)	1.594	0.257	1	958	38.549	<0.0001
Sex male	-0.500	0.056	1	958	80.135	<0.0001
Distance from the sea	-0.005	0.0009	1	15	25.871	0.0001
PC2						
(Intercept)	-0.146	0.127	1	958	1.324	0.250
Sex male	0.142	0.058	1	958	5.989	0.015

Here is presented the minimal model from the complete Model 1. We used a Linear Mixed-Effects Model with three nested random effects and applied a backward selection procedure (see *Methods*). Females were taken as reference.

NumDF, the numerator degrees of freedom and denDF, the denominator degrees of freedom for the *F*-test.

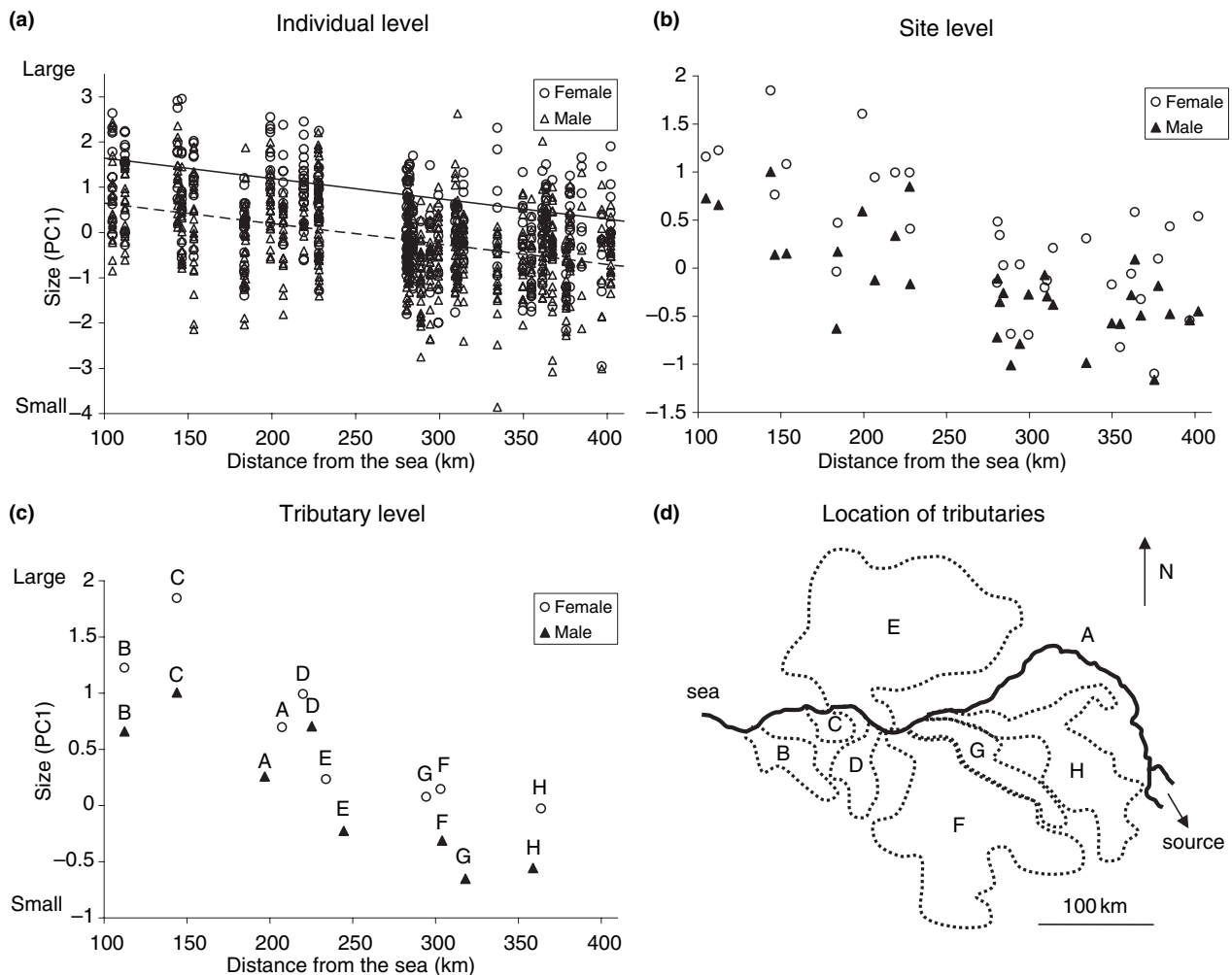


Fig. 4 Relationship between distance from the sea and body size (PC1) in adult male (Δ) and female ($\circ$) *Calopteryx splendens*. (a) Effect on individual body size, the continuous line corresponds to females ($PC1 = 2.094 - 0.005 \times \text{Distance from the sea}$) and the dotted line to males ($PC1 = 1.093 - 0.005 \times \text{Distance from the sea}$). Linear regressions were calculated from a Linear Mixed Effects Model including three random nested effects (see Table 3 for statistical results), sampling sites in sampling dates in tributaries. (b) The mean body size for each of 33 sites related to distance from the sea. (c) The mean body size for each seven tributaries and the main channel related to the mean distance from the sea. (d) Schematic location of the seven tributaries, in dotted-line, and the main channel of the Loire drainage in full-line (see Fig. 1 for details).

	Value	SE	numDF	denDF	F-value	P-value
PC1						
(Intercept)	-10.347	1.977	1	618	27.397	<0.0001
Temperature	0.222	0.038	1	5	33.944	0.002
pH	0.730	0.209	1	5	12.236	0.017
PC2						
(Intercept)	-4.350	1.569	1	618	7.683	0.006
Temperature	0.206	0.076	1	6	7.590	0.033

Here is presented the minimal model from the complete Model 2. We used a Linear Mixed-Effects Model with three nested random effects and applied a backward selection procedure (see *Methods*).

NumDF, the numerator degrees of freedom and denDF, the denominator degrees of freedom for the *F*-test.

Table 4 Spearman order correlations for aquatic variables: pH, temperature (*T*) and nitrate concentration (NO_3) in summer (*s*) and winter (*w*)

	pHs	pHw	Ts	Tw	NO_3s	NO_3w
pHs						
pHw	0.52*					
Ts	-0.12	-0.33				
Tw	0.07	0.52*	-0.18			
NO_3s	-0.02	0.57*	-0.37	0.22		
NO_3w	0.28	0.73*	-0.26	0.48*	0.58*	
Distance from the sea	-0.53*	-0.01	-0.41	-0.03	0.43	-0.03

* $P < 0.05$.

Discussion

Environmental factors and body size variation

We analysed the geographical pattern of morphological variation in *C. splendens* along the Loire drainage and investigated the effect of several environmental factors on adult body size and shape. The main significant factors that influenced the size of individuals were water temperature and pH during summer, and geographical position (distance from the sea). Because adult morphology is fixed after metamorphosis, larval conditions mainly affect the characteristics of the imago. We observed a positive relationship between summer temperature and size of imago at emergence. Similar results have been reported for the stoneflies *Taenionema pacificum* and *Pteronarcella badia*, (Perry, Perry & Stanford, 1987) and *Pteronarcys californica* (Gregory, Beesley & Van Kirk, 2000). In both studies individuals collected in warmer

water were larger. Hemimetabolous aquatic insects, such as odonates, might present an optimal thermal regime at which adult body weight and fecundity are maximized (Vannote & Sweeney, 1980). The maximal water temperature recorded in our study was 22.9 °C, close to the optimal temperature for growth in two species of *Coenagrion* damselflies (Van Doorslaer & Stocks, 2005). This result suggests that summer water temperature plays a key role in larval development of *C. splendens* too. Differences in temperature regime are known to reveal growth plasticity in ectotherms (Atkinson, 1994; Mousseau, 1997; Van Doorslaer & Stocks, 2005). Higher thermal energy can enhance metabolic rates by increasing enzyme activity and can indirectly improve foraging activity (Van Doorslaer & Stocks, 2005), leading to an increase in growth rate. Temperature has been also shown to influence adult wing morphology (Roff, 1994b; Sasaki, Nakasuji & Fujisaki, 2002; Gibert *et al.*, 2004).

Furthermore, we detected an effect of alkaline pH during summer on size at emergence, with larval growth rate presumably increasing with pH. High or low pH values tend to limit the larval development of some odonate species, including *Anax junius* (Punzo, 1988 in Corbet, 1999). However, the interpretation of this result is not straightforward. Odonates usually can survive across a wide range of pH values (Corbet, 1999). Those observed in our dataset on the Loire drainage varied across a limited range, from 7.3 to 8.7. Hence, the relationship between morphological variation and pH might be due to correlation with other factors such as conductivity or the accumulation and slow decomposition of organic matter (Corbet, 1999). An increase in carbon dioxide concentration because

Table 3 Effect of summer water characteristics (pH, nitrate and temperature) on body size (PC1) and body shape (PC2) in *Calopteryx splendens*

of photosynthetic activity also tends to raise water pH. Photosynthesis itself is driven by solar radiation, nutrient level, temperature and algal biomass. Therefore the effect of pH on body size could actually reflect the relationship between pH and summer photosynthetic activity, a possible indicator of trophic conditions.

Terrestrial habitat can influence the flight morphology of insects, as described in a butterfly species occurring in highly fragmented landscapes (Hill, Thomas & Lewis, 1999). Although this effect is better documented among lepidopterans whose larval development is terrestrial (Thomas, Hill & Lewis, 1998; Norberg & Leimar, 2002), morphological variation between different landscapes has also been observed in species with aquatic larvae such as *C. maculata* (Taylor & Merriam, 1995): these damselflies were larger in pasture than in forest landscapes. In contrast, we observed no significant effect of neighbouring riparian habitat on morphology in *C. splendens*. Morphological characteristics of banded damselflies did not seem to respond to variations in vegetation structure along the river banks. The scale we considered in this study might not have been large enough to capture relevant habitat variation. However, even if vegetation structure, recorded at a fine-scale, varied between our sites, landscape showed a moderate level of land use heterogeneity all over the study area.

Morphological clines and population structure across catchments

To investigate the morphological variation pattern across the Loire drainage we explicitly included the hierarchical structure of the river network in our analyses. We detected no effect of stream order. However, results clearly supported an overall effect of location in the network on body size. The size of individuals decreased with the distance of the capture site from the sea. On the other hand, body shape was not affected by the geographical location of the populations. Supporting these results, Loh & Bitner-Mathé (2005) also found a greater influence of environmental variation on wing size of drosophilid flies than on wing shape.

According to Bergmann's rule, temperature is the main factor responsible for geographical clines in body size (Gibert *et al.*, 2004). Although this rule

applied originally to endotherms, it has also been investigated in ectotherms and insects (Hawkins & Lawton, 1995; Karan *et al.*, 1998; Arnett & Gotelli, 1999). Several species of *Drosophila* followed Bergmann's rule, because their body size increased with latitude (Karan *et al.*, 1998). Typically, ectotherms are supposed to grow more slowly at low temperatures (Atkinson, 1994). By prolonging growth and delaying maturation, insects can increase body size at emergence (Atkinson, 1994). However, another study of ectotherms reported the opposite pattern, and questioned the generality of the negative relationship between insect body size and temperature (Mousseau, 1997). Our results for *C. splendens* are consistent with this latter study as larger individuals were found in the warmer parts of the catchment. Aquatic insects have a thermal optimum that balances growth with respiration losses (Sweeney & Vannote, 1978). The thermal regime on the west side of the drainage may be closer to the optimum for *C. splendens* than on the east side. However, according to an experimental study of Schütte & Schrimpf (2002), *C. splendens* had similar respiration rates at 12, 18 and 24 °C. This suggests that temperature on its own cannot explain the longitudinal morphological variation of individuals on the Loire river.

The morphological cline in the banded damselfly could therefore reflect a plastic response to the gradual variation of abiotic factors along the river network. Environmental factors can strongly affect the ecology and behaviour of odonates (Wright, 1943 in Corbet, 1999), but the precise action of separate factors is difficult to characterize because they interact with one another and have long-term as well as short-term effects (Corbet, 1999). For instance waters with low pH are generally fishless, and temperature, by controlling metabolism, affects almost every activity, including foraging. Interestingly, these two variables were not correlated in our study.

Biotic factors such as predation and food availability can affect body size too. Predation risk can induce morphological phenotypic plasticity. For instance, smaller larvae were less susceptible to fish predation than larger larvae in *Ischnura verticalis* (Dixon & Baker, 1988). The scale of our study did not allow us to take into account these factors and their distribution on the drainage, but further study of their influence on *C. splendens* are needed.

Expected consequences of morphological variation on dispersal

A river network constitutes a system of spatially separated, repeated units that are seldom directly connected; thus, the network represents a decision tree for dispersers (Power & Dietrich, 2002). The connectivity pattern of the network can influence dispersal (Fagan, 2002) in such a way that within-stream population genetic diversity is expected to decline upstream and among-stream diversity to increase (Hernandez-Martich & Smith, 1997). We included in our analyses several morphological traits associated with flight (wing and thorax variables). Flight morphology and flight performance are associated, so that morphology provides a useful indicator of dispersal ability (Berwaerts, Van Dyck & Aerts, 2002). Assuming that large individuals, in terms of wings, thorax and abdomen, disperse farther than small individuals, our data suggest that the body size cline along the drainage could create a parallel gradient in population dispersal capacity and generate an asymmetric gene flow. This would tend to reduce genetic differentiation between streams if downstream populations send migrants farther than their upstream counterparts, and if larval drift and floods do not compensate for adult dispersal. Indeed, odonates can be vulnerable to larval drift (Anholt, 1995; Beukema, 2002). This hypothesis will be tested in a further work.

Predicting the population consequences of environmental variation at the drainage scale is essential to improve our understanding of river ecosystems and the efficiency of protection and restoration policies (Ward *et al.*, 2002). Adult characteristics in insects are strongly influenced by larval conditions, especially developmental temperature. To determine how environmental factors influence variation in phenotypic traits associated with life history traits in insects is necessary to predict population processes in river ecology. In this regard, our study suggests that ecological gradients occurring along river networks and network topology ought to be considered because of their potential effect on gene flow and overall population structure in large catchments.

Acknowledgments

This study was funded by Région Pays-de-la-Loire. We thank the students who helped with fieldwork

and particularly Virginie Dupont, Jean Christophe Bain, Line Fillonneau, Constance Xhaard, Delphine Lorber and Aude Houssaye. We gratefully acknowledge Michel Goulard (Laboratoire de Biométrie et d'Intelligence Artificielle, INRA, Castanet-Tolosan), for his insights into statistical analyses, and Damien Picard and Adeline Loyau, for their helpful comments on early versions of this manuscript.

References

- Ananthakrishnan T.N. & Whitman D. (2005) *Insect Phenotypic Plasticity, Diversity of Responses*. Science Publisher, U.S.A.
- Angilletta M.J., Wilson R.S., Navas C.A. & James R.S. (2003) Tradeoffs and the evolution of thermal reaction norms. *Trends in Ecology and Evolution*, **18**, 234–240.
- Anholt B.R. (1991) Measuring selection on a population of damselflies with a manipulated phenotype. *Evolution*, **45**, 1091–1106.
- Anholt B.R. (1995) Density dependence resolves the stream drift paradox. *Ecology*, **76**, 2235–2239.
- Anholt B.R., Marden J.H. & Jenkins D.M. (1991) Patterns of mass gain and sexual dimorphism in adult dragonflies (Insecta: Odonata). *Canadian Journal of Zoology*, **69**, 1156–1163.
- Arnett A. & Gotelli N.J. (1999) Bergmann's rule in the ant lion *Myrmeleon immaculatus* DeGeer (Neuroptera: Myrmeleontidae): geographic variation in body size and heterozygosity. *Journal of Biogeography*, **26**, 275–283.
- Askew R.R. (2004) *The Dragonflies of Europe*, 2nd edn. Harley books, Colchester, U.K.
- Atkinson D. (1994) Temperature and organism size: a biological law for ectotherms? *Advances in Ecological Research*, **25**, 1–54.
- Ball S.L. & Baker R.L. (1996) Predator-induced life history changes: antipredator behaviour costs or facultative life history shifts? *Ecology*, **77**, 1116–1124.
- Benda L., Poff N.L., Miller D., Dunne T., Reeves G., Pess G. & Pollock M. (2004) The network dynamics hypothesis: how channel networks structure riverine habitats. *BioScience*, **54**, 413–427.
- Berwaerts K., Van Dyck H. & Aerts P. (2002) Does flight morphology relate to flight performance? An experimental test with the butterfly *Pararge aegeria*. *Functional Ecology*, **16**, 484–491.
- Beukema J.J. (2002) Changing distribution patterns along a stream in adults of *Calopteryx haemorrhoidalis* (Odonata: Calopterygidae): a case of larval-drift compensation? *International Journal of Odonatology*, **5**, 1–14.

- Bohonak A.J. & Jenkins D.G. (2003) Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecology letters*, **6**, 783–796.
- Corbet P.S. (1999) *Dragonflies – Behavior and Ecology of Odonata*. Cornell University Press, Ithaca, NY, U.S.A.
- Dixon S.M. & Baker R.L. (1988) Effects of size on predation risk, behavioural response to fish, and cost of reduced feeding in larval *Ischnura verticalis* (Coenagrionidae: Odonata). *Oecologia*, **76**, 200–205.
- Fagan W.F. (2002) Connectivity, fragmentation, and extinction risk in dendritic metapopulations. *Ecology*, **83**, 3243–3249.
- Franken R.J.M., Storey R.G. & Williams D.D. (2001) Biological, chemical and physical characteristics of downwelling and upwelling zones in the hyporheic zone of a north-temperate stream. *Hydrobiologia*, **444**, 183–195.
- Gibert P., Capy P., Imasheva A., Moreteau B., Morin J.P., Pétavy G. & David J.R. (2004) Comparative analysis of morphological traits among *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*: genetic variability, clines and phenotypic plasticity. *Genetica*, **120**, 165–179.
- Gomi T., Sidle R.C. & Richardson J.S. (2002) Understanding processes and downstream linkages of headwater streams. *BioScience*, **52**, 905–916.
- Gregory J.S., Beesley S.S. & Van Kirk, R.W. (2000) Effect of springtime water temperature on the time of emergence and size of *Pteronarcys californica* in the Henry's Fork catchment, Idaho, USA. *Freshwater Biology*, **45**, 75–83.
- Gribbin S.D. & Thompson D.J. (1990) Asymmetric intraspecific competition among larvae of damselfly *Ischnura elegans* (Zygoptera: Coenagrionidae). *Ecological Entomology*, **15**, 37–42.
- Hawkins B.A. & Lawton J. (1995) Latitudinal gradients in butterfly body sizes: is there a general pattern? *Oecologia*, **102**, 31–36.
- Hawkins C.P., Hogue J.N., Decker L.M. & Feminella J.W. (1997) Channel morphology, water temperature, and assemblage structure of stream insects. *Journal of the North American Benthological Society*, **16**, 728–749.
- Henderson P.A. (2003) *Practical Methods in ecology*. Blackwell publishing, Oxford, U.K.
- Hernandez-Martich J.D. & Smith M.H. (1997) Downstream gene flow and genetic structure of *Gambusia holbrooki* (eastern mosquitofish) populations. *Heredity*, **79**, 295–301.
- Hill J.K., Thomas C.D. & Lewis O.T. (1999) Flight morphology in fragmented populations of a rare British butterfly, *Hesperia comma*. *Biological Conservation*, **87**, 277–283.
- Hugues J.M., Mather P.B., Sheldon A.L. & Allendorf F.W. (1999) Genetic structure of the stonefly, *Yoraperla brevis*, populations: the extent of gene flow among adjacent montane streams. *Freshwater Biology*, **41**, 63–72.
- Karan D., Munjal A.K., Gibert P., Moreteau B., Parkash, R. & David, J.R. (1998) Latitudinal clines for morphometrical traits in *Drosophila kikkawai*: a study of natural populations from Indian subcontinent. *Genetical Research*, **71**, 31–38.
- Laird N.M. & Ware J.H. (1982) Random-effects models for longitudinal data. *Biometrics*, **38**, 963–974.
- Loh R. & Bitner-Mathé B.C. (2005) Variability of wing size and shape in three populations of a recent Brazilian invader, *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae), from different habitats. *Genetica*, **125**, 271–281.
- Lowe W.H., Likens G.E. & Power M.E. (2006) Linking scales in stream ecology. *BioScience*, **56**, 591–597.
- Malmqvist B. (2002) Aquatic invertebrates in riverine landscapes. *Freshwater Biology*, **47**, 679–694.
- McGlashan D.J., Hugues J.M. & Bunn S.E. (2001) Within-drainage population genetic structure of the freshwater fish *Pseudomugil signifer* (Pseudomugilidae) in northern Australia. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **58**, 1842–1852.
- Mikolajewski D.J., Brodin T., Johansson F. & Joop G. (2005) Phenotypic plasticity in gender specific life-history: effect of food availability and predation. *Oikos*, **110**, 91–100.
- Mousseau T.A. (1997) Ectotherms follow the converse to Bergmann's rule. *Evolution*, **51**, 630–632.
- Norberg, V. & Leimar, O. (2002) Spatial and temporal variation in flight morphology in the butterfly *Melitaea cinxia* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Biological Journal of Linnean Society*, **77**, 445–453.
- Peckarsky B.L. & Cowan C.A. (1991) Consequences of larval intraspecific competition to stonefly growth and fecundity. *Oecologia*, **88**, 277–288.
- Perry S.A., Perry W.B. & Stanford J.A. (1987) Effects of thermal regime on size, growth rates and emergence of two species of stoneflies (Plecoptera: Taeniopterygidae, Pteronarcyidae) in the Flathead River, Montana. *The American Midland Naturalist*, **117**, 83–93.
- Power M.E., Dietrich W.E. (2002) Food webs in river networks. *Ecological Research*, **17**, 451–471.
- R Development Core Team (2005) R : A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Australia. URL <http://www.R-project.org> (accessed on 28 May 2007).
- Roff D.A. (1990) The evolution of flightlessness in insects. *Ecological Monographs*, **60**, 389–421.
- Roff D.A. (1994a) Habitat persistence and the evolution of wing dimorphism in insects. *The American Naturalist*, **144**, 772–798.

- Roff D.A. (1994b) Why is there so much genetic variation for wing dimorphism? *Researches on Population Ecology*, **36**, 145–150.
- Rouquette J.R. & Thompson D.J. (2005) Habitat associations of the endangered damselfly, *Coenagrion mercuriale*, in a water meadow ditch system in southern England. *Biological Conservation*, **123**, 225–235.
- Sasaki R., Nakasuji F. & Fujisaki K. (2002) Environmental factors determining wing form in the lygaeid bug, *Dimorphopterus japonicus* (Heteroptera: Lygaeidae). *Applied Entomology and Zoology*, **37**, 329–333.
- Schütte C. & Schrimpf I. (2002) Explaining species distribution in running water systems: larval respiration and growth of two *Calopteryx* species (Odonata, Zygoptera). *Archiv für Hydrobiologie*, **153**, 217–229.
- Smith T.B., Wayne R.K., Gorman D.J. & Bruford M.W. (1997) A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. *Science*, **276**, 1855–1857.
- Smith T.B., Schneider C.J. & Holder K. (2001) Refugial isolation versus ecological gradients. *Genetica*, **112–113**, 383–398.
- Svensson E.I., Kristoffersen L., Oskarsson K. & Bensch S. (2004) Molecular population divergence and sexual selection on morphology in the banded demoiselle (*Calopteryx splendens*). *Heredity*, **93**, 423–433.
- Sweeney B.W. & Vannote R.I. (1978) Size variation and the distribution of hemimetabolous aquatic insects: two thermal equilibrium hypotheses. *Science*, **200**, 444–446.
- Taylor P.D. & Merriam G. (1995) Wing morphology of a forest damselfly is related to landscape structure. *Oikos*, **73**, 43–48.
- Thomas C.D., Hill J.K. & Lewis O.T. (1998) Evolutionary consequences of habitat fragmentation in localized butterfly. *Journal of Animal Ecology*, **67**, 485–497.
- Tockner K., Ward J.V., Edwards P.J. & Kollmann J. (2002) Riverine landscapes: an introduction. *Freshwater Biology*, **47**, 497–500.
- Usseglio-Polatera P. & Beisel J.N. (2002) Longitudinal changes in macroinvertebrates in the Meuse river: anthropogenic effects versus natural change. *River Research and Applications*, **18**, 197–211.
- Van Doorslaer W. & Stocks R. (2005) Growth rate plasticity to temperature in two damselfly species differing in latitude: contributions of behaviour and physiology. *Oikos*, **111**, 599–605.
- Vannote R.L. & Sweeney B.W. (1980) Geographic analysis of thermal equilibria: a conceptual model for evaluating the effect of natural and modified thermal regimes on aquatic insect communities. *The American Naturalist*, **115**, 667–695.
- Wagner D. & Liebherr J.K. (1992) Flightlessness in insects. *Trends in Ecology and Evolution*, **7**, 216–220.
- Ward J.V. (1998) Riverine landscapes: biodiversity patterns, disturbance regimes, and aquatic conservation. *Biological Conservation*, **83**, 269–278.
- Ward L. & Mill P.J. (2005) Habitat factors influencing the presence of adult *Calopteryx splendens* (Odonata: Zygoptera). *European Journal of Entomology*, **102**, 47–51.
- Ward J.V. & Tockner K. (2001) Biodiversity: towards a unifying theme for river ecology. *Freshwater Biology*, **46**, 807–819.
- Ward J.V., Tockner K., Arscott D.B. & Claret C. (2002) Riverine landscape diversity. *Freshwater Biology*, **47**, 517–539.
- Werner E.E. & Anholt B.R. (1993) Ecological consequences of the trade-off between growth and mortality rates mediated by foraging activity. *The American Naturalist*, **142**, 242–272.
- West-Eberhard M.J. (2003) *Developmental Plasticity and Evolution*. Oxford University Press, Oxford.
- Wiens J.A. (2002) Riverine landscapes: taking landscape ecology into the water. *Freshwater Biology*, **47**, 501–515.

(Manuscript accepted 12 April 2007)

CHAPITRE III

Caractéristiques de dispersion et survie chez une demoiselle – implications sur la structure des populations à l'échelle du bassin

Le Chapitre II soulève la question de l'effet d'un gradient de taille sur les patrons de dispersion à l'échelle du réseau hydrographique, suite à la mise en évidence d'un cline morphologique entre l'amont et l'aval. Dans l'hypothèse où les individus les plus grands disperseraient le plus loin, ces individus contribueraient majoritairement au flux génique sur les cours d'eau.

Ce chapitre traite de l'influence du phénotype, de la survie et de la densité sur les capacités de dispersion. Cette étude devait non seulement vérifier l'effet d'un cline morphologique sur la dispersion mais aussi permettre le paramétrage du programme de simulation de la dispersion.

