



HAL
open science

Croissance et régime alimentaire des juvéniles de Saumon atlantique (*Salmo salar* L.) dans la rivière Allier

Aurélie Descroix

► **To cite this version:**

Aurélie Descroix. Croissance et régime alimentaire des juvéniles de Saumon atlantique (*Salmo salar* L.) dans la rivière Allier. Biodiversité et Ecologie. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2009. Français. NNT : 2009CLF21950 . tel-00725306

HAL Id: tel-00725306

<https://theses.hal.science/tel-00725306>

Submitted on 24 Aug 2012

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.

ECOLE DOCTORALE
DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE
N° d'ordre : 507

Thèse

Présentée à l'Université Blaise Pascal
Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

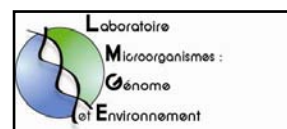
(SPÉCIALITÉ: ECOLOGIE ET BIOLOGIE DES POPULATIONS)

Soutenue le 10 septembre 2009 par

AURELIE DESCROIX

**Croissance et régime alimentaire des juvéniles de
Saumon atlantique (*Salmo salar* L.) dans la rivière
Allier: Origine et transferts des acides gras dans la
chaîne trophique**

Président : Régis CEREGHINO
Rapporteurs : Régis CEREGHINO et Robert GALOIS
Examineurs : Agnès BARDONNET et Alexandre BEC
Directeurs : Christian DESVILLETES et Gilles BOURDIER



REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le laboratoire "Microorganismes: Génome et Environnement", UMR CNRS 6023, dirigé par Christian AMBLARD que je remercie pour son accueil et la disponibilité dont il a fait preuve tout au long de ce travail.

Ces recherches ont pu être menées à bien grâce au soutien financier du Conseil Régional d'Auvergne auquel je souhaite exprimer mes remerciements pour la bourse de thèse Environnement dont j'ai bénéficié pendant trois ans.

Je tiens également à remercier mes directeurs de thèse, Christian DESVILLETES et Gilles BOURDIER, pour le soutien, la liberté et la confiance qu'ils m'ont accordées tout au long de ce travail. Merci pour votre disponibilité et vos conseils avisés.

Toute ma gratitude s'adresse à Régis CEREGHINO et Robert GALOIS qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteurs de cette thèse et à Agnès BARDONNET et Alexandre BEC pour avoir accepté de juger ce travail.

Je souhaite aussi remercier chaleureusement tous les membres du laboratoire qui ont participé de près ou de loin à ce travail:

Merci à Lionel JOUVE qui a bravé froid, pluie, glace et courant pour m'aider à mener à bien tous mes échantillonnages. Nos petits pique-niques au bord de l'eau me manqueront. Merci également aux autres personnes qui nous ont servi de petites mains lors des pêches électriques: Jonathan COLOMBET, Charles LEMARCHAND, Christophe PORTELLI, Denis SARGOS.

Merci aussi à Denis pour l'identification et le comptage microscopique des algues et pour les comptages bactériens en cytométrie en flux qui n'ont malheureusement pas pu être exploités ; que d'heures de patience...

Merci à Alexandre BEC pour ses conseils avisés et son expertise sur les lipides...

Merci à Jean-Claude DEMERS et Jean-Claude ROMAGOUX pour avoir fabriqué mes tables de bronzage (tables lumineuses) sur laquelle j'ai passé des heures à trier les macroinvertébrés et à identifier les chromatogrammes. Vous m'avez fait gagner énormément de temps.

Merci à tous les stagiaires qui ont participé à ces recherches et m'ont beaucoup aidé: Michaël NICOLAS, Benjamin MISSON, Jérémy SAUVANET, Anne-Laure REVERDY, Magalie SKALJAC, Mathieu GARCIA. Sans vous j'y serai encore... Vive le tri et la taxonomie !!!

Merci à Nathalie FRUQUIERE pour sa disponibilité et sa bonne humeur qui ont agréablement simplifié les tâches administratives.

Merci à Corinne BARDOT et Brigitte CHEBANÇE pour les commandes de matériel, toujours plus urgentes les unes que les autres...

Merci à eux et à tous les membres du laboratoire pour votre accueil, votre gentillesse et vos conseils.

Je tiens également à remercier Patrick MARTIN et Jocelyn RANCON du Conservatoire National du Saumon Sauvage (CNSS). C'est grâce à vous que les déversements ont pu être effectués à temps et dans les bons sites. Merci aussi pour m'avoir fourni quelques spécimens de saumons élevés en bassin. Malgré vos emplois du temps surchargés, vous avez pris le temps de répondre à toutes mes questions. Merci pour cette disponibilité de tous les instants.



Je remercie aussi chaleureusement Daniel GERDEAUX et Orlane ANNEVILLE pour avoir pris en charge Michaël NICOLAS pendant son stage et pour lui avoir permis d'effectuer les analyses d'otolithes au sein de votre équipe à l'UMR CARTELE INRA de Thonon-les-Bains. Merci Orlane pour ton aide et tes précieux conseils lors de la relecture de la première pub.

Un énorme merci à Agnès ROBIN, Emeline VALTON, Olivier CROUZET, Sébastien TERRAT, Emilie LEFEVRE, Claire VALIENTE DE MORO, Marlène JOBARB et Séréna RASCONI pour tous ces instants du quotidien que nous avons partagés. Merci pour votre bonne humeur, votre soutien et votre amitié ! Ce sont Emilie et Olivier qui m'ont accueilli dans ce laboratoire et fait découvrir les us et coutumes du coin. Nos folles soirées resteront à jamais graver dans ma mémoire. Olivier, Auvergnat pur souche, supporter des jaunes et bleus, fou de Toutoune, et collègue thésard du début à la fin... Merci de m'avoir fait découvrir ta belle région et ces matchs de Rugby. Quant aux autres arrivés plus tard et qui ont fait parti de mon quotidien jusqu'au bout, merci pour votre présence et votre amitié. Agnès que dire... Tu as été mon soutien moral pendant cette dernière ligne droite. Un grand merci pour ta présence et ton amitié, pour tes conseils et pour m'avoir fait partager ton expérience. Merci pour ces pauses café en tête-à-tête qui m'ont permis de me vider la tête lors de cette rédaction de mémoire. Malgré ta tonne de travail, tu as pris le temps de relire mes CV, lettres de motivation et j'en passe. Merci... Emeline, ma fournisseuse de romans... Merci pour ta bonne humeur de tous les jours et ton oreille attentive. Merci pour tes relectures, suggestions et corrections avisées. Je suis contente de vous avoir rencontré et d'avoir pu partager cette expérience avec vous tous.

Enfin, je remercie tout particulièrement mes parents ainsi que mon frère pour leurs encouragements et leur soutien. Vous m'avez fourni toutes les clés pour réussir dans la vie. Vous m'avez permis de saisir les opportunités que la vie m'offrait. Vous m'avez soutenu tout au long de ces années universitaires. Si j'en suis là, c'est grâce à vous. Merci d'avoir fait en sorte que je puisse faire ce que je voulais selon mes choix. Merci pour votre amour, votre foi en moi, votre soutien inébranlable. Merci pour tout !

Et je garde le meilleur pour la fin...

Tu es le point le plus positif de cette thèse. Il a fallu que je vienne à Clermont-Ferrand pour te rencontrer. Comme quoi... Après 1 an de manip dans la même pièce, nous nous sommes enfin parlé et maintenant tu partages mon quotidien. Que te dire... Merci ! Merci pour tout: pour ce soutien sans faille pendant les heures de stress et de galères ; pour ta patience infinie, pour ta présence, ta compréhension, ton aide ; pour ton humour ; pour ton réconfort ; pour ta joie de vivre... Merci pour toutes ces heures de bonheur ! J...

Merci à toutes et à tous!

Introduction générale p 1

Chapitre I: Synthèse bibliographique p 8

1. Le Saumon atlantique (<i>Salmo salar</i> L.) sur l'axe Loire-Allier	p 10
1.1. Bref historique.....	p 10
1.2. Le saumon sur l'axe Loire-Allier.....	p 11
2. Stade résidentiel en eau douce des jeunes saumons	p 12
2.1. Habitat.....	p 12
2.2. Croissance.....	p 13
2.3. Régime alimentaire.....	p 14
3. Métabolisme lipidique des stades juvéniles de Salmonidés	p 16
4. Importance des biomarqueurs lipidiques dans les réseaux trophiques des milieux lotiques	p 18
4.1. Intérêt de l'utilisation des biomarqueurs lipidiques.....	p 18
4.2. Caractérisation de la matière organique et des microorganismes dans les cours d'eau à l'aide des acides gras.....	p 19
4.2.1. Matière organique détritique fine (< 1 mm).....	p 20
4.2.2. Hyphomycètes et bactéries.....	p 20
4.2.3. Protozoaires.....	p 21
4.2.4. Microalgues périlithiques.....	p 21
4.3. Teneurs lipidiques et composition en acides gras des macroinvertébrés aquatiques.....	p 22

Chapitre II: Sites d'étude, échantillonnage et méthodologie analytique p 24

1. Sites d'étude	p 26
1.1. Présentation de la zone d'étude.....	p 26
1.2. Description des sites d'étude.....	p 27
2. Echantillonnage et traitement des échantillons	p 28
2.1. Saumons.....	p 28
2.1.1. <i>Tacons d'élevage</i>	p 29
2.1.2. <i>Tacons déversés sur les radiers du Haut-Allier</i>	p 29
2.2. Macroinvertébrés benthiques.....	p 29
2.3. Sources trophiques.....	p 30
2.3.1. <i>Matière organique déposée (MODép) (< 1 cm)</i>	p 30
2.3.2. <i>Biofilm périlithique</i>	p 30
2.3.3. <i>Matière organique fine en suspension (MOFS) (< 1 mm)</i>	p 30
3. Analyses lipidiques	p 31
3.1. Extraction des lipides totaux.....	p 31
3.2. Séparation des lipides neutres et des lipides polaires sur mini-colonnes de silice.....	p 31
3.3. Préparation des esters méthyliques d'acides gras (EMAG).....	p 32
3.4. Séparation des EMAG par chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	p 32
3.4.1. <i>Appareillage</i>	p 32
3.4.2. <i>Conditions opératoires</i>	p 32
3.4.3. <i>Identification des acides gras</i>	p 33
3.4.4. <i>Quantification des acides gras</i>	p 33

Chapitre III: Alimentation, croissance et statut nutritionnel des tacons déversés le long d'un gradient amont-aval dans une large rivière européenne (l'Allier) p 34

Préambule..... p 36

Feeding, growth and nutritional status of restocked salmon parr along the longitudinal gradient of a large European river: the Allier

1. Abstract..... p 39

2. Introduction..... p 40

3. Study area..... p 41

4. Materials and Methods..... p 42

4.1. Sampling..... p 42

4.1.1. *Atlantic salmon parr*..... p 42

4.1.2. *Macroinvertebrate fauna*..... p 43

4.2. Laboratory analysis..... p 44

4.2.1. *Growth and nutritional condition of Atlantic salmon parr*..... p 44

4.2.2. *Stomach contents and benthic sample analysis*..... p 44

4.3. Data analysis..... p 45

4.3.1. *Growth parameters*..... p 45

4.3.2. *Prey availability and diet analysis*..... p 45

5. Results..... p 46

5.1. Fish samples..... p 46

5.1.1. *Growth parameters*..... p 46

5.1.2. *Condition factors*..... p 48

5.1.3. *Lipid deposition*..... p 48

5.2. Available food resources..... p 48

5.3. Feeding of salmon parr..... p 49

5.3.1. *Fish diet*..... p 49

5.3.2. *Feeding strategy and prey selection*..... p 50

6. Discussion..... p 51

7. Acknowledgements..... p 55

Chapitre IV: Influence des proies naturelles sur la croissance et la composition en acides gras de tacons 0+ déversés dans une large rivière européenne (l'Allier) p 56

Préambule.....	p 58
Impact of macroinvertebrate diet on growth and fatty acid profile on restocked 0+ salmon parr (<i>Salmo salar</i> L.) from a large European river (the Allier)	
1. Abstract.....	p 61
2. Introduction.....	p 62
3. Materials and Methods.....	p 64
3.1. Study sites.....	p 64
3.2. Fish rearing and field sampling.....	p 64
3.2.1. <i>Fish samples</i>	p 64
3.2.2. <i>Stomach content analysis and macroinvertebrate samples</i>	p 65
3.3. Lipid analysis.....	p 66
3.4. Data analysis.....	p 67
4. Results.....	p 67
4.1 Feeding, growth and total FA content in farmed and restocked parr.....	p 67
4.1.1. <i>Feeding</i>	p 67
4.1.2. <i>Growth</i>	p 68
4.1.3. <i>Total FA content</i>	p 68
4.2. FA analyses of natural food v. commercial pellets.....	p 69
4.3. NLFA and PLFA compositions of farmed and restocked parr: differences and temporal changes.....	p 70
4.4. Diet effects on FA composition in farmed and restocked salmon parr.....	p 72
5. Discussion.....	p 72
6. Acknowledgements.....	p 77

Chapitre V: Utilisation des acides gras comme indicateurs de l'assimilation des sources de matière organique par quatre familles de macroinvertébrés p 78

Préambule.....	p 80
Use of fatty acid signatures as dietary indicators in four major invertebrate families from the Allier river (France)	
1. Résumé	p 83
2. Introduction	p 84
3. Matériel et méthodes	p 86
3.1. Sites d'étude.....	p 86
3.2. Prélèvements et traitement des échantillons.....	p 87
3.2.1. <i>Macroinvertébrés</i>	p 87
3.2.2. <i>Biofilm périlithique</i>	p 87
3.2.3. <i>Matière organique fine en suspension (MOFS)</i>	p 88
3.2.4. <i>Matière organique déposée (MODép)</i>	p 88
3.3. Analyse lipidique.....	p 88
3.4. Analyse des données.....	p 89
4. Résultats	p 90
4.1. Communauté et biomasse des microalgues dans le périlithon et la MOFS.....	p 90
4.2. Evolution des compositions taxonomiques de macroinvertébrés.....	p 91
4.3. Compositions en AG des LT des sources de matière organique.....	p 91
4.4. Compositions en AG des LN de consommateurs (macroinvertébrés).....	p 93
4.5. Compositions en AG des LP de consommateurs (macroinvertébrés).....	p 95
4.6. Analyse factorielle discriminante (AFD).....	p 98
5. Discussion	p 99
5.1. Composition en AG des sources de matière organique.....	p 99
5.2. Transfert des AG entre les sources de matière organique et les macroinvertébrés.....	p 102

Discussion générale et perspectives **p 106**

Références bibliographiques **p 113**

Annexes **p 137**

ANNEXE 1. Densité moyenne (ind.·m⁻²) et composition de la faune benthique collectée dans chacun des radiers de déversement entre juin et octobre 2006.....p 138