Une étude de capture-marquage-recapture a donc été réalisée sur deux sites de reproduction de *Calopteryx splendens*. Les deux sites sélectionnés étaient sur un même sous-bassin, un en amont et l'autre en aval, et séparés par une distance de 120 km. D'après l'étude sur les variations morphologiques menée en 2005 (Chapitre II) et les mesures de longueur d'aile prises pour cette étude en 2006, la taille moyenne des individus était plus petite en amont qu'en aval.

Contrairement à notre hypothèse de départ, les caractéristiques phénotypiques des individus ne semblent pas influencer les capacités de dispersion. A l'inverse, les facteurs écologiques susceptibles d'affecter la survie et la densité des individus peuvent fortement influencer les patrons de dispersion. Une variation spatiale non clinale de dispersion à l'échelle du réseau hydrographique est par conséquent attendue.

Dispersal characteristics and survival in a damselfly– implications for population structure in river networks

Chaput-Bardy¹ A.*, A. Grégoire², A. Pagano¹ and Secondi¹ J.

*Corresponding author: Audrey Chaput-Bardy

E-mail address: chaput_bardy_audrey@hotmail.com

¹Laboratoire Paysages et Biodiversité, UFR Sciences, 2 Bd Lavoisier, 49045 Angers cedex 01, France.

²Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, UMR 5175, 1919 Route de Mende, F34293 Montpellier cedex 5, France.

Abbreviated title: **Dispersal and survival in a damselfly**

Keywords: CMR, river, wing length, *Calopteryx splendens*, odonate, MARK

Summary

Dispersal is a fundamental ecological process resulting from the interaction between individual and population features, particularly individual phenotype, individual survival and population density. Interactions between these factors in natural populations are expected to influence population dynamics, gene flow, and ultimately the genetic structure of natural populations. As a former study on *Calopteryx splendens* populations across a large river catchment evidenced an upstream-downstream cline for traits involved in insect dispersal, we tested the effect of wing length and sex, on dispersal in two distant sites, one upstream and one downstream, on the same river. We also carried out a Capture-Mark-Recapture (CMR) study to analyse the influence of survival, and we finally investigated the influence of density on dispersal in both sites. Although individuals dispersed farther at the downstream site (with larger individuals) in respect to the upstream site, we did not find any evidence of an effect of wing length on this pattern. In contrast, higher survival at the downstream site provided a better explanation. We also observed an opposite effect of density on dispersal, individuals tending to aggregate in high density patches and to depart from low density patches. This study suggests that there is not an upstream-downstream cline in dispersal generated by the morphological cline. It emphasizes the importance of survival and density in patch on dispersal and outlines the interaction between these factors. We discuss the implications of density-dependent dispersal on the spatial distribution of patches on a river network.

Introduction

Dispersal is essential for animal and plant species persistence (Hanski & Ovaskainen, 2000). It allows allele exchange between demes and the colonization of new habitat patches. This process is not fixed for a given species. Movements are often dependent on environmental variables that affect either the capacity or the decision to disperse (Clobert *et al.*, 2001). The spatial distribution of such variables across a given landscape will thus influence the dynamics of population or metapopulation systems, and gene flow (Hanski *et al.*, 2000). Investigating the effect of the spatial arrangement of variables affecting dispersal features is thus important to understand dispersal pattern and to predict changes of landscape mosaic on population dynamics and gene flow pathways.

Body condition, survival and density are important factors that affect dispersal in animals (Dixon, 1985; Denno & Peterson, 1995; Herzig, 1995). In insects, morphological traits associated with flight, like wing length or flight muscles, are often associated to flight performance (Harrison, 1980; Spedding, 1992; Berwaerts, Van Dyck & Aerts, 2002). Commonly, long-winged individuals disperse over longer distances than short-winged individuals (Fernando, 1958; den Boer, 1970; Malmqvist, 2000). Environmental factors directly affect wing development and flight (Harrison, 1980). In many species, food quality experienced during larval stages influences the proportion of dispersers or dispersing morphs (Ims & Hjermann, 2001). Dispersal might be correlated to lifetime meaning that the longer the individual life the longer the distance moved probability. High density promotes dispersal (Ray, Gilpin & Smith, 1991; Herzig & Root, 1996) as it tends to increase competition for resources (Lambin, Aars & Piertney 2001). Accordingly, positive density-dependent dispersal is common in insects such as plant-hoppers (Denno *et al.*, 1991; Denno *et al.*, 1995), beetles (Herzig, 1995), butterflies (Shapiro, 1970; Baguette, Convie & Neve, 1996) and flies (Dobzhansky *et al.*, 1977). However, negative relationships between density and dispersal have been observed several times (Kuussaari, Nieminen & Hanski, 1996; Menéndez, Gutiérrez & Thomas, 2002; Rouquette & Thompson, 2007) which can be accounted for the attractiveness of good quality habitats or increased mating opportunities in high density patches. These opposite results demonstrate that density and dispersal are related in a complex way (Gundersen, Andreassen & Ims, 2002). In addition, phenotype, survival and density are not independent factors. Survival can be correlated with body size, selection favouring larger individuals (Hasson *et al.*, 1993; Rodriguez, Fanara & Hasson, 1999; Sokolovska, Rowe & Johansson, 2000). Similarly, density dependent dispersal occurs in dimorphic winged insects where density determines the frequency of the dispersive winged morph (Shaw, 1970; Denno *et al.*, 1991; Zera & Denno, 1997).

River networks are interesting landscapes to investigate the interactions between landscape features, environmental variables and dispersal behaviour. They are characterized by their longitudinal dimension and their numerous branches that are repeated and isolated units (Campbell Grant, Lowe & Fagan, 2007). They present upstream-downstream gradients of physico-chemical (temperature, water flow, and substrate) and biotic (productivity) parameters at the whole catchment scale. They also exhibit discrete variations of these parameters between branches of the network (Ward, 1998; Power & Dietrich, 2002). Variation in environmental factors, such as temperature or food supply, influence life history traits (Vannote & Sweeney, 1980) or phenotypic traits affecting dispersal (Chaput-Bardy *et al.*, 2007). Depending on which type of variation (continue or discrete) prevails, different predictions about dispersal patterns can thus be inferred. If a factor, affecting either dispersal distance or the propensity to disperse, varies gradually on a catchment, a cline in dispersal and asymmetric gene flow could be expected. In contrast, if this parameter varies in a discrete and unordered manner, patches carrying individuals with low and high dispersal capacities would alternate in some way. Thus, high dispersal patches would constitute sources for colonists, providing the local population dynamics allows it. Integrating the effects of phenotype, survival and density on dispersal in watercourses is essential to unravel mechanisms generating population structure and dynamics at the catchment scale.

Many freshwater insects restricted to watercourses present a flying dispersal stage. Their sensitivity to changes in abiotic parameters like temperature (Atkinson, 1994) or ecological feature of landscapes (van Dyck & Matthysen, 1999) makes them a good model to investigate dispersal in river networks and test the effect of factors affecting this mechanism. We investigated the effect of flight morphology, survival and patch density on dispersal behaviour in the damselfly *Calopteryx splendens*, Harris 1782 (Odonata: Zygoptera) in two distant breeding sites located on the same sub-catchment of the Loire catchment. A previous study revealed a morphological cline along this large river catchment. Larger individuals were found in the lower reaches of the catchment which could be mainly accounted for environmental conditions during larval development (Chaput-Bardy *et al.*, 2007). Body size was positively correlated with dispersal in some odonates (Conrad *et al.*, 1999; Angelibert & Giani, 2003) and variations in survival and in dispersal were usually explained by adult size (Sokolovska *et al.*, 2000; Beck & Pruett-Jones, 2002; Maciel-De-Freitas, Codeço & Lourenço-De-Oliveira, 2007). Thus, we predicted that larger individuals disperse farther and have a better survival rate. According to results from a study on another zygopteran (Rouquette & Thompson, 2005; Rouquette *et al.*, 2007) and the gregarious tendency of *C. splendens*, a negative relationship between density and dispersal was expected.

In summary, the study aimed at testing:

- (i) the effect of sex and wing length on dispersal, males are smaller than females (Chaput-Bardy *et al.*, 2007) and larger individuals are expected to disperse farther. Furthermore, wing length is correlated with wing width, thorax length, thorax width, thorax mass, and femur length (Chaput-Bardy *et al.*, 2007).
- (ii) the effect of individual density and particularly male density on dispersal. Male *C. splendens* are supposed to be territorial (Corbet, 1999; Beukema, 2002). The density of territories could thus influence the movements of females and non territorial males (young mature adults).

Methods

Species and sites studied

Calopteryx splendens is a zygopteran that emerges between late April and early September (Askew, 2004). The maturation stage lasts several days and adults live for 3 to 6 weeks. Mating and oviposition take place exclusively at or near the water surface (Corbet, 1999). Flying adult calopterids are relatively territorial and sedentary. Males are easily identifiable as they present dark wing spots (Corbet, 1999).

In regards to the previous study of Chaput-Bardy *et al.* (2007) carried out in 2005, we chose two sites in the same Loire subcatchment distant from 120 km, one in upstream (Huisne stream, Mâle, France, 48°16'38.04"N, 0°43'46.86"E) with small individuals and one in downstream (Loir stream, Briollay, France, 47°33'22.3"N, 0°31'31.3"W) with large individuals. Before performing dispersal analyses in 2006, we verified that wing length for the same site in within sexes did not change between 2005 and 2006 (upstream: $N_{2005} = 30$, $N_{2006} = 29$, $U = 415$, $z = -0.517$, $p = 0.605$; downstream: $N_{2005} = 32$, $N_{2006} = 29$, $U = 350$, $z = -1.524$, $p = 0.128$). In addition, we verified that wing length was significantly larger at the downstream site in 2005 ($U = 224$, $z = -3.606$, $p = 0.0003$) and in 2006 ($U = 273.5$, $z = -2.286$, $p = 0.022$). Finally, we selected these both sites because they presented quite similar surrounding landscape. They were located in floodplains with meadows, hedges, and trees on the riverbank.

Capture-Mark-Recapture protocol

Capture sessions and surveys were carried out in 2006 from June 17 to July 20. We sampled every day except during bad weather conditions when mature adult were not active. At both sites, we carried out transect longitudinal to the watercourse. Transects were 1050-m long and were divided in 10-m long sections by colour marks attached to the vegetation. Each 10-m subsection was searched for both unmarked and marked individuals by walking along the stream. Individuals of both sexes were captured using a standard insect net and individually marked by a combination of a colour code written on wings with permanent ink. The position of caught individuals within a subsection was estimated visually so that each individual could be located to the nearest meter. Individuals were released in the middle of the subsection in which they have been captured. We caught mature individuals only. The length of the left forewing (from the base to the tip of the wing) was measured in recaptured individuals with a digital calliper to the nearest 0.01 mm when the wing was not damaged. Because of technical constraints, only a subsample of individuals was measured.

A 10-h mark-recapture exercise was performed daily. On both sites, we alternated the

starting point of transect between surveys of the same site so that half of surveys started from the terminal upstream subsection, and half from the terminal downstream subsection. We alternated 3-day capture-mark sessions between sites so that the survey period is the same for both sites.

Test of phenotype and density on dispersal

We considered two estimates of dispersal for each individual: range and daily dispersal. Range was defined as the absolute distance between the most upstream and the most downstream capture position. Daily dispersal was the distance covered by an individual between its initial capture and its recapture on the next day. We took into account individual lifetime in dispersal analyses. This variable was defined as the time between the first and the last capture date. The direction of the displacement, i.e. upstream or downstream, was also recorded.

Density was calculated at each site for each 50-m subsection. It was computed as the mean number of individuals, males plus females, caught per capture day. These two analyses were distinct as the sample size was constituted of individuals for the former analysis, and of subsections for the latter one. In both cases, we used linear models and calculated the corrected Akaike's Information Criterion (AICc) to select the most parsimonious linear model predicting the effect on dispersal. Statistics were computed with JMP 4.04 (SAS, 2001).

Survival analysis

The effect of site and sex on survival was also tested using program MARK (White & Burnham, 1999). We used each day as a capture period. MARK makes possible to take into account the interval between different capture periods. Hence, time lags of several days between two consecutive capture sessions were accounted for in the models. The validity of estimates obtained from survival models requires that several assumptions are met (Lebreton et al., 1992). The absence of structural problems in the data set and the assumption that animals behave independently (e.g. capture does not affect recapture probability) must be verified. These assumptions are usually tested using the Cormack-Jolly-Seber (CJS) model that assumes both survival (ϕ) and recapture (p) probabilities to be dependent on time (t). The test of goodness of fit on CJS model in U-CARE: This model offered a satisfactory fit to the data set both in downstream site (GOF test, global test, quadratic $\chi^2 = 89.16$, $DF = 79$, $p = 0.20$) and upstream site (GOF test, global test, quadratic $\chi^2 = 50.071$, $DF = 45$, $p = 0.28$) (Choquet et al., 2000). Thus, there were no significant departures from assumptions, allowing the use of CMR statistics. We first run the models in each population separately without wing length as a covariate, starting from model $\{\phi(g*t)p(g*t)\}$ which includes an interaction term between sex (g) and time (t) either on survival (ϕ) and recapture probabilities

(p) to model $\{\phi(\cdot)p(\cdot)\}$ where survival and recapture probabilities remain constant. Competing models were compared by means of the corrected Akaike's Information Criterion, AICc. When the difference in AICc values is < 2 , then one cannot say with accuracy that one of the models is better supported than the other (Burnham & Anderson, 2002).

Effect of wing length on daily survival

Too few wing length data were available (downstream site: 71 males and 36 females; upstream site: 131 males and 11 females) relative to the number of parameters to estimate, to start from the most complex model including a time effect. Thus we incorporated wing length as a covariate in the most parsimonious model obtained from the previous procedure (i.e. model $\{\phi(\text{sex})p(\text{sex})\}$ for downstream site and model $\{\phi(\text{sex})p(\cdot)\}$ for upstream site). In order to evaluate directional and disruptive selection components (Lande & Arnold, 1983) we respectively examined the slope of the best linear approximation (eqn 1) and the best quadratic approximation (eqn 2).

$$\text{logit}(\phi_i) = \beta_0 + \sum_{p=1}^P \beta_p x_i^p \quad \text{eqn 1}$$

$$\text{logit}(\phi_i) = \beta_0 + \sum_{p=1}^P \beta_p x_i^p + 1/2 \sum_{p=1}^P \sum_{p'=1}^P \gamma_{pp'} x_i^p x_i^{p'} \quad \text{eqn 2}$$

Results

CMR results and movement patterns

About twice as many individuals were captured and marked at the upstream site (1840 males and 595 females) as at the downstream site (655 males and 504 females). Recapture rate was significantly lower at the upstream site ($\text{khi}^2 = 134.5$, $\text{df} = 1$, $p < 0.001$). Males were significantly more likely to be recaptured in both sites (downstream: males 45%, females 23%, $\text{khi}^2 = 38.8$, $\text{df} = 1$, $p < 0.001$; upstream males 19%, females 7%, $\text{khi}^2 = 41.1$, $\text{df} = 1$, $p < 0.001$). More males were generally captured during the surveys but the bias in sex ratio was stronger at the upstream site (upstream sex ratio = 4.90 ± 4.22 ; downstream sex ratio = 1.60 ± 0.53 , mean $\pm$ SD).

Most males (72%) and females (71%) were recaptured less than 100 m from their initial capture site and only 7% of males and 4% of females moved over 500 m.

Individuals at the downstream site had a significant wider range than at the upstream site (Mann-Whitney-U-test, Downstream: $N = 324$, Median = 46 m; Upstream: $N = 331$, Median = 25 m; $z = 3.83$, $p < 0.0001$). Females tended to have a wider range than males (Females: $N = 139$, Median = 48 m; Males: $N = 516$, Median = 32 m; $z = 1.708$, $p = 0.0877$). Only males at the downstream site significantly moved farther in downstream direction than upstream (Downstream: $N = 223$, Median = 7 m; Upstream: $N = 293$, Median = 2 m; $z = 2.112$, $p = 0.035$).

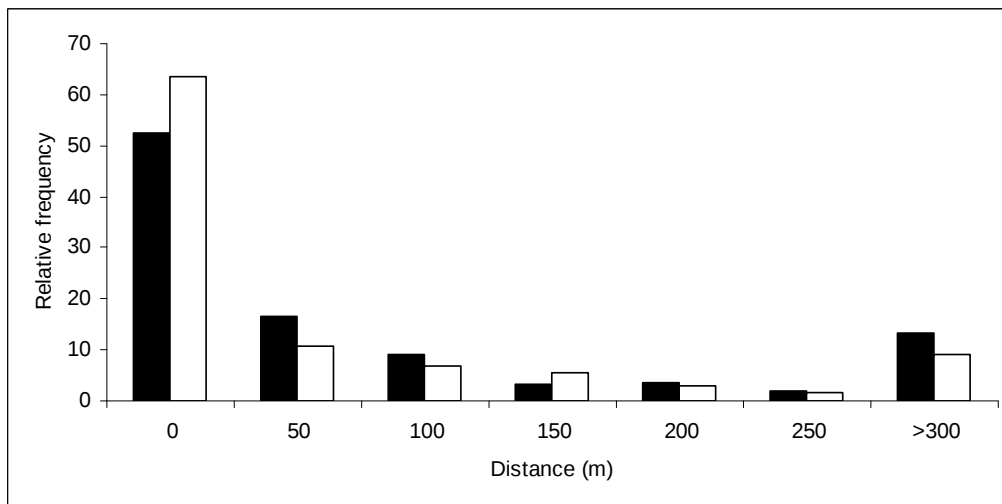


Fig. 1. Range distribution of individual captured at the upstream (in white) and downstream site (in black) for both sexes.

The range was also positively correlated with lifetime for both sexes at the downstream site (females: $N = 101$, $z = 2.007$, $p = 0.045$; males: $N = 223$, $z = 4.933$, $p < 0.0001$) and only for males at the upstream site (males $N = 293$, $z = 5.349$, $p < 0.0001$).

Survival and dispersal

Daily survival observed at the downstream site was 0.895 ± 0.007 (mean $\pm$ SE) estimated from model 2 {Phi(.) p(sex*t)}, in Table 1. There was a trend for males to survive better than females (LRT test between models 1 and 2, Table 3, $\chi^2 = 3.276$, DF = 1, $p = 0.070$, Fig. 2) at the downstream site. Daily survival observed at the upstream site was 0.802 ± 0.012 (mean $\pm$ SE) estimated from model 3, {Phi(.) p(sex*t)}, in Table 4. Male daily survival rate was significantly higher than females (LRT test between models 3 and 6; Table 2, $\chi^2 = 51.209$, DF = 1, $p < 0.0001$, Fig. 3) at the upstream site. We found that daily survival was significantly higher at the downstream site both for females and males ($p < 0.05$, Fig. 2).

Table 1. Model selection of survival for the downstream site without covariate.

Model	AICc	Δ AICc	AICc Weight	Model Likelihood	#Par	Deviance
1{Phi(sex)p(sex*t)}	2828.476	0	0.564	1	26	416.568
2{Phi(.)p(sex*t)}	2829.682	1.21	0.308	0.547	25	419.844
3{Phi(sex)p(t)}	2831.637	3.16	0.116	0.206	13	446.416
4{Phi(t)p(sex*t)}	2836.2	7.72	0.012	0.021	35	405.547
5{Phi(sex*t)p(t)}	2842.877	14.4	0	0.001	29	424.746
6{Phi(.)p(t)}	2851.806	23.33	0	0	12	468.619
7{Phi(sex*t)p(sex*t)}	2853.137	24.66	0	0	48	395.011
8{Phi(t)p(t)}	2854.436	25.96	0	0	20	454.902
9{Phi(t)p(sex)}	2924.048	95.57	0	0	8	548.971
10{Phi(sex*t)p(sex)}	2930.283	101.81	0	0	16	538.943
11{Phi(sex*t)p(.)}	2933.807	105.33	0	0	15	544.51
12{Phi(t)p(.)}	2947.834	119.36	0	0	8	572.757
13{Phi(sex)p(sex)}	2953.458	124.98	0	0	4	586.449
14{Phi(.)p(sex)}	2954.921	126.45	0	0	3	589.922
15{Phi(sex)p(.)}	2957.761	129.28	0	0	3	592.761
16{Phi(.)p(.)}	2977.05	148.57	0	0	2	614.058

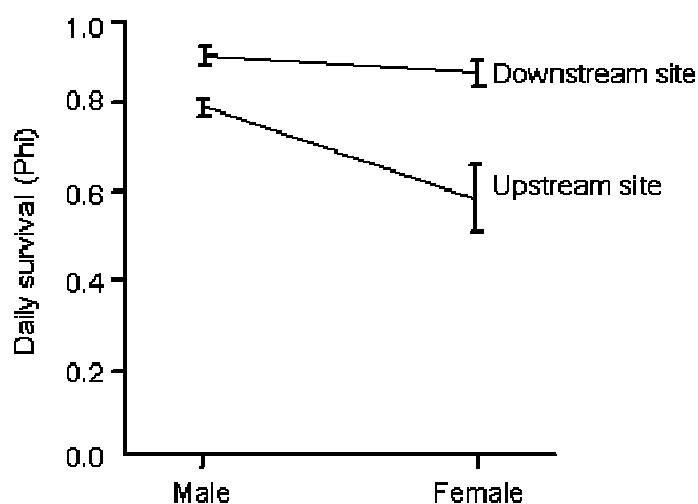


Fig. 2. Mean ($\pm$ SE) daily survival estimates for the downstream site, model $\{\Phi(\text{sex})p(\text{sex} \times t)\}$, and the upstream site, model $\{\Phi(\text{sex})p(t)\}$.

Table 2. Model selection of survival for the upstream site without covariate.

Model	AICc	ΔAICc	AICc Weight	Model Likelihood	#Par	Deviance
1 $\{\Phi(\text{sex}) p(t)\}$	2899.68	0	1	1	22	237.742
2 $\{\Phi(\text{sex}) p(\text{sex} \times t)\}$	2926.502	26.82	0	0	42	223.604
3 $\{\Phi(.) p(\text{sex} \times t)\}$	2933.132	33.45	0	0	41	232.297
4 $\{\Phi(\text{sex} \times t) p(t)\}$	2943.666	43.99	0	0	58	207.564
5 $\{\Phi(t) p(\text{sex} \times t)\}$	2946.423	46.74	0	0	58	210.321
6 $\{\Phi(.) p(t)\}$	2948.856	49.18	0	0	21	288.951
7 $\{\Phi(\text{sex} \times t) p(\text{sex} \times t)\}$	2973.61	73.93	0	0	78	195.444
8 $\{\Phi(t) p(t)\}$	3039.655	139.98	0	0	39	263.792
9 $\{\Phi(t) p(g)\}$	3168.91	269.23	0	0	22	506.973
10 $\{\Phi(\text{sex} \times t) p(.)\}$	3188.703	289.02	0	0	41	487.868
11 $\{\Phi(\text{sex} \times t) p(\text{sex})\}$	3190.334	290.65	0	0	42	487.436
12 $\{\Phi(t) p(.)\}$	3208.614	308.93	0	0	21	548.708
13 $\{\Phi(\text{sex}) p(\text{sex})\}$	3318.251	418.57	0	0	4	692.669
14 $\{\Phi(\text{sex}) p(.)\}$	3318.927	419.25	0	0	3	695.351
15 $\{\Phi(.) p(\text{sex})\}$	3327.305	427.63	0	0	3	703.729
16 $\{\Phi(.) p(.)\}$	3371.184	471.5	0	0	2	749.612

Effect of phenotype on dispersal and survival

The effect of sex and wing length was tested on range and daily dispersal. For the former analysis, the AIC selection procedure retained models including sex only for each site. For the latter one, the most parsimonious model included wing length only (Table 3). Contrary to our expectations, we did not find a relationship between phenotype and daily dispersal (upstream: $F_{1,183} = 0.429$, $p = 0.513$; downstream: $F_{1,105} = 0.390$, $p = 0.534$) or range (upstream: $F_{1,800} = 2.382$, $p = 0.127$; downstream: $F_{1,200} = 0.342$, $p = 0.565$).

Table 3. Selection procedure of models testing the effect of sex and wing length on daily dispersal at downstream and upstream sites.

Model	Variables	R ²	adj R ²	AICc	ΔAICc	AICc weight
downstream site						
1	wing length	0.017	-0.032	9.234	-3.461	0.849
2	Sex	0.003	-0.047	9.553	-3.142	0.828
3	wing length + sex	0.033	-0.069	10.866	-1.830	0.714
4	wing length*sex	0.3298	0.1862	-4.001	0	
upstream site						
1	wing length	0.0289	0.0168	30.581	-3.590	0.858
2	wing length + sex	0.0323	0.0078	32.293	-1.878	0.719
3	Sex	0.0056	-0.0068	32.523	-1.648	0.695
4	wing length*sex	0.0338	-0.0034	34.171	0	

Survival analysis detected no effect of selection, either directional or stabilizing, on wing length at both sites (Table 4).

Table 4. Selection procedure of survival models including wing length as a covariate at the downstream and upstream site.

Model	AICc	Δ AICc	AICc Weight	Model Likelihood	#Par	Deviance
downstream site						
{phi(sex)p(sex)}	776.46	0.00	0.55	1.00	4	768.294
{phi(sex+wing length)p(sex)}	777.89	1.43	0.27	0.49	5	767.643
{phi(g+(wing length + wing length ²))p(sex)}	778.58	2.12	0.19	0.35	6	767.230
upstream site						
{phi(sex)p(.)}	1188.44	0.00	0.67	1.00	3	1182.374
{phi(sex+wing length)p(.)}	1190.45	2.01	0.24	0.36	4	1182.059
{phi(sex+(wing length + wing length ²))p(.)}	1194.07	5.62	0.09	0.14	5	1181.823

Effect of density on dispersal

Individuals of both sexes were not distributed uniformly along transect in each site (Fig. 3). In the AIC analysis, the most parsimonious linear model retained density and the proportion of males (Table 1). We found a significant effect of density on daily dispersal. However, the relationship was positive for the downstream site whereas it was negative for the upstream site (Tables 5 & 6).

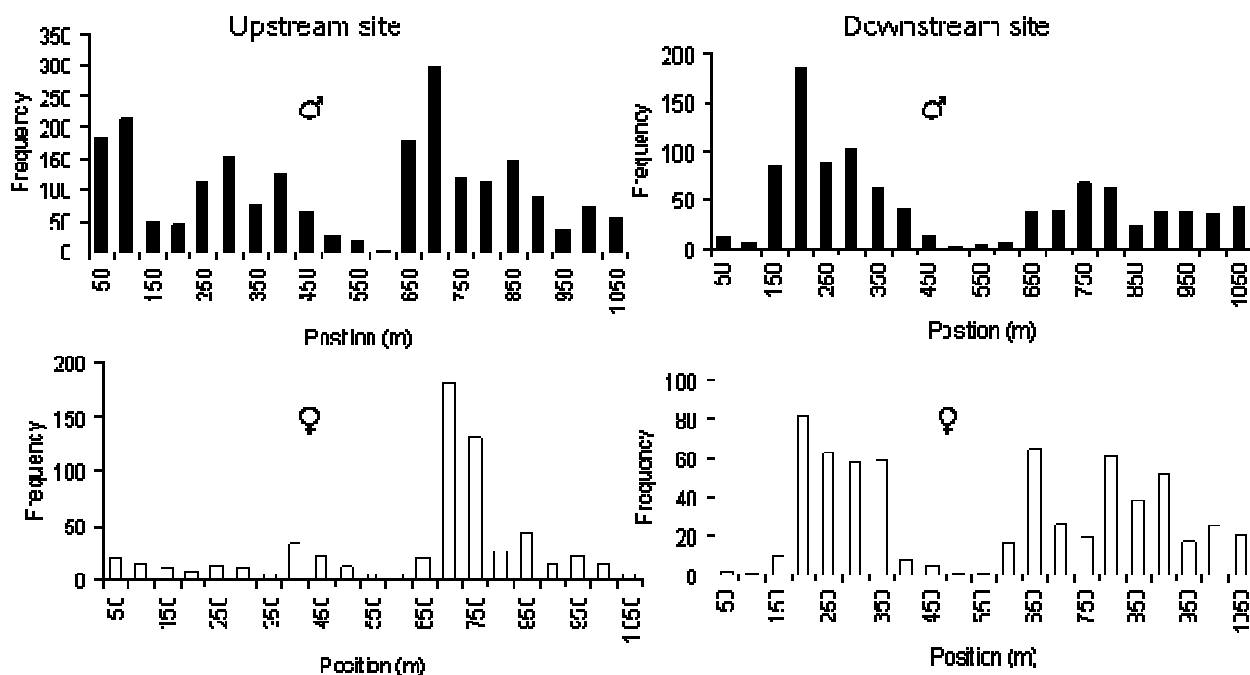


Fig. 3. Spatial distribution of individual captured along the two transects at the upstream (left graphs) and downstream site (right graphs) for each sex. Males are shown in black in the two upper graphs and females in white.

Table 5. Selection procedure of linear models testing the effects of total density on daily dispersal at the downstream and upstream site.

Model	Variables	R ²	adj R ²	AICc	ΔAICc	AICc weight
downstream site						
1	density, male percentage	0.317	0.225	-5.647	-1.646	0.695
2	density	0.228	0.18	-5.456	-1.455	0.674
3	density, male percentage, interaction	0.3298	0.1862	-4.001	0	
4	male percentage	0.065	0.006	-1.999	2.002	0.269
upstream site						
1	density	0.257	0.216	-24.959	-2.155	0.746
2	density, male percentage	0.279	0.194	-23.564	-0.76	0.594
3	density, male percentage, interaction	0.323	0.196	-22.804	0	
4	male percentage	0.001	-0.055	-19.035	3.769	0.132

Table 6. Effect of total density of individuals and percentage of males in each transect subsection on daily dispersal at the downstream and upstream sites. Here are presented the most parsimonious linear models using AIC model selection. Asterisks indicate significant effect at $\alpha = 0.05$.

Parameter	Estimate	SE	F	P
<u>downstream site</u>				
Intercept	2.774	0.651		
Percentage of males	-1.161	0.833	1.902	0.184
Total density	0.108	0.046	5.529	0.033*
<u>upstream site</u>				
Intercept	3.82	0.229		
Total density	-0.022	0.009	2.247	0.023*

Discussion

Dispersal is an important biological parameter that determines the capacity of demes to exchange individuals and the capacity of migrants to colonize new habitat patches (Hanski *et al.*, 2000; Clobert *et al.*, 2001). Owing to its effect on gene flow, it ultimately influences population genetic structure (Cornuet *et al.*, 1999). Dispersal patterns in animal species are the product of several factors operating at different development life stages during the organism life cycle (Ims & Herjmann, 2001). Determining which factors act on dispersal and how they interact in complex landscapes like river networks are challenging tasks. We investigated the effect of wing size, sex, survival and density on dispersal in a freshwater insect exhibiting morphological variations for traits related to dispersal.

Effect of phenotype and survival on dispersal

According to earlier studies on insects, we expected larger individuals to disperse farther (Harrison, 1980; Marden, 1989; Spedding, 1992; Beck *et al.*, 2002; Berwaerts *et al.*, 2002; Maciel-De-Freitas *et al.*, 2007). Instead, we found no evidence of a relationship between wing size and dispersal. First, we observed no correlation between wing length and range at both sites. Second, females, that are larger than males, did not cover significantly longer distances although they are suspected to be the dispersing sex in territorial damselflies (Beirinckx *et al.*, 2006). Thus, individual phenotypic characteristics did not account for dispersal in our study. More largely, body size does not seem a good predictor of dispersing capacity in damselflies both intraspecifically or interspecifically. For instance, *Coenagrion mercuriale* is a zygopteran species smaller than *C. splendens* that yet disperses over longer distances (Purse *et al.*, 2003).

Survival showed to be a better predictor of dispersal. Daily survival was higher at the downstream site and lifetime was correlated with range excepted for females at the upstream site. Both analyses support the idea that range generally increases with age.

Effect of density on dispersal

Interestingly density showed opposite effects at both study sites. Displacements were positively dependent on section density at the downstream site whereas we observed a negative relationship at the upstream site. Stettmer (1996) found a negative correlation between the tendency to move and population density in *C. splendens*. Rouquette and Thompson (2005) also reported this effect in natural populations in *Coenagrion mercuriale*. Negative density-dependent dispersal can be accounted for by a better access to food resources, more frequent mating opportunities

(Dobzhansky *et al.*, 1977; Rouquette *et al.*, 2005) or inbreeding avoidance in high density patches (Rouquette *et al.*, 2007).

The opposite relationship between section density and daily dispersal might be explained by the different overall density in each site. Twice as many individuals were eventually captured at the upstream site as at the downstream site which may indicate higher overall habitat quality in the former one. Thus, if conditions are not limiting (high density patch), individuals may tend to stay and seek many mating opportunities whereas if conditions are limiting (low density patch), they may tend to avoid crowding (Rouquette *et al.*, 2007). An alternative explanation for males could be found in territory availability. In high density patches, all territories or mating places are likely to be defended whereas free places might be expected to remain at low density patches. Hence, this situation would generate a trade-off for males between spending time finding a territory and seeking mating opportunities. Similarly, females might reduce male harassment by moving to sections where males are less abundant in low density patches (Beirinckx *et al.*, 2006).

Factors affecting dispersal and consequences for populations in river networks

In our study, survival and density affected dispersal of *C. splendens* but individual size did not. Thus, results tend to reject the hypothesis of an upstream-downstream dispersal gradient at the catchment scale caused by the morphological cline previously observed. Survival and density are usually controlled by local factors like habitat quality (level of food resource or presence of contaminants for instance), predation rate, and intraspecific competition. They are not necessarily independent as reduced costs of male territorial behaviour and male-male aggressions at low density may increase survivorship (Ichikawa, 1982; Beck *et al.*, 2002). In our case, survival and density seemed to act antagonistically as low density in a stream section increased dispersal and probably survival whereas high density reduced both. These combined effects could be of importance regarding population dynamics in river networks. The distribution of suitable habitats along a river is expected to explain mostly the distribution of a species on a river stretch (Bohonak & Jenkins, 2003). However, the tendency to stay in high density patches and to leave low density ones is likely to enhance this pattern and contribute to generate a discontinuous spatial distribution. We observed such a pattern in a survey on a 30-km stretch of a Loire tributary (A. C-B. unpublished data).

Overall, this study emphasizes the complexity of the dispersal process. Phenotype, density, survival and dispersal might be involved and interact together in natural populations. We found lower survival at the upstream site where density was higher (survival x density). Within the upstream site, smaller individuals survived better than larger ones (density x survival x phenotype). Individuals that survive longer covered longer distances (survival x dispersal). Finally, we showed

that within a patch, overall density altered the behavioural decision to leave from or stay in a river section (density x dispersal). Disentangling the relative effects of each factor and identifying their interactions is clearly not a simple task but it deserves attention owing to its implications. Results suggested that low density patches were more likely to send long distance migrants away than high density patches, whereas high density patches would be more likely to receive migrants than low density patches. Freshwater insects are often considered to form metapopulations (Bohonak *et al.*, 2003). In such a system, low density patches would be more likely to colonize empty patches than high density patches which outlines the potential importance of low or medium quality sites to ensure connectivity. This role might receive more attention in conservation programs but clearly more thorough investigation about the relationships between survival, density and dispersal are required to improve our understanding of population dynamics for organisms able to disperse along watercourses or between watercourses from independent catchments or subcatchments (Chaput-Bardy *et al.*, accepted).

Acknowledgements

This study was funded by Région Pays-de-la-Loire. We thank people who helped to fieldwork and particularly Amélie Becker, Carole Beuze, Adeline Loyau, Delphine Mollard and Thomas Sire.

References

- Angelibert, S. & Giani, N. (2003) Dispersal characteristics of three odonate species in a patchy habitat. *Ecography*, **26**, 13-20.
- Askew, R.R. (2004) *The dragonflies of Europe, 2nd edition*, Harley books edn., Colchester, U. K.
- Atkinson, D. (1994) Temperature and organism size: a biological law for ectotherms? *Advances in Ecological Research*, **25**, 1-54.
- Baguette, M., Convie, I., & Neve, G. (1996) Male density affects female spatial behaviour in the butterfly *Proclissiana eunomia*. *Acta Oecologia*, **17**, 225-232.
- Beck, M.L. & Pruett-Jones, S. (2002) Fluctuating asymmetry, sexual selection, and survivorship in male dark-winged damselflies. *Ethology*, **108**, 779-791.
- Beirinckx, K., Van Gossum, H., J. Lajeunesse, M., & R. Forbes, M. (2006) Sex biases in dispersal and philopatry: Insights from a meta-analysis based on capture-mark-recapture studies of damselflies. *Oikos*, **113**, 539-547.
- Berwaerts, K., Van Dyck, H., & Aerts, P. (2002) Does flight morphology relate to flight performance? An experimental test with the butterfly *Pararge aegeria*. *Functional Ecology*, **16**, 484-491.
- Beukema, J.J. (2002) Survival rates, site fidelity and homing ability in territorial *Calopteryx haemorrhoidalis* (Vander Linden) (Zygoptera: Calopterigidae). *Odonatologica*, **31**, 9-22.
- Bohonak, A.J. & Jenkins, D.G. (2003) Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecology letters*, **6**, 783-796.
- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (2002). Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach. In. 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
- Campbell Grant, E.H., Lowe, W.H., & Fagan, W.F. (2007) Living in the branches: population dynamics and ecological processes in dendritic networks. *Ecology letters*, **10**, 165-175.
- Chaput-Bardy, A., Pays, O., Lodé, T., & Secondi, J. (2007) Morphological clines in dendritic landscapes. *Freshwater Biology*, **52**, 1677-1688.
- Choquet, R., Redoulet, A.M., Pradel, R., & Lebreton, J.D. (2000) U-Care (Utilities-Capture-REcapture) user's guide. <http://www.cefe.cnrs-mop.fr/wwwbiom/default.htm>.
- Clobert, J., Danchin, E., Dhondt, A.A., & Nichols, J.D. (2001) *Dispersal*, Oxford University Press edn.
- Conrad, K.F., Willson, K.H., Harvey, I.F., Thomas, C.J., & Sherratt, T.N. (1999) Dispersal characteristics of seven odonate species in an agricultural landscape. *Ecography*, **22**, 524-531.
- Corbet, P.S. (1999) *Dragonflies - Behavior and ecology of odonata*, Cornell University Press edn.,

Ithaca, NY, U.S.A.

- Cornuet, J.M., Piry, S., Luikart, G., Estoup, A., & Solignac, M. (1999) New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics*, **153**, 1989-2000.
- den Boer, P.J. (1970) On the significance of dispersal power for populations of carabid beetles. *Oecologia*, **4**, 1-28.
- Denno, R.F., K., R.G., Olmstead, K.L., & Döbel, H.G. (1991) Density related migration in planthoppers (Homoptera: Delphacidae): the role of habitat persistence. *American Naturalist*, **138**, 1513-1541.
- Denno, R.F. & Peterson, M.A. (1995). Density-dependent dispersal and its consequences for population dynamics. In *Population dynamics: New approaches and synthesis* (eds N. Cappuccino & P.W. Price). Academic Press, San Diego, CA.
- Dixon, A.F.G. (1985) *Aphid ecology* Blackie, Glasgow, UK.
- Dobzhansky, T., Ayala, F.J., Stebbins, L.G., & Valentine, J.W. (1977) *Evolution*, San Francisco: Freeman edn.
- Fernando, C.H. (1958) The colonization of small freshwaters habitats by aquatic insects. 1. General discussion, methods and colonization in aquatic Coleoptera. *Ceylon journal of science*, **1**, 117-154.
- Gundersen, G., Andreassen, H.P., & Ims, R.A. (2002) Individual and population level determinants of immigration success on local habitat patches: an experimental approach. *Ecology letters*, **5**, 294-301.
- Hanski, I. & Ovaskainen, O. (2000) The metapopulation capacity of a fragmented landscape. *Nature*, **404**, 755-758.
- Harrison, R.G. (1980) Dispersal polymorphisms in insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11**, 95-118.
- Hasson, E., Fanara, J.J., Rodriguez, C., Vilardi, J.C., Reig, O.A., & Fontdevilla, A. (1993) The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XXVII Thorax length is positively correlated with longevity in a natural population from Argentina. *Genetica*, **92**, 61-65.
- Herzig, A.L. (1995) Effects of population density on long-distance dispersal in the goldenrod beetle *Trirhabda virgata*. *Ecology*, **76**, 2044-2054.
- Herzig, A.L. & Root, R.B. (1996) Colonization of host patches following long-distance dispersal by a goldenrod beetle, *Trirhabda virgata*. *Ecological Entomology*, **21**, 344-351.
- Ichikawa, T. (1982) Density-related changes in male-male competitive behavior in the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (STAL) (Homoptera : Delphacidae)

Applied entomology and zoology, **17**.

- Ims, R.A.I. & Herjmann, D.O. (2001). Condition-dependent dispersal. In *Dispersal* (eds J. Clobert, E. Danchin, A.A. Dhondt & J.D. Nichols), pp. 110-122. Oxford Univ. Press.
- Kuussaari, M., Nieminen, M., & Hanski, I. (1996) An experimental study of migration in the Glanville fritillary butterfly *Melitaea cinxia*. *Journal of Animal Ecology*, **65**, 791-801.
- Lambin, X., Aars, J., & Piertney, S.B. (2001). Dispersal, intraspecific competition, kin competition and kin facilitation: a review of the empirical evidence. In *Dispersal* (eds J. Clobert, E. Danchin, A.A. Dhondt & J.D. Nichols), pp. 110-122. Oxford Univ. Press.
- Lande, R. & Arnold, S.J. (1983) The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, **37**, 1210-1226.
- Lebreton, J.D., Burnham, K.P., Clobert, J., & Anderson, D.R. (1992) Modelling survival and testing biological hypotheses using marked animals: a unified approach with case studies. *Ecological Monographs*, **62**, 67-118.
- Maciel-De-Freitas, R., Codeço, C.T., & Lourenço-De-Oliveira, R. (2007) Body size-associated survival and dispersal rates of *Aedes aegypti* in Rio de Janeiro. *Medical and Veterinary Entomology*, **21**, 284-292.
- Malmqvist, B. (2000) How does wing length relate to distribution patterns of stoneflies (Plecoptera) and mayflies (Ephemeroptera)? *Biological Conservation*, **93**, 271-276.
- Marden, J.H. (1989) Bodybuilding dragonflies: costs and benefits of maximizing flight muscle. *Physiological Zoology*, **62**, 505-521.
- Menéndez, R., Gutiérrez, D., & Thomas, C.D. (2002) Migration and Allee effects in the six-spot burnet moth *Zygaena filipendulae*. *Ecological Entomology*, **27**, 317-325.
- Power, M.E. & Dietrich, W.E. (2002) Food webs in river networks. *Ecological Research*, **17**, 451-471.
- Purse, B.V., Graham, W.H., Kieron, J.D., & Thompson, D.J. (2003) Dispersal characteristics and management of a rare damselfly. *Journal of Applied Ecology*, **40**, 716-728.
- Ray, C., Gilpin, M., & Smith, A.T. (1991) The effect of conspecific attraction on metapopulation dynamics. *Biological Journal of the Linnean Society*, **42**, 123-134.
- Rodriguez, C., Fanara, J.J., & Hasson, E. (1999) Inversion polymorphism, longevity and body size in a natural population of *Drosophila buzzatii*. *Evolution*, **53**.
- Rouquette, J.R. & Thompson, D.J. (2005) Habitat associations of the endangered damselfly, *Coenagrion mercuriale*, in a water meadow ditch system in southern England. *Biological Conservation*, **123**, 225-235.
- Rouquette, J.R. & Thompson, D.J. (2007) Patterns of movement and dispersal in an endangered

- damselfly and the consequences for its management. *Journal of Applied Ecology*, **44**, 692-701.
- SAS (2001) JMP Statistical Software Package, SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Shapiro, A.M. (1970) The role of sexual behavior in density related dispersal of pierid butterflies. *American Naturalist*, **104**, 367-372.
- Shaw, M.J.P. (1970) Effects of population density on alienicolae of *Aphis fabae* Scop. II The effects of crowding on the expression of migratory urge among alatae in the laboratory. *Annals of Applied Biology*, **65**, 197-203.
- Sokolovska, N., Rowe, L., & Johansson, F. (2000) Fitness and body size in mature odonates. *Ecological Entomology*, **25**, 239-248.
- Spedding, G.R. (1992). The aerodynamics of flight. In *Mechanics of animal locomotion* (ed R.M. Alexander). Springer-Verlag, Berlin.
- van Dyck, H. & Matthysen, E. (1999) Habitat fragmentation and insect flight: a changing 'design' in a changing landscape? *TREE*, **14**, 172-174.
- Vannote, R.L. & Sweeney, B.W. (1980) Geographic analysis of thermal equilibria: a conceptual model for evaluating the effect of natural and modified thermal regimes on aquatic insect communities. *American Naturalist*, **115**, 667-695.
- Ward, J.V. (1998) Riverine landscapes: biodiversity patterns, disturbance regimes, and aquatic conservation. *Biological Conservation*, **83**, 269-278.
- White, G.C. & Burnham, K.P. (1999) Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study*, **46 Supplement**, 120-138.
- Zera, A.J. & Denno, R.F. (1997) Physiology and ecology of dispersal polymorphism in insect. *Annual Review of Entomology*, **42**, 207-213.

CHAPITRE IV

Flux de gènes sur un réseau hydrographique chez un insecte aquatique

Dans le Chapitre II, un cline morphologique a été détecté sur le bassin de la Loire, les individus étant significativement plus petits en amont qu'en aval. A la lumière de ces résultats une question se pose : la structure génétique va-t-elle refléter la structure géographique des populations ?

La structure génétique des populations est donc abordée dans ce chapitre. Les individus précédemment échantillonnés lors de l'étude sur la morphologie ont été génotypés à l'aide de marqueurs AFLP. Nous avons tout d'abord vérifié s'il existait une structure génétique des populations reflétant la structure géographique du bassin, c'est-à-dire en 7 groupes correspondant aux 7 sous-bassins ou si elle correspondait au gradient longitudinal entre l'amont et l'aval (Chapitre II). Puis, nous avons tenté de mettre en évidence l'existence des deux types de dispersion des libellules, c'est-à-dire le long du cours d'eau et entre les cours d'eau, en étudiant les patrons d'isolement par la distance pour ces deux dimensions.

Les analyses ont mis en évidence la présence de flux de gènes le long des cours d'eau et entre les cours d'eau ainsi qu'une forte différenciation génétique à l'échelle du bassin hydrographique. Cependant, il n'a pas été possible de définir un nombre K de populations sur le bassin de la Loire, rejetant ainsi notre hypothèse de différenciation génétique des populations suivant la structure hiérarchique du bassin. Aucune différenciation génétique entre l'amont et l'aval n'a été observée à l'échelle du bassin ni au sein des cours d'eau. En effet, les flux de gènes entre les cours d'eau et entre les sous-bassins, par l'intermédiaire des adultes volant, empêchent l'assignation des individus à K populations. Les fortes valeurs de F_{ST} entre sites et l'absence d'entités génétiques clairement définies suggèrent que nous sommes face à une structure de type métapopulation. Les perturbations (sécheresses, pollutions ou entretien des berges) peuvent engendrer des extinctions locales sur le bassin versant. Les sites peuvent alors être recolonisés à partir de sites adjacents situés sur le même cours d'eau ou sur un bassin différent si ce dernier est suffisamment proche.

Ce chapitre fait l'objet d'un manuscrit accepté dans le journal « Molecular Ecology ».

**In-stream and overland dispersal across a river network influences gene flow in a
freshwater insect, *Calopteryx splendens***

Chaput-Bardy¹ A. *, Lemaire¹ C., Picard¹ D. and Secondi¹ J.

¹Laboratoire Paysages et Biodiversité, UFR Sciences, 2 Bd Lavoisier, 49045 Angers cedex 01, France.

Keywords: landscape genetics, catchment, isolation by distance, AFLP, odonates

*Corresponding author: Audrey Chaput-Bardy

Laboratoire Paysages et Biodiversité, UFR Sciences, 2 Bd Lavoisier, 49045 Angers cedex 01, France.

Fax: +33 2 41 73 53 52

E-mail address: audrey.chaput-bardy@univ-angers.fr

chaput_bardy_audrey@hotmail.com

Abbreviated title: Spatial genetic structure in a river network

Abstract

Gene flow in riverine species is constrained by the dendritic (branching) structure of the river network. Spatial genetic structure (SGS) of freshwater insects is particularly influenced by catchment characteristics and land use in the surroundings of the river. Gene flow also depends on the life cycle of organisms. Aquatic larvae mainly drift downstream whereas flying adults can disperse actively overland and along watercourses. In-stream movements can generate isolation by distance (IBD) at a local scale and differentiation between-subcatchments. However, these patterns can be disrupted by overland dispersal. We studied SGS across the Loire River in the damselfly *Calopteryx splendens* that is able to disperse along and between watercourses. Our sampling design allowed us to test for overland dispersal effects on genetic differentiation between watercourses. AFLP markers revealed high genetic differentiation at the catchment scale but the genetic structure did not reflect the geographic structure of sampling sites. We observed IBD patterns when considering the distance following the watercourse but also the Euclidean distance, i.e. the shortest distance, between pairs of sites. Altogether results support the hypothesis of overland dispersal between watercourses. From a conservation perspective, attention should be paid to the actual pathways of gene flow across complex landscapes such as river networks.

Introduction

Determining how gene flow is distributed across river networks is essential understanding population structure of freshwater organisms and assessing risks associated with habitat fragmentation. Predictions about gene flow and spatial genetic structure (SGS) are not so straightforward though, especially in organisms with complex life cycles like freshwater insects.

Aquatic larvae are subject to in-stream dispersal, mainly through passive drift caused by water flow (Mackay 1992; Jackson *et al.* 1999), so that their dispersal generally occurs in one-dimension between sites linked by water stretches (Fig. 1). As a consequence, river networks impose limits on dispersal (Frissel *et al.* 1986; Ward *et al.* 2002; Campbell Grant *et al.* 2007). In addition, gene flow is constrained by catchment geomorphology (size and shape of the catchment, number and length of branches and confluence angles). The dendritic (i.e. branching) structure tends to restrain organism movement and gene flow along specific directions (McGlashan *et al.* 2001; Fagan 2002). Individuals are distributed among different watercourses when they move upstream, whereas they are concentrated, joining at confluences, when they move downstream (Fig. 1, Power & Dietrich 2002). This means that genetic diversity is expected to decline upstream within a watercourse (Schmidt *et al.* 1995), while genetic differentiation may increase between watercourses (Power & Dietrich 2002). According to the life cycle of freshwater insects gene flow is more likely to occur within a catchment and downstream (Gibbs *et al.* 1998) so that an isolation by distance (IBD) pattern may develop with the distance between sites along a watercourse.

Adult freshwater insects often fly along watercourses during the mating period (Kopp *et al.* 2001; Caudill 2003) but they are able to move across terrestrial habitats between watercourses (Fig. 1). Integrating overland dispersal is likely to generate deviations from simple predictions about the spatial genetic structure of riverine species. If overland movements occur, an IBD pattern is expected with Euclidean distances between sites (Fagan 2002; Rissler *et al.* 2004), the Euclidian distance being defined as the shortest distance between two sites. Then, populations in nearby but independent catchments can show little or no genetic differentiation (Gibbs *et al.* 1998).

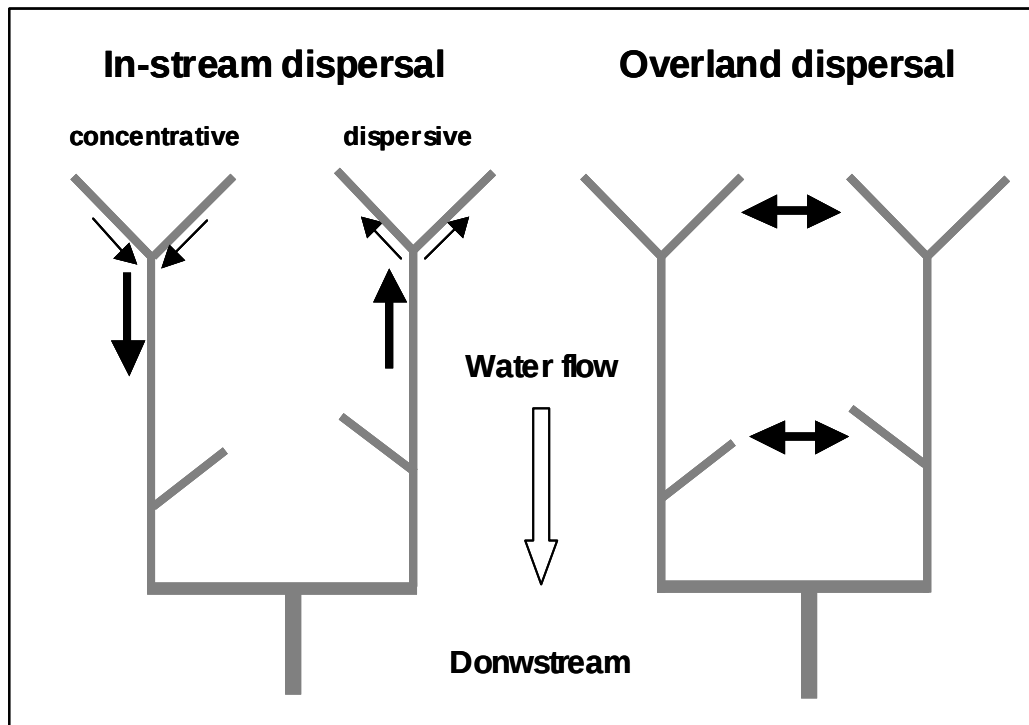


Fig. 1 Two-pathway dispersal model in river networks. In-stream dispersal occurs along the watercourse. In-stream dispersal is concentrative downstream as individuals from different branches are mixed at the confluence whereas it is dispersive upstream as individuals from the same pool are distributed between branches. Overland dispersal occurs between different branches of the river network.