ANNEXE 2. Moyennes (± E.S.) des lipides totaux en mg·g⁻¹ p.s. extraits des différents types d'échantillons collectés dans chacun des sites entre juin et octobre 2006.....p 143

<u>Abréviations en français</u>		<u>Abréviations en anglais</u>	
AFD	Analyse factorielle discriminante	ANOVA	Analysis of variance
AG	Acide gras	DFA	Discriminant function analysis
AGI	Acides gras insaturés	FA	Fatty acid
AGMI	Acides gras monoinsaturés	FAME	Fatty acid methyl ester
AGPI	Acides gras polyinsaturés	HUFA	Highly unsaturated fatty acid
AGS	Acides gras saturés	MUFA	Monounsaturated fatty acid
AGSL	Acides gras saturés à longue chaîne carbonée	NL	Neutral lipids
AICS	Analyse isotopique des composés spécifiques	NLFA	FA extracted from neutral lipids
ANOVA	Analyse de variance	ONEMA	National Office of Water and Aquatic Environments
CCM	Chromatographie sur couche mince	PL	Polar lipids
CNSS	Conservatoire National du Saumon Sauvage	PLFA	FA extracted from polar lipids
CPG	Chromatographie en phase gazeuse	PUFA	Polyunsaturated fatty acid
EMAG	Esters méthyliques d'acides gras	SFA	Saturated fatty acid
LN	Lipides neutres	TFA	Total fatty acids
LP	Lipides polaires	TL	Body length
LT	Lipides totaux	TLC	Thin layer chromatography
MODép	Matière organique déposée	W	Body weight
MOFS	Matière organique fine en suspension		
ONEMA	Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques		
ram	Acides gras ramifiés		

Introduction générale

Peu d'espèces de poissons téléostéens ont fait l'objet d'autant d'études que le Saumon atlantique (*Salmo salar* L.). Les particularités de son cycle de vie, sa haute valeur halieutique et les difficultés liées à la conservation des populations sauvages justifient pleinement l'intérêt que suscite ce poisson dans les pays où il subsiste à l'état naturel. Alors que sa phase de vie marine peu accessible à l'observation, est assez peu étudiée (Bisbal et McConnaha 1998), un nombre considérable de données scientifiques est disponible sur sa période de vie en eau douce. Que ce soit en Amérique du Nord ou en Europe, les petits fleuves côtiers et les rivières nordiques ou subarctiques ont été les secteurs privilégiés de l'étude des populations de saumon. Ils ont permis des progrès significatifs dans la connaissance de l'espèce, tant au niveau des processus de migration et de reproduction qu'au niveau de la survie et de la croissance des stades embryo-larvaires et juvéniles.

Le développement des jeunes stades constitue la période critique du cycle de vie du saumon (Elliott 2001). Si la survie avant l'émergence dépend principalement de facteurs environnementaux (Milner et al. 2003), celle des juvéniles et tacons résulte de l'interaction de facteurs densité-dépendants (Baglinière et Maisse 1985, Milner *et al.* 2003) et de facteurs abiotiques (Heland et Dumas 1994). Les conditions de croissance des juvéniles en rivière, notamment des 0+, ont une influence directe sur la smoltification et l'âge de départ en migration qui peut s'échelonner de 1 à 6 ans en fonction de la latitude (Hutchings et Jones 1998). Dans l'ensemble, ces facteurs de régulation de la croissance des juvéniles de saumon ont surtout été étudiés dans les cours d'eau septentrionaux. Les différents travaux ainsi entrepris ont montré l'importance de paramètres biotiques et environnementaux, tels que la prédation et la compétition intra- et interspécifique (Kennedy et Strange 1986, Skilbrei *et al.* 1997, Grant et Imre 2005, Amundsen et Gabler 2008), les conditions trophiques (densité et biomasse de proies invertébrées disponibles) (Richardson 1993, Erkinaro et Erkinaro 1998) ainsi que la structure de l'habitat (température de l'eau, profondeur et vitesse du courant) (Salveit 1990, Jonsson et al. 2001, Kemp *et al.* 2006).

L'habitat des juvéniles est généralement restreint à des secteurs particuliers des cours d'eau qui sont principalement les radiers-rapides, caractérisés par une forte granulométrie et une faible profondeur de la lame d'eau (Bardonnet et Baglinière 2000, Armstrong *et al.* 2003). Sur les cours d'eau d'Islande, de Scandinavie, des îles Britanniques, de Bretagne et du Pays Basque, la distribution des radiers dans les séquences d'écoulement débute à d'assez courtes distances des estuaires (quelques dizaines à une centaine de kilomètres). C'est une des raisons, mais non la seule, du maintien de populations naturelles dans ces hydrosystèmes. Les saumons n'ont en effet que des distances relativement courtes à parcourir pour s'y reproduire

(Thibault 1994). En revanche, la quasi disparition de l'espèce des grands systèmes hydrographiques (Rhin, Seine, Garonne...) est liée à diverses dégradations (édification de grands barrages hydroélectriques entre autres) dont les effets néfastes ont été considérablement renforcés par l'éloignement amont, sur plusieurs centaines de kilomètres, des premiers radiers pouvant offrir les conditions nécessaires à la reproduction, ainsi qu'à la survie et à la croissance des tacons (Prouzet 1990). Or, *in fine*, la surface de radier ou radier-rapide disponible et accessible conditionnera le nombre de juvéniles produit par le cours d'eau. Il est donc assez regrettable que les modalités de croissance et de développement des juvéniles de Saumon atlantique n'aient été jusqu'alors que peu étudiées sur les grands systèmes fluviaux européens (Prouzet 1990). En effet, si l'on se réfère à l'axe Loire-Allier, les radiers de croissance des tacons se distribuent du rhithron à l'épipotamon (soit environ 223 km de linéaire) selon un gradient de conditions physiques et morphologiques évoluant de l'amont vers l'aval et aboutissant à une zonation longitudinale marquée (Illies et Botosaneanu 1963, Vannote *et al.* 1980). Ces modifications engendrent ainsi un gradient continu de ressources trophiques disponibles qui détermine la distribution des peuplements d'invertébrés et de poissons, en fonction de différentes stratégies développées par les espèces pour exploiter ces ressources alimentaires (Aarts et Nienhuis 2003). Différents travaux effectués sur la répartition spatiale des poissons montrent ainsi que la richesse spécifique locale change de façon prévisible le long du *continuum* fluvial (Oberdorff et Porcher 1992, Changeux 1995, Mastorillo *et al.* 1998). Elle s'accroît avec l'augmentation de la taille du cours d'eau atteignant un maximum dans la jonction rhithron-potamon, précisément là où se situent les séquences d'écoulement plat-radier-fosse qui jouent un rôle primordial dans le fonctionnement écologique des grands cours d'eau tempérés (Bisson et Montgomery 1996, Bunn et Davies 2000). Les jeunes saumons sont alors susceptibles de rencontrer une concurrence interspécifique pour l'habitat et les ressources trophiques, d'intensité variable entre l'amont et l'aval. En effet, si dans les parties amont, les radiers abritent principalement des Chabots et des juvéniles de Truite fario, ceux situés dans l'épipotamon sont colonisés de manière permanente par un nombre important d'espèces de petite taille (Loche de rivière, Goujon, Spirilin, Toxostome...) et constituent les secteurs de développement des juvéniles de Barbeau et d'Ombre commun (Roussel et Bardonnnet 1997, Bischoff et Freyhof 1999, Treer *et al.* 2006). La très grande majorité de ces espèces étant invertivore (Winkelmann *et al.* 2007a), elles sont susceptibles d'entrer en concurrence avec les jeunes saumons qui se nourrissent de macroinvertébrés aquatiques capturés sur le fond ou dans la dérive (Wankowski et Thorpe 1979b). En outre, l'accès à la nourriture étant un facteur déterminant lors de la phase de

croissance (Amundsen *et al.* 2007), toute modification des assemblages de macroinvertébrés en fonction du gradient longitudinal ou en raison de dégradations anthropiques du cours d'eau (Lautenschläger et Kiel 2005) peuvent aussi affecter le développement des tacons. A ce sujet, Vignes (1998) suggère que les variations de composition spécifique de la faune benthique des radiers pourraient expliquer les différences de croissance observées chez les jeunes saumons répartis entre les secteurs de la haute et basse Nivelle (Pays-Basque). **Un des objectifs de ce travail de doctorat sera donc d'étudier les modalités de croissance des juvéniles (0+) de Saumon atlantique dans le contexte d'un grand cours d'eau. Nous tiendrons compte, en particulier, de l'importance de la localisation géographique des secteurs de radier en fonction de leur répartition relative le long du *continuum* fluvial. Nous essaierons ainsi de mettre en relation une possible variabilité des performances de croissance avec d'éventuelles variations d'abondance et de composition taxonomique des assemblages de macroinvertébrés présents sur les radiers. L'accent sera mis sur les proies potentiellement disponibles dans le milieu et le *preferendum* alimentaire des tacons.**

Ce travail portera sur la rivière Allier, principal affluent de la Loire à assurer l'essentiel de la production naturelle du saumon de l'axe Loire-Allier. Il s'intègre notamment dans la politique de repeuplement mise en place depuis 1994 dans le cadre du plan "Loire-grandeur nature" (1994-2004). Un des points d'interrogation lié aux déversements des juvéniles de repeuplement sur l'Allier a justement trait à la sélection des radiers puisque, potentiellement, les déversements peuvent s'effectuer de la zone à truite à la zone à barbeau (soit une distance de 223 km) dans un contexte où ni la croissance, ni l'alimentation des juvéniles ne sont connues. Or, la distance de migration des smolts jusqu'à l'estuaire est de 940 km avec une "fenêtre physiologique" (adaptation à la salinité croissante) de franchissement optimal courte dans le temps (Martin *et al.* 2009), ce qui constitue un des paramètres limitant la survie du saumon sur ce long axe fluvial. De plus, s'il est bien établi que l'enclenchement de la dévalaison dépend des conditions climatiques et hydrologiques (Cohendet 1993), celui-ci est également lié au statut physiologique des smolts, qui est de ce fait lui-même fortement dépendant de la croissance des tacons (Duston et Saunders 1997, McCormick *et al.* 1998, Riley *et al.* 2002, Strothotte *et al.* 2005). Une faible croissance pendant la première année de vie va donc avoir tendance à retarder la smoltification, entraînant ainsi un décalage des départs de smolts, une arrivée tardive et un franchissement aléatoire de l'estuaire de la Loire. **Notre démarche portera donc plus particulièrement sur les juvéniles de repeuplement relâchés dans le milieu naturel sur différents secteurs de radier étagés des zones de rhithron à l'épipotamon.**

Sur un plan comportemental, la sélection des proies sur les radiers s'effectue généralement en fonction de la taille des macroinvertébrés et de l'âge ou du stade de développement des juvéniles de saumons (Keeley et Grant 1997, Vignes 1998). L'apport énergétique des proies, dépendant de la dépense métabolique liée à leur capture puis à leur digestibilité, entre aussi en ligne de compte dans cette sélection (Reiriz *et al.* 1998). Les travaux effectués chez les larves et juvéniles d'autres familles de poissons d'eau douce (Corégonidés et Esocidés) ont montré que le passage d'une catégorie de proie préférentielle à une autre pouvait être lié au contenu énergétique de ces proies (Muje *et al.* 1989, Desvillettes *et al.* 1997c). Les teneurs en lipides (triglycérides et phospholipides) ainsi que les compositions en acides gras (AG), notamment en acides gras polyinsaturés (AGPI) des proies jouent un rôle important, particulièrement bien documenté dans la littérature scientifique (Henderson et Tocher 1987, Corraze 1999, Arts et Kohler 2009). Les AGPI des séries $\omega 3$ et $\omega 6$ sont ainsi reconnus comme des facteurs nutritionnels primordiaux pour le développement des organismes aquatiques en raison de leur caractère essentiel pour plusieurs d'entre eux (Arts *et al.* 2001). Les formes les plus simples de ces composés (18 atomes de carbone) sont uniquement synthétisées par les organismes autotrophes et s'accumulent chez les consommateurs avec un faible niveau de perte (Sargent et White 1981) et éventuellement une bioconversion en composés plus longs et plus insaturés (20 et 22 atomes de carbone). Bien étudiés en milieux océanique et lacustre, le transfert de ces composés clés dans les réseaux trophiques des cours d'eau reste encore assez peu abordé (Kainz et Fisk 2009). A l'heure actuelle, seul un petit nombre d'études s'est attaché à décrire les compositions en AG et les teneurs en lipides de certains macroinvertébrés aquatiques (Hanson *et al.* 1985, Bell *et al.* 1994, Ghioni *et al.* 1996, Ahlgren *et al.* 1997, Goedkoop *et al.* 1998, 2000, Sushchik *et al.* 2003, 2006, Torres-Ruiz *et al.* 2007). Leur rôle vis à vis des juvéniles de Salmonidés, notamment en tant qu'apports alimentaires riches en nutriments essentiels, n'a été que rarement envisagé (Ahlgren *et al.* 1999). Il s'agit d'une situation paradoxale, dans un contexte où les besoins en lipides des juvéniles de saumon destinés à l'aquaculture commerciale font, eux, l'objet de travaux constants. Ces derniers ont notamment permis de mieux cerner les besoins des différents stades de développement en AG essentiels, mais aussi en formes monoinsaturées (série $\omega 9$) destinées à la couverture énergétique (Tocher *et al.* 2000, Bendiksen *et al.* 2003). **Dès lors, le second objectif de ce travail sera d'évaluer, en lien avec leurs profils d'AG, la qualité nutritionnelle des macroinvertébrés préférentiellement ingérés par les jeunes saumons relâchés sur les différents radiers de la rivière Allier. L'accent sera mis sur le rôle de certains composés (AGPI des séries $\omega 3$,**

20:406, AG monoinsaturés) susceptibles d'affecter la croissance, la survie hivernale et la smoltification des tacons.