Many authors investigated overland dispersal of adult freshwater insects (Sode & Wiberg-Larsen 1993; Kovats *et al.* 1996; Collier & Smith 1998; Petersen *et al.* 1999; Briers *et al.* 2002; Miller *et al.* 2002). However, few studies have explored the consequences of these latter movements on genetic differentiation within and across catchments. Such investigations are important to assess the influence of network characteristics, landscape structure (land cover in the watercourse surroundings) and distance on population structure (Lu *et al.* 1997). Actually, overland dispersal between watercourses has often been ignored and its impact on local ecological and genetic processes remains to be estimated (Palmer *et al.* 1996; Rundle *et al.* 2002). The potential direction of gene flow across the catchment (i.e. in-stream and/or overland gene flow) can be revealed by analysing IBD patterns (Slatkin 1993; Rousset 1997). While genetic differentiation and geographical distance between populations are often positively correlated (Bohonak 1999), relationships may be more complex in species with two types of dispersal (Michels *et al.* 2001; Hänfling & Weetman 2006). Deviations from IBD can be caused by (i) the occurrence of overland dispersal or the presence of barriers in the river

network (Watts *et al.* 2006) or (ii) the lack of regional equilibrium between gene flow and drift (Hutchison & Templeton 1999; Hänfling & Weetman 2006). In this regard, recent studies on freshwater insects demonstrated the effects of landscape barriers on population structure and the setting of local equilibria between gene flow and drift (Watts *et al.* 2004; Wilcock *et al.* 2007).

We investigated SGS and gene flow patterns in a common zygopteran species, the banded damselfly (*Calopteryx splendens* Harris 1782) in a large river catchment. This odonate exploits slowly running rivers, canals, or occasionally lakes (Askew 2004). *C. splendens* is univoltine (i.e. one generation per year) in Western Europe, with larvae spending one year in the aquatic environment before emergence. The discrete and insulated nature of the preferred aquatic habitat (rivers and streams) should make damselflies a particularly interesting species from the point of view of genetic population structure (Svensson *et al.* 2004). Mating and oviposition take place exclusively at or near the water surface (Corbet 1999). Aquatic larvae are susceptible to drift, and dispersal is supposed to occur only along the watercourse (Beukema 2002). Flying adult calopterids are relatively territorial and sedentary (Corbet 1999). According to mark-recapture studies, they generally disperse within less than 100 m (Stettmer 1996; Ward & Mill 2007). However, long-dispersers (> 1000 m) are regularly observed (Stettmer 1996; Ward & Mill 2007) that may be able to reach streams belonging to different catchments or stop over sites between catchments (i.e. overland dispersal).

In the present study, we applied a sampling design that reflects the branching structure of the network (Guinand & Tachet 2000; Chaput-Bardy *et al.* 2007) to test for the presence of overland dispersal between watercourses (Fig. 1). We had two assumptions, either (i) if only in-stream dispersal occurs, both an IBD pattern following the watercourse and between-watercourses genetic differentiation are predicted or (ii) if overland dispersal takes place this pattern would be disrupted so that no or little between-watercourses genetic differentiation would be observed. Also, one expects to detect an IBD pattern when considering a sample of adjacent but independent branches. We attempted to assess the contribution of each kind of movement in order to determine a dispersal model at the catchment scale. To our knowledge, this is the first time that a study explores the influence of river network structure on genetic population structure across a large catchment in freshwater insects.

Materials and Methods

Sampled sites

We captured adult *Calopteryx splendens* on the lower part of the catchment of the Loire River in Western France (Fig. 2). We collected 986 individuals (ca. 30 individuals/site) on 33 sites, 662 males and 324 females, from 26 May to 30 June 2005 using insect nets. Adults were caught on the riverbank as mating and oviposition take place exclusively on or close to the water surface (Corbet 1999).

Based on the French national hydrographical database (BD CARTHAGE[®] IGN-MATE 2005), we only considered streams larger than 15 m. We sampled each branch of the catchment network whenever the species was present on the watercourse (Fig. 2). Our study area encompassed four stream orders (branchings), seven subcatchments (i.e. the area where whole watercourses, across a river network, come together in a confluent point) and twenty-two streams in the lowland section of the river. We selected thirty-three sites, distant from 18 to 473 km, following the watercourse on the main channel and seven subcatchments. We observed the occurrence of mating and laying behaviour, exuvia (exoskeleton left after moulting) and teneral (adults sexually immature after moulting) on each site.

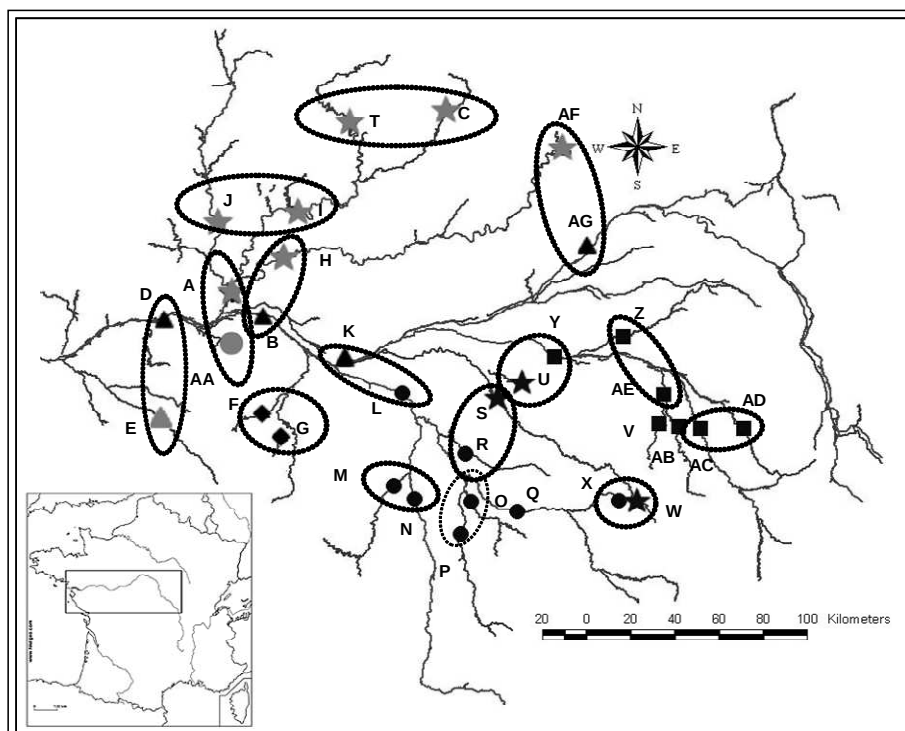


Fig. 2 Location of the 33 sites on the 7 tributaries and on the main channel (black triangles) of the Loire drainage in western France (BD CARTHAGE[®] IGN-MATE 2005). A different symbol is shown for each tributary. Circles show the 15 comparisons for the analysis of kinship by pairs of sites.

AFLP analysis

We used Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLPs; Vos *et al.* 1995) for genetic markers. Although AFLPs are dominant markers (i.e. product is either present or absent), recent studies proved that they provide excellent tools for addressing questions that require the estimation of relatedness between individuals (Hardy 2003) and for estimating spatial genetic structure (Tero *et al.* 2003; Sander *et al.* 2006; Garoia *et al.* 2007; Jump & Penuelas 2007).

The head of collected specimens was placed in 300 µl lysis buffer (50 mM Tris, pH 7.5, 20 mM EDTA, 0.5% SDS, 400 mM NaCl) with 100 µg/ml proteinase K (10mg/ml) for 3-18 h of digestion at 37°C. DNA was extracted following the “salting-out” protocol (Sunnucks & Hales 1996). Then, DNA was purified using 3 M sodium acetate, pH 5.2 and absolute ethanol precipitations (Sambrook *et al.* 1989). DNA concentration was checked on a spectrophotometer and the samples were diluted to obtain a concentration of approximately 50 ng/µl.

We used the AFLP protocol of Vos *et al.* (1995) with only minor modifications as described in Bensch *et al.* (2002). DNA fragments were separated on a 5.5% denaturing polyacrylamide sequencing gel. EcoRI primers were labelled with an infrared fluorescent dye (IRD 700 or IRD 800). The band patterns were scanned using a LI-COR Global IR² DNA Sequencer (LI-COR®, Lincoln, NE). We used three selective primer combinations (Svensson *et al.* 2004): A (ETAG x MCGC), B (ETGA x MCAC) and C (ETAG x MCAC). We could amplify and score unequivocally 20 bands for primer combination A, 37 for primer combination B and 30 for primer combination C, for the Loire area in France, versus 24 bands for primer combination A, 11 for primer combination B and 27 for primer combination C found by Svensson *et al.* (2004) in Sweden.

Gel images were analysed using AFLP-Quantar ProTM 1.04 (Geerlings *et al.* 1999) to identify the polymorphic loci. To estimate the reproducibility of the AFLP technique, we duplicated the whole protocol from DNA extractions and amplification to gel scoring for 180 individuals. AFLP band profiles were obtained for all primers and compared. Scoring reproducibility rate for the 87 loci was calculated by averaging the proportion of matched scores between duplicates. Scoring repeatability was 98.9 %.

Selection of neutral AFLP markers

AFLP loci are anonymous and scattered across the whole genome; consequently we do not know their evolutionary histories. Although we expected that most of them were neutral, we

could not discard the hypothesis that a small proportion of loci was under selection (Bonin *et al.* 2006). Thus, we used the program Dfdist developed for dominant markers (Beaumont & Balding 2004) to detect and exclude loci under selection. Dfdist follows a hierarchical Bayesian approach to compute F_{ST} estimates conditional on heterozygosity in a subdivided population under the symmetrical island model (Wright 1951). The null distribution of $\hat{F}_{ST}$ - values was generated based on 50000 simulated loci. Analyses were carried out using 99% confidence intervals. The distribution of $\hat{F}_{ST}$ as a function of heterozygosity is characterized by estimating the quantiles of the distribution. We chose the 0.005, median value and 0.995 quantiles; the outer define an envelope in which 99% of the data points are expected to lie. Outlier loci, that could be considered as non-neutral, were then removed before performing analyses of genetic diversity and spatial genetic structure.

Genetic diversity

All data analyses were performed using only polymorphic AFLP loci. We estimated allele frequencies, genetic diversity, pairwise population differentiations ($\hat{F}_{ST}$) and pairwise Reynold's genetic distances for the 33 sites with AFLP-SURV 1.0 (Vekemans 2002). Significance of global and pairwise $\hat{F}_{ST}$ was tested against a null model of no structure by randomly permuting individuals among sites 1000 times with AFLP-SURV 1.0.

Spatial genetic structure

Spatial genetic structure (SGS) analyses were performed using neutral markers only. From the matrix of Reynold's genetic distances we constructed the consensus tree with the neighbour-joining algorithm as implemented in PHYLIP 3.6 (Felsenstein 1993) after bootstrap resampling (1000 replicates).

We used the model-based clustering method of the program STRUCTURE version 2.2 adapted to dominant markers (Falush *et al.* 2007) to investigate genetic population structure (K). AFLP data were coded with the observed allele and the missing allele (Pritchard *et al.* 2007). Determining the optimal number of populations (K) is based on testing a range of models with different K values and inspecting the estimated log probability of data $Pr(X|K)$ to identify the most likely model (Pritchard *et al.* 2000; Pritchard & Wen 2004). The optimum number of clusters was identified using ΔK , related to the second order rate change in the log probability of the data, as described by Evanno *et al.* (2005). Subsequent analysis of each

cluster tested $K = 1$ to $K = 33$ (the number of sampled sites), with a burn-in period of 10000 followed by 100000 iterations, and 10 runs for each K . Admixture models were used for detecting populations. This analysis can support the gene flow between sites hypothesis, if it would not resolve clusters.

Population genetic structure was also assessed using pairwise kinship coefficients ($\hat{F}_{ij}$, Ritland 1996) between individuals, implemented in the software SPAGeDi (Hardy & Vekemans 2002). In the case of two individuals i and j , the kinship coefficient between them is $F_{ij} = (Q_{ij} - Q_m) / (1 - Q_m)$, where Q_{ij} is the probability of identity in state for random genes from i and j , and Q_m is the average probability of identity in state for genes coming from random individuals from the sampled site. Pairwise kinship coefficients for each dominant marker were estimated assuming a null inbreeding coefficient. The estimation of kinship using this method is relatively robust to errors in F_{IS} estimation (Hardy 2003). Kinship under IBD is expected to decrease linearly with spatial distance in a one-dimensional habitat and linearly with the logarithm of spatial separation in two-dimensional space (Rousset 1997; Hardy & Vekemans 1999). $\hat{F}_{ij}$ values were plotted against pairwise ij distance (d_{ij}) for in-stream distance or $\ln(d_{ij})$ for Euclidian distance to provide the regression slope of IBD, $\hat{b}$. To test for SGS, individual locations were permuted 1000 times among all individuals in order to get the frequency distribution of $\hat{b}$ under the null hypothesis that $\hat{F}_{ij}$ and d_{ij} were uncorrelated. To visualize SGS, $\hat{F}_{ij}$ values were averaged over a set of distance classes (d), giving $\hat{F}(d)$ values. The number of distance interval selection was based on an equivalent number of individuals by population for each interval (Hardy & Vekemans 2002). We therefore selected 7 distance intervals to compute $\hat{F}_{(d)}$. Those ranged from 0 to 500 km (0-50, 50-75, 75-100, 100-150, 150-200, 200-300 and 300-500 km) for distances following the watercourse and from 17.5 to 270 km (0-17.5, 17.5-35, 35-60, 60-95, 95-130, 130-200 and 200-270 km) for Euclidian distances. $\hat{F}_{(d)}$ values were plotted against distance to visualize spatial autocorrelation patterns. Standard error estimates for average kinship coefficients at each class were calculated by jackknifing over all 69 loci retained for analysis (Hardy, 2003).

SGS was quantified by the Sp statistics, which represents the rate of decrease in pairwise kinship with distance (Vekemans & Hardy 2004). Sp is unaffected by the sampling scheme contrary to the regression slope $\hat{b}$ of $\hat{F}_{ij}$ and can be compared between populations or species so that Sp is a better way to quantify IBD (Vekemans & Hardy 2004). A lower Sp

value can indicate a preferential pathway of dispersal (in-stream or overland dispersal). Sp is calculated as $-\hat{b}/(1 - \hat{F}_{(1)})$, where $\hat{F}_{(1)}$ is the mean $\hat{F}_{ij}$ between individuals in the first distance class (Jump & Penuelas 2007). Following Hardy *et al.* (2006), we present the standard error (SE) of $\hat{b}$ (calculated by jackknifing over loci) as an estimate of the variability of Sp .

In order to test more precisely whether overland dispersal occurred between nearby but independent tributaries, we plotted mean pairwise $\hat{F}_{ij}$ between selected pairs of sites ($N = 15$ comparisons, cf. Fig. 2) against the distance along the watercourse and the log of the Euclidian distance. In 7 pairs, sites were located in different subcatchments (A-AA, B-H, D-E, S-R, U-Y, X-W and AF-AG), and were chosen so that going from one site to the other necessarily required overland movement. Furthermore, we made sure that no large stream (i.e. more than 15-m large) was located between the sampling sites of a pair that could bias gene flow estimates.

Results

Detection of non-neutral loci and global genetic structure

The overall $\hat{F}_{ST}$, calculated as the average among-populations $\hat{F}_{ST}$ in 87 polymorphic loci weighted by their heterozygosities, was 0.139 ± 0.081 SE. The examination of individual loci revealed the presence of 18 outliers. Five F_{ST} estimates were above and 13 below the 99% confidence interval envelope (Fig. 3). These 18 loci were excluded from subsequent analyses so that only neutral markers were kept to infer neutral genetic parameters. The overall F_{ST} estimate obtained with these 69 remaining polymorphic loci was 0.143 ± 0.093 SE. No detailed analyses of outliers have been carried out in this work.

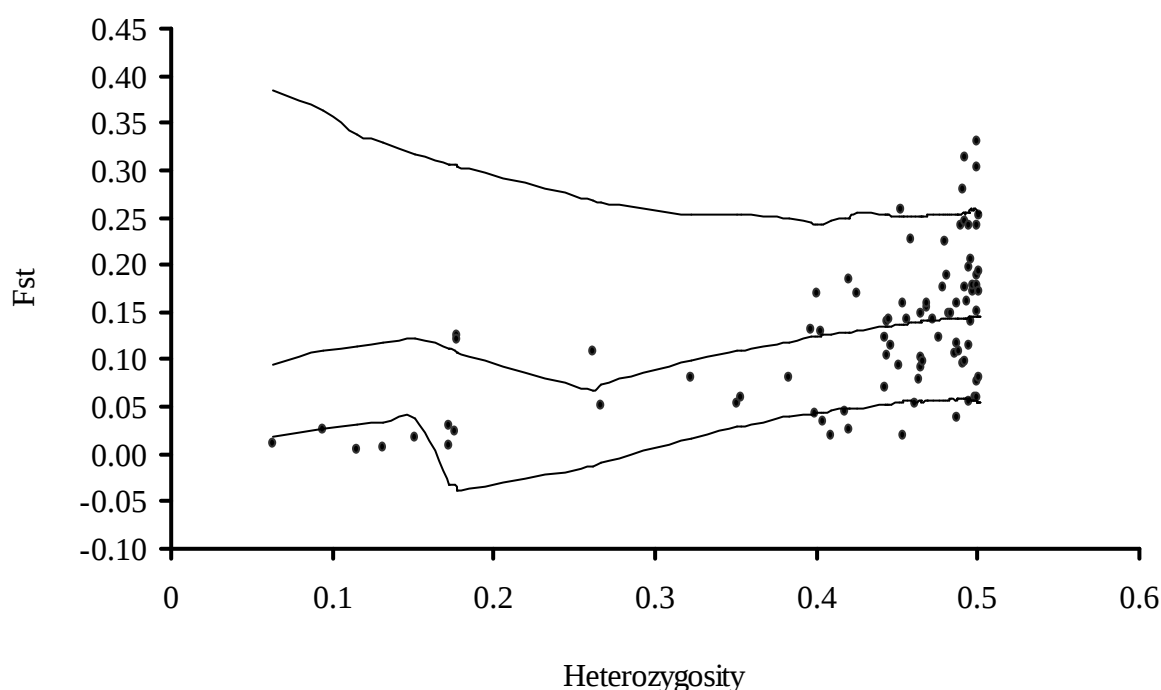


Fig. 3 Plot of $\hat{F}_{ST}$ values against heterozygosity estimates from 87 AFLP loci in 986 *Calopteryx splendens* individuals. Each dot indicates an AFLP marker. The lower, intermediate, and higher lines represent the 1%, 50%, and 99% confidence intervals, respectively

Genetic diversity and genetic structure

The proportion of polymorphic loci and expected heterozygosity for each of the 33 sampled sites across 69 loci are summarized in Table 1. Expected heterozygosity varied between 0.231 ± 0.021 SE and 0.442 ± 0.013 SE. Total genetic diversity ($H_t = 0.433$) was high for a dominant marker in comparison with other insects (Carisio *et al.* 2004; Takami *et al.* 2004; Sander *et al.* 2006; Jiang *et al.* 2007). Owing to the branching structure of river networks, genetic diversity is expected to increase when going downstream. We did not find such a relationship between Nei's gene diversity (H_j) and the geographic position in the catchment which was estimated as the distance from the sea following the watercourse (Kendall Tau Correlation $t = -0.163$, $P = 0.19$). At a smaller scale, we observed no difference in diversity between pairs of sites located both upstream and downstream of a confluence within a tributary: C-I, J-A, AF- H, AA-D, G-B, X-Q, N-L, W-S, U-K, AB-AE, Z-Y and Y-K either (Wilcoxon Matched Pairs Test, $N = 12$, $T = 39$, $Z = 0$, $P = 1$).

Table 1 Genetic data for the 33 sites with 3 AFLP primer combinations in *C. splendens*. *n* is the average number of scored individuals, # *loc.* is the number of loci scored, *PLP* is the proportion of polymorphic loci at the 5% level (expressed as a percentage), *Hj* is the expected heterozygosity under HW genotypic proportions, also called Nei's gene diversity (analogous to *H* or *He*), *S.E.(Hj)* is the standard error of *Hj*.

Subcatchment	Site	n	#loc.	PLP	Hj	S.E.(Hj)
main channel	B	19	69	100	0.413	0.01
main channel	D	24	69	97	0.432	0.013
main channel	K	28	69	97	0.377	0.015
main channel	AG	19	69	49	0.236	0.019
1	A	31	69	97	0.433	0.014
1	C	20	69	99	0.425	0.013
1	H	32	69	99	0.397	0.014
1	I	22	69	99	0.288	0.02
1	J	12	69	68	0.231	0.021
1	T	28	69	100	0.359	0.016
1	AF	26	69	97	0.359	0.017
2	L	30	69	100	0.442	0.011
2	M	25	69	99	0.351	0.018
2	N	27	69	99	0.324	0.016
2	O	29	69	55	0.251	0.019
2	P	30	69	100	0.374	0.012
2	Q	27	69	100	0.289	0.018
2	R	18	69	100	0.317	0.017
2	X	14	69	93	0.376	0.018
3	S	30	69	100	0.4	0.012
3	U	24	69	96	0.403	0.016
3	W	22	69	100	0.422	0.012
4	V	25	69	100	0.427	0.012
4	Y	19	43	93	0.403	0.019
4	Z	8	43	93	0.391	0.021
4	AB	10	27	100	0.33	0.023
4	AC	5	69	99	0.353	0.016
4	AD	26	69	97	0.406	0.014
4	AE	24	69	97	0.412	0.014
5	E	23	69	99	0.421	0.013
6	AA	22	69	97	0.442	0.013
7	F	28	27	100	0.391	0.021
7	G	17	69	84	0.36	0.019

Though overall genetic structure was significant, it did not seem to reflect the hierarchical structure of the catchment. The neighbour-joining tree did not group sites by tributary and bootstrap values were low (figure not shown). STRUCTURE was unable to determine a best number of K clusters (Fig. 4). This result is expected if an IBD pattern exists. When allele frequencies vary gradually across the river network, STRUCTURE will be unable to determine the best value of K as individuals have mixed membership in multiple groups (Pritchard & Wen 2004).

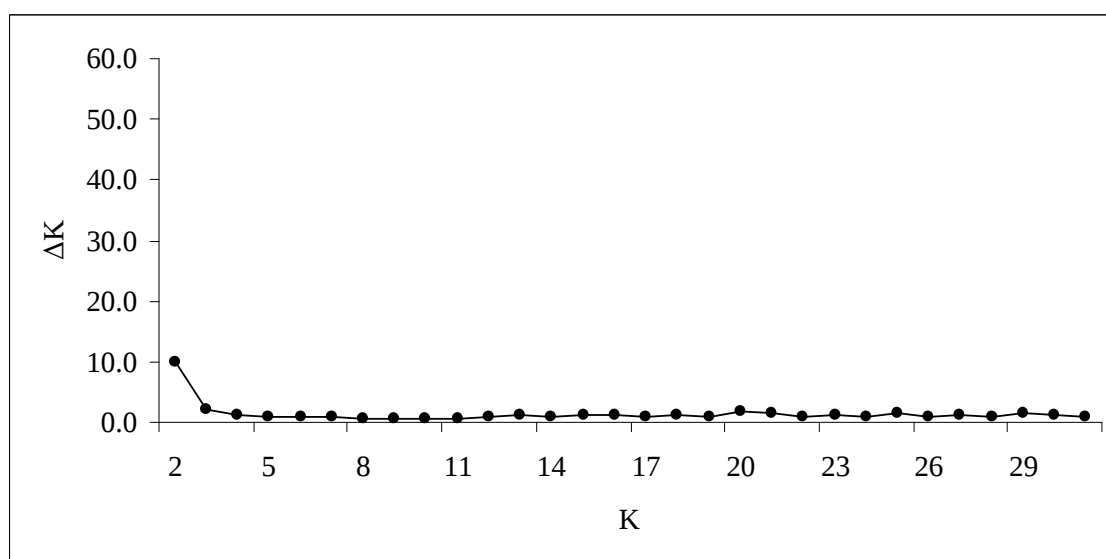


Fig. 4 The graphical method allowing detection of the true number of groups K as described in Evanno *et al.* (2005) according to the calculation of ΔK . High modal value was not identified on the graphical representation. A number of clusters cannot be determined.

When we considered subcatchments with more than 2 sampling sites (subcatchment 1 with A, H, I, J, T, C and AF sites; subcatchment 2 with L, M, N, O, P, Q, R and X sites, subcatchment 3 with S, U and W sites, subcatchment 4 with V, Y, Z, AB, AC, AD and AE sites and the Loire main channel with D, B, K and AG sites) genetic differentiation between subcatchments was lower ($\hat{F}_{ST} = 0.029 \pm 0.010$ SE, $P < 0.0001$) than genetic differentiation within each subcatchment (subcatchment 1 $\hat{F}_{ST} = 0.158 \pm 0.094$ SE, $P < 0.0001$; subcatchment 2 $\hat{F}_{ST} = 0.130 \pm 0.098$ SE, $P < 0.0001$, subcatchment 3 $\hat{F}_{ST} = 0.074 \pm 0.007$ SE, $P < 0.0001$, subcatchment 4 $\hat{F}_{ST} = 0.094 \pm 0.003$ SE, $P < 0.0001$ and the Loire main channel $\hat{F}_{ST} = 0.229 \pm 0.079$ SE, $P < 0.0001$).

Spatial genetic structure, SGS

We found a significant isolation by distance pattern following the watercourse ($\hat{b} = -0.0001 \pm 6.21\text{E-}06$ SD, $R^2 = 0.00174$, $P < 0.0001$). Sixty-one out of 69 loci showed a significant IBD pattern (P-values of slopes were < 0.0001). For the Euclidian distances, 48 loci showed a significant IBD pattern ($\hat{b} = -0.0142 \pm 0.0007$ SD, $R^2 = 0.00166$, $P < 0.0001$). The mean estimate of F_{ij} over pairs of individuals within a given distance interval ($F_{(d)}$) decreased with distance and showed a rapid reduction in slope beyond approximately 100 km with distance following the watercourse (Fig. 5a) or beyond approximately 60 km with log of Euclidian distance (Fig. 5b). A high kinship coefficient over long distances was observed despite low dispersal abilities in *C. splendens*, less than 100 m for most individuals (Stettmer 1996; Ward & Mill 2007). Estimate of Sp was lower for distances along watercourses (0.0001 ± 0.00001 SE) than for Euclidian distances (0.0220 ± 0.0022 SE), which seemed to reflect preferential in-stream dispersal. The river system seemed to show local migration-drift equilibrium (IBD) up to a scale of 60-100 km depending on the kind of movement. According to the lack of structure at longer distances, equilibrium was not reached for larger spatial scales (Fig. 5).

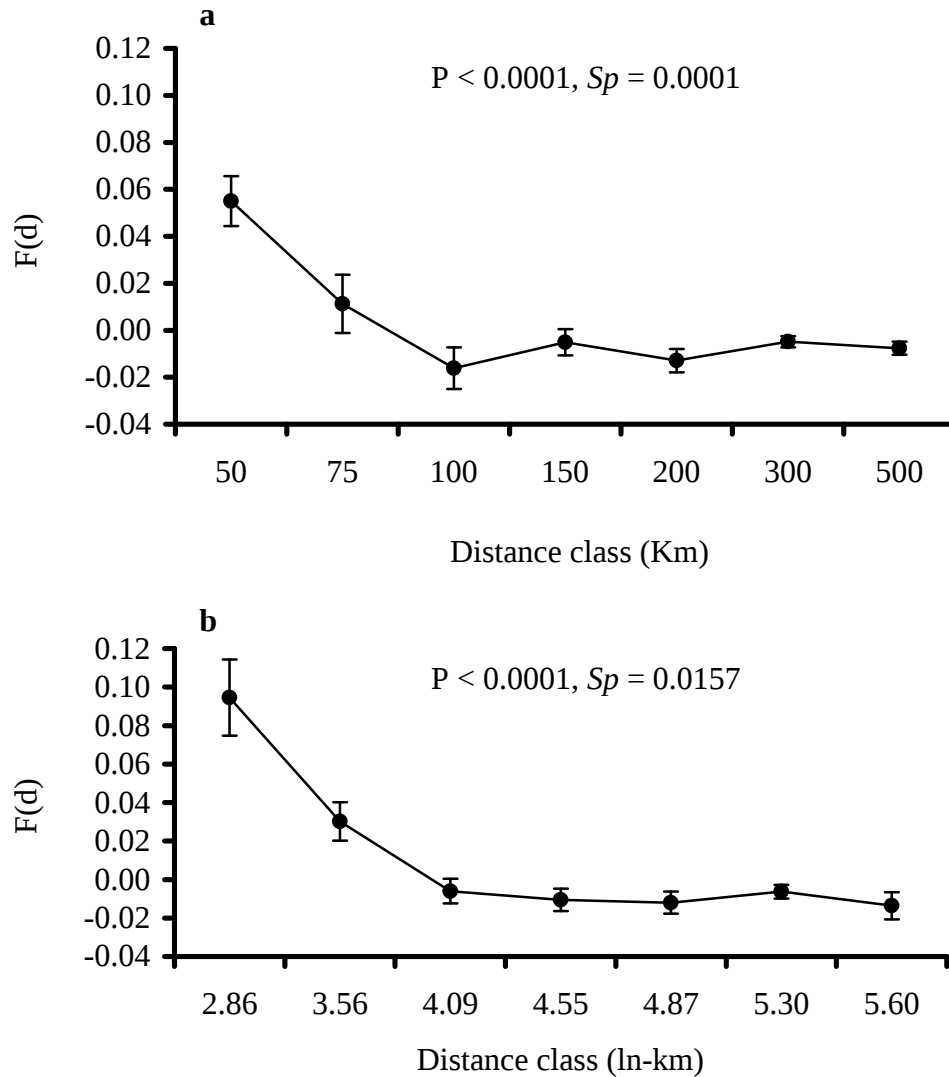


Fig. 5 Correlogram showing the mean kinship coefficient per distance class ($F(d)$). Error bars represent mean $\pm$ SE, the latter being assessed by jackknifing over 69 AFLP loci. P values are given for the regression slope of individual pairwise kinship coefficients on the corresponding geographical distance (a) and the logarithmic geographical distance (b) between individuals. Sp represents the rate of decrease of pairwise kinship with distance.

Overland dispersal analysis between pairs of sites showed that kinship coefficient decreased with Euclidian distance (Fig 6b. Kendall correlation coefficient $N = 15$, $t = -0.390$, $P = 0.044$). In contrast, we detected no relationship between kinship and distance along the watercourse (Fig 6a. Kendall correlation coefficient $N = 15$, $t = -0.029$, $P = 0.890$). For instance, sites X and W located in two subcatchments displayed a high kinship coefficient ($\hat{F}_{ij} = 0.250$). These were distant from 340 km following the watercourse but only from 7 km

when considering the Euclidian distance. For neighbouring sites located in different watercourses, overland gene flow seemed to dominate.

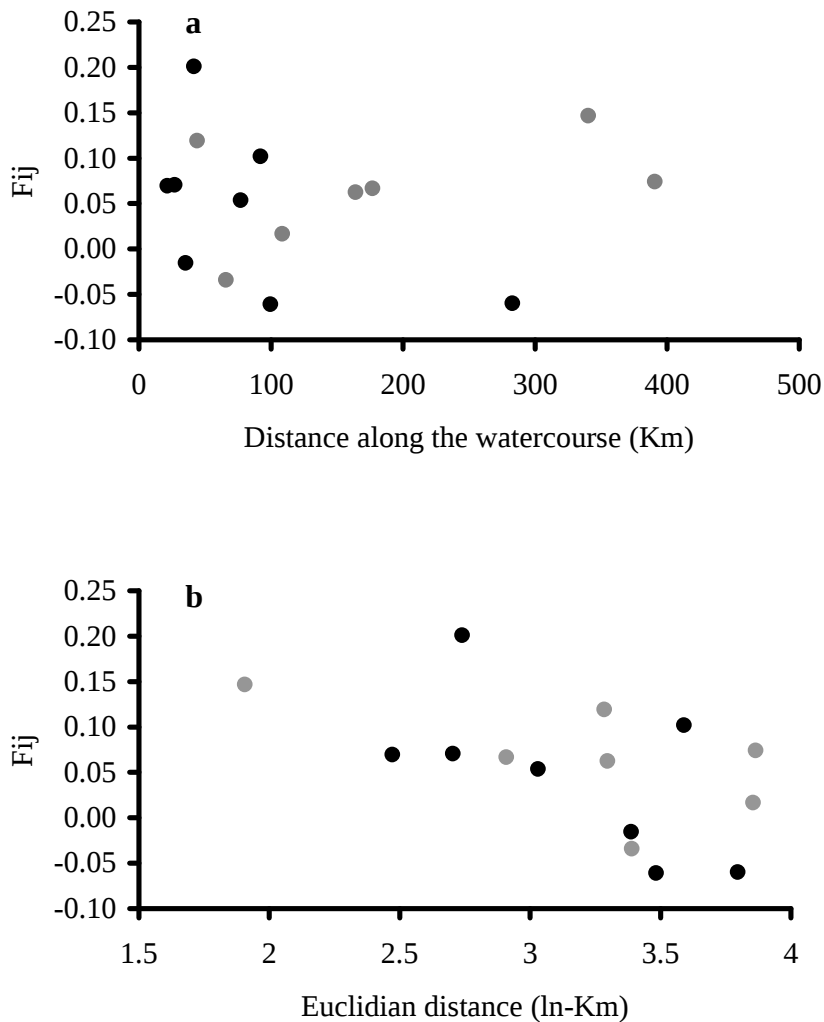


Fig. 6 Mean pairwise kinship (F_{ij}) coefficients between 15 site pairs (see Fig. 2) in relation with distances following the watercourse (a, Kendall Tau Correlation $t = -0.029$, $P = 0.89$) and logarithms of Euclidian distances (b, $t = -0.39$, $P = 0.044$). Comparisons between sites in two different subcatchments are represented by grey circles.

Discussion

River networks are particularly susceptible to fragmentation and habitat loss caused by anthropogenic activities (Ward, 1998). These disturbances affect extinction and colonization rates of breeding sites. It is thus crucial to determine gene flow pathways in order to understand population dynamics in such networks and to predict eventually the consequences of disturbances on extinction/recolonization processes. We addressed here the first question and showed that different gene flow pathways exist and account for the spatial genetic structure in a freshwater insect across a large river network.

A two-pathway dispersal model for river networks

Gene flow was studied using Euclidian distance and distance following the watercourse. We found an IBD pattern for either type of movement. These two approaches represent the shortest and longest distances for dispersal. Obviously, alternative preferential pathways are possible in nature depending on landscape structure, as flying adults tend to go around barriers (Watts *et al.* 2006). Nevertheless, Euclidean distance is a meaningful variable to test the presence of overland dispersal. According to the life cycle of *C. splendens* (including both stream-dwelling larvae and flying adults mating along watercourses) we supposed that in-stream dispersal was the main dispersal pathway. IBD pattern and *Sp* statistics confirmed this assumption indicating that individuals mostly disperse along watercourses. Our results are consistent with the study by Svensson *et al.* (2004) in *C. splendens* and studies on another zygopteran species, *Coenagrion mercuriale* (Watts *et al.* 2004; Watts *et al.* 2006; Watts *et al.* 2007), where isolation by distance was equally reported along watercourses. However, overland dispersal was important as well and shaped the genetic structure at the catchment scale. Flying adults or larvae (carried by floods) originating from nearby watercourses can disrupt within-subcatchment genetic continuity by limiting the upstream decline in genetic diversity and by impeding genetic differentiation between watercourses. Interestingly, the lack of subcatchment differentiation, observed here over 400 km, has been detected in studies dealing with freshwater insects at a much smaller scale (less than 50 km). By definition, the fractal geometry of a river network repeats spatial patterns (branching) at different scales (catchment, subcatchment and stream). We can thus expect the same genetic pattern to be repeated at different spatial scales too, which suggests that the underlying model of population structure may be somewhat more complicated than those previously described for these organisms (Hughes *et al.* 1998; Schultheis & Hughes 2005).

The lack of genetic structure with long distances can be explained by overland dispersal for IBD along watercourses and in-stream dispersal for IBD with Euclidian distance. An alternative hypothesis that we cannot discard is that the disruption of migration-drift equilibrium is caused by the increasing effect of drift with longer distances (Hutchinson & Templeton 1999). Isolation by distance could occur among nearby but not among distant sites until the system reaches migration-drift equilibrium. Studying population genetic structure over a broad geographic scale can imply non-equilibrium conditions between drift and migration (Boileau *et al.* 1992; Hellberg 1995; Baer 1998; Castric *et al.* 2001).

Population structure and conservation in river network

The study of gene flow in river networks is of interest for conservation purpose as it provides insights about dispersal at the scale of a whole ecosystem. The pattern and level of gene flow can be strongly influenced by landscape structure (Dieckmann *et al.* 1999; van Dyck & Matthysen 1999) and the level of connectivity between watercourses (Wilcock *et al.* 2007). For instance, in species capable of overland dispersal, the interaction between population distribution and the bifurcation angles of branches in a river network may play a key role in regulating colonization to adjacent branches (Campbell Grant *et al.* 2007). Fragmentation of wetlands might affect the recolonization probability of stream reaches by overland colonists (Bradley & Ormerod 2002) and isolate demes from each other. Despite its effect on gene flow and spatial genetic structure, recolonization process between catchments or subcatchments is poorly understood (Bohonak & Jenkins 2003; Malmqvist *et al.* 1991). Metapopulation structures are theoretically expected in dynamic river networks for entirely aquatic species (Fagan 2002; Lowe 2002) or freshwater insects (Bohonak and Jenkins 2003) because of drastic changes of environmental conditions such as floods, droughts, or pollution that these species experience and that could extirpate local populations. In support to this view, the genetic structure observed in the Loire River (i.e. strong $\hat{F}_{ST}$ values and the lack of geographical structure) could be explained by a metapopulation model (Hanski & Ovaskainen 2000). However, we could not investigate the occurrence of colonization/extinction by testing for bottleneck because we used dominant markers.

Altogether, results from earlier studies and our findings on overland dispersal highlight the potential role of network structure on the regulation of dispersal and colonization. They also outline the importance of keeping or restoring wetlands between watercourses, used as stopover or optional breeding sites, in order to maintain sufficient gene

flow between populations and then limit extinction rate. More work is needed to investigate how network geometry influences the resulting genetic structure of organisms with one and two dispersal pathways. Models being able to manage differential gene flow within and between subcatchments, and to integrate the fractal nature of river networks would be particularly helpful to analyse the functioning of these systems.

References

- Askew RR (2004) The dragonflies of Europe, 2nd edition, Harley books, Colchester, U. K.
- Baer CF (1998) Population structure in a south-eastern US freshwater fish, *Heterandrian formosa*. II. Gene flow and biogeography within the St. Johns River drainage. *Heredity*, **81**, 404–411.
- Beaumont MA, Balding DJ (2004) Identifying adaptive genetic divergence among populations from genome scans. *Molecular Ecology*, **13**, 969-980.
- Bensch S, Helbig AJ, Salomon M, Seibold I (2002) Amplified fragment length polymorphism analysis identifies hybrids between two subspecies of warblers. *Molecular Ecology*, **11**, 473-481.
- Beukema JJ (2002) Changing distribution patterns along a stream in adults of *Calopteryx haemorrhoidalis* (Odonata: Calopterygidae): a case of larval-drift compensation? *Odonatologica*, **5**, 1-14.
- Bohonak AJ (1999) Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quaterly Review of Biology*, **74**, 21-45.
- Bohonak AJ, Jenkins DG (2003) Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecology Letters*, **6**, 783-796.
- Boileau MG, Hebert PDN, Schwartz SS (1992) Non-equilibrium gene frequency divergence: persistent founder effects in natural populations. *Journal of Evolutionary Biology*, **5**, 25–39.
- Bonin A, Taberlet P, Miaud C, Pompanon F (2006) Explorative genome scan to detect candidate loci for adaptation along a gradient of altitude in the common frog (*Rana temporaria*). *Molecular Biology and Evolution*, **23**, 773-783.
- Bradley DC, Ormerod SJ (2002) Long-term effects of catchment liming on invertebrates in upland streams. *Freshwater Biology*, **47**, 161-171.
- Briers RA, Cariss HM, Gee JHR (2002) Dispersal of adult stoneflies (Plecoptera) from upland streams draining catchments with contrasting land-use. *Archive für Hydrobiology*, **155**, 627-644.
- Campbell Grant EH, Lowe WH, Fagan WF (2007) Living in the branches: population dynamics and ecological processes in dendritic networks. *Ecology Letters*, **10**, 165-175.
- Carisio L, Cervella P, Palestini C, DelPero M, Rolando A (2004) Biogeographical patterns of genetic differentiation in dung beetles of the genus *Trypocopris* (Coleoptera,

- Geotrupidae) inferred from mtDNA and AFLP analyses. *Journal of Biogeography*, **31**, 1149-1162.
- Castric V, Bonney F, Bernatchez L (2001) Landscape structure and hierarchical genetic diversity in the brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Evolution*, **55**, 1016-1028.
- Caudill CC (2003) Measuring dispersal in a metapopulation using stable isotope enrichment: high rates of sex-biased dispersal between patches in a mayfly metapopulation. *Oikos*, **101**, 624-630.
- Chaput-Bardy A, Pays O, Lodé T, Secondi J (2007) Morphological clines in dendritic landscapes. *Freshwater Biology*, **52**, 1677-1688.
- Collier KJ, Smith JM (1998) Dispersal of adult caddisflies (Trichoptera) into forests alongside three New Zealand streams. *Hydrobiologia*, **361**, 53-65.
- Corbet PS (1999) Dragonflies - Behavior and ecology of odonata, Cornell University Press, Ithaca, NY, U.S.A.
- Dieckmann U, O'Hara B, Weiser W (1999) The evolutionary ecology of dispersal. *Trend in Ecology and Evolution*, **14**, 88-90.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study, *Molecular Ecology*, **14**, 2611-2620.
- Fagan WF (2002) Connectivity, fragmentation, and extinction risk in dendritic metapopulations. *Ecology*, **83**, 3243-3249.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2007) inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers. *Molecular Ecology Notes*, **7**, 574-578.
- Felsenstein J (1993) PHYLIP 3.5 (Phylogeny Inference Package), University of Washington, Seattle.
- Frissel CA, Liss WJ, Warren CE, Hurley MD (1986) A hierarchical framework for stream habitat classification: Viewing streams in a watershed context. *Environmental Management*, **10**, 199-214.
- Garoia F, Guarniero I, Grifoni D, Marzola S, Tinti F (2007) Comparative analysis of AFLPs and SSRs efficiency population genetic structure of Mediterranean *Solea vulgaris*. *Molecular Ecology*, **16**, 1377-1387.
- Geerlings H, Van Oeveren AJ, Pot JE, Van Schaik RC (1999) AFLP-Quantar Pro Image analysis software. <http://www.keygene-products.com>. Keygene, Wageningen, the Netherlands.

- Gibbs HL, Gibbs KL, Siebenmann M, Collins L (1998) Genetic differentiation among populations of the rare mayfly *Siphonisca aerodromia* Needham. *Journal of the North American Benthological Society*, **17**, 461-474.
- Guinand B, Tachet H (2000) Population structure of *Hydropsyche exocellata*. Genetic homogeneity in a zone of fragmented distribution. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, **323**, 757-768.
- Hänfling B, Weetman D (2006) Concordant genetic estimators of migration reveal anthropogenically enhanced source-sink population structure in the river sculpin, *Cottus gobio*. *Genetics*, **173**, 1487-1501.
- Hanski I, Ovaskainen O (2000) The metapopulation capacity of a fragmented landscape. *Nature*, **404**, 755-758.
- Hardy OJ (2003) Estimation of pairwise relatedness between individuals and characterization of isolation-by-distance processes using dominant genetic markers. *Molecular Ecology*, **12**, 1577-1588.
- Hardy OJ, Vekemans X (1999) Isolation by distance in a continuous population: reconciliation between spatial autocorrelation analysis and population genetics models. *Heredity*, **83**, 145-154.
- Hardy OJ, Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, **2**, 618-620.
- Hardy OJ, Maggia L, Bandou E, Breyne P, Caron H, Chevallier MH, Doligez A, Dutech C, Kremer A, Latouche-Hallé C, Troispoux V, Veron V, Degen B. (2006) Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 Neotropical tree species. *Molecular Ecology*, **15**, 559-571.
- Hellberg M E (1995) Stepping-stone gene flow in the solitary coral *Balanophyllia elegans*: equilibrium and non-equilibrium at different spatial scales. *Marine Biology*, **123**, 573-581.
- Hughes JM, Bunn SE, Hurwood DA, Kingston M (1998) Dispersal and recruitment of *Tasiagma ciliata* (Trichoptera: Tasiimiidae) in rainforest streams, south-eastern Australia. *Freshwater Biology*, **36**, 289-296.
- Hutchison DW, Templeton AR (1999) Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Evolution*, **53**, 1898-1914.

- Jiang XF, Luo LZ, Zhang L (2007) Amplified fragment length polymorphism analysis of *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae) geographic and melanic laboratory populations in China. *Journal of Economic Entomology*, **100**, 1525-1532.
- Jackson JK, McElravy EP, Resh VH (1999) Long-term movements of self-marked caddisfly larvae (Trichoptera: Sericostomatidae) in a California coastal mountain stream. *Freshwater Biology*, **42**, 525-536.
- Jump AS, Penuelas J (2007) Extensive spatial genetic structure revealed by AFLP but not SSR molecular markers in the wind-pollinated tree, *Fagus sylvatica*. *Molecular Ecology*, **16**, 925-936.
- Kopp M, Jeschke JM, Gabriel W (2001) Exact compensation of stream drift as an evolutionary stable strategy. *Oikos*, **92**, 522-530.
- Kovats ZE, Ciborowski JH, Corkum LD (1996) Inland dispersal of adult aquatic insects. *Freshwater Biology*, **36**, 265-276.
- Lowe WH (2002) Landscape-scale spatial population dynamics in human-impacted stream systems. *Environmental Management*, **30**, 225-233.
- Lu G, Li S, Bernatchez L (1997) Mitochondrial DNA diversity, population structure, and conservation genetics of four carps within the Yangtze River, China. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **54**, 47-58.
- Mackay RJ (1992) Colonisation by lotic macroinvertebrates: a review of process and patterns. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **49**, 617-628.
- Malmqvist B, Rundle SD, Brönmark C, Erlandsson A (1991) Invertebrate colonization of a new, man-made stream in southern Sweden. *Freshwater Biology*, **26**, 307-324.
- McGlashan DJ, Hugues JM, Bunn SE (2001) Within-drainage population genetic structure of the freshwater fish *Pseudomugil signifer* (Pseudomugilidae) in northern Australia. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **58**, 1842-1852.
- Michels E, Cottenie K, Neys L, De Gelas K, Coppin P, De Meester L (2001) Geographical and genetic distances among zooplankton populations in a set of interconnected ponds: a plea for using GIS modelling of the effective geographical distance. *Molecular Ecology*, **10**, 1929-1938.
- Miller MP, Blinn DW, Keim P (2002) Correlation between observed dispersal capabilities and patterns of genetic differentiation in populations of four aquatic insect species from the Arizona White Mountains, USA. *Freshwater Biology*, **47**, 1660-1673.

- Palmer MA, Allan JD, Butman CA (1996) Dispersal as a regional process affecting the local dynamics of marine and stream benthic invertebrates. *Trends in Ecology and Evolution*, **11**, 322-326.
- Petersen I, Winterbottom JH, Orton S, Friberg N, Hildrew AG, Speirs AG, Gurney WSC (1999) Emergence and lateral dispersal of adult Plecoptera and Trichoptera from Broadstone Stream, UK. *Freshwater Biology*, **42**, 401-416.
- Power ME, Dietrich WE (2002) Food webs in river networks. *Ecological Research*, **17**, 451-471.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Influence of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945-959.
- Pritchard JK, Wen X (2004) Documentation for Structure Software: Version 2. The University of Chicago Press, Chicago.
- Pritchard JK, Wen X, Falush D (2007) Documentation for Structure Software: Version 2.2. The University of Chicago Press, Chicago.
- Rissler LJ, Wilbur HM, Taylor DR (2004) The influence of ecology and genetics on behavioural variation in salamander populations across the Eastern Continental Divide. *American Naturalist*, **164**, 201-213.
- Ritland K (1996) Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients. *Genetical Research Cambridge*, **67**, 175-185.
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, **145**, 1219-1228.
- Rundle SD, Foggo A, Choiseul V, Bilton DT (2002) Are distribution patterns linked to dispersal mechanism? An investigation using pond invertebrate assemblages. *Freshwater Biology*, **47**, 1571-1581.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) Commonly used techniques in molecular cloning. Concentrating nucleic acids. In: *Molecular cloning. A laboratory manual* (eds. Nolan C, Ferguson M), pp. E. 10-11. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Sander AC, Purtauf T, Wolters V, Dauber J (2006) Landscape genetics of the widespread ground-beetle *Carabus auratus* in an agricultural region. *Basic and Applied Ecology*, **7**, 555-564.
- Schultheis AS, Hughes JM (2005) Spatial patterns of genetic structure among populations of a stone-cased caddis (Trichoptera: Tasimiidae) in south-east Queensland, Australia. *Freshwater Biology*, **50**, 2002-2010.

- Slatkin M (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, **47**, 264-279.
- Sode A, Wiberg-Larsen P (1993) Dispersal of adult Trichoptera at a Danish forest brook. *Freshwater Biology*, **30**, 439-446.
- Stettmer C (1996) Colonisation and dispersal patterns of banded (*Calopteryx splendens*) and beautiful demoiselles (*C. virgo*) (Odonata: Calopterygidae) in south-east German streams. *European Journal of Entomology*, **93**, 579-593.
- Sunnucks P, Hales DF (1996) Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I-II aphids of the genus Sitobion (Hemiptera: Aphididae). *Molecular Biology and Evolution*, **13**, 510-524.
- Svensson EI, Kristoffersen L, Oskarsson K, Bensch S (2004) Molecular population divergence and sexual selection on morphology in the banded demoiselle (*Calopteryx splendens*). *Heredity*, **93**, 423-433.
- Takami Y, Koshio C, Ishii M, Fujii H, Hidaka T, Shimizu I. (2004) Genetic diversity and structure of urban populations of Pieris butterflies assessed using amplified fragment length polymorphism. *Molecular Ecology*, **13**, 245-258.
- Tero N, Aspi J, Siikamäki P, Jäkäläniemi A, Tuomi J (2003) Genetic structure and gene flow in a metapopulation of an endangered plant species, *Silene tatarica*. *Molecular Ecology*, **12**, 2073-2085.
- Van Dyck H, Matthysen E (1999) Habitat fragmentation and insect flight: a changing 'design' in a changing landscape? *Trends in Ecology and Evolution*, **14**, 172-174.
- Vekemans X (2002) AFLP-SURV version 1.0. Distributed by the author, Laboratoire de génétique et d'écologie végétale, Université libre de Bruxelles, Belgium.
- Vekemans X, Hardy OJ (2004) New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology*, **13**, 921-935.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, **23**, 4407-4414.
- Ward JV (1998) Riverine landscapes: biodiversity patterns, disturbance regimes, and aquatic conservation. *Biological Conservation*, **83**, 269-278.
- Ward JV, Tockner K, Arscott DB, Claret C (2002) Riverine landscape diversity. *Freshwater Biology*, **47**, 517-539.

- Ward L, Mill PJ (2007) Long range movements by individuals as a vehicle for range expansion in *Calopteryx splendens* (Odonata: Zygoptera). *European Journal of Entomology*, **104**, 195-198.
- Watts PC, Rouquette JR, Saccheri IJ, Kemp SJ, Thompson DJ (2004) Molecular and ecological evidence for small-scale isolation by distance in an endangered damselfly, *Coenagrion mercuriale*. *Molecular Ecology*, **13**, 2931-2945.
- Watts PC, Saccheri IJ, Kemp SJ, Thompson DJ (2006) Population structure and the impact of regional and local habitat isolation upon levels of genetic diversity of the endangered damselfly *Coenagrion mercuriale* (Odonata: Zygoptera). *Freshwater Biology*, **51**, 193-205.
- Watts PC, Rousset F, Saccheri IJ, Leblois R, Kemp SJ, Thompson DJ (2007) Compatible genetic and ecological estimates of dispersal rates in insect (*Coenagrion mercuriale*: Odonata: Zygoptera) populations: analysis of 'neighbourhood size' using a more precise estimator. *Molecular Ecology*, **16**, 737-751.
- Wilcock HR, Bruford MW, Nichols R A, Hildrew AG (2007) Landscape, habitat characteristics and the genetic population structure of two caddisflies. *Freshwater Biology*, **52**, 1907-1929.
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, **15**, 323-354.