En terme d'écologie fonctionnelle, la prise en compte des AG dans différents compartiments trophiques permet de tracer les transferts de matière organique en milieu aquatique (Budge *et al.* 2006). Les potentialités de marqueurs chémotaxonomiques qu'offrent les AG sont bien connues (Torres-Ruiz *et al.* 2007). Bactéries hétérotrophes, microalgues, matière organique terrestre, peuvent être caractérisées par certains AG dont l'identification chez les consommateurs secondaires fournit des informations sur l'assimilation du carbone et les flux d'énergie (Iverson 2009). Dans les milieux lotiques, les sources de matières organiques (allochtone et autochtone) évoluent en fonction du *continuum* fluvial (Vannote *et al.* 1980). Au sein des radiers, les transferts de carbone et de nutriments sont donc susceptibles de changer, principalement vis-à-vis des macroinvertébrés. Ceux-ci présentent en effet des modes d'alimentation variés (Compin et Céréghino 2007) utilisant les différentes sources de matière organique qui transitent, se déposent ou se développent dans les zones de radiers (Finlay *et al.* 2002, Boyero 2005). Les juvéniles de saumon de part leur position trophique vont donc dépendre du maillon clé que constitue ces macroinvertébrés (Wallace et Webster 1996) en intégrant dans leurs lipides de réserves des AG provenant, soit de la matière organique allochtone, soit de la production primaire autochtone, soit de ces deux types de matière organique (Goedkoop *et al.* 2000, Lau *et al.* 2009). **Notre dernier objectif sera donc d'utiliser cette approche par les AG biomarqueurs afin d'évaluer le transfert de la matière organique dans la chaîne trophique des juvéniles de saumon. Nous essaierons notamment de mieux cerner les différentes sources de carbone réellement assimilées par les macroinvertébrés occupant les radiers de repeuplement réparties le long du *continuum* fluvial de l'Allier.**

Afin de répondre aux objectifs fixés dans ce travail, notre démarche a été de travailler sur les juvéniles (0+) de repeuplement produits par la salmoniculture du Conservatoire National du Saumon Sauvage (CNSS, Chanteuges, Haute-Loire). Ces juvéniles sont déversés sur les faciès d'écoulement particuliers que constituent les radiers, répartis depuis les zones de rhithron (situées en Lozère) jusqu'aux secteurs épipotamiques (situés à l'aval de Brioude, Haute-Loire) de la rivière. Cinq radiers sélectionnés en fonction de leur représentativité du *continuum* fluvial ont fait l'objet d'un suivi mensuel à l'issue des opérations de repeuplement, et au cours de la période optimale de croissance et d'alimentation des jeunes saumons s'étalant de mai à octobre 2006. Cette période est reconnue comme particulièrement décisive pour la survie hivernale des tacons et la future smoltification (Jobling 2001, Nordgarden *et al.*

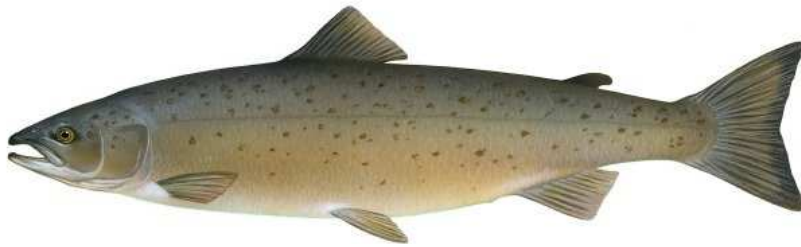
2002, Dempson *et al.* 2004). L'échantillonnage a porté sur les saumons, leurs proies potentielles (macroinvertébrés) et les différentes sources de matières organiques (biofilm périlithique, matière organique fine en suspension et matière organique déposée dans les interstices du substrat). De plus, comme nous disposons de tacons élevés au CNSS sur aliment artificiel, il nous est apparu intéressant de les utiliser en tant que lot témoin des analyses lipidiques et paramètres zootechniques relatifs à leurs congénères relâchés dans le milieu naturel.

Organisation générale du mémoire de thèse

La première partie de ce mémoire (**Chapitre I**) illustrera le contexte bibliographique dans lequel s'inscrit ce travail. Des précisions sur les saumons de l'axe Loire-Allier seront apportées avant d'aborder les principales caractéristiques des stades résidentiels en eau douce et les traits majeurs du métabolisme lipidique des jeunes Salmonidés. Enfin, nous terminerons cette première partie introductive par l'intérêt des AG biomarqueurs pour l'étude des réseaux trophiques en milieu lotique. Le **deuxième chapitre** sera consacré à la présentation des sites d'études et aux différentes méthodes de prélèvements et d'analyses utilisées. Les résultats que nous avons obtenus seront exposés sous la forme de trois articles publiés ou en cours de publication constituant autant de chapitres numérotés de III à V. Le **troisième chapitre**, sera donc consacré à l'étude détaillée de l'alimentation, de la croissance et du statut nutritionnel des tacons issus du CNSS, relâchés et recapturés le long du *continuum* fluvial de l'Allier. Les données seront comparées à celles obtenues avec les tacons maintenus en élevage. Le **quatrième chapitre** s'attachera à analyser l'impact des principales proies sur la composition en AG des tacons. Nous déterminerons si, en raison de profils d'AG différents, les macroinvertébrés peuvent affecter la croissance des tacons, ainsi que leur survie hivernale. Enfin dans le **cinquième chapitre**, l'utilisation des AG biomarqueurs tentera de déterminer l'origine des composés retrouvés au sein des lipides de macroinvertébrés. Notre objectif ici est de déterminer la ou les sources de matière organique réellement assimilées par les macroinvertébrés occupant les zones de radier du Haut-Allier. Notre mémoire se terminera par une synthèse des principaux enseignements issus de nos résultats et les perspectives qui s'en dégagent.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique



Saumon atlantique (*Salmo salar* L.) adulte

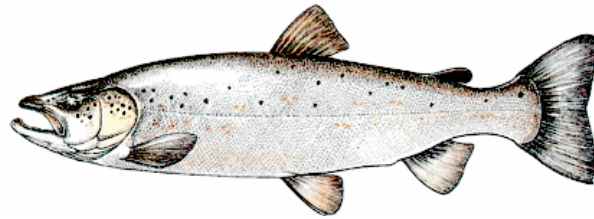
Chapitre I: Synthèse bibliographique

1. Le Saumon atlantique (<i>Salmo salar</i> L.) sur l'axe Loire-Allier	p 10
1.1. Bref historique.....	p 10
1.2. Le saumon sur l'axe Loire-Allier.....	p 11
2. Stade résidentiel en eau douce des jeunes saumons	p 12
2.1. Habitat.....	p 12
2.2. Croissance.....	p 13
2.3. Régime alimentaire.....	p 14
3. Métabolisme lipidique des stades juvéniles de Salmonidés	p 16
4. Importance des biomarqueurs lipidiques dans les réseaux trophiques des milieux lotiques	p 18
4.1. Intérêt de l'utilisation des biomarqueurs lipidiques.....	p 18
4.2. Caractérisation de la matière organique et des microorganismes dans les cours d'eau à l'aide des acides gras.....	p 19
4.2.1. Matière organique détritique fine (< 1 mm).....	p 20
4.2.2. Hyphomycètes et bactéries.....	p 20
4.2.3. Protozoaires.....	p 21
4.2.4. Microalgues périlithiques.....	p 21
4.3. Teneurs lipidiques et composition en acides gras des macroinvertébrés aquatique.....	p 22

PLANCHE 1 : Présentation de *Salmo salar* L.

POSITION SYSTEMATIQUE

Embranchement: Chordés
Sous-embranchement: Vertébrés
Super-classe: Ostéichtyens
Classe: Actinoptérygiens
Sous-classe: Néoptérygiens
Super-ordre: Téléostéens
Ordre: Salmoniformes
Famille: Salmonidés
Sous-famille: Salmoninés
Genre: *Salmo*
Espèce: *salar*



DESCRIPTION

Le saumon atlantique est un poisson argenté au corps fusiforme recouvert de petites écailles lisses, alignées sur la ligne latérale, reliant l'opercule à la nageoire caudale.

La tête est relativement petite, munie d'une bouche fendue jusqu'à l'aplomb de l'œil. Le pédoncule caudal est étroit. Ce poisson possède deux nageoires pectorales et pelviennes ainsi qu'une nageoire dorsale, adipeuse et caudale.

La taille et le poids sont extrêmement variables: de 50 cm à 1,30 m pour 1 à 30 kg. Dans les rivières française, la moyenne est de 70 à 90 cm pour un poids de 5 à 10 kg.

La coloration est variable suivant le stade de développement :



L'**adulte** présente une robe d'aspect métallique avec le dos bleu plus ou moins grisé, les flancs argentés et le ventre blanc nacré. Les nageoires sont gris foncé. Le dos et les flancs sont mouchetés de petites ponctuations noires irrégulières alors que la tête, les opercules et la nageoire dorsale présentent parfois des taches arrondies (mélanoformes).

Les **jeunes saumons** (ou tacons) mesurant moins de 15 cm présentent de grandes taches sombres et des points rouges et noirs sur les flancs. La bouche est petite, les mâchoires ne dépassent pas l'aplomb de l'iris.



Les **smolts** ont une livrée argentée, brillante et une silhouette plus allongée.

Pendant le frai, les **mâles reproducteurs** ont, en plus de leur couleur caractéristique, la peau qui s'épaissit, qui devient plus résistante et un crochet accentué à la mâchoire inférieure qui apparaît.



BIOLOGIE DE L'ESPECE

Le saumon est une espèce **anadrome**, qui remonte les cours d'eau douce pour frayer. C'est un migrateur **amphibiotique** par ses possibilités de vie en eau douce et eau de mer, **potamotoque** parce qu'il accomplit sa ponte en eau douce. La majeure partie de sa croissance s'effectuera en mer.

1. Le Saumon atlantique (*Salmo salar* L.) sur l'axe Loire-Allier

1.1. Bref historique

Jusqu'à la fin du XVIII^{ème} siècle, le Saumon atlantique (*Salmo salar* L.) (Planche 1) fréquentait la majorité des cours d'eau européens de la façade Atlantique, de la Manche et de la Mer du Nord (Baglinière et al. 2002). Présent dans les petites rivières et fleuves côtiers, il abondait également dans la plupart des grands cours d'eau allant du Portugal à l'Allemagne (Cohendet 1993). Depuis le début de la révolution industrielle, l'activité humaine croissante et la création de nouvelles infrastructures sur ces cours d'eau ont entravé son cycle de vie. Ces entraves ont pris différents aspects liés à l'aménagement des rivières (barrages, endiguements), aux pollutions chimiques (agricoles, industrielles, ménagères) et mécaniques (extraction de granulats), à la surpêche, au développement de l'aquaculture et aux changements climatiques globaux (Cohendet 1993, Valiente *et al.* 2005). A la suite de ces agressions diverses, la situation des populations de saumon inféodées aux grands systèmes fluviaux est devenue alarmante. En se limitant au seul territoire français et avant la mise en place de plans de restauration, le saumon avait disparu des bassins de la Garonne, de la Seine, de la Meuse et du Rhin (Thibault 1994) (Fig. 1). Seules subsistaient les populations liées aux systèmes côtiers du Massif Armoricain et des Pyrénées-Atlantiques (bassin de l'Adour et Nivelle) à l'exception des saumons encore présents sur l'axe Loire-Allier.

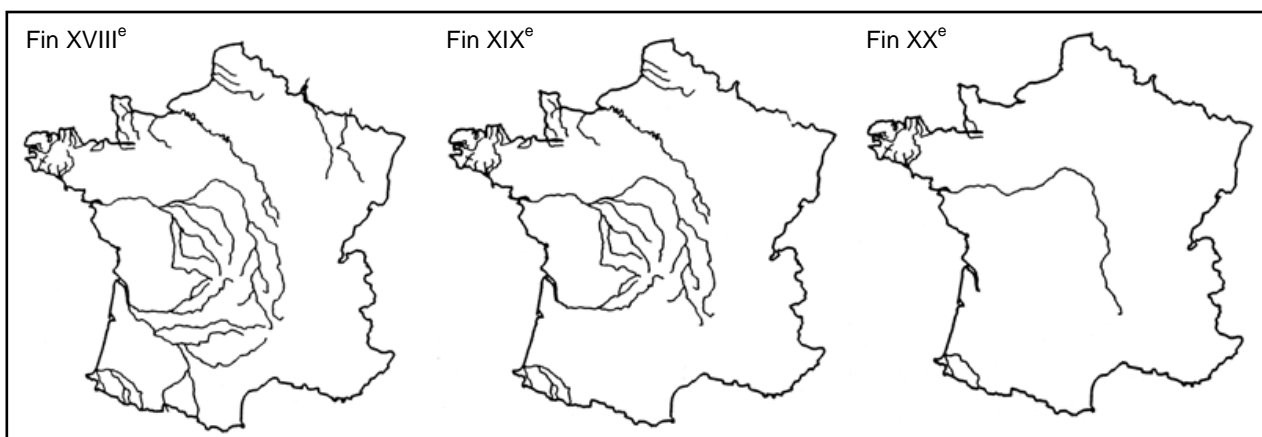


Fig. 1. Evolution de la répartition du *Salmo salar* L. en France au cours des siècles (d'après Thibault 1987).

Tableau 1. Définition des types de saumon en fonction de l'âge en mer et composition relative de la population de la "souche" Allier (Baglinière et Porcher 1994).

AGE DE MER	TYPE	TAILLE – POIDS	%
1 an	<i>Grilse</i> (Anglais) Castillon (Bretagne) Madeleineau (Loire-Allier et Adour-Nivelle)	50 à 65 cm – 1,5 à 4 kg	1,5
2 ans	Petit saumon ou "saumon de printemps"	70 à 90 cm – 3 à 7 kg	66
3 ans	Grand saumon ou "saumon d'hiver"	> 90 cm – 5 à 12 kg	32
4 ans	Très grand saumon		0,5

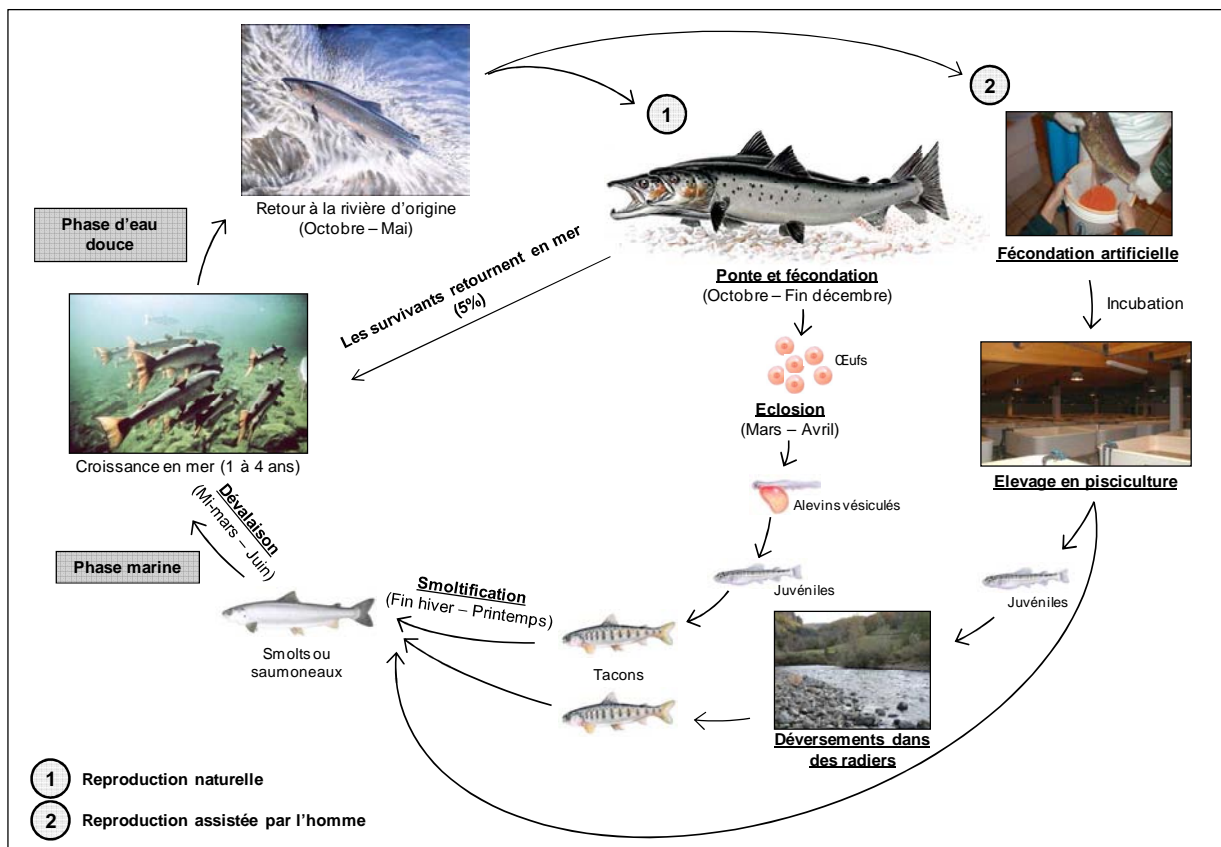


Fig. 2. Cycle de vie de *Salmo salar* sur l'axe Loire-Allier (Photos du CNSS et Peintures de Rod Sutterby).

Le nombre de saumons reproducteurs entrant dans l'estuaire de la Loire a été estimé entre 50 000 et 100 000 individus par an, avant la construction des premiers grands barrages industriels au XIX^{ème} siècle (Cohendet 1993). Entre 1900 et 1940, il a diminué jusqu'à atteindre 5 000 individus, puis, a continué à régresser atteignant la limite de l'extinction (200 individus) en 1994. A l'heure actuelle, l'effectif annuel des remontées se situe aux environs de 500 adultes, chiffre qui reste encore inférieur au seuil de conservation nécessaire (1 400 adultes) pour assurer à terme la pérennité de l'espèce sur l'axe Loire-Allier et une éventuelle reprise de son exploitation (Bach *et al.* 2007).

1.2. Le saumon sur l'axe Loire-Allier

La population de saumon de l'axe Loire-Allier est la dernière population d'Europe occidentale inféodée aux grands systèmes fluviaux. Elle possède, en principe, les adaptations physiologiques nécessaires à la réalisation de longs trajets migratoires en eau douce (940 km entre l'estuaire et les zones de frayères du Haut-Allier) (Bach *et al.* 2007). De plus, une des caractéristiques essentielles de cette population est l'existence d'une forte proportion de reproducteurs ayant passé trois hivers en mer (type "grands saumons" ; Tableau 1), alors que ces derniers semblent avoir pratiquement disparu des autres rivières françaises (Prouzet et Cuende 1994). Le saumon de l'axe Loire-Allier demeure ainsi la dernière "souche" capable de présenter un cycle long de 4 à 5 ans en moyenne (Thibault 1987). Le patrimoine génétique de cette population est pour ces raisons considéré comme unique, justifiant ainsi l'intérêt écologique et patrimonial porté à ce stock actuellement menacé. La diversité génétique entre les populations de Saumon atlantique est généralement faible, en particulier entre les populations sauvages des rivières européennes atlantiques (Cohendet 1993). Cependant, il est très difficile de savoir si la "souche Allier" actuelle est la même que celle que l'on retrouvait il y a 50 ans. Les nombreux déversements de poissons de souches étrangères (Canada, Ecosse, Norvège, Pologne,...) effectués dans l'Allier et ses affluents de 1925 jusqu'en 1980, ont probablement modifié les caractéristiques génétiques de la souche ancestrale.

Le saumon "Loire-Allier" effectue son cycle vital suivant le schéma général décrit à la figure 2, mais présente certaines caractéristiques (smoltification précoce, croissance prolongée en mer, entrée précoce en estuaire) liées à la nature du cours d'eau et aux facteurs génétiques, qui le distinguent nettement des populations de Saumon atlantique géographiquement proches, et en particulier des autres saumons français (Cohendet 1993). La longue distance de migration vers les frayères explique son entrée précoce en estuaire, soit 6 à 14 mois avant la

PLANCHE 2 : Smoltification

La smoltification est une spécialisation adaptative en vue de la dévalaison, de l'entrée dans l'eau salée et du séjour océanique. Les tacons vont ainsi subir un ensemble de processus contrôlés par différentes hormones, impliquant des changements comportementaux, morphologiques, biochimiques et physiologiques (Folmar et Dickoff 1980). Alors qu'ils sont encore en eau douce, les tacons vont prendre une livrée argentée et s'allonger. Leur rhéotaxie positive et leur territorialité vont disparaître pour laisser place à un comportement grégaire. Ils vont également subir des changements d'ordre physiologique comme une tolérance accrue à la salinité, une augmentation de leur sensibilité olfactive, de leur métabolisme, de leur potentiel de croissance ainsi qu'une modification de leur hémoglobine et de leurs pigments visuels (McCormick *et al.* 1998). Les tacons vont alors se transformer en smolts aptes à dévaler. Le déclenchement de la migration ne pourra s'effectuer que si les paramètres physiologiques tels que le taux de croissance et la taille de l'individu sont optimums (Elsou 1957). Il dépendra aussi de facteurs environnementaux tels que la photopériode, la température et le débit (Skilbrei *et al.* 1997, McCormick *et al.* 1998, Riley *et al.* 2002, Jensen 2003).



Tacon



Smolt

reproduction sur l'axe Loire-Allier (d'octobre à mai inclus), contre 2 à 10 mois pour les autres rivières françaises (de février à octobre). Une fois les zones de frayères atteintes, le frai s'étalera sur une période de 20 à 25 jours comprise entre octobre et la fin décembre. L'éclosion des œufs aura lieu en mars-avril.

2. Stade résidentiel en eau douce des jeunes saumons

Le stade résidentiel en eau douce est une période très importante du cycle de vie de *S. salar* (Fig. 2); sa durée est assez variable selon les régions. Au cours de cette phase de croissance potamique, l'alevin puis le tacon vont passer plusieurs mois et parfois jusqu'à 2 à 3 ans à s'alimenter activement avant de connaître au printemps suivant une phase de smoltification (Planche 2). A l'issue de cette transformation, le smolt va engager sa migration vers les zones d'engraissement marines. Il aura alors quelques mois (mi-mars à juin) pour quitter les zones de croissance du Haut-Allier (Cohendet 1993).

2.1. Habitat

Les jeunes saumons en rivière n'utilisent pas tous les habitats disponibles sur une séquence hydromorphologique, mais occupent spécifiquement ceux qui correspondent le mieux à leurs aptitudes comportementales vis-à-vis des facteurs abiotiques (température, qualité de l'eau, oxygénation, caractéristiques morphodynamiques,...) et biotiques (présence de congénères ou d'autres espèces piscicoles, ressources trophiques,...) (Heland et Dumas 1994). En général on les retrouve sur des faciès d'écoulement particulier, les radiers (Bardonnet et Baglinière 2000). Ces secteurs peu profonds et graveleux sont des composantes essentielles des macrohabitats rencontrés dans les zones de rhithron et d'épipotamon. Les tacons privilégient tout particulièrement les secteurs présentant des vitesses de courant rapides comprises entre 10 et 60 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$, une hauteur d'eau faible entre 20 et 70 cm, et un substrat grossier principalement constitué de graviers, de galets et de blocs (Heggenes et Saltveit 1990). Ces types de substrat leur offrent de nombreux microhabitats-refuges (McCormick *et al.* 1998), de même que la végétation aquatique (*Callitriche sp.*, Renonculacées) souvent abondante dans certains radiers et pouvant influencer leur micro-répartition (Baglinière et Champigneulle 1982). La température et l'oxygénation de l'eau sont également des facteurs physiques limitant. La littérature indique une activité optimale du tacon pour une gamme de température allant de 7 à 22°C dans une eau saturée en oxygène (Gibson 1993).

Les zones amont de l'Allier offrent un habitat naturel favorable à la reproduction du saumon et à la croissance des juvéniles: présence de fosses parfois profondes (4 à 5 m) suivies de plats et de radiers-rapides, le tout sur fond de galets et de blocs. Ces séquences d'écoulements présentent une pente de lit assez marquée généralement comprise entre 1,4 et 6,5 ‰, des courant turbulents et soutenus de 0,2 à 1 m·s⁻¹, une oxygénation optimale de 7 à 8 mg·L⁻¹ et de faibles profondeurs moyennes comprises entre 20 et 60 cm. La température estivale peut atteindre 18 à 23°C et le pH est de 6,8–7 (Cuinat 1986, Cohendet 1993). La qualité des eaux est comprise entre 1A (très bonne) et 1B (bonne) selon la grille d'évaluation du SEQ-EAU et les analyses physico-chimiques effectuées par la cellule ODE 43 du Conseil Général de la Haute-Loire (Anonyme 2003).

2.2. Croissance

A l'éclosion (mars-avril), la longueur totale moyenne des alevins se situe entre 2 et 3 cm pour un poids moyen de 0,2–0,3 g (Heland et Dumas 1994). Un mois plus tard, les alevins quittent leur frayère (émergence) et se dispersent dans les zones de courant. Ils s'y nourrissent et y grandissent atteignant une taille d'environ 11–12 cm au début de l'automne (Prouzet 1990).

La vitesse de croissance en eau douce est fonction de la température de l'eau liée à la latitude et à l'altitude des secteurs de cours d'eau considérés (Metcalf et Thorpe 1990, Englund *et al.* 1999). Dans les zones de climat tempéré (Grande-Bretagne, France), elle est plus rapide que dans les latitudes nordiques (Scandinavie) (Heland et Dumas 1994, Erkinaro et Niemelä 1995). Sur l'Allier, l'âge moyen atteint en début de smoltification est de 1,12 ans (Heland et Dumas 1994). D'après Bousquet (1979), 89% des tacons de cette rivière smoltifient vers 1 an, 11% vers 2 ans et seulement 0,6% vers 3 ans. A titre d'exemple sur la rivière Margaree (Nouvelle-Ecosse), les tacons ne smoltifient qu'à partir de la deuxième année (Strothotte *et al.* 2005). De manière plus précise, le déclenchement de la smoltification dépendra de la taille atteinte au printemps suivant la saison de croissance des 0+ ou 1+. Il va donc dépendre de la vitesse de croissance des tacons. Les autres facteurs influençant la vitesse de croissance sont fonction des caractéristiques de l'habitat, tels que la température, le débit et les variations de vitesse du courant sur les radiers (Salveit 1990, Jensen 2003). La photopériode est également un facteur important tout comme les facteurs de densité-dépendance (Skilbrei *et al.* 1997, Grant et Imre 2005). Ainsi, la concurrence intra- et interspécifique pour l'habitat et la nourriture peuvent affecter la survie et la croissance des

tacons (Kennedy et Strange 1986). L'accès à la nourriture découle partiellement de la concurrence au sein des radiers, mais également de la densité et de la biomasse de proies disponibles dans le milieu (Richardson 1993, Erkinaro et Erkinaro 1998).

Le rythme de croissance des tacons est généralement maximal de mai à octobre (Jensen 2003, Strothotte *et al.* 2005). Bien qu'un gain de taille ait pu être observé en hiver dans certaines régions nordiques (Finstad *et al.* 2004), la croissance diminue généralement en automne pour reprendre ensuite au début du printemps. A la fin de la période estivale, deux catégories de taille sont généralement observées au sein des tacons 0+, un groupe modal supérieur et un groupe modal inférieur, conduisant à une répartition bimodale des fréquences de longueur (Jonsson *et al.* 1998, Utrilla et Lobón-Cerviá 1999). Les individus du mode de croissance élevé smoltifient au printemps suivant et migrent vers l'océan au cours de l'été (âge 1+), tandis que les poissons appartenant au mode de croissance plus faible restent une, voire parfois deux années supplémentaires en eau douce (Espagne, Irlande, France, Nouvelle Angleterre...) (Nicieza *et al.* 1991, Baglinière *et al.* 1993, Crozier et Kennedy 1995). Dès l'émergence, certains individus s'alimentent régulièrement, grandissent, et stockent de l'énergie préparant ainsi la smoltification, alors que d'autres réduisent leur comportement alimentaire (diminution des distances de capture des proies, inhibition des captures en présence de prédateur) et montrent des taux de croissance plus faibles prolongeant ainsi leur séjour en rivière (Metcalf et Thorpe 1992, Thorpe *et al.* 1992, Simpson *et al.* 1996). Cette répartition bimodale des fréquences de longueur chez les tacons est également observée en salmoniculture (Baglinière et Champigneulle 1986, Heggenes et Metcalfe 1991, Shrimpton *et al.* 2000) mais rarement au sein des populations sauvages des rivières nordiques en raison d'une smoltification plus tardive (Strothotte *et al.* 2005). L'âge des smolts peut alors varier de 1 à 6 ans dans ces régions (Metcalf 1998, Englund *et al.* 1999, Strothotte *et al.* 2005).