Acknowledgments

This study was funded by Région Pays-de-la-Loire and Région Bretagne for analyses in the Plateforme OUEST Genopole (INRA, Rennes). We thank Solène Coedel, Julien Goebel, Viviane Hardouineau, Isabelle Legoff, Sophie Paillard, Marie-Thérèse Pavoine, Stéphane Sourice and Hélène Tricoire-Leignel for their kindness and technical support. We are grateful to Phillip C. Watts for providing helpful comments on the manuscript.

Author Information Box

The present study is part of A. Chaput-Bardy's PhD thesis on *Population Structure in a Dendritic River Network* funded by the Région Pays-de-la-Loire. Her research was performed under the supervision of Alain Pagano (associate professor in evolutionary ecology at the University of Angers), Jean Secondi (associate professor in behavioural ecology at the University of Angers) and Cyril Fleurant (associate professor in landscape research at the National Institute of Horticulture of Angers). Christophe Lemaire and Damien Picard are associate professors in population genetics and phylogeny at the University of Angers.

CHAPITRE V

Gene-Net : un programme simulant la dispersion et le flux de gènes sur un réseau hydrographique artificiel

Parallèlement aux analyses précédentes, un programme permettant de simuler les flux de gènes sur des réseaux hydrographiques a été élaboré. Ce chapitre traite du logiciel *Gene-Net* développé afin de tester l'effet de la géométrie du réseau hydrographique, (p. ex. : longueur des segments et nombre de ramifications) sur la structure génétique des populations chez les organismes dont la dispersion a lieu strictement le long des cours d'eau.

Ce programme constitue un outil intéressant pour les gestionnaires, en apportant des éléments de réponse sur (i) le mode de colonisation d'un réseau hydrographique en fonction des caractéristiques démographiques de l'espèce étudiée, (ii) la différenciation génétique des populations sur le réseau. Ainsi il est possible de déterminer les paramètres géométriques du réseau favorisant ou limitant le flux de gènes entre les populations.

Ce chapitre fera l'objet d'un manuscrit en resoumission dans le journal « *Molecular Ecology Resources* ».

Gene-Net: an individual-based model to simulate dispersal and gene flow in synthetic river networks

A. Chaput-Bardy¹, J. Secondi¹, C. Lemaire¹ and C. Fleurant^{2*}

¹ Laboratoire Paysages et Biodiversité, UFR Sciences, Université d'Angers, 2 bd Lavoisier, 49045 Angers cedex 01

² Unité de Recherche Paysage, Institut National d'Horticulture, 2 rue Le Nôtre, 49045 Angers cedex 01

Keywords: genetic structure, isolation by distance, catchment, branching network, fractal, freshwater organisms

*Corresponding author: Cyril Fleurant

Unité de Recherche Paysage, Institut National d'Horticulture, 2 rue Le Nôtre, 49045 Angers cedex 01, France

Fax: +33 2 41 22 55 28

E-mail address: cyril.fleurant@inh.fr

Running title: Simulation of gene flow in river networks

Abstract

Gene-Net tests hypotheses on genetic structure of freshwater organisms related to river network geometry. Users synthesise river network and population location, and select demographic and genetic population parameters. Network configuration is characterized by the length and number of branches. Each individual is characterised by its sex, its genotype, and migration distance. Then, the program simulates dispersal and breeding along the river network. Output genetic data are available for each population at any time step in ARLEQUIN format. A text file gives pairwise population genetic and geographic distances. Gene-Net is freely available at <http://www.inh.fr/pageperso/cfleuran/genenet/genenet.html>

River networks constitute spatially complex landscape elements that constrain the movements of organisms whose dispersal is restricted to the upstream-downstream axis of the watercourse. Owing to the dendritic (i.e. branching) structure of such networks, individuals are distributed among different watercourses when they move upstream, whereas they are concentrated, joining at confluences, when they move downstream (Power, Dietrich, 2002). This means that genetic diversity is expected to decline upstream after each bifurcation of the watercourse (Schmidt *et al.*, 1995), and genetic differentiation to occur between watercourses (Power, Dietrich, 2002). An isolation by distance (IBD) pattern may develop with distance along watercourse because gene flow is more likely to occur within a catchment (Gibbs *et al.*, 1998). However, predictions about gene flow and spatial genetic structure in dendritic networks are not so straightforward. Gene flow is influenced by the geometry of the network, i.e., branches length, numbers of bifurcations (Campbell Grant *et al.*, 2007; Lowe *et al.*, 2006) as well as the scale ratio between dispersal and networks size. How network parameters generate deviations from IBD in linear systems and affect spatial genetic structure remains to be determined.

Individual-based models are particularly useful tools to investigate the influence of river network structure on genetic processes (Campbell Grant *et al.*, 2007). AQUASPLATCHE (Neuenschwanger, 2006) was the first model, based on differential equations, developed to simulate colonization events in natural river networks and to estimate the resulting genetic diversity. Gene-Net is an individual based model generating synthetic river networks whose parameters are related to natural river networkk. Contrary to AQUASPLATCHE, it is specifically designed to investigate the effect of network geometry, i.e. branches size and branching number, on spatial genetic structure for any organism whose dispersal is restricted along watercourses. Additional characteristics of this demo-genetic model are to take explicitly into account the life-cycle and the migration distance of freshwater organisms. Migration does not only occur between adjacent sites, unlike AQUASPLATCHE, but can occur among several upstream or downstream nodes according to the dispersal capabilities of the species.

Demographic simulations are performed along a synthetic network discretized into evenly spaced nodes. Each node is connected to one or two upper nodes (upstream) and one lower node (downstream) to allow migration in both directions. Nodes and river network characteristics are computed from a fractal river network generation module. This module needs four parameters that are enough to describe a fractal river network: two Horton's ratios R_B and R_L , the maximum order of the river network n and a scale factor. The scale factor is

used to multiply the space-step (distance between two nodes) in order to generate real size networks. The precise position of a stream segment within the whole river network can be identified by its classification order. Many classification systems have been put forward but we decided upon Strahler's system (Strahler, 1957) which is the most widely used.

The classification system is as follows (i) headwaters are first order stream segments, (ii) when two stream segments within the same order $\omega = i$ merge, the stream segment resulting from this confluence is within order $\omega = i+1$, (iii) when two stream segments within different orders, $\omega = i$ and $\omega = j$ merge, the stream segment resulting from this confluence is within order $\omega = \max(i,j)$. This classification can be put into mathematical equation and sum-up by equation (1),

$$\omega = \max(\omega_1, \omega_2) + \delta_{\omega_1, \omega_2} \quad (1)$$

where δ is the Kronecker index :

$$\delta_{\omega_1, \omega_2} = \begin{cases} 1 & \text{if } \omega_1 = \omega_2 \\ 0 & \text{if } \omega_1 \neq \omega_2 \end{cases}$$

Strahler's classification organizes the different segments of a stream network into a hierarchy. Consequently, the stream outlet will have the highest index value, corresponding to the river network order. This classification puts forward general geometric laws. Among them, Horton's laws (Horton, 1945) describe the way stream networks are organized (Fig. 1). These laws express the so-called bifurcation ratio R_B and length ratio R_L , also known as Horton's ratios. A great number of experimental studies on stream networks (La Barbera, Rosso, 1990; Rosso *et al.*, 1991; Tarboton *et al.*, 1990) revealed that these ratios are rather stable and fluctuate between 3 and 5 for R_B and between 1.5 and 3.5 for R_L . The calculation of the fractal dimension of a stream network varies according to the observation scale; the stream network is therefore a multifractal object (Rodriguez-Iturbe, Rinaldo, 1997). Horton's laws also make it possible to work out the R_B and R_L (equation 2).

$$R_L = \frac{\overline{l_k}}{l_{k-1}}, \quad R_B = \frac{N_{k-1}}{N_k} \quad (2)$$

Where $\overline{l_k}$ is the average value of the morphometric lengths of ω order and N_k is the number of morphometric lengths of ω order.

Then the fractal dimension D can be computed by equation 3,

$$D = \frac{\log(R_B)}{\log(R_L)} \quad (3)$$

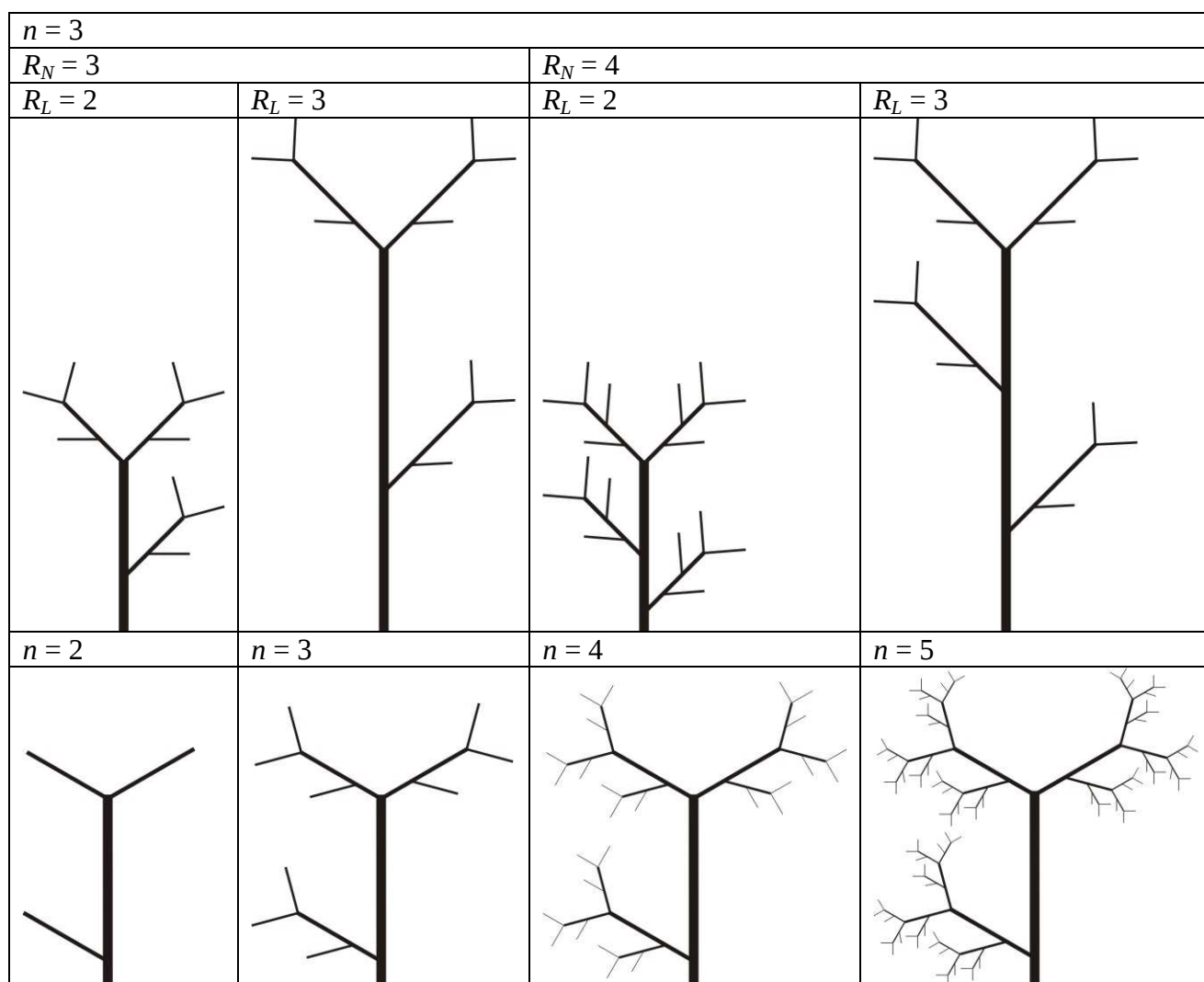


Fig. 1 A fractal river network with maximum order $n = 3$ is plotted for different values of its parameters R_N and R_L (up). A fractal river network with $R_N = 3$ and $R_L = 2$ is plotted for several values of the maximum order n (down).

Populations located on the river network are characterized by the life cycle of the study species. Life cycles are designed for freshwater organisms restricted to watercourses, with or without larval stages. Equation 4 was used for a freshwater insect, *Calopteryx splendens* (Harris, 1782) as an example. Life cycle of this species is composed by egg, larval, immature adult and breeder stages. Each stage is characterized by a survival rate that allows the calculation of population growth rate λ (equation 4).

$$\lambda = \frac{S_{egg} \times S_{larvae} \times S_{immature} \times S_{breeder} \times f}{2} \quad (4)$$

Where S_{egg} , S_{larvae} , $S_{immature}$ and $S_{breeder}$ are respectively the survival rates of eggs, larvae, immature adults, and breeders. The fertility rate, f , represents the number of eggs laid by a female in average. Any life cycle can be simulated by setting survival to 1 for inappropriate stages. A “time step” parameter for each life stage is implemented. By setting the appropriate time step values, user can model an organism with overlapping or non overlapping generations. For instance, in the Banded damselfly *C. splendens* adults live up to 6 weeks and their offsprings emerge the year after so that generations do not overlap. In contrast, in the Brown trout *Salmo trutta fario*, adults live up to 6 years and produce offsprings yearly. Thus, generations do overlap. When the simulation starts, all individuals of the initial population are adults.

The initial population is located on a segment which order is set by the user. The introduction site is then drawn at random among segments within the same order. Individuals are characterized by ten bi-allelic loci with a mutation rate of 10^{-8} like SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markers (Brumfield *et al.*, 2003). For the initial population, heterozygosity is set by the user. A population consists in individuals whose sex and alleles are randomly drawn. Allele frequencies follow the Dirichlet distribution, which is assumed to be independent (Pritchard *et al.*, 2000). Hardy Weinberg equilibrium is assumed for each population. The implementation of the life cycle is applied sequentially by the reproduction of individuals within a population and their survival at different stages. When reproduction occurs, females are fertilized by one male. An egg results in the random sampling of one allele from each parent. The size of populations does not exceed the carrying capacity threshold (K); if the number of adults after migration exceeds K then individuals in excessive number will not produce eggs. The percentage of individuals that disperse from a node to another in each generation is governed by the parameter “migration_rate” defined by the user. This parameter allows upstream and downstream migrations. The spatial migration process leads to an increase in size of populations that were originally under the carrying capacity threshold. Boundary nodes (boundaries of the river catchment) are linked to upper nil nodes. For these nodes we consider that individuals disperse out of the network. These special conditions meet Dirichlet’s boundary conditions where the number of individuals remains constant when the density threshold is reached.

Demographic and genetic simulation outputs are stored into text files for later use with any data editing software. Information available are $\hat{F}_{ST}$ among and between populations, $\hat{F}_{IS}$ of any population and $\hat{F}_{IT}$ values, and the regression slope between geographic and genetic

distances (Rousset, 1997). The Figure 2 shows an isolation by distance pattern obtained using the demographic parameters of *Calopteryx splendens* in a river network whose parameters are $R_N = 3$ and $R_L = 2$ and $n = 3$ after 100 generations. This software can be used for many freshwater species, such as aquatic plants, insects, mollusks, crustaceans, fishes and mammals (e.g. the European mink and brown trout examples on the website) dispersing along watercourses. Gene-Net outputs files provide genotypic data of each population in the ARLEQUIN format (Excoffier *et al.*, 2005).

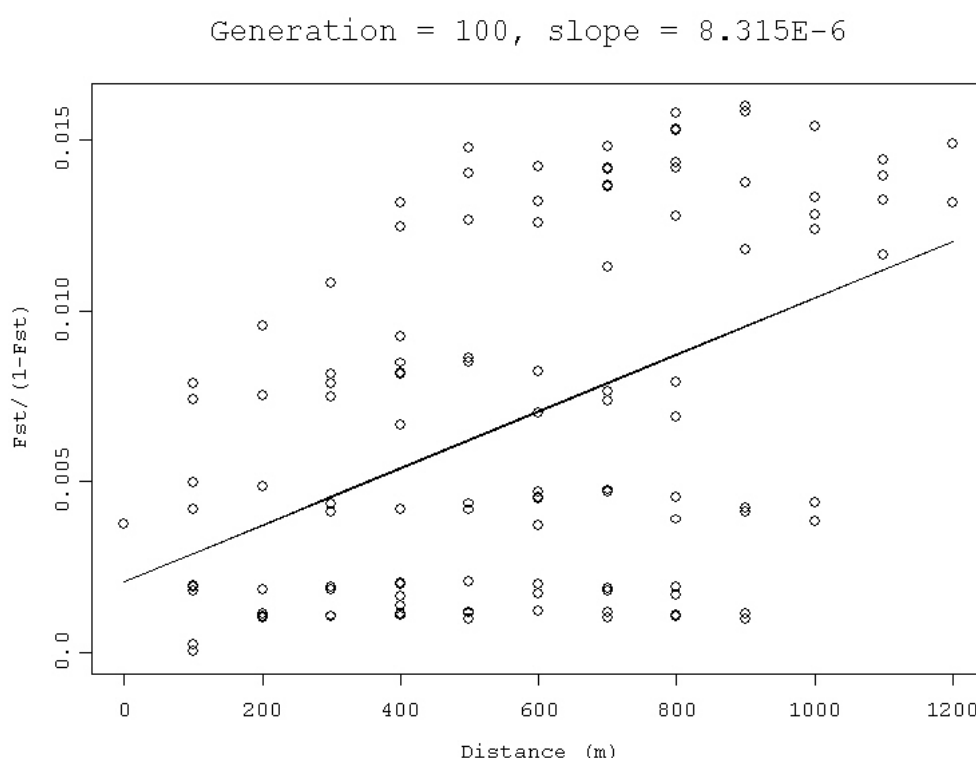


Fig. 2 Isolation by distance pattern in *Calopteryx splendens*. Estimates of pairwise differentiation are plotted against distance. The regression slope is $8.315 \times 10^{-6} \text{ m}^{-1}$. River network parameters are $R_N = 3$ and $R_L = 2$ and $n = 3$.

Gene-Net is a freeware available on the website <http://www.inh.fr/pageperso/cfleuran/genenet/genenet.html>. The Java user-friendly graphical interface allows setting up river network and population characteristics, to launch the simulation and to visualize their output. Windows version and Linux platforms are available. The computing time is several minutes on a PC equipped with 2.2 GHz chip set, Intel(R) Core(TM)2 duo CPU, 1.99 Go RAM, and for a set of 100 individuals in the initial population, 500 generations, and a K value equal to 200 individuals.

References

- Brumfield RT, Beerli P, Nickerson DA, Edwards SV (2003) The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends in Ecology and Evolution* **18**, 249-256.
- Campbell Grant EH, Lowe WH, Fagan WF (2007) Living in the branches: population dynamics and ecological processes in dendritic networks. *Ecology Letters* **10**, 165-175.
- Excoffier L, Laval G, S. S (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* **1**, 47-50.
- Gibbs HL, Gibbs KL, Siebenmann M, Collins L (1998) Genetic differentiation among populations of the rare mayfly *Siphonisca aerodromia* Needham. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **17**, 461-474.
- Horton RE (1945) Erosional development of streams and their drainage basins, hydrographical approach to quantitative morphology. *Geological Society of America Bulletin* **56**, 275-370.
- La Barbera P, Rosso R (1990) On the fractal dimension of stream networks. *Water Resources Research* **26**, 2245-2248.
- Lowe WH, Likens GE, Power ME (2006) Linking scales in stream ecology. *BioScience* **56**, 591-597.
- Neuenschwanger S (2006) AQUASPLATCHE: a program to simulate genetic diversity in populations living in linear habitats. *Molecular Ecology Notes* **6**, 583-585.
- Power ME, Dietrich WE (2002) Food webs in river networks. *Ecological Research* **17**, 451-471.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.
- Rodriguez-Iturbe I, Rinaldo A (1997) *Fractal river basins* Cambridge University Press.
- Rosso R, Bacchi B, La Barbera P (1991) Fractal relation of mainstream length to catchment area in river networks. *Water Resources Research* **27**, 381-387.
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F*-statistics under isolation by distance. *Genetics* **145**, 1219-1228.
- Schmidt SK, Hughes JM, Bunn SE (1995) Gene flow among conspecific populations of *Baetis* spp. (Ephemeroptera): adult flight and larval drift. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **14**, 147-157.

Strahler AN (1957) Quantitative analysis of watershed geomorphology. *EOS, Transactions AGU* **38**, 913-920.

Tarboton D, Bras R, Rodriguez-Iturbe I (1990) Comment on "on the fractal dimension of stream networks" by La Barbera and Rosso. *Water Resources Research* **26**, 2243-2244.

Acknowledgments

We thank Guillaume Chapron, Eric D'Arlhac and Charline Retore for their help. This study was supported by the Région Pays de la Loire. We are grateful to Alexandre Robert for providing helpful comments on the manuscript.

CHAPITRE VI

Conclusion générale et perspectives

L'objectif de ce travail était de déterminer l'influence de l'hétérogénéité de l'habitat et de la structure des réseaux hydrographiques sur les caractéristiques phénotypiques, les déplacements des individus et le flux de gènes de *Calopteryx splendens*. Il s'agit à notre connaissance de la première étude menée à l'échelle d'un bassin versant, sur des populations naturelles. En dépit de la complexité des interactions entre les multiples variables environnementales (caractéristiques physico-chimiques et biotiques de l'habitat) et les caractéristiques de l'espèce étudiée (biologie et génétique de l'espèce), il a été mis en évidence chez *Calopteryx splendens* sur le bassin moyen de la Loire :

- Une distribution discontinue sur les cours d'eau.
- Un cline morphologique entre l'amont et l'aval du bassin versant probablement en relation avec les variables environnementales, la température et le pH de l'eau influençant le développement des individus.
- L'absence d'une relation entre la taille des individus et les capacités de dispersion. La survie et la densité des individus sont certainement les facteurs déterminants de la dispersion, ce qui suggère un patron de variation discret et non continu de la dispersion sur le réseau hydrographique.
- L'existence d'un isolement par la distance et d'une forte structuration génétique à l'intérieur du bassin versant, mais l'absence d'entités génétiques clairement définies. Ce qui peut être expliqué par la présence de flux de gènes entre sous-bassins et une structure en métapopulation à l'échelle du réseau hydrographique.

Ce travail a également permis de développer le logiciel *Gene-Net*, simulant le flux de gènes sur des réseaux hydrographiques artificiels dont la taille et le nombre de ramifications peuvent varier à volonté.

Les principales perspectives que cette étude permettrait de formuler sont maintenant présentées.

Effets de la géométrie des réseaux hydrographiques et de l'hétérogénéité de l'habitat sur les organismes aquatiques

Simulations sur le bassin versant de la Loire

Des simulations démo-génétiques seront réalisées avec AQUASPLATCHE (Neuenschwanger, 2006), sur le bassin de la Loire, afin de :

- Comparer les résultats génétiques obtenus chez le *C. splendens* avec les sorties données par les simulations.
- Vérifier si les isolements par la distance en une et en deux dimensions peuvent être obtenus sur le bassin versant avec une dispersion uniquement le long des cours d'eau.
- Déterminer sous quelles conditions une structure génétique reflèterait la structure géométrique du réseau hydrographique (structure génétique en sous-bassins).
- Comparer les différentes histoires évolutives des marqueurs. AQUASPLATCHE autorise une approche multimarqueurs permettant de tester différentes histoires évolutives. Ainsi, des marqueurs avec des taux de mutations différents peuvent être générés et l'influence du bassin de la Loire sur les différents paramètres de génétique des populations peut être étudiée (diversité génétique, structure des populations, isolement par la distance, *etc.*).

Les simulations sur *Gene-Net* (réseaux hydrographiques artificiels) et AQUASPLATCHE (réseaux hydrographiques naturels : vectorisation du bassin versant de la Loire) permettront de tester l'effet de la géométrie du réseau sur la structure génétique des populations afin de vérifier les hypothèses soulevées dans la littérature :

- La diversité génétique diminuerait chez les populations isolées en amont parmi lesquelles un risque d'extinction plus important est attendu (Schmidt *et al.*, 1995; Hänfling *et al.*, 2006).

- La différenciation génétique serait plus importante entre les sous-bassins qu'au sein d'un même sous-bassin (Power *et al.*, 2002).

La géométrie des réseaux sera fonction des trois paramètres (R_L , R_C et n) décrits dans le chapitre précédent. Il est possible dès à présent de déterminer la variation de la structure génétique en fonction du nombre de ramification et de la taille du réseau hydrographique. De plus, il est possible d'observer les dynamiques de colonisation d'un bassin versant selon le nombre et la localisation des individus.

Gene-Net et *AQUASPLATCHE* sont, pour le moment, conçus pour des organismes inféodés au cours d'eau effectuant uniquement des déplacements longitudinaux. A terme, il serait intéressant de développer une méthode autorisant les individus à se déplacer entre les branches du réseau hydrographique pour se rapprocher des conditions de l'étude (p. ex. : flux de gènes le long et entre les cours d'eau).

La structure des réseaux hydrographiques, les régimes de perturbations (p. ex. : crues et étiages) et les caractéristiques biologiques du *Calopteryx splendens* (p. ex. : distribution discontinue des individus, capacités de dispersion limitées et tendance à la grégarité) sont favorables à une dynamique de type métapopulation chez cette espèce sur le bassin versant. Cependant, l'identification des populations sources et puits, ainsi que le sens du flux de gènes doivent être déterminés pour appuyer l'hypothèse de la structure en métapopulation chez *C. splendens*. *Gene-Net* et *AQUASPLATCHE* ne permettent pas d'étudier une dynamique de type métapopulation sur les réseaux hydrographiques. En effet, ces programmes simulent la colonisation des populations et non leur extinction via une variation stochastique des paramètres démographiques (capacité de milieu, K , variable). Afin de confirmer un fonctionnement en métapopulation sur le bassin de la Loire, en mettant en évidence des événements d'extinction locale, une analyse de goulet d'étranglement pourrait être réalisée sur des marqueurs microsatellites. L'équipe d'Erik Svensson, à l'Université de Lund (Suède), est actuellement en train de développer des marqueurs microsatellites chez *C. splendens* qui permettront de faire ces analyses.