2.3. Régime alimentaire

Au stade juvénile, les saumons sont principalement des invertivores qui s'alimentent au dépend des macroinvertébrés benthiques du cours d'eau. Ce sont des prédateurs visuels opportunistes, qui vont s'orienter vers les proies les plus accessibles et les plus abondantes dans le milieu (Thonney et Gibson 1989, Forrester *et al.* 1994, Vignes 1995, Keeley et Grant 1997). La disponibilité et la composition des proies variant en fonction de la saison et du positionnement des radiers, des variations dans le type de proies ingérées peuvent être observées le long du *continuum* fluvial (gradient amont-aval) (Vannote *et al.* 1980, Vignes

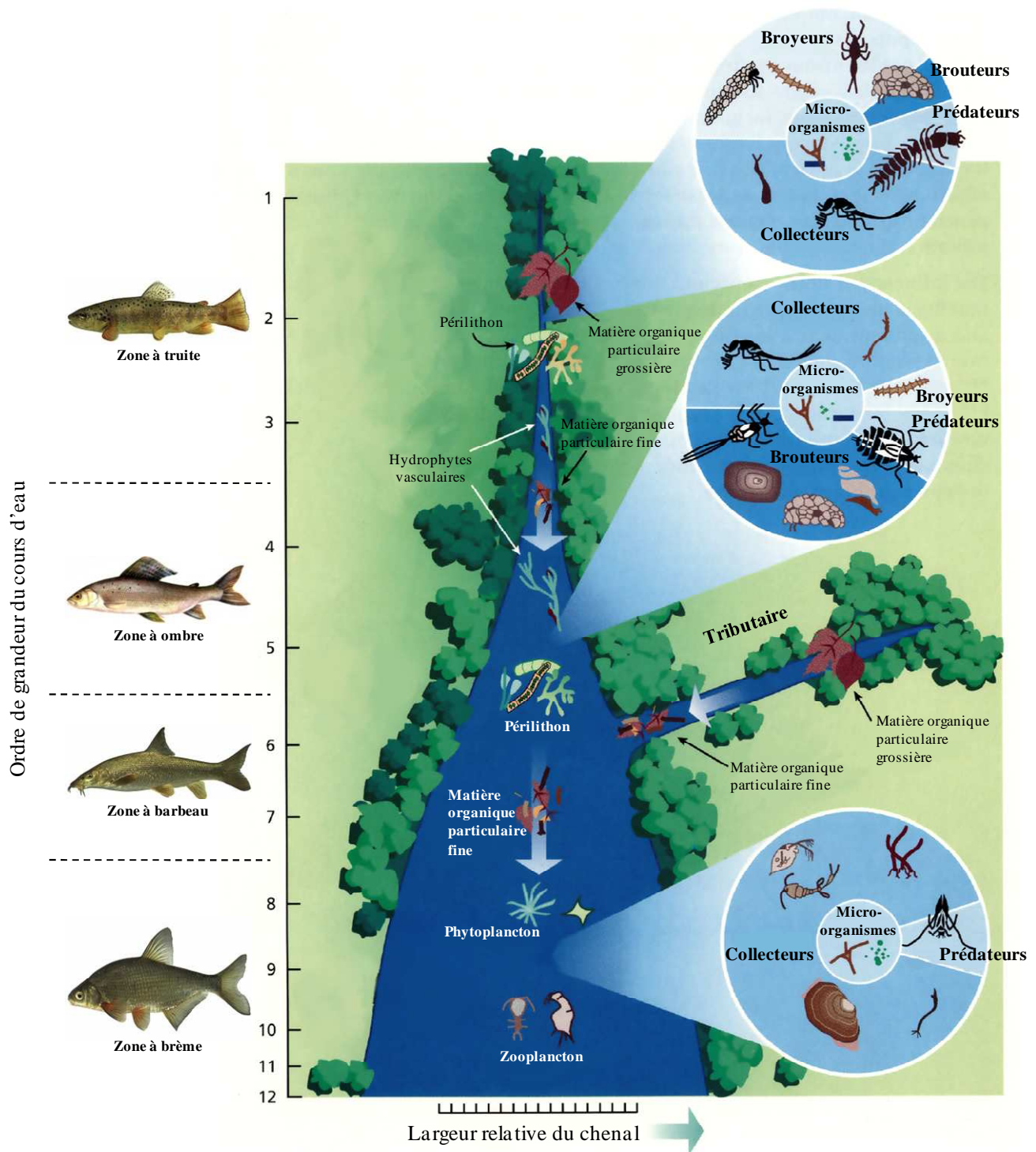


Fig. 3. Concept du *continuum* fluvial (adapté de Vannote *et al.* 1980).

1995) (Fig. 3). Les macroinvertébrés sont capturés sur le fond ou au moment de la dérive et la proportion de formes adultes prises en surface ou d'insectes terrestres reste assez faible (Muje *et al.* 1989, Desvillettes *et al.* 1997b). Malgré une grande diversité de proies potentiellement ingérables au niveau des zones de radier, les tacons semblent se focaliser sur un petit nombre d'unités taxonomiques (Diptères, Ephéméroptères, Plécoptères et Trichoptères), que ce soit dans les rivières tempérées (Maitland 1965, Stradmeyer et Thorpe 1987a, Vignes 1995) ou subarctiques (Thonney et Gibson 1989, Keeley et Grant 1997, Amundsen *et al.* 2001). En fonction de leur comportement, certaines larves ou nymphes comme celles des *Simuliidae* (Diptères), des *Capniidae* et *Leuctridae* (Plécoptères), des *Ephemerellidae* (Ephéméroptères) et de la plupart des Trichoptères sont plus souvent capturées *in situ* au niveau des substrats (Vignes 1995, 1998, Amundsen *et al.* 2001), tandis que d'autres comme les nymphes de *Baetidae* (Ephéméroptères) et les larves de *Chironomidae* (Diptères) sont majoritairement capturées au cours de leur dérive dans la masse d'eau (Forrester 1994, Rader 1997, Gabler *et al.* 2001). Le régime alimentaire du tacon peut également varier en fonction de son stade de développement (Keeley et Grant 1997, Erkinaro et Erkinaro 1998). Ainsi, la taille des macroinvertébrés est un facteur limitant de la sélection des proies (Wankowski 1979), qui peut être corrélée à la taille du poisson (Keeley et Grant 1997, Vignes 1998). Les changements de régime alimentaire s'opèrent en fonction des caractéristiques morphologiques telles que le diamètre de l'ouverture buccale et l'espacement entre les arcs branchiaux qui évoluent avec l'âge du tacon (Wankowski 1979). En dernier lieu, l'apport énergétique des proies, dépendant de la dépense métabolique liée à leur capture puis à leur digestibilité, entre aussi en compte dans la sélection des macroinvertébrés (Reiriz *et al.* 1998) ; cet aspect demeure encore peu étudié. A ce sujet, quelques travaux effectués chez les larves et juvéniles d'autres poissons d'eau douce (Corégonidés et Esocidés) ont montré que certaines catégories de proies (microcrustacés et larves d'insectes) étaient préférentiellement capturées en fonction de leur contenu énergétique et de leur apport en composés essentiels (Muje *et al.* 1989, Desvillettes *et al.* 1997c). Les teneurs en lipides (triglycérides et phospholipides) ainsi que les compositions en AGPI des proies sont alors des facteurs essentiels, déterminants leur qualité nutritionnelle (Henderson et Tocher 1987, Desvillettes *et al.* 1997c, Corraze 1999).

3. Métabolisme lipidique des stades juvéniles de Salmonidés

Les AG (Planche 3) des poissons proviennent soit de la synthèse *de novo*, soit des lipides alimentaires (Henderson 1996). En général, une part importante des AG issus de l'alimentation est oxydée pour fournir de l'énergie, le reste étant soit incorporé dans les lipides de réserve (ou lipides neutres, LN), soit estérifié dans les lipides structuraux des membranes (Phospholipides) (Ruyter *et al.* 2000).

La synthèse *de novo* s'effectue généralement à partir de précurseurs non lipidiques (glucose et acides aminés) utilisés comme source de carbone. Elle permet de produire essentiellement des acides gras saturés (AGS) de 12 à 18 atomes de carbone (Henderson 1996). Le niveau de synthèse endogène est souvent influencé par la nourriture. Il s'accroît lorsque l'apport en AG alimentaires est faible et, à l'inverse, diminue lorsque les AG préformés sont abondants dans l'alimentation (Henderson 1996). Les AG, qu'ils soient d'origine endogène ou exogène, peuvent être modifiés par l'intermédiaire de divers systèmes enzymatiques situés au niveau du réticulum endoplasmique, des mitochondries et des péroxysomes cellulaires (Sprecher 2000, Qiu 2003). L'activité enzymatique de bioconversion des AG varie selon les familles de poissons, le stade de développement et l'état nutritionnel (Henderson et Tocher 1987). Les besoins et le métabolisme des AG sont assez similaires entre les divers genres d'une même famille, notamment chez les Salmonidés (genres *Salmo*, *Salvelinus* et *Onchorhynchus*) (Olsen 1998).

Contrairement aux végétaux, aux eucaryotes unicellulaires et à certains invertébrés (Nématodes, Orthoptères), les vertébrés et donc les Salmonidés ne peuvent pas désaturer les AG en deçà de la position ω_9 , bien qu'ils aient besoin de ces composés pour leur développement et leur croissance. En milieu aquatique, cela implique que toutes les liaisons ω_3 et ω_6 aient été formées par d'autres organismes, parmi lesquels les microalgues joueraient un rôle prépondérant (Olsen 1998). Ainsi, les Salmonidés aptes à synthétiser l'AG 18:1 ω_9 à partir du 18:0, via l'enzyme Δ_9 -désaturase (Fig. 4), sont incapables de synthétiser *de novo* le 18:2 ω_6 et le 18:3 ω_3 (Henderson et Tocher 1987). Ils sont dépourvus de Δ_{12} -désaturase susceptible de désaturer le 18:1 ω_9 en 18:2 ω_6 , et de Δ_{15} -désaturase capable de convertir ce dernier en 18:3 ω_3 (Miller *et al.* 2007) (Fig. 4). Devant être obligatoirement apportés par la nourriture, ces AGPI sont dits "essentiels". Les exigences précises en AG essentiels varient quantitativement et qualitativement selon les familles de poissons téléostéens considérées (Watanabe 1982, Sargent *et al.* 1999b).

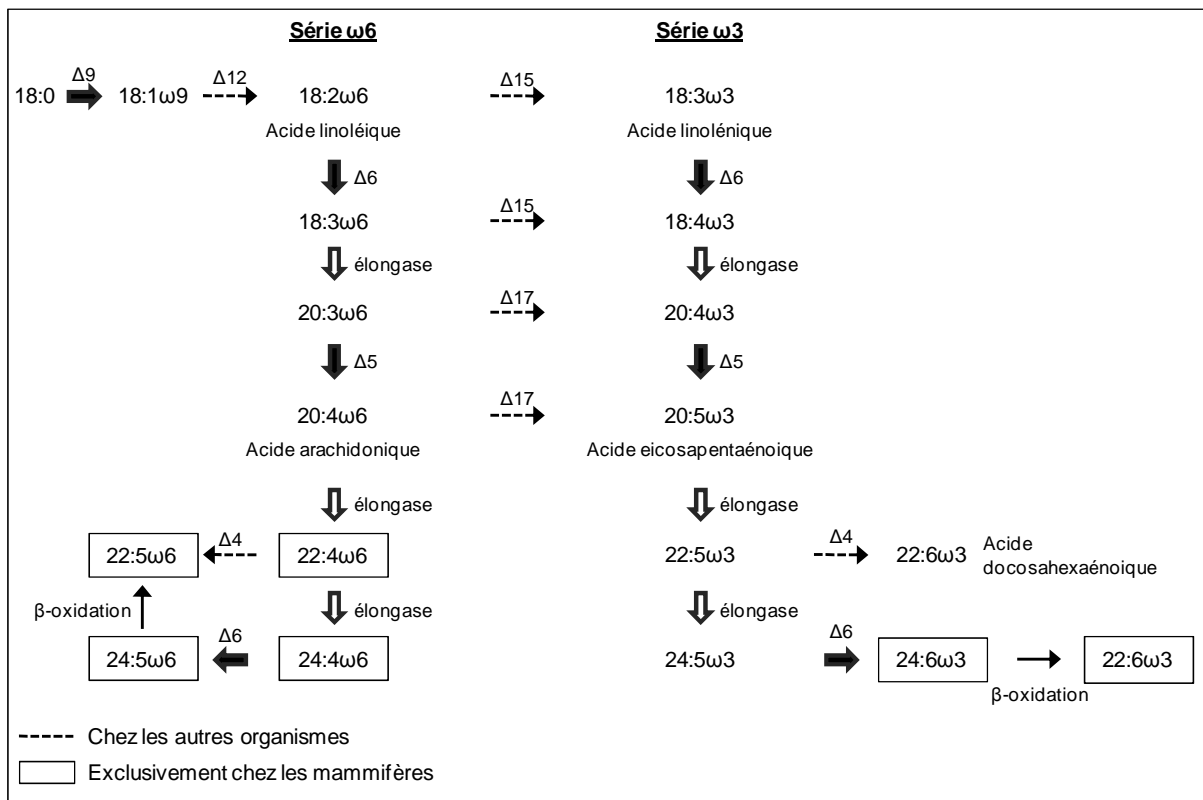


Fig. 4. Désaturation et élongation des AGPI des séries ω6 et ω3. Les flèches pleines indiquent les voies retrouvées chez les mammifères tandis que les flèches pointillées représentent les voies exclusives aux autres types d'organismes (adaptée de Leonard *et al.* 2004).

Les poissons présentant un "modèle typique d'eau douce" tels que les Salmonidés, possèdent les désaturases ($\Delta 6$ et $\Delta 5$) et les élongases leur permettant de synthétiser la totalité des AGPI des séries $\omega 3$ et $\omega 6$ à partir des précurseurs 18:3 $\omega 3$ et 18:2 $\omega 6$ (Henderson et Tocher 1987, Sargent *et al.* 1995a) (Fig. 4). A l'opposé, les espèces marines qui n'ont pas, ou ont au plus une très faible activité de l'enzyme $\Delta 5$ -désaturase, sont incapables de réaliser ces bioconversions à un taux appréciable. Ils devront alors récupérer les AGPI à longue chaîne (20:4 $\omega 6$, 20:5 $\omega 3$ et 22:6 $\omega 3$) via leur nourriture (Sargent *et al.* 1995a). La synthèse des AGPI à longue chaîne (20 et 22 atomes de carbone) est cependant coûteuse sur le plan énergétique. Plusieurs études ont montré qu'il était important, pour une croissance optimale des Salmonidés d'élevage, d'apporter ces composés directement dans l'alimentation (Olsen 1998, Corraze 1999). De plus, les besoins en AG, notamment ceux des juvéniles, ne se limitent pas uniquement aux AGPI mais également à certains composés monoinsaturés (AGMI) aisément catabolisables (Sargent 1989). D'après des recherches effectuées en aquaculture expérimentale, les juvéniles de saumons ont besoin de 18:1 $\omega 9$, d'AGPI de la série $\omega 3$ (18:3 $\omega 3$, 20:5 $\omega 3$ et 22:6 $\omega 3$) et de la série $\omega 6$ comme le 18:2 $\omega 6$ et surtout le 20:4 $\omega 6$ (Bell *et al.* 1997, 2003b, Huang *et al.* 2008). La nourriture proposée à ces juvéniles, souvent issue d'huiles extraites de résidus de pêche industrielle, doit donc être équilibrée entre ces divers AG (Bendiksen *et al.* 2003). Les formes monoinsaturés, comme le 18:1 $\omega 9$ et le 22:1 $\omega 9$, sont utilisées comme substrats énergétiques pour la β -oxydation pendant la smoltification et la migration anadrome (Henderson 1996, Tocher *et al.* 2000, Bell *et al.* 2003a, Bendiksen *et al.* 2003). Quant aux 18:3 $\omega 3$ et 18:2 $\omega 6$, ils sont habituellement bioconvertis en 22:6 $\omega 3$ et 20:4 $\omega 6$ (Henderson 1996, Bell *et al.* 1997). Cependant si les apports en ces deux derniers composés sont suffisants, le 18:3 $\omega 3$ et le 18:2 $\omega 6$ peuvent également être stockés et utilisés comme substrats énergétiques pendant les phases d'hivernage et de smoltification (Bell *et al.* 1989, Bendiksen *et al.* 2003).

Outre le rôle classique de couverture des besoins énergétiques assuré par l'hydrolyse des lipides de réserve et l'oxydation sélective de plusieurs AG, les AGPI sont intimement liés aux mécanismes physiologiques et biochimiques essentiels au développement des organismes aquatiques (Arts *et al.* 2001). L'abondance des AGPI à longue chaîne carbonée au niveau des phospholipides membranaires confère à ces composés un rôle structuro-modulateur permettant d'adapter les membranes cellulaires à la température de l'eau (Farkas 1984, Henderson et Tocher 1987). Cette spécificité est liée au point de fusion très bas des AGPI à longue chaîne carbonée (20:5 $\omega 3$ et 22:6 $\omega 3$) dans leur forme libre (Arts *et al.* 2001). Par ailleurs, le 22:6 $\omega 3$ est le composé essentiel des phospholipides des cellules rétinienne,

oculaires et nerveuses des jeunes vertébrés (Sargent *et al.* 1999a, Arts *et al.* 2001). Certains AG comme le 20:4 ω 6, et dans une moindre mesure le 20:5 ω 3, sont également à l'origine de la synthèse des eicosanoïdes, composés impliqués dans de nombreuses fonctions physiologiques (osmorégulation, défense immunitaire, reproduction,...) (Bell *et al.* 1997, Sargent *et al.* 1999a). Le 20:4 ω 6 joue notamment un rôle dans la régulation des flux ioniques et hydriques des branchies et des reins au cours de la transition eau douce – eau de mer chez les Salmonidés (Mustafa et Srivastava 1989). Les perturbations physiologiques occasionnées par des carences en AGPI à longue chaîne carbonée soulignent l'importance de ces molécules. Ainsi, chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), on observe une réduction marquée de la perméabilité ionique au niveau de la bordure en brosse intestinale (Di Constanzo *et al.* 1983). Une composition en AG inadaptée des membranes cellulaires branchiales peut également affecter l'activité des pompes ioniques et des enzymes transmembranaires, incluant la Na⁺/K⁺-ATPase (Gerbi *et al.* 1994).

4. Importance des biomarqueurs lipidiques dans les réseaux trophiques des milieux lotiques

4.1. Intérêt de l'utilisation des biomarqueurs lipidiques

Depuis le milieu des années 1980, divers composés lipidiques ont été utilisés dans les écosystèmes aquatiques pour visualiser les flux de matières et d'énergies d'un compartiment trophique à l'autre (Brett et Müller-Navarra 1997 , Desvilettes *et al.* 1997a , Napolitano 1998, Müller-Navarra *et al.* 2000, Budge *et al.* 2002, Rossi *et al.* 2006). Dans leur grande majorité, ces biomarqueurs sont des lipides.

Parmi ces derniers, les stérols (molécules triterpènes tétracycliques à fonction alcool) offrent des potentialités qui intéressent à la fois les géochimistes et les biologistes. Ils sont présents chez les cyanobactéries et la plupart des eucaryotes. Par contre, la majorité des bactéries en sont dépourvues (Goad 1981). Assez peu d'études ont été consacrées à la dynamique des stérols en milieu lotique et la plupart sont assez récentes (O'Leary *et al.* 1999, Hudson *et al.* 2001). Il ressort de ces travaux que les stérols peuvent être des marqueurs de rejets organiques non traités (égoûts, lisiers) grâce à la présence de molécules telles que le coprostanol, produit de la dégradation intestinale du cholestérol chez les mammifères (Quéméneur et Marty 1992). En milieu marin, on a pu mettre en évidence un

transfert entre le phytoplancton et certains crustacés et mollusques grâce aux différences existant entre les phytostérols, caractéristiques de différents groupes de microalgues, et les zoostérols constitués principalement de cholestérol et de ses dérivés (déhydrocholestérol et norcholestérol) (Beghin 1999). Toutefois les informations données par les stérols ne sont pas univoques du fait de l'ubiquité de certains phytostérols algaux et de la dominance du cholestérol chez les invertébrés, ce qui constitue une des limites de l'utilisation de ces molécules (Volkman *et al.* 1998).

Les AG, eux, intègrent les processus d'alimentation, d'absorption et d'accumulation des réserves énergétiques (Napolitano 1998). Les potentialités de biomarqueurs ou de traceurs qu'ils offrent sont désormais bien connues. Même s'il est rare qu'un seul et unique AG puisse servir de marqueur, il est possible d'utiliser un groupe ou une série d'AG caractéristique d'un ensemble taxonomique homogène. Par exemple, certains AGPI à 16 atomes de carbones (16:1 ω 7, 16:2 ω 4, 16:2 ω 6, 16:3 ω 3, 16:3 ω 4, 16:4 ω 1 et 16:4 ω 3) sont abondants dans les lipides de diatomées et de chlorophycées (Bourdier et Amblard 1987, Dunstan *et al.* 1994, Lévillé *et al.* 1997, Napolitano 1998). De la même manière, les AG impairs ramifiés (forme *iso* et *anteiso* à 15 et 17 atomes de carbones) sont eux représentatifs de la biomasse bactérienne des milieux aquatiques (Kaneda 1991, Ederington *et al.* 1995, Desvilettes *et al.* 1997a, Ackman 1998). Il faut également prendre en compte les modifications métaboliques qui peuvent affecter les AG issus de l'alimentation. D'un compartiment trophique à l'autre, des changements peuvent s'opérer car les AG ne sont pas des composés inertes; ils peuvent être partiellement catabolisés, subir, comme nous l'avons vu dans le paragraphe précédent, des elongations ou des désaturations en fonction de leur implication physiologique (Henderson 1996, Jobling et Bendiksen 2003). En raison du caractère essentiel de plusieurs d'entre eux, les AGPI doivent donc être apportés par le biais de l'alimentation, car ils sont le plus souvent synthétisés *de novo* en quantité insuffisante (Kainz *et al.* 2004). De ce fait, ils sont généralement peu modifiés au cours de leur transfert le long des chaînes trophiques. Plusieurs AG spécifiques peuvent donc être à la fois des biomarqueurs et des indicateurs de la qualité de la nourriture (Brett et Müller-Navarra 1997).

4.2. Caractérisation de la matière organique et des microorganismes dans les cours d'eau à l'aide des acides gras

Les apports de matière organique à partir du milieu terrestre (production allochtone majoritairement issue de la ripisylve) et la production primaire liée aux microalgues

benthiques et aux macrophytes (production autochtone) constituent la base énergétique nécessaire au fonctionnement de l'écosystème lotique et au développement des organismes hétérotrophes tels que les invertébrés et les poissons (Fig. 3). Ces sources de nourriture, telles que la matière organique dérivant dans le courant, la matière organique déposée sur le substrat et le biofilm périlithique, peuvent résulter d'un mélange de litière (feuilles mortes), de matière détritique et de microorganismes divers (bactéries, champignons, protistes...) (Baldy *et al.* 1995, Suberkropp 2001, Hieber et Gessner 2002, Bernhardt et Likens 2004). Par conséquent, la composition des sources trophiques et le rôle des différents pools de matière vont être difficiles à appréhender. Les AG biomarqueurs peuvent alors servir à caractériser les divers composants de cette matière organique.

4.2.1. Matière organique détritique fine (< 1 mm)

La matière organique détritique fine résulte de la dégradation de la matière organique particulaire grossière et du lessivage des biofilms périlithiques. De ce fait, sa composition est complexe. Elle renferme généralement des débris de végétaux supérieurs (feuilles mortes des litières), des microalgues benthiques plus ou moins sénescents et des résidus d'exuvie, le tout colonisé par des bactéries, des protozoaires et des hyphomycètes.

Les particules organiques provenant de la dégradation des litières se caractérisent par de fortes proportions d'AGS à longue chaîne carbonée entre 24 à 32 atomes de carbone provenant des cires cuticulaires (Scribe et Bourdier 1995). L'état de maturation de la litière peut se définir par le rapport des acides gras insaturés (AGI) sur les AGS. Mills *et al.* (2003) ont ainsi montré que la chute des feuilles en automne se reflétait par un ratio AGI/AGS élevé qui diminuait au cours de la saison. En général, la matière organique détritique fine est une source de nourriture de moins bonne qualité pour les macroinvertébrés aquatiques que les microalgues périlithiques (Lamberti 1996, Füreder *et al.* 2003). Toutefois, sa colonisation par les microorganismes (bactéries et hyphomycètes) semble augmenter sa valeur nutritionnelle (Torres-Ruiz *et al.* 2007).

4.2.2. Hyphomycètes et bactéries

La composition lipidique des mycètes est pratiquement inconnue en rivière. De manière analogue à ceux rencontrés dans les sols, ils contiennent de l'ergostérol (Gessner *et al.* 2003). On peut envisager que leurs profils d'AG soient assez proches de ceux des formes terrestres renfermant principalement des AG à 14, 16 et 18 atomes de carbone et dont les composés polyinsaturés appartiennent uniquement à la série $\omega 6$ (Chamberlain *et al.* 2006).

La présence bactérienne (Eubactéries et cyanobactéries) se détecte à l'aide d'AG présentant des chaînes carbonées de 13 à 20 atomes de carbone. Les AG ramifiés (*iso* et *anteiso*) impairs à 15, 16 et 17 atomes de carbone sont caractéristiques des Eubactéries, notamment des gram-positives, et de certaines formes anaérobies (Kaneda 1991). Ce sont les marqueurs les plus couramment employés, pouvant représenter 50 à 90% des AG totaux bactériens (Scribe *et al.* 1990). Une quantité significative de 16:1 ω 5, de 18:1 ω 7 et de 10*me*-C16:0 peut également être considérée comme un indicateur de leur présence (Gillan *et al.* 1981). En général, les bactéries hétérotrophes ne peuvent pas biosynthétiser d'AGPI (Sargent *et al.* 1995b). En revanche, les cyanobactéries peuvent synthétiser du 18:2 ω 6 et du 18:3 ω 3 (Sargent *et al.* 1987), mais il est rare que la chaîne carbonée soit supérieure à 18 atomes de carbone et le nombre de doubles liaisons supérieur à 3.

4.2.3. Protozoaires

Les protozoaires ne possèdent pas une composition en AG caractéristique; celle-ci semble plutôt dépendre de deux principaux facteurs: leur habitat (marin *versus* eau douce) et leur alimentation (bactérovore *versus* algivore) (Desvilettes et Bec 2009). Les protozoaires marins contiennent d'importantes quantités d'AGPI à longue chaîne carbonée de la série ω 3 (Sul et Erwin 1997). Ils présentent des valeurs du rapport AGPI ω 3/AGPI ω 6 élevées alors que les protistes hétérotrophes d'eau douce montrent des valeurs plus faibles (Vera *et al.* 2001, Bec *et al.* 2003b). En effet, les Ciliés d'eau douce se composent surtout de composés de la série ω 6 (Desvilettes *et al.* 1997a). Ils contiennent des AGPI à 18 atomes de carbone et certains genres peuvent également contenir d'importante quantité de 20:4 ω 6 (Kaneshiro 1980, Desvilettes *et al.* 1997a). De plus, Zhukova et Kharlamenko (1999) ont montré que les flagellés bactérovores marins pouvaient produire efficacement des AGPI ω 3 alors que les protistes bactérovores d'eau douce présentaient des valeurs de rapport AGPI ω 3/AGPI ω 6 faibles (Vera *et al.* 2001, Bec *et al.* 2003b). De même, les valeurs du rapport AGPI ω 3/AGPI ω 6 apparaissent généralement plus élevées chez les protozoaires algivores marins (Broglia *et al.* 2003) que chez ceux d'eau douce (Boëchat et Adrian 2005). De façon générale, les protozoaires algivores présentent de plus fortes concentrations en AGPI ω 3 que les bactérovores (Bec *et al.* 2003a, Broglia *et al.* 2003, Boëchat et Adrian 2005).

4.2.4. Microalgues périlithiques

Les microalgues périlithiques constituent une source majeure de nourriture pour les macroinvertébrés racleurs (ex. *Heptagneniidae*, *Ancylidae*) ; elles sont considérées comme

plus énergétiques et nutritionnelles que la matière organique particulaire fine (Lamberti 1996). La diversité taxonomique des microalgues est généralement beaucoup plus faible en rivière que dans les milieux lacustres ou marins. Deux groupes dominant principalement les biofilms: les diatomées et les différentes classes de chlorophycées. Les diatomées périlithiques, comme les diatomées planctoniques, se distinguent par de fortes concentrations en 16:0, 16:1 ω 7 et 20:5 ω 3 (Bourdier et Amblard 1987, Napolitano *et al.* 1996, Léveillé *et al.* 1997), ainsi qu'en AGPI à 16 atomes de carbone (16:2 ω 4, 16:2 ω 7, 16:3 ω 4 et 16:4 ω 1) dont la synthèse se déroule dans les chloroplastes (Dunstan *et al.* 1994, Desvillettes et Bec 2009). Le 22:6 ω 3 est typiquement absent de ces microalgues en rivière (Napolitano 1998). L'utilisation du rapport des AGPI à 16 atomes de carbone sur l'AGS 16:0 peut permettre de caractériser une dominance de diatomées dans le milieu (Léveillé *et al.* 1997). Chez les chlorophycées, on retrouve de fortes proportions en 16:0 et en AGPI à 16 et 18 atomes de carbone (16:3 ω 3, 16:4 ω 3, 18:2 ω 6 et 18:3 ω 3) (Sargent *et al.* 1995b). Les AGPI à longues chaînes (20 et 22 atomes de carbone) sont par contre toujours absents de ces algues vertes. Quelques représentants de chrysophycées, cryptophycées et dinophycées peuvent également être rencontrés au sein des biofilms. Ces flagellés autotrophes se signalent par de fortes teneurs en 18:4 ω 3, 20:5 ω 3 et 22:6 ω 3 (Sargent *et al.* 1995b, Napolitano 1998).

4.3. Teneurs lipidiques et composition en acides gras des macroinvertébrés aquatiques

Dans les milieux lotiques, les macroinvertébrés dominés par les différents stades de développement d'insectes, occupent une place prépondérante au sein des réseaux trophiques (Wallace et Webster 1996). La majorité de ces invertébrés sont des brouteurs, des broyeurs (détritivores) ou des collecteurs-filtreurs (Fig. 3). Ils effectuent ainsi le lien entre la matière organique particulaire et les niveaux trophiques supérieurs (Rader 1997). A l'heure actuelle, seul un petit nombre d'études effectuées dans les rivières ou les lacs s'est attaché à décrire la composition en AG des macroinvertébrés aquatiques, en se limitant le plus souvent à quelques ordres: Coléoptères, Diptères, Ephéméroptères, Plécoptères et Trichoptères (Hanson *et al.* 1985, Bell *et al.* 1994, Ghioni *et al.* 1996, Ahlgren *et al.* 1997, Goedkoop *et al.* 1998, 2000, Sushchik *et al.* 2003, 2006, Torres-Ruiz *et al.* 2007). Les profils d'AG ainsi obtenus semblent varier en fonction des taxons étudiés et apparaissent fortement dépendants de leur régime alimentaire (Ghioni *et al.* 1996, Goedkoop *et al.* 2000).