Effet de l'hétérogénéité de l'habitat

Si la température et le pH de l'eau influencent le développement des larves et par conséquent la taille des adultes, il semblerait que les caractéristiques de la berge et plus

particulièrement la ripisylve n'affectent pas la distribution ni le développement des individus étant donné que les adultes aériens ne sont pas limités dans leurs déplacements. Cependant, d'après nos observations lors de l'étude sur la distribution de *C. splendens*, des boisements denses sur les cours d'eau seraient défavorables à la présence de l'espèce. Tous les facteurs environnementaux ne sont pas maîtrisés dans ce travail de thèse. C'est le cas notamment des facteurs biotiques, tels que la densité de proies ou de prédateurs, qui sont susceptibles de faire varier la distribution et l'abondance des individus sur le cours d'eau (voir Chapitre I). Il était impossible, lors de l'étude de l'influence des gradients environnementaux sur la taille des individus, de quantifier la densité de proies et de prédateurs sur les 33 sites du bassin de la Loire. En effet, nous avons une contrainte de temps étant donné que les individus émergeant en juin sont plus grands que ceux émergeant en août (Atkinson, 1994).

Suite à l'étude sur la structure génétique de *C. splendens* sur le bassin versant de la Loire (Chapitre IV), nous avons tenté d'étudier les discontinuités génétiques en relation avec le paysage grâce au logiciel BARRIER (Manni *et al.*, 2004). Cependant, l'interprétation des résultats aurait été spéculative, car les 5 barrières significatives, données par le programme, ne pouvaient être associées à des caractéristiques géographiques (Fig. 1). De plus, des précautions doivent être prises avec ce logiciel dans la mesure où la sélection du nombre de barrières à tester relève du choix de l'utilisateur et non d'un test statistique. Nous avons également utilisé WOMBSOFT (Crida *et al.*, 2007), mais les données n'étaient pas adaptées au logiciel qui n'a pas pu réaliser les calculs. Il semble que ces méthodes d'analyses utilisant des outils géométriques ne soient pas adaptées à la distribution dichotomique et discrète des individus sur un bassin versant, mais à un échantillonnage continu sur un linéaire, comme c'est le cas pour l'étude sur la structure génétique chez la perche jaune, *Perca flavescence*, sur le fleuve Saint-Laurent (Leclerc *et al.*, 2008). Enfin, chez *C. splendens*, les déplacements des adultes aériens ne sont probablement pas limités par des barrières géographiques empêchant ainsi la détection de discontinuités génétiques sur le bassin versant. Toutefois, il reste à évaluer la fréquence des déplacements hors du réseau hydrographique.

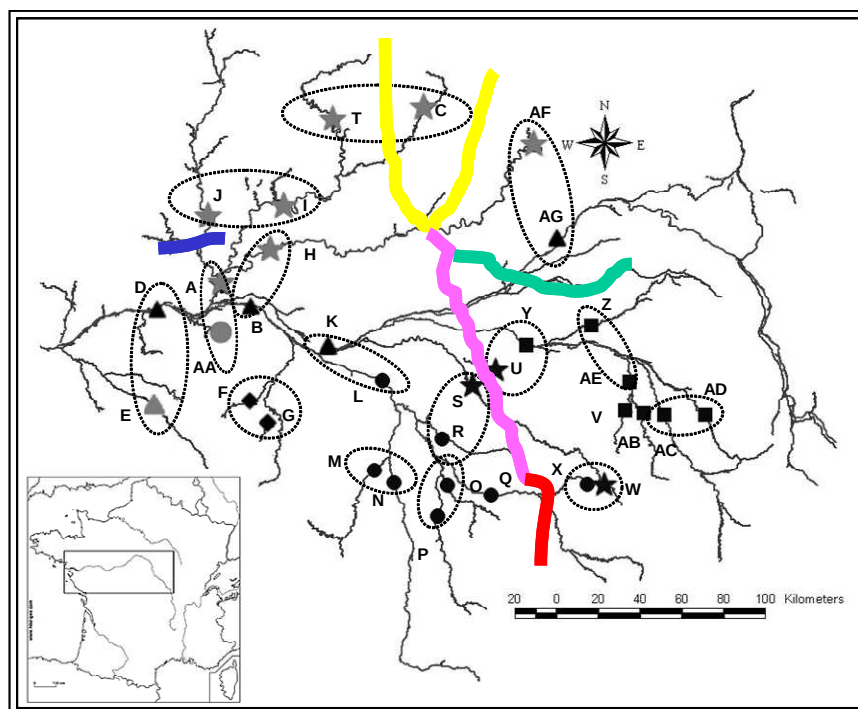


Fig . 1. Localisation des 5 barrières génétiques (en couleur) calculées à partir du logiciel **BARRIER basé sur l'algorithme de maximum de différences de Monmonier.**

D'autres modules devraient être développés afin de pouvoir simuler les différents types de dispersion (en une ou deux dimensions) ainsi que les barrières à la dispersion sur les réseaux hydrographiques. Par exemple, la dispersion le long des cours d'eau présenterait un coefficient de friction plus faible par rapport à la dispersion entre les cours d'eau, pour les organismes inféodés au cours d'eau. De plus, ces coefficients pourraient varier selon la densité de milieux temporaires d'accueil (reproduction ou étape) entre les cours d'eau, qui faciliteraient les déplacements transversaux. L'approche développée dans le logiciel **SPLATCHE** (Currat & Ray, 2004) prend en compte des coefficients de friction lors des simulation de la migration, cependant il s'agit de dispersion dans des milieux non vectorisés (model de pas japonais en deux dimensions), contrairement aux réseaux hydrographiques. La dispersion sur **AQUASPLATCHE** a lieu dans des milieux vectorisés, mais le logiciel n'intègre pas de coefficient de friction entre les cours d'eau étant donné que la dispersion a lieu uniquement le long des cours d'eau.

L'importance des déplacements entre les cours d'eau par les adultes aériens sera quantifiée à l'aide une étude de capture-marquage-recapture, en émettant l'hypothèse

suivante : plus les réseaux hydrographiques sont ramifiés et plus les possibilités d'échanges entre les cours d'eau augmenteraient.

Analyses en cours des questions parallèles aux résultats de thèse :

Traitement des données génétiques par sexe, mise en évidence d'une potentielle dispersion biaisée en faveur des femelles

Chez les mammifères, le sexe qui disperse serait le sexe dont le temps de maturation est le plus long (Johnson, 1986). Cette théorie pourrait s'appliquer aux demoiselles. En effet, les femelles demoiselles ont une période de maturation plus longue durant laquelle elles évitent les cours d'eau (Corbet, 1999). De plus, les femelles sont souvent à l'écart des cours d'eau pour se nourrir et éviter d'être harcelées par les mâles, alors que les mâles ont tendance à rester au bord de l'eau pour défendre leur territoire. Les femelles ont donc plus de chances de trouver sur un site de ponte favorable différent de celui où elles ont émergé (Conrad *et al.*, 2002; Beirinckx *et al.*, 2006). L'hypothèse que les femelles soient susceptibles de plus se déplacer que les mâles a déjà été émise chez plusieurs espèces de demoiselles (Conrad *et al.*, 1999). Chez *C. splendens* la dispersion aurait dû être biaisée en faveur des femelles, or l'étude de capture-marquage-recapture a seulement montré une tendance des femelles à couvrir une plus grande distance. Si les femelles contribuent plus au flux de gènes, un IBD sur une plus grande distance devrait être observé chez les femelles par rapport à celui des mâles. Cependant, on peut considérer les AFLP comme étant principalement des marqueurs nucléaires donc à hérédité biparentale. Par conséquent, en dépit d'une dispersion biaisée en faveur des femelles, les analyses par sexe peuvent ne pas montrer de différences de structures génétiques entre les sexes.

Un isolement par la distance a été mis en évidence le long des cours d'eau et suivant la distance Euclidienne, représentant généralement la distance entre les cours d'eau. Les analyses génétiques ont été réalisées pour les 33 sites sur le bassin de la Loire et pour les deux sexes confondus. Les mêmes analyses des données génétiques précédemment menées (estimations des F_{ST} , détermination des K populations et test d'un IBD) seront réalisées par

sexe, afin de vérifier si les résultats sont similaires à ceux obtenus pour les deux sexes confondus.

L'analyse de marqueurs mitochondriaux, à hérédité supposée maternelle, permettrait de vérifier cette hypothèse. Mais, la comparaison de structures génétiques entre marqueurs différents doit être faite avec précaution.

Etudes des marqueurs potentiellement sous sélection

Suite à l'analyse des marqueurs AFLP avec DFDIST, 18 locus « outliers » sur 87 ont été détectés. Par conséquent, ces locus sont potentiellement sous sélection naturelle. Afin de tester si ces « outliers » sont associés aux variables environnementales, des régressions logistiques multiples pourraient être réalisées entre les fréquences alléliques par locus « sous sélection » et les paramètres environnementaux (Joost *et al.*, 2007). Les variables environnementales utilisées seraient celles du Chapitre II : les caractéristiques de la berge (la couverture végétale et la pente de la berge) et les caractéristiques du cours d'eau (l'ordre du cours d'eau, le type de substrat, la concentration en nitrate, la température et le pH de l'eau).

Cependant, il faut que le modèle logistique tienne compte de la position géographique des individus, car certaines variables physico-chimiques varient graduellement entre l'amont et l'aval tout comme l'isolement par la distance. La distance agit donc comme une covariable. Une solution alternative serait de comparer moins de sites dont les paramètres environnementaux sont plus contrastés au lieu d'analyser les 33 sites sur la totalité du bassin versant.

Taille des individus et période d'émergence, existe-t-il un effet cohorte ?

Chez de nombreuses familles d'insectes, la taille des adultes dépend de la période d'émergence (Atkinson, 1994). Généralement, plus les individus émergent tardivement dans la saison de reproduction plus la taille des adultes diminue (Atkinson, 1994). C'est notamment le cas des odonates (Corbet, 1999). Chez les insectes aquatiques, ce phénomène peut s'expliquer par l'exposition des derniers stades larvaires à des températures plus élevées engendrant un coût métabolique et par conséquent une taille plus petite à l'émergence

(Sweeney & Vannote, 1987). Le facteur temps (date de capture) a été pris en considération lors de notre étude sur les analyses morphologiques chez *Calopteryx splendens*.

Suite à la session de capture en juin 2004 lors de l'étude sur les variations morphologiques, les 33 sites en août 2004 ont été revisités et 30 individus par site ont été échantillonnés lorsque les demoiselles étaient présentes. Sur les 33 sites, seulement 6 comportaient des individus. La taille des individus a été comparée entre les deux sessions de captures (juin et août) pour les 6 sites. La taille des individus capturés en août était significativement plus petite que la taille des individus capturés en juillet, pour les mâles et pour les femelles (Tableau 1 et Fig. 2).

Tableau 1. Effets du site et de la session de capture sur la taille des individus (résultats de l'ANOVA pour chaque sexe).

	SC	DDL	MC	F	P
mâles					
site	15.0072	5	3.001	4.939	0.0003
session	44.5757	1	44.576	73.354	0.0000
interaction	18.1502	5	3.630	5.974	0.0000
erreur	128.8271	212	0.608		
femelles					
site	5.93211	5	1.186	1.709	0.1372
session	15.55157	1	15.552	22.402	0.0000
interaction	7.38793	5	1.478	2.128	0.0662
erreur	88.16486	127	0.694		

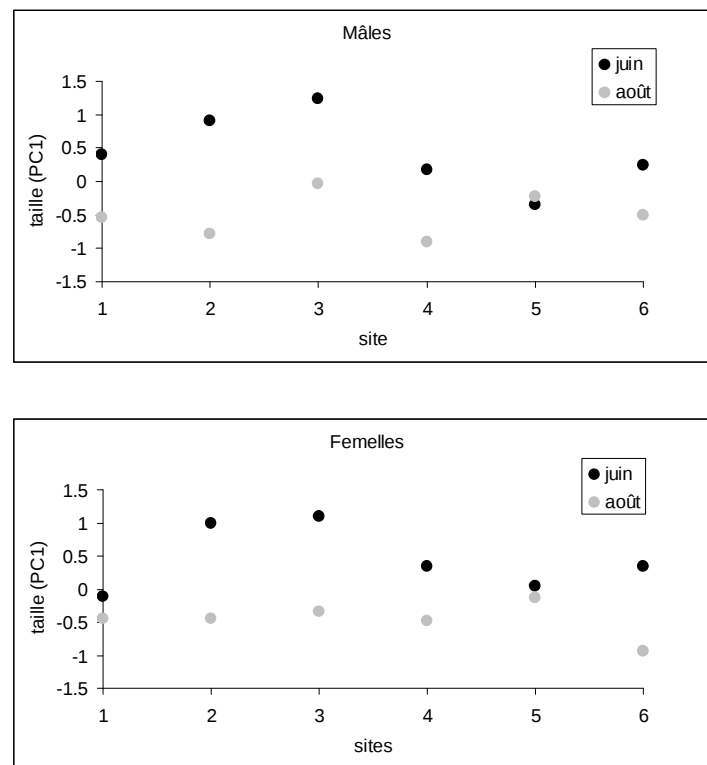


Fig. 2. Taille des mâles (en haut) et des femelles (en bas) par site et par session (juin en noir et août en gris).

En août, la plupart des sites sont dépourvus d'individus, diminuant les chances de trouver des partenaires pour la reproduction sur les sites voisins. Par conséquent, il serait intéressant d'analyser la structure génétique des individus échantillonnés pour ces 6 sites en juin et août et de comparer cette structure génétique à celle obtenue pour les 33 sites. En supposant que le temps de développement reste constant, c'est-à-dire que les individus émergent à la même période d'une génération à l'autre, une structuration génétique plus forte est attendue sur ces 6 sites au mois d'août.

BIBLIOGRAPHIE (hors références citées dans les articles)

- Aguilar, J. & Dommanget, J.L. (1998) *Guide des libellules d'Europe et d'Afrique du nord*, 2nd edn. Delachaux et Niestlé, Lausanne-Paris
- Amoros, C. & Petts, G.E. (1993) *Hydrosystèmes fluviaux* MASSON Ed, Paris.
- Ananthakrishnan, T.N. & Whitman, D. (2005) *Insect phenotypic plasticity, diversity of responses*.
- Angelibert, S. & Giani, N. (2003) Dispersal characteristics of three odonate species in a patchy habitat. *Ecography*, **26**, 13-20.
- Angilletta, M.J., Wilson, R.S., Navas, C.A., & James, R.S. (2003) Tradeoffs and the evolution of thermal reaction norms. *Trends in Ecology and Evolution*, **18**, 234-240.
- Anholt, B.R. (1991) Measuring selection on a population of damselflies with a manipulated phenotype. *Evolution*, **45**, 1091-1106.
- Anholt, B.R. (1995) Density dependence resolves the stream drift paradox. *Ecology*, **76**, 2235-2239.
- Atkinson, D. (1994) Temperature and organism size: a biological law for ectotherms? *Advances in Ecological Research*, **25**, 1-54.
- Avice, J.C. (2000) *Phylogeography: the history and formation of species* Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Ball, S.L. & Baker, R.L. (1996) Predator-induced life history changes: antipredator behaviour costs or facultative life history shifts? *Ecology*, **77**.
- Barrat-Segretain, M.H. & Amoros, C. (1996) Recovery of riverine vegetation after experimental disturbance: a field test of the patch dynamics concept. *Hydrobiologia*, **321**, 53-68.
- Beck, M.L. & Pruett-Jones, S. (2002) Fluctuating asymmetry, sexual selection, and survivorship in male dark-winged damselflies. *Ethology*, **108**, 779-791.
- Beirinckx, K., Van Gossum, H., J. Lajeunesse, M., & R. Forbes, M. (2006) Sex biases in dispersal and philopatry: Insights from a meta-analysis based on capture-mark-recapture studies of damselflies. *Oikos*, **113**, 539-547.
- Belliard, J., Boët, P., & Tales, E. (1997) Regional and longitudinal patterns of fish community structure in the Seine River basin, France. *Environmental Biology of Fishes*, **50**, 133-147.

- Benda, L., Poff, L.N., Miller, D., Dunne, T., Reeves, G., Pess, G., & Pollock, M. (2004) The network dynamics hypothesis: how channel networks structure riverine habitats. *BioScience*, **54**, 413-427.
- Bensch, S. & Akesson, M. (2005) Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals? *Molecular Ecology*, **14**, 2899-2914.
- Berwaerts, K., Van Dyck, H., & Aerts, P. (2002) Does flight morphology relate to flight performance? An experimental test with the butterfly *Pararge aegeria*. *Functional Ecology*, **16**, 484-491.
- Beukema, J.J. (2002a) Changing distribution patterns along a stream in adults of *Calopteryx haemorrhoidalis* (Odonata: Calopterygidae): a case of larval-drift compensation? *Odonatologica*, **5**, 1-14.
- Beukema, J.J. (2002b) Survival rates, site fidelity and homing ability in territorial *Calopteryx haemorrhoidalis* (Vander Linden) (Zygoptera: Calopterygidae). *Odonatologica*, **31**, 9-22.
- Bilton, D.T., Freeland, J.R., & Okamura, B. (2001) Dispersal in freshwater invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **32**, 159-181.
- Blackwell, P.G. (1997) Random diffusion models for animal movement. *Ecological Modelling*, **100**, 87-102.
- Bohonak, A.J. & Jenkins, D.G. (2003) Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecology letters*, **6**, 783-796.
- Bond, N.R., Perry, G.L.W., & Downes, B.J. (2000) Dispersal of organisms in a patchy stream environment under different settlement scenarios. *Journal of Animal Ecology*, **69**, 608-619.
- Bonin, A., Ehrich, D., & Manel, S. (2007) Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. *Molecular Ecology*, **16**, 3737-3758.
- Brunke, M. & Gonser, T. (1998) The ecological significance of exchange processes between rivers and groundwater. *Freshwater Biology*, **37**, 1-33.
- Campbell Grant, E.H., Lowe, W.H., & Fagan, W.F. (2007) Living in the branches: population dynamics and ecological processes in dendritic networks. *Ecology letters*, **10**, 165-175.

- Caudill, C.C. (2003) Measuring dispersal in a metapopulation using stable isotope enrichment: high rates of sex-biased dispersal between patches in a mayfly metapopulation. *Oikos*, **101**, 624-630.
- Ceddia, M.G., Bartlett, M., & Perrings, C. (2007) Landscape gene flow, coexistence and threshold effect: The case of genetically modified herbicide tolerant oilseed rape (*Brassica napus*). *Ecological Modelling*, **205**, 169-180.
- Charles, S., Bravo de la Parra, R., Mallet, J.P., Persat, H., & Auger, P. (1998) Population dynamics modelling in an hierarchical arborescent river network: an attempt with *Salmo trutta*. *Acta Biotheoretica*, **46**, 223-234.
- Charles, S., Bravo de la Parra, R., Mallet, J.P., Persat, H., & Auger, P. (2000) Annual spawning migrations in modelling brown trout population dynamics inside an arborescent river network. *Ecological Modelling*, **133**, 15-31.
- Clarke, B. (1996) Clines in the genetic distance between two species of island land snails: How 'molecular leakage' can mislead us about speciation *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **351**, 773-784.
- Conrad, K.F., Willson, K.H., Harvey, I.F., Thomas, C.J., & Sherratt, T.N. (1999) Dispersal characteristics of seven odonate species in an agricultural landscape. *Ecography*, **22**, 524-531.
- Conrad, K.F., Willson, K.H., Whitfield, K., Harvey, I.F., Thomas, C.J., & Sherratt, T.N. (2002) Characteristics of dispersing *Ischnura elegans* and *Coenagrion puella* (Odonata): age, sex, size, morph and ectoparasitism. *Ecography*, **25**, 439-445.
- Cook, B., Hughes, J.M., & Bunn, S.E. (2002) Population structure of the freshwater prawn *Macrobrachium australiense* in drainages of western Queensland. Australia. *Freshwater Biology*, **12**, 2098-2112.
- Corander, J. & Martinen, P. (2006) Bayesian identification of admixture events using multilocus molecular markers. *Molecular Ecology*, **15**, 2833-2843.
- Corbet, P.S. (1999) *Dragonflies - Behavior and ecology of odonata*, Cornell University Press edn., Ithaca, NY, U.S.A.
- Cordero, A. & Andrés, J.A. (2002) Male coercion and convenience polyandry in a calopterygid damselfly. *Journal of Insect Science*, **2**.
- Cornell, H.V. (1978) Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science*, **199**, 1302-1310.

- Crida, A. & Manel, S. (2007) wombsoft: an r package that implements the Wombling method to identify genetic boundary. *Molecular Ecology Notes*, **7**, 588-591.
- Cuddington, K.M. & Yodzis, P. (2002) Predator-prey dynamics and movement in fractal environments. *American Naturalist*, **160**, 119-134.
- Curat, M. & Ray, N. (2004) SPLATCHE: a program to simulate genetic diversity taking into account environmental heterogeneity. *Molecular Ecology Notes*, **4**, 139-142.
- Demars, B.O.L. & Harper, D.M. (2005) Distribution of aquatic vascular plants in lowland rivers: separating the effects of local environmental conditions, longitudinal connectivity and river basin isolation. *Freshwater Biology*, **50**, 418-437.
- den Boer, P.J. (1970) On the significance of dispersal power for populations of carabid beetles. *Oecologia*, **4**, 1-28.
- DeWoody, J., Nason, J.D., & Smith, M. (2004) Inferring demographic processes from the genetic structure of a metapopulation of *Boltonia decurrens* (Asteraceae). *Conservation Genetics*, **5**, 603-617.
- Dunning, J.B., Stewart, D.J., Danielson, B.J., Noon, B.R., Root, T.L., Lamberson, R.H., & Stevens, E.E. (1995) Spatially explicit population models: current forms and future uses. *Ecological Applications*, **5**, 3-11.
- Endler, J.A. (1973) Gene flow and population differentiation. *Science*, **179**, 243-250.
- Endler, J.A. (1986) *Natural selection in the wild* Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Fagan, W.F. (2002) Connectivity, fragmentation, and extinction risk in dendritic metapopulations. *Ecology*, **83**, 3243-3249.
- Fernando, C.H. (1958) The colonization of small freshwaters habitats by aquatic insects. 1. General discussion, methods and colonization in aquatic Coleoptera. *Ceylon journal of science*, **1**, 117-154.
- Finn, D.S., Theobald, D.M., Black, W.C., & Poff, L.N. (2006) Spatial population genetic structure and limited dispersal in a Rocky Mountain alpine stream insect. *Molecular Ecology*, **15**, 3553-3566.
- Foll, M. & Gaggiotti, O. (2006) Identifying the environmental factors that determine the genetic structure of populations. *Genetics*, **174**, 875-891.
- Franken, R.J.M., Storey, R.G., & Williams, D.D. (2001) Biological, chemical and physical characteristics of downweelling and upwelling zones in the hyporheic zone of a north-temperate stream. *Hydrobiologia*, **444**, 183-195.

- Frankham, R., Ballou, J.D., & Briscoe, D.A. (2002) *Introduction to conservation genetics* Cambridge University Press, Cambridge.
- Fraser, D.J., Lippe, C., & Bernatchez, L. (2004) Consequences of unequal population size, asymmetric gene flow and sex-biased dispersal on population structure in brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *Molecular Ecology*, **13**, 67-80.
- French, T. & Chambers, P. (1996) Habitat partitioning in riverine macrophyte communities. *Freshwater Biology*, **36**.
- Ganio, L.M., Torgerser, C.E., & Gresswell, R.E. (2005) A geostatistical approach for describing pattern in stream networks. *Front. Ecol. Environ.*, **3**, 138-144.
- Gardner, B., Sullivan, P.J., & Lembo, A.J. (2003) Predicting stream temperatures: geostatistical model comparison using alternative distance metrics *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **60**, 344-351.
- Gardner, R.H. & Gustafson, E.J. (2004) Simulating dispersal of reintroduced species within heterogeneous landscapes. *Ecological Modelling*, **171**, 339-358.
- Garoia, F., Guarniero, I., Grifoni, D., Marzola, S., & Tinti, F. (2007) Comparative analysis of AFLPs and SSRs efficiency population genetic structure of Mediterranean *Solea vulgaris*. *Molecular Ecology*, **16**, 1377-1387.
- Gomi, T., Sidle, R.C., & Richardson, J.S. (2002) Understanding processes and downstream linkages of headwater streams. *BioScience*, **52**.
- Grand, D. & Boudot, J.P. (2006) *Les libellules de France, Belgique et Luxembourg* Biotope, Mèze, (Collection Parthénopé).
- Grandjean, F., Souty-Grosset, C., Raimond, R., & Holdich, D.M. (1997) Geographical variation of mitochondrial DNA between populations of the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes*. *Freshwater Biology*, **37**, 493-501.
- Gregory, J.S., Beesley, S.S., & Van Kirk, R.W. (2000) Effect of springtime water temperature on the time of emergence and size of *Pteronarcys californica* in the Henry's Fork catchment, Idaho, USA. . *Freshwater Biology*, **45**, 75-83.
- Grenouiller, G., Pont, D., & Hérissé, C. (2004) Within-basin fish assemblage structure: the relative influence of habitat versus stream spatial position on local species richness. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **61**.
- Grimm, V. & Railsback, S.F. (2005) *Individual-based Modeling and Ecology* Princeton University Press, Princeton, NJ.

- Guillot, G., Estoup, A., Mortier, F., & Cosson, J.F. (2005) A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*, **170**, 1261-1280.
- Haddad, N.M. (1999) Corridor use predicted from behaviors at habitat boundaries. *American Naturalist*, **153**, 215-227.
- Hänfling, B. & Weetman, D. (2006) Concordant genetic estimators of migration reveal anthropogenically enhanced source-sink population structure in the river sculpin, *Cottus gobio*. *Genetics*, **173**, 1487-1501.
- Hansen, M.M., Skaala, O., Jensen, L.F., Bekkevold, D., & Mensberg, K.L.D. (2007) Gene flow, effective population size and selection at major histocompatibility complex genes: brown trout in the Hardanger Flord, Norway. *Molecular Ecology*, **16**, 1413-1425.
- Hardy, O.J. & Vekemans, X. (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, **2**, 618-620.
- Hardy, O.J. (2003) Estimation of pairwise relatedness between individuals and characterization of isolation-by-distance processes using dominant genetic markers. *Molecular Ecology*, **12**, 1577-1588.
- Harrison, R.G. (1980) Dispersal polymorphisms in insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11**, 95-118.
- Hawkins, C.P., Hogue, J.N., Decker, L.M., & Feminella, J.W. (1997) Channel morphology, water temperature, and assemblage structure of stream insects. *Journal of the North American Benthological Society*, **16**, 728-749.
- Hedrick, P.H. (2005) *Genetics of populations. 3rd Ed.* Jones & Bartlett publishers, Boston, USA.
- Henderson, P.A. (2003) *Practical Methods in ecology* Blackwell publishing.
- Hentschel, B.T. (1999) Complex life cycles in a variable environment: predicting when the timing of metamorphosis shifts from resource dependent to developmentally fixed. *American Naturalist*, **154**, 549-558.
- Hernandez-Martich, J.D., Novak, J.D., Smith, J.M., & Johns, P.E. (1995) Genetic structure of mosquitofish populations in the Altamaha and Ogeechee drainages of Georgia: reporting an undescribed form in the Ocmulgee river. *Biochem Syst Ecol*, **23**, 617-625.

- Horton, R.E. (1945) Erosional development of streams and their drainage basins, hydrographical approach to quantitative morphology. *Geological Society of America Bulletin*, **56**, 275-370.
- Hughes, F.M.R. & Rood, S.B. (2003) Allocation of River Flows for Restoration of Floodplain Forest Ecosystems: A Review of Approaches and Their Applicability in Europe. *Environmental Management*, **32**, 12-33.
- Hurwood, D.A. & Hughes, J.M. (1998) Phylogeography of the freshwater fish, *Mogurnda adspersa*, in streams of north-eastern Queensland, Australia: evidence for altered drainage patterns. *Molecular Ecology*, **7**, 1507-1517.
- Hurwood, D.A. & Hughes, J.M. (2001) Nested clade analysis of the freshwater shrimp, *Caridina zebra* (Decapoda: Atyidae), from north-eastern Australia. *Molecular Ecology*, **10**, 113-126.
- Ivol, J.M., Guinand, B., Richoux, P., & Tachet, H. (1997) Longitudinal changes in Trichoptera and Coleoptera assemblages and environmental conditions in the Loire River (France). *Archive für Hydrobiologie*, **138**, 525-557.
- Jackson, J.K., McElravy, E.P., & Resh, V.H. (1999) Long-term movements of self-marked caddisfly larvae (Trichoptera: Sericostomatidae) in a California coastal mountain stream. *Freshwater Biology*, **42**, 525-536.
- Jacquemyn, H., Honnay, O., Van Looy, K., & Breyne, P. (2006) Spatiotemporal structure of genetic variation of a spreading plant metapopulation on dynamic riverbanks along the Meuse River *Heredity*, **96**, 471-478.
- Johnson, A.R., Hatfield, C.A., & Bruce, T.M. (1995) Simulated diffusion dynamics in river networks. *Ecological Modelling*, **83**, 311-325.
- Johnson, C.N. (1986) Sex-biased philopatry and dispersal in mammals. *Oecologia*, **69**, 626-627.
- Jonsen, I. & Taylor, P.D. (2000) Calopteryx Damselfly Dispersions Arising from Multiscale Responses to Landscape Structure. *Conservation Ecology*, **4**.
- Joost, S., Bonin, A., Bruford, M.W., Després, L., Conord, C., Erhardt, G., & Taberlet, P. (2007) A spatial analysis method (SAM) to detect candidate loci for selection: towards a landscape genomics approach to adaptation. *Molecular Ecology*, **16**, 3955-3969.
- Jump, A.S. & Penuelas, J. (2007) Extensive spatial genetic structure revealed by AFLP but not SSR molecular markers in the wind-pollinated tree, *Fagus sylvatica*. *Molecular Ecology*, **16**, 925-936.

- Kimura, M. & Weiss, G.H. (1964) The stepping-stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics*, **49**, 561-576.
- Kirkton, S.D. & Schultz, T.D. (2001) Age-specific behavior and habitat selection of adult male damselflies, *Calopteryx maculata* (Odonata: Calopterygidae). *Journal of Insect Behaviour*, **14**, 545-556.
- Kitamoto, N., Honjo, M., Ueno, S., Takenaka, A., Tsumura, Y., Washitani, I., & Ohsawa, R. (2005) Spatial genetic structure among and within populations of *Primula sieboldii* growing beside separate streams. *Molecular Ecology*, **14**, 149-157.
- Kopp, M., Jeschke, J.M., & Gabriel, W. (2001) Exact compensation of stream drift as an evolutionary stable strategy. *Oikos*, **92**, 522-530.
- Kovats, Z.E., Ciborowski, J.H., & Corkum, L.D. (1996) Inland dispersal of adult aquatic insects. *Freshwater Biology*, **36**, 265-276.
- Kudoh, H. & Whigham, D.F. (2001) A genetic analysis of hydrologically dispersed seeds of *Hibiscus moscheutos* (Malvaceae). *American Journal of Botany*, **88**, 588-593.
- La Barbera, P. & Rosso, R. (1989) On the fractal dimension of stream networks. *Water Resources Research*, **25**, 735-741.
- Lasne, E., Lek, S., & Lafaille, P. (2007) Patterns in fish assemblages in the Loire floodplain: The role of hydrological connectivity and implications for conservation. *Biological Conservation*, **139**, 258-268.
- Leclerc, E., Mailhot, Y., Mingelbrier, M., & Bernatchez, L. (2008) The landscape genetics of yellow perch (*Perca flavescens*) in a large fluvial ecosystem. *Molecular Ecology*, **17**, 1702-1717.
- Lefèvre, F., Légionnet, A., De Vries, S., & Turok, J. (1998) Strategies for the conservation of a pioneer tree species, *Populus nigra* L., in Europe. *Genetics Selection Evolution*, **30**, S181-S196.
- Little, L.S., Edwards, D., & Porter, D.E. (1997) Kriging in estuaries: as the crow flies, or as the fish swims? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **213**, 1-11.
- Lowe, W.H. (2002) Landscape-scale spatial population dynamics in human-impacted stream systems. *Environmental Management*, **30**, 225-233.
- Lowe, W.H., Likens, G.E., & Power, M.E. (2006) Linking scales in stream ecology. *BioScience*, **56**, 591-597.
- Mackay, R.J. (1992) Colonisation by lotic macroinvertebrates: a review of process and patterns. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **49**, 617-628.

- Macneale, K.H., Peckarsky, B.L., & Likens, G.E. (2004) Contradictory results from different methods for measuring direction of insect flight. *Freshwater Biology*, **49**, 1260-1268.
- Macneale, K.H., Peckarsky, B.L., & Likens, G.E. (2005) Stable isotopes identify dispersal patterns of stonefly populations living along stream corridors. *Freshwater Biology*, **50**, 1117-1130.
- Malmqvist, B. (2000) How does wing length relate to distribution patterns of stoneflies (Plecoptera) and mayflies (Ephemeroptera)? *Biological Conservation*, **93**, 271-276.
- Malmqvist, B. (2002) Aquatic invertebrates in riverine landscapes. *Freshwater Biology*, **47**, 679-694.
- Mandelbrot, B. (1982) *The fractal geometry of nature* W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., & Taberlet, P. (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *TREE*, **18**, 189-197.
- Manni, F., Guerard, E., & Heyer, E. (2004) Geographic patterns of genetic, morphologic and linguistic variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology*, **76**, 173-190.
- Marden, J.H. (1989) Bodybuilding dragonflies: costs and benefits of maximizing flight muscle. *Physiological Zoology*, **62**, 505-521.
- McGlashan, D.J. & Hughes, J.M. (2000) Reconciling patterns of genetic variation with stream structure, earth history and biology of the Australian freshwater fish *Craterocephalus stercusmuscarum* (Atherinidae). *Molecular Ecology*, **9**, 1737-1751.
- McGlashan, D.J., Hugues, J.M., & Bunn, S.E. (2001) Within-drainage population genetic structure of the freshwater fish *Pseudomugil signifer* (Pseudomugilidae) in northern Australia. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **58**, 1842-1852.
- Meffe, G.K. & Vrijenhoek, R.C. (1988) Conservation genetics in the management of desert fishes. *Conservation Biology*, **2**, 157-169.
- Miller, M.P., Blinn, D.W., & Keim, P. (2002) Correlation between observed dispersal capabilities and patterns of genetic differentiation in populations of four aquatic insect species from the Arizona White Mountains, USA. *Freshwater Biology*, **47**, 1660-1673.
- Moatar, F. & Maybeck, M. (2005) Compared performances of different algorithms for estimating annual loads discharges by the eutrophic river Loire. *Hydrological Processes*, **19**, 429-444.
- Monmonier, M. (1973) Maximum-difference barriers: an alternative numerical regionalization method. *Geographical Analysis*, **3**, 245-261.

- Murphy, K.J., Dickenson, G., Thomaz, S.M., Bini, L.M., Dick, K., Greaves, K., Kennedy, M.P., Livingstone, S., McFerran, H., Milne, J.M., Oldroyd, J., & Wingfield, R.A. (2003) Aquatic plant communities and predictors of diversity in a sub-tropical river floodplain: the upper Rio Parana, Brazil. *Aquatic botany*, **77**, 257-276.
- Naiman, R.J. & Décamps, H. (1997) The ecology of interfaces: riparian zones. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **28**, 621-658.
- Neuenschwanger, S. (2006) AQUASPLATCHE: a program to simulate genetic diversity in populations living in linear habitats. *Molecular Ecology Notes*, **6**, 583-585.
- Neville, H.M., Dunham, J.B., & Peacock, M.M. (2006) Landscape attributes and life history variability shape genetic structure of trout populations in a stream network. *Landscape Ecology*, **21**, 901-916.
- Nilsson, C., Grelsson, G., Johansson, M., & Sperens, U. (1989) Patterns of plant species richness along riverbanks. *Ecology*, **70**, 77-84.
- Nilsson, C. & Jansson, R. (1995) Floristic differences between riparian corridors of regulated and free-flowing boreal rivers. *Regulated Rivers: Research and Management*, **11**.
- Nuismer, S.L., Thompson, J.N., & Gomulkiewicz, R. (2003) Coevolution between hosts and parasites with partially overlapping geographic ranges. *Journal of Evolutionary Biology*, **16**, 1337-1345.
- Oberdorff, T., Pont, D., Hugueny, B., & Chessel, D. (2001) A probabilistic model characterizing riverine fish communities of French rivers: a framework for environmental assessment. *Freshwater Biology*, **46**, 399-415.
- Peckarsky, B.L. & Cowan, C.A. (1991) Consequences of larval intraspecific competition to stonefly growth and fecundity. *Oecologia*, **88**, 277-288.
- Peckarsky, B.L., Taylor, B.W., & Caudill, C.C. (2000) Hydrologic and behavioural constraints on oviposition of stream insects: implications for adult dispersal. *Oecologia*, **125**, 186-200.
- Peckarsky, B.L., Hughes, J.M., Mather, P.B., Hillyer, M., & Encalada, A.C. (2005) Are populations of mayflies living in adjacent fish and fishless streams genetically differentiated? *Freshwater Biology*, **50**, 42-51.
- Perry, S.A., Perry, W.B., & Stanford, J.A. (1987) Effects of thermal regime on size, growth rates and emergence of two species of stoneflies (Plecoptera: Taeniopterygidae, Pteronarcyidae) in the Flathead River, Montana. *The American Midland Naturalist*, **117**, 83-93.

- Petersen, I., Masters, Z., Hildrew, A.G., & Ormerod, S.J. (2004) Dispersal of adult aquatic insects in catchments of differing land use. *Journal of Applied Ecology*, **41**, 934-950.
- Petit, E., Balloux, F., & Goudet, J. (2001) Sex-biased dispersal in a migratory bat: a characterization using sex-specific demographic parameters. *Evolution*, **55**, 635-640.
- Picard, V. & Lair, N. (2005) Spatio-temporal investigations on the planktonic organisms of the Middle Loire (France), during the low water period: biodiversity and community dynamics. *Hydrobiologia*, **551**, 69-86.
- Piertney, S.B., MacColl, A.D.C., Bacon, P.J., & Dallas, J.F. (1998) Local genetic structure in red grouse (*Lagopus lagopus scoticus*): Evidence from microsatellite DNA markers. *Molecular Ecology*, **7**, 1645-1654.
- Power, M.E. & Dietrich, W.E. (2002) Food webs in river networks. *Ecological Research*, **17**, 451-471.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945-959.
- Purse, B.V., Graham, W.H., Kieron, J.D., & Thompson, D.J. (2003) Dispersal characteristics and management of a rare damselfly. *Journal of Applied Ecology*, **40**, 716-728.
- Railsback, S.F., Lamberson, R.H., Harvey, B.C., & Duffy, W.E. (1999) Movement rules for individual-based models of stream fish. *Ecological Modelling*, **123**, 73-89.
- Raymond, M. & Rousset, F. (1995) Genpop (Version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**, 248-249.
- Renöfält, B.M., Nilsson, C., & Jansson, R. (2005) Spatial and temporal patterns of species richness in a riparian landscape. *Journal of Biogeography*, **32**, 2025-2037.
- Riis, T., Sand-Jensen, K., & Vestergaard, O. (2000) Plant communities in lowland streams: species composition and environmental factors. *Aquatic botany*, **66**.
- Riis, T. & Biggs, B.J.F. (2003) Hydrologic and hydraulic control of macrophyte establishment and performance in streams. *Limnology and Oceanography*, **48**, 1488-1497.
- Rissler, L.J., Wilbur, H.M., & Taylor, D.R. (2004) The influence of ecology and genetics on behavioral variation in salamander populations across the Eastern Continental Divide. *American Naturalist*, **164**, 201-213.
- Rodrigues, S., Bréhéret, J.G., Macaire, J.J., Greulich, S., & Villar, M. (2007) In-channel woody vegetation controls on sedimentary processes and the sedimentary record within alluvial environments: a modern example of an anabranch of the River Loire, France. *Sedimentology*, **54**, 223-242.

- Rodriguez-Iturbe, I. & Rinaldo, A. (1997) *Fractal river basins* Cambridge University Press.
- Roff, D.A. (1990) The evolution of flightlessness in insects. *Ecological Monographs*, **60**, 389-421.
- Rosso, R., Bacchi, B., & La Barbera, P. (1991) Fractal relation of mainstream length to catchment area in river networks. *Water Resources Research*, **27**, 381-387.
- Rouquette, J.R. & Thompson, D.J. (2005) Habitat associations of the endangered damselfly, *Coenagrion mercuriale*, in a water meadow ditch system in southern England. *Biological Conservation*, **123**, 225-235.
- Rousset, F. (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F*-statistics under isolation by distance. *Genetics*, **145**, 1219-1228.
- Sala, O.E., Chapin, F.S.I., Armesto, J.J., Berlow, R., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D., Mooney, H.A., Oesterheld, M., Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M., & Wall, D.H. (2000) Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, **287**, 1770-1774.
- Sander, A.C., Purtauf, T., Wolters, V., & Dauber, J. (2006) Landscape genetics of the widespread ground-beetle *Carabus auratus* in an agricultural region. *Basic and Applied Ecology*, **7**, 555-564.
- SAS (1999) SAS, Statistical Analysis Software, Cary, NC, SAS Institute Inc.
- Schmidt, S.K., Hughes, J.M., & Bunn, S.E. (1995) Gene flow among conspecific populations of *Baetis* spp. (Ephemeroptera): adult flight and larval drift. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, **14**, 147-157.
- Schneider, S., Roessli, D., & Excoffier, L. (2000) Arlequin Version 2000, Genetics and Biometry. University of Geneva, Switzerland.
- Schultheis, A.S. & Hughes, J.M. (2005) Spatial patterns of genetic structure among populations of a stone-cased caddis (Trichoptera: Tasimiidae) in south-east Queensland, Australia. *Freshwater Biology*, **50**, 2002-2010.
- Slatkin, M. (1985) Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **16**, 393-430.
- Slatkin, M. & Barton, N.H. (1989) A comparison of 3 indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution*, **43**, 1349-1368.

- Smulders, M.J.M., Cottrell, J.E., Lefèvre, F., van der Schoot, J., Arens, P., Vosman, B., Tabbener, H.E., Grassi, F., Fossati, T., Castiglione, S., Krystufek, V., Fluch, S., Burg, K., Vornam, B., Pohl, A., Gebhardt, K., Alba, N., Agundez, D., Maestro, C., Notivol, E., Volosyanchuk, R., Pospiskova, M., Bordacs, S., Bovenschen, J., van Dam, B.C., Koelewijn, H.P., Halfmaerten, D., Ivens, B., van Slycken, J., Vanden Broeck, A., Storme, V., & Boerjan, W. (2008) Structure of the genetic diversity in black poplar (*Populus nigra* L.) populations across European river systems: Consequences for conservation and restoration. *Forest Ecology and Management*, **255**, 1388-1399.
- Sode, A. & Wiberg-Larsen, P. (1993) Dispersal of adult Trichoptera at a Danish forest brook. *Freshwater Biology*, **30**, 439-446.
- Spedding, G.R. (1992). The aerodynamics of flight. In *Mechanics of animal locomotion* (ed R.M. Alexander). Springer-Verlag, Berlin.
- Stettmer, C. (1996) Colonisation and dispersal patterns of banded (*Calopteryx splendens*) and beautiful demoiselles (*C. virgo*) (Odonata: Calopterygidae) in south-east German streams. *European Journal of Entomology*, **93**, 579-593.
- Strahler, A.N. (1957) Quantative analysis of watershed geomorphology. *Transactions AUG*, **38**, 913-920.
- Svensson, E.I., Kristoffersen, L., Oskarsson, K., & Bensch, S. (2004) Molecular population divergence and sexual selection on morphology in the banded demoiselle (*Calopteryx splendens*). *Heredity*, **93**, 423-433.
- Sweeney, B.W. & Vannote, R.L. (1987) Size variation and the distribution of hemimetabolous aquatic insects; two thermal equilibrium hypotheses. *Science*, **200**, 444-446.
- Tarboton, D., Bras, R., & Rodriguez-Iturbe, I. (1990) Comment on "on the fractal dimension of stream networks" by La Barbera and Rosso. *Water Resources Research*, **26**, 2243-2244.
- Tero, N., Aspi, J., Siikamäki, P., Jäkäläniemi, A., & Tuomi, J. (2003) Genetic structure and gene flow in a metapopulation of an endangered plant species, *Silene tatarica*. *Molecular Ecology*, **12**, 2073-2085.
- Tischendorf, L. (1997) Modelling individual movements in heterogeneous landscapes: potential of a new approach. *Ecological Modelling*, **103**, 33-42.
- Tockner, K., Ward, J.V., Edwards, P.J., & Kollmann, J. (2002) Riverine landscapes: an introduction. *Freshwater Biology*, **47**, 497-500.

- Tsubaki, Y., Kato, C., & Shintani, S. (2006) On the respiratory mechanism during underwater oviposition in a damselfly *Calopteryx cornelia* Selys. *Journal of Insect Physiology*, **52**, 499-505.
- Tyre, A.J., Possingham, H.P., & Lindenmayer, D.B. (1999) Modelling dispersal behaviour on a fractal landscape. *Environmental Modelling & Software*, **14**, 103-113.
- Usseglio-Polatera, P. & Beisel, J.N. (2002) Longitudinal changes in macroinvertebrates in the meuse river: anthropogenic effects versus natural change. *River Res. Applic.*, **18**, 197-211.
- Vannote, R.L., Minshall, G.W., Cummins, K.W., Sedell, J.R., & Cushman, C.E. (1980a) The river continuum concept. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **37**, 130-137.
- Vannote, R.L. & Sweeney, B.W. (1980b) Geographic analysis of thermal equilibria: a conceptual model for evaluating the effect of natural and modified thermal regimes on aquatic insect communities. *American Naturalist*, **115**, 667-695.
- Vekemans, X. & Hardy, O.J. (2004) New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology*, **13**, 921-935.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., & Zabeau, M. (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, **23**, 4407-4414.
- Vuilleumier, S. & Metzger, R. (2006) Animal dispersal modelling: handling landscape features and related animal choices. *Ecological Modelling*, **190**, 159-170.
- Vuilleumier, S. & Fontanillas, P. (2007) Landscape structure affects dispersal in the greater white-toothed shrew: Inference between genetic and simulated ecological distances. *Ecological Modelling*, **201**, 369-376.
- Wagner, D. & Liebherr, J.K. (1992) Flightlessness in insects. *TREE*, **7**, 216-220.
- Ward, J.V. (1998) Riverine landscapes: biodiversity patterns, disturbance regimes, and aquatic conservation. *Biological Conservation*, **83**, 269-278.
- Ward, J.V. & Tockner, K. (2001a) Biodiversity: towards a unifying theme for river ecology. *Freshwater Biology*, **46**, 807-819.
- Ward, J.V., Tockner, K., Uehlinger, U., & Malard, F. (2001b) Understanding natural patterns and processes in river corridors as the basis for effective river restoration. *Regulated Rivers: Research and Management*, **17**, 311-323.

- Ward, J.V. & Wiens, J.A. (2001c) Ecotones of riverine ecosystems: Role and typology, spatio-temporal dynamics, and river regulation. *Ecohydrology and Hydrobiology*, **1**, 25-36.
- Ward, J.V., Tockner, K., Arscott, D.B., & Claret, C. (2002) Riverine landscape diversity. *Freshwater Biology*, **47**, 517-539.
- Ward, L. & Mill, P.J. (2005) Habitat factors influencing the presence of adult *Calopteryx splendens* (Odonata: Zygoptera). *Eur. J. Entomol.*, **102**, 47-51.
- Ward, L. & Mill, P.J. (2007) Long range movements by individuals as a vehicle for range expansion in *Calopteryx splendens* (Odonata: Zygoptera). *European Journal of Entomology*, **104**, 195-198.
- Ward, R.D., Woodwark, M., & Skibinski, O.F. (1994) A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater and anadromous fishes. *Journal of Fish Biology*, **44**.
- Waters, J.M., Craw, D., Youngson, J.H., & Wallis, G.P. (2001) Genes meet geology: fish phylogeographic patterns reflects ancient, rather than modern, drainage connections. *Evolution*, **55**, 1844-1851.
- Watts, P.C., Rouquette, J.R., Saccheri, I.J., Kemp, S.J., & Thompson, D.J. (2004) Molecular and ecological evidence for small-scale isolation by distance in an endangered damselfly, *Coenagrion mercuriale*. *Molecular Ecology*, **13**, 2931-2945.
- Watts, P.C., Saccheri, I.J., Kemp, S.J., & Thompson, D.J. (2006) Population structure and the impact of regional and local habitat isolation upon levels of genetic diversity of the endangered damselfly *Coenagrion mercuriale* (Odonata: Zygoptera). *Freshwater Biology*, **51**, 193-2005.
- West-Eberhard, M.J. (2003) *Developmental plasticity and evolution*, Oxford University Press edn.
- Whitlock, M.C. & McCauley, D.E. (1999) Indirect measures of gene flow and migration: $F_{ST} \approx 1/(4Nm+1)$. *Heredity*, **82**, 117-125.
- Wiens, J.A. (2002) Riverine landscapes: taking landscape ecology into the water. *Freshwater Biology*, **47**, 501-515.
- Womble, W.H. (1951) Differential systematics. *Science*, **114**, 315-322.
- Wright, S. (1943) Isolation by distance. *Genetics*, **28**, 114-138.
- Wright, S. (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, **15**, 323-354.

Wu, H., Li, B., Springer, T.A., & Neill, W.H. (2000) Modelling animal movement as a persistent random walk in two dimensions: expected magnitude of net displacement. *Ecological Modelling*, **132**, 115-124.

Résumé

Les réseaux hydrographiques sont caractérisés par leur structure hiérarchique de type dendritique (ramifié) et l'hétérogénéité spatio-temporelle du milieu. En effet, l'hétérogénéité de l'habitat sur les cours d'eau varie selon le temps (variations saisonnières), la dimension longitudinale (caractéristiques physico-chimiques et courant) et la dimension latérale (connectivité entre le cours principal et les annexes hydrauliques). Ces variations des paramètres environnementaux sont soit graduelles le long des branches du réseau hydrographique (gradient physico-chimique, courant), soit discrètes entre les branches du réseau (diversité de l'habitat). La structure du réseau hydrographique va, par conséquent, influencer la distribution, les déplacements et le flux génique des organismes inféodés aux cours d'eau. Les objectifs de cette thèse étaient de tester (i) l'effet de la topologie du réseau hydrographique sur la dispersion et le flux de gènes, et (ii) l'effet des variations environnementales sur la distribution et les traits phénotypiques des individus liés à la dispersion. Pour répondre à ces objectifs nous avons utilisé une approche empirique, en menant notre étude sur le bassin moyen de la Loire chez une espèce de demoiselle, le *Calopteryx splendens* (Odonates : Zygoptères). Parallèlement nous avons développé un modèle théorique permettant de simuler la dispersion et le flux de gènes sur des réseaux hydrographiques artificiels. Ainsi nous avons mis en évidence une distribution discontinue des individus sur le cours d'eau et un cline morphologique sur le bassin de la Loire entre l'amont et l'aval. Ce cline est lié aux caractéristiques physico-chimiques de l'eau. Ces variations morphologiques n'influencent pas les capacités de dispersion, mais affectent la survie des individus. La survie et la densité sont les facteurs déterminants de la dispersion chez *C. splendens*. Les analyses génétiques ont montré un isolement par la distance et une forte structuration génétique sur le bassin versant, mais l'absence d'entités génétiques clairement définies. Ceci peut être expliqué par la présence de flux de gènes entre les sous-bassins et une structure en métapopulation à l'échelle du réseau hydrographique. Ces résultats sont les premiers obtenus à l'échelle d'un bassin versant tel que la Loire sur des populations naturelles. L'étude a également permis de réaliser le logiciel *Gene-Net* testant l'effet de la géométrie des réseaux hydrographiques sur la structure génétique des populations d'organismes d'eau douce.

Mots clés : paysages dendritiques, flux génique, dispersion, modélisation, insectes aquatiques

Abstract

River networks are characterised by a hierarchical branching structure and spatio-temporal heterogeneity. Indeed, longitudinal (physico-chemical parameters, water flow), lateral (connectivity between the main course and secondary channels) and time dimensions (seasonal variations) influence habitat heterogeneity. These variations in environmental parameters are gradual along branches (physico-chemical gradients) or discrete between branches (habitat heterogeneity) of the river network. Then landscape structure influences distribution, dispersal and gene flow of freshwater organisms. This work aimed to test (i) the effect of river network geometry on dispersal and gene flow, and (ii) the effect of environmental variations on distribution and phenotypic traits related to dispersal. We used empirical and theoretical approaches by studying a damselfly species, *Calopteryx splendens* (Odonata: Zygoptera) across the River Loire and fitting an individual based-model to simulate gene flow in synthetic river networks. Then we showed a discontinuous distribution of individuals along watercourses and a morphological cline across the Loire River. This cline was due to physico-chemical characteristics of water. Morphological variations did not influence dispersal abilities but affected survival. Survival and densities were the main factors influencing dispersal in *C. splendens*. Genetical analyses showed an isolation by distance pattern and a strong genetic structure, but no genetic groups were defined in the catchment. These results can be explained by overland gene flow between watercourses and a metapopulation structure at the catchment scale. This is the first study performed in a large river network in environmental conditions. Furthermore we realised the *Gene-Net* software to test the effects of the river network on population genetic structure of freshwater organisms.

Keywords: dendritic landscape, gene flow, dispersal, modelling, freshwater insects