Dans l'ensemble, les larves ou nymphes d'insectes aquatiques contiennent des AG communément rencontrés dans le monde animal tels que les AGS 16:0 et 18:0 ainsi que les AGMI 16:1 ω 7, 18:1 ω 9 et 18:1 ω 7 (Sushchik *et al.* 2003). De ce fait, les variations taxonomiques apparaissent essentiellement au niveau des AGPI. Ghioni *et al.* (1996) montrent que les AGPI retrouvés chez un Plécoptère, un Hétéroptère (*Corixidae*) et deux Ephéméroptères (*Ecdyonurus venosus* et *Ephemerella*) représentent 16 à 33% des AG extraits des LN et 34 à 56% des AG extraits des lipides polaires (LP). Les AG de la série ω 3 sont généralement les principaux AGPI rencontrés chez les invertébrés, surtout le 20:5 ω 3 et 18:3 ω 3. Quant au 22:6 ω 3, il n'est observé qu'en très faible quantité chez la plupart des groupes étudiés (Bell *et al.* 1994, Sushchik *et al.* 2003). Les AG de la série ω 6, principalement le 18:2 ω 6 sont aussi bien représentés (Bell *et al.* 1994). Le 20:4 ω 6 est observé au sein de la plupart des ordres étudiés, mais souvent en faible quantité (Ghioni *et al.* 1996).

De manière générale, la distribution des AG biomarqueurs reflète les différentes stratégies alimentaires rencontrées chez les larves et nymphes d'insectes. Les espèces qui assimilent préférentiellement des diatomées montrent une élévation des AG 16:1 ω 7 et 20:5 ω 3 (Torres-Ruiz *et al.* 2007). Les détritivores accumulent surtout du 18:1 ω 7 et des AG ramifiés de type *iso*-17:0 d'origine bactérienne (Torres-Ruiz *et al.* 2007). Ces différences mettent en évidence les contributions alimentaires, qu'elles proviennent de sources autotrophes (production microalgale) ou hétérotrophes (détritus organique) (Goedkoop *et al.* 2000). Enfin, certaines espèces de macroinvertébrés seraient capables de bioconvertir les AGPI à 18 atomes de carbone en AGPI à 20 atomes de carbone (ex. le 18:2 ω 6 en 20:4 ω 6; le 18:3 ω 3 en 20:5 ω 3) (Ghioni *et al.* 1996, Sushchik *et al.* 2003) ; les voies de désaturation et d'élongation seraient alors les mêmes que celles rencontrées chez les mammifères (Stanley-Samuelson *et al.* 1988) (Fig. 4). Cependant, elles n'ont pas été encore étudiées chez les espèces des cours d'eau. De même, la synthèse *de novo* du 18:2 ω 6 à partir du 18:1 ω 9 observée chez certains insectes terrestres n'a pas fait l'objet d'investigation en milieu aquatique (Blomquist *et al.* 1982).

Les AGPI à 20 atomes de carbone (20:4 ω 6 et 20:5 ω 3) sont localisés dans des tissus plus spécialisés que chez les espèces terrestres (ex. rétine et spermatozoaires) (Ghioni *et al.* 1996). Une des raisons de cette répartition est leur rôle primordial dans le maintien de la fluidité membranaire à basse température (Hodkova *et al.* 1999). Chez les insectes, ce sont aussi des précurseurs d'eicosanoïdes, composés aussi essentiels pour la croissance et la reproduction des arthropodes qu'ils le sont pour les vertébrés (Stanley-Samuelson 1994, Ghioni *et al.* 1996).

Chapitre II :

Sites d'étude, échantillonnage et méthodologie analytique

Chapitre II: Sites d'étude, échantillonnage et méthodologie analytique

1. Sites d'étude	p 26
1.1. Présentation de la zone d'étude.....	p 26
1.2. Description des sites d'étude.....	p 27
2. Echantillonnage et traitement des échantillons	p 28
2.1. Saumons.....	p 28
2.1.1. <i>Tacons d'élevage</i>	p 29
2.1.2. <i>Tacons déversés sur les radiers du Haut-Allier</i>	p 29
2.2. Macroinvertébrés benthiques.....	p 29
2.3. Sources trophiques.....	p 30
2.3.1. <i>Matière organique déposée (MODép) (< 1 cm)</i>	p 30
2.3.2. <i>Biofilm périlithique</i>	p 30
2.3.3. <i>Matière organique fine en suspension (MOFS) (< 1 mm)</i>	p 30
3. Analyses lipidiques	p 31
3.1. Extraction des lipides totaux.....	p 31
3.2. Séparation des lipides neutres et des lipides polaires sur mini-colonnes de silice	p 31
3.3. Préparation des esters méthyliques d'acides gras (EMAG).....	p 32
3.4. Séparation des EMAG par chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	p 32
3.4.1. <i>Appareillage</i>	p 32
3.4.2. <i>Conditions opératoires</i>	p 32
3.4.3. <i>Identification des acides gras</i>	p 33
3.4.4. <i>Quantification des acides gras</i>	p 33

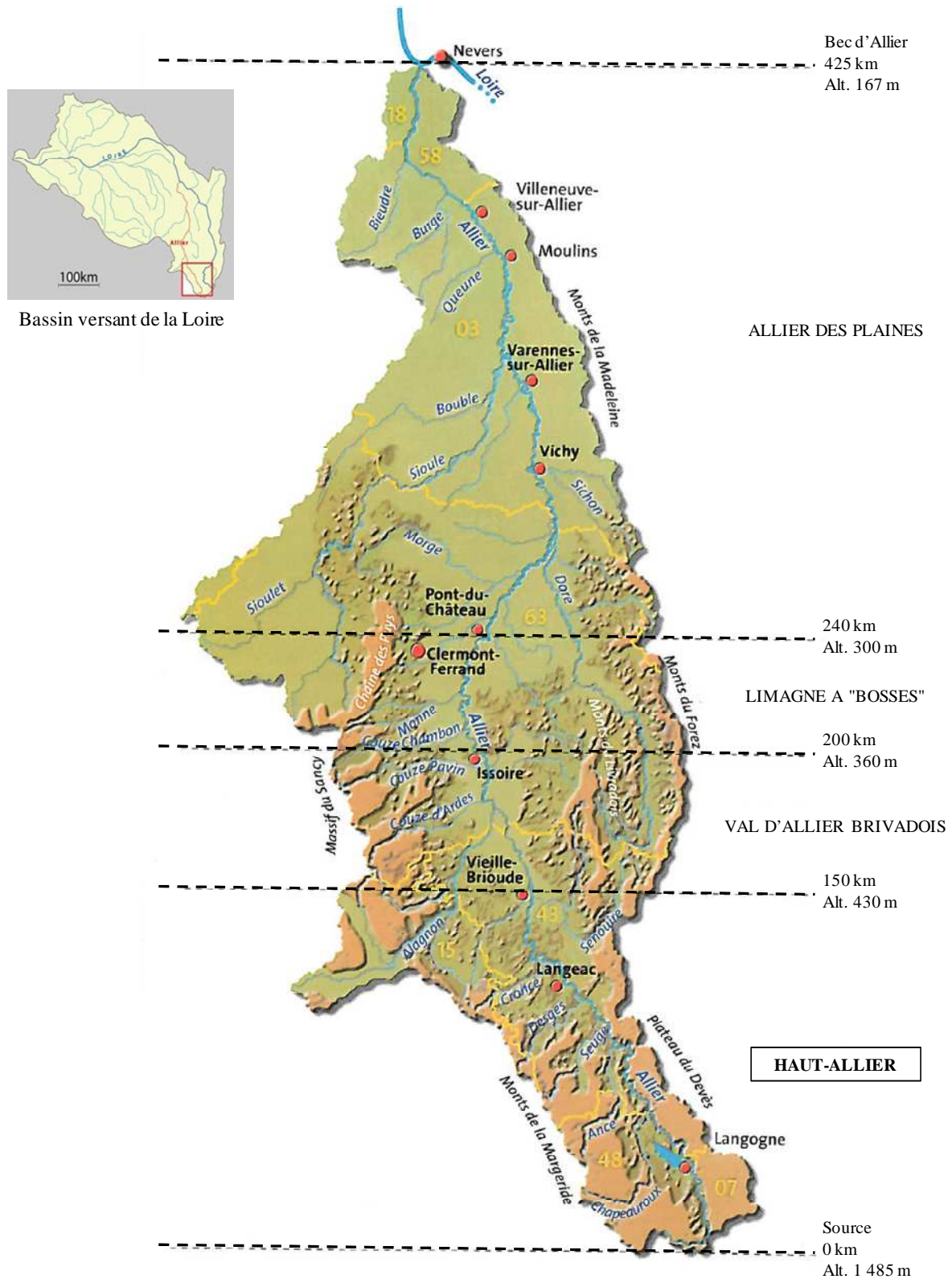


Fig. 5. Bassin versant de l'Allier (Fédération pour la Région Auvergne pour la Nature et l'Environnement) (FRANE 2008).

1. Sites d'étude

1.1. Présentation de la zone d'étude

L'Allier, principal affluent de la Loire, s'écoule sur 425 km de long. C'est au sud-est du Massif Central (Lozère), au pied du Moure de la Gardille, qu'il prend naissance sur un plateau métamorphique à 1 473 m d'altitude (Fig. 5). Ce haut plateau cède rapidement le pas à une vallée très encaissée entre le plateau basaltique du Devès à l'Est et le massif granitique et métamorphique de la Margeride à l'Ouest. L'Allier dévale ainsi jusqu'à 950 m d'altitude, puis, traversant de vieux terrains cristallins, serpente pendant une trentaine de kilomètres dans un paysage de lande sauvage, avant de s'enfoncer à Langogne dans des gorges profondes où le courant s'accélère. La rivière présente alors un profil accidenté, avec une succession de fosses et de rapides sur fonds de galets et de blocs de rocher. Dans cette partie supérieure, la largeur varie de 10 à 30 m, pour une pente moyenne de 5,5 ‰. La température de l'eau est généralement comprise entre 2 et 6°C l'hiver et peut atteindre 18°C l'été, dépassant rarement les 23°C (Cohendet 1993). La dynamique fluviale ne s'exprime ici que par le transport d'alluvions grossières. A partir de Langeac jusqu'à Pont du Château, la rivière traverse des bassins de remblaiements alluvionnaires appelés limagnes (Limagne de Langeac, de Brioude, d'Issoire), alternant avec des passages rocheux formant de nouvelles gorges (Lavoûte-Chilhac – Vieille Brioude). Passé le horst métamorphique de Saint-Yvoine, l'Allier pénètre dans un entonnoir de plaine qui ne s'évase qu'à partir de Pont du Château. Dans cette partie moyenne, la pente diminue (1,57 ‰) et la rivière s'élargit peu à peu (40 à 80 m). La température estivale est en moyenne de 20°C et dépasse rarement les 25°C (Cohendet 1993).

D'un point de vue hydrologique, ce cours d'eau est soumis à la fois aux influences méditerranéennes et atlantiques. Son régime est de type pluvio-océanique, avec des hautes eaux en hiver (Février: $245 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en moyenne) et un étiage parfois sévère en été (Août: $50 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en moyenne) (Bousquet 1979, Cohendet 1993). Depuis 1983, le débit d'étiage de l'Allier est modifié par la retenue de Naussac qui permet le maintien d'un débit minimum de $6 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ à Vieille Brioude. Trois types de crues sont observées sur l'Allier: les crues océaniques dues à de longues périodes pluvieuses sur une grande partie du bassin versant qui surviennent en générale en dehors de la période estivale, les crues cévenoles dues à des précipitations importantes sur la zone amont du bassin versant vers la fin de l'été et en automne, et les crues mixtes qui sont liées à la conjonction des deux types de crues précédentes (Bacchi 2000).

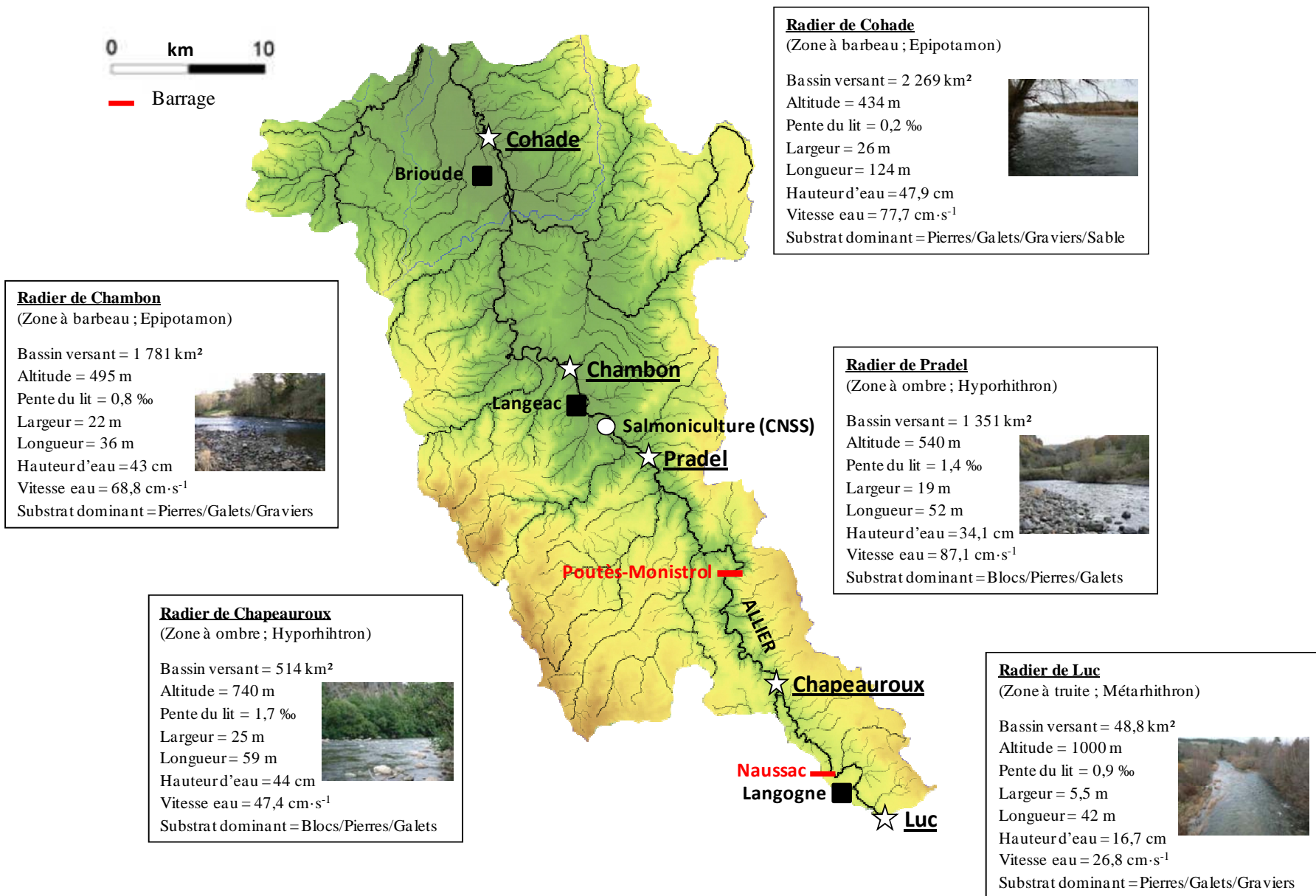


Fig. 6. Localisation et caractéristiques des sites d'étude (☆) sur le Haut-Allier.

1.2. Description des sites d'étude

Cinq radiers ont été choisis sur un linéaire d'environ 170 km dans le Haut-Allier (Fig. 6). Ils ont été sélectionnés en fonction de leur représentativité sur le *continuum* fluvial (gradient amont-aval) et en fonction d'impératifs liés au contexte de la gestion du saumon de l'Allier (ONEMA, LOGRAMI, CNSS).



Radier de Luc

Le radier de Luc se situe à 32 km des sources, sur un plateau granitique et gneissique dominé par des forêts et des prairies d'altitude. Il se localise dans la zone à truite et présente les caractéristiques d'une zone rhithrale moyenne (Aarts et Nienhuis 2003). La pression anthropique est négligeable sur ce secteur.



Radier de Chapeauroux

Le radier de Chapeauroux se situe au niveau de la première série de gorges granitiques et basaltiques, à 66 km des sources. Il se localise dans la partie supérieure de la zone à ombre. Même si son bassin versant est peu affecté par les activités agricoles, le tronçon étudié est sous l'influence du barrage réservoir de Naussac.



Radier de Pradel

Le radier de Pradel se localise à la fin des premières gorges du Haut-Allier à 106 km des sources, toujours dans la zone à ombre mais en fin de rhithron. Son bassin versant présente les mêmes caractéristiques que le site précédent (alternance de prairies et de forêts). Ici, c'est le barrage hydroélectrique de Poutès-Monistrol (situé 20 km en amont), qui lors des éclusées, a une incidence sur le régime d'écoulement naturel.

PLANCHE 4 : Les saumons issus du Conservatoire Nationale du Saumon Sauvage (CNSS)

CAPTURE DES GENITEURS (Automne)

Les Saumons atlantiques produits par le CNSS sont issus de géniteurs sauvages capturés au cours de leur montaison dans l'Allier. Les prélèvements d'adultes s'effectuent généralement à Brioude (piège de la Bageasse) à l'automne. Ces adultes sont ensuite stabulés au CNSS dans des bassins circulaires (3 m de diamètre et 1 m de profondeur) en régime thermique et photopériode naturels.



Salle des géniteurs

REPRODUCTION (15 novembre – 15 décembre)

Le prélèvement des ovules est réalisé, après contrôle hebdomadaire des femelles, sans induction hormonale. Une fois les géniteurs anesthésiés, les gamètes sont prélevés par pression sur l'abdomen. Après fécondation en présence d'activateur, les œufs sont incubés à des températures variant de 7,5 à 11°C.



Récupération de la laitance



Récupération des œufs



Incubateurs "californiens"

PRODUCTION D'ALEVINS ET DE SMOLTS

Une fois leur vésicule vitelline résorbée, les alevins sont placés dans des bassins de type suédois de 4 m² et d'un volume utile de 400 L, ayant une capacité moyenne de 18 000 poissons chacun. Chaque bassin est alimenté en eau de rivière provenant directement de l'Allier ou d'un de ses affluents (la Desges), température comprise entre 11 et 14°C. La lumière suit la photopériode naturelle. Les poissons sont nourris jusqu'à satiété 6 à 8 fois par jour avec des granulés commerciaux (Nutra HP® 0,3; Skretting, France). Après 3 mois de nourrissage et l'acquisition d'un poids moyen de 5 g, une partie de ces juvéniles est déversée dans les différentes zones de grossissement du Haut-Allier en mai-juin, tandis que l'autre continue à être élevée en bassin sous les mêmes conditions jusqu'au stade smolt. Ces derniers seront à leur tour déversés à 1 an (fin février – début mars) sur l'Allier.



Salle des alevins

CAPACITE DE PRODUCTION DU CNSS EN 2006

Œufs : 630 000
Alevins : 761 770
Smolts : 211 500

Photos fournies par le CNSS

COMPOSITION ALIMENT ARTIFICIEL (NUTRA HP®)

Aliment complet extrudé à froid pour alevins de truites

Ingrédients:

Farines de poisson "Super Prime", huiles de poisson riches en AGPI, farine de krill, produits et sous-produits de grains de céréales, levures, produits et sous-produits de graines oléagineuses, vitamines et minéraux.

Analyses chimiques:

	Protéines %	Lipides %	ENA %	Cendres %	Cellulose %	Phosphore %	Energie digestible MJ·kg ⁻¹
Nutra HP 0,3	57	17	8,5	10	0,5	1,3	19,9
Nutra HP 1,0	53	19	10,5	10	0,5	1,3	20



Radier de Chambon

Le radier de Chambon se situe dans le bassin agricole de Langeac à 123 km des sources. Les caractéristiques hydrodynamiques sont celles d'un secteur d'épipotamon (début de la zone à barbeau). La qualité de l'eau souffre des rejets provenant de la station d'épuration de Langeac (7600 EH – DBO5 de 450 kg·jour⁻¹) et d'une microcentrale située immédiatement en amont.

Le dernier site d'étude (radier de Cohade, zone à barbeau et partie supérieure du potamon) se



Radier de Cohade

localise à 162 km des sources, à la limite sud des plaines de Limagne, zone d'agriculture intensive. Le secteur est méandriforme et se trouve déclasser, du point de vue qualité physico-chimique de l'eau, en niveau B de la grille SEQ-EAU (Agence de l'eau Loire-Bretagne). Selon le suivi effectué par la cellule ODE 43 du Conseil Général de la Haute-Loire, les concentrations en nutriments (N-NO₃⁻ and P-PO₄³⁻) sont responsables de cette dégradation (ODE43 2007).

2. Echantillonnage et traitement des échantillons

Cette étude a été conduite entre mai et octobre 2006, période optimale de croissance et d'alimentation des jeunes saumons, reconnue comme étant particulièrement décisive pour la survie hivernale et la future smoltification (Jobling 2001, Nordgarden *et al.* 2002, Dempson *et al.* 2004).

2.1. Saumons

Les Saumons atlantiques utilisés dans cette étude sont issus de géniteurs sauvages capturés au cours de leur montaison dans l'Allier (Bach *et al.* 2007). Après une reproduction assistée au CNSS, les alevins issus des œufs fécondés sont élevés en bassin (Planche 4). En mai 2006, un échantillon initial de 15 juvéniles (0+ ; L = 3,7 ± 0,3 cm ; P = 0,5 ± 0,1 g) est prélevé (Fig. 7). Ces poissons sont alors mesurés (poids et longueur totale) et congelés dans de l'azote liquide. Leur composition lipidique sera ultérieurement analysée.

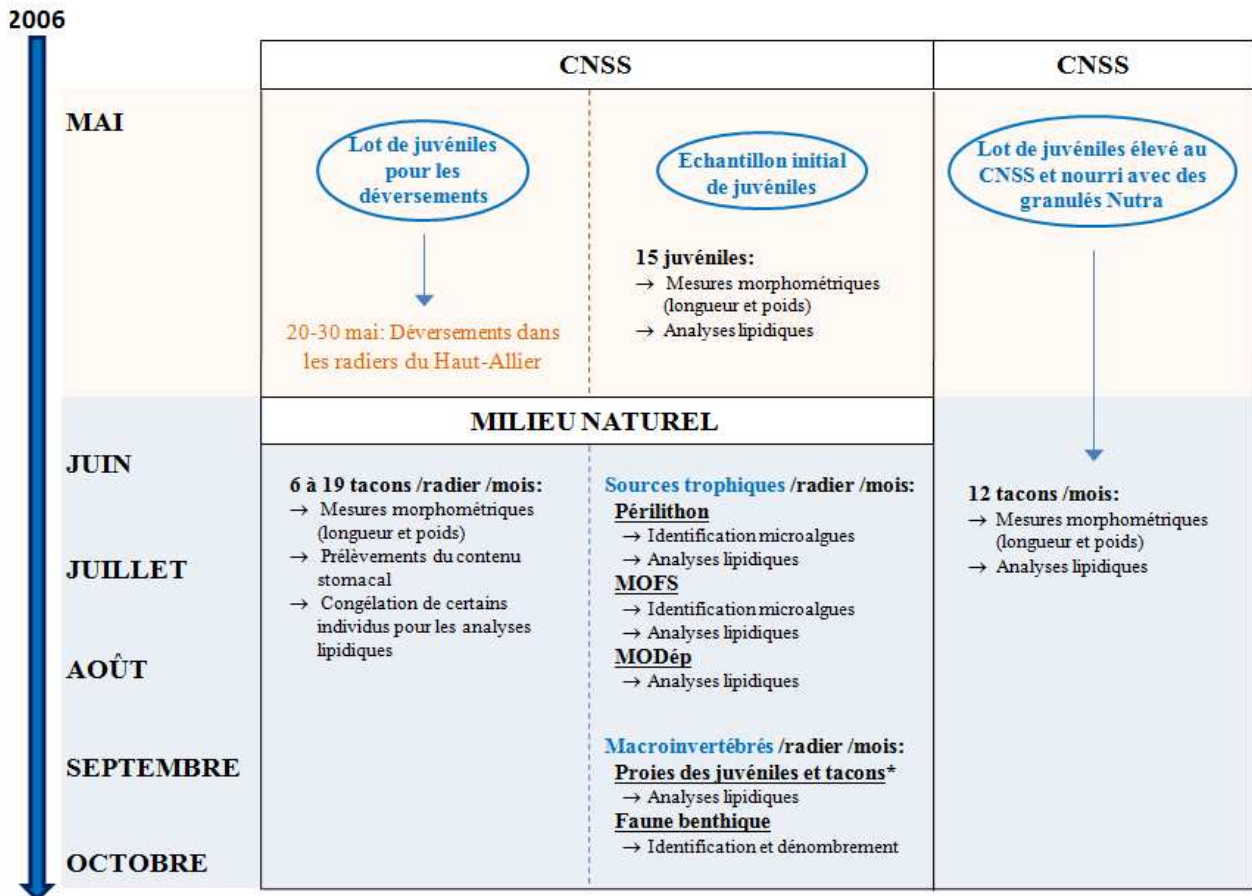


Fig. 7. Schéma récapitulatif de l'échantillonnage et du traitement des divers échantillons (MOFS = matière organique fine en suspension, MODép = matière organique déposée ; *Familles de macroinvertébrés habituellement rencontrées dans le régime alimentaire des jeunes saumons: nymphes de *Baetidae* et larves de *Chironomidae*, d'*Hydropsychidae* et de *Simuliidae*).

2.1.1. Tacons d'élevage

Le suivi en salmoniculture est effectué entre juin et octobre. Le premier lot de juvéniles est alors réparti aléatoirement dans trois bassins de 1 000 L contenant chacun 1 250 poissons. Ils sont nourris 6 fois par jour avec des granulés principalement formulés avec des extraits d'huiles et de farines de poissons (Nutra HP® 1,0) (Planche 4). Chaque mois, 12 poissons sont prélevés (Fig. 7). Comme précédemment, ils sont mesurés, pesés et immédiatement congelés dans de l'azote liquide avant d'être lyophilisés. Ils seront par la suite analysés pour leur composition lipidique.

2.1.2. Tacons déversés sur les radiers du Haut-Allier

Vers la fin mai 2006 (du 20 au 30 mai) et sous le contrôle de l'ONEMA (Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques), le second lot de juvéniles est déversé (10 à 15 alevins·m⁻²/radier) (Fig. 7). Après trois semaines d'acclimatation, les prélèvements mensuels débutent et sont effectués aux mêmes dates que ceux réalisés au CNSS (juin à octobre). 6 à 19 tacons par site et date (limite autorisée de prises < 20) sont ainsi récoltés par pêches électriques à l'aide d'un appareil portable de type Martin pêcheur® (Dream Electronic). Chaque individu est ensuite répertorié et mesuré. Son contenu stomacal est récupéré par lavage gastrique selon la méthode de Kamler et Pope (2001), puis préservé dans du formaldéhyde à 4%. 130 tacons sont ainsi collectés, parmi lesquels 69 sont immédiatement congelés dans de l'azote liquide avant d'être lyophilisés puis analysés (extractions lipidiques). Les autres poissons sont relâchés dans l'Allier.

2.2. Macroinvertébrés benthiques

Les macroinvertébrés sont échantillonnés à l'aide d'un filet Surber (vide de maille = 250



Filet Surber

µm) en juin, juillet, août, septembre et octobre 2006 (Fig. 7). Afin de tenir compte des variations de microhabitats, 8 à 12 prélèvements d'une surface de 0,1 m² sont réalisés sur chaque radier et à chaque sortie. Les échantillons récoltés sont ensuite individuellement placés dans un bac d'eau froide, ramenés au laboratoire et traités de deux façons différentes. La totalité des organismes présents dans le

contenu de quatre surbers est préservée dans de l'éthanol à 70% pour être ensuite triée, comptée et identifiée sous loupe binoculaire (Tachet *et al.* 2000). Quant aux autres contenus de

Surber (4 à 8 échantillons), seuls les spécimens appartenant aux familles habituellement rencontrées dans le régime alimentaire des tacons sont récupérés. Ainsi, les larves ou nymphes de *Baetidae*, *Chironomidae*, *Hydropsychidae* et *Simuliidae* sont triées, dénombrées et regroupées en sous-échantillons de taille homogène. Les lots ainsi obtenus sont congelés et lyophilisés avant d'être analysés.

2.3. Sources trophiques

2.3.1. Matière organique déposée (MODép) (< 1 cm)

La matière organique déposée (MODép) sur le fond du radier est issue des échantillons précédemment collectés avec les filets Surber. Une fois tous les macroinvertébrés extraits, 3 à 4 échantillons sont récupérés sur tamis de vide de maille de 1 cm. Ces échantillons sont ensuite centrifugés, lyophilisés, pesés et conservés à -40°C jusqu'aux analyses lipidiques.

2.3.2. Biofilm périlithique

Le biofilm périlithique est récolté dans chacun des radiers et à chacune des dates d'échantillonnage (Fig. 7). Trois à quatre galets par site sont ainsi prélevés, puis brossés soigneusement. L'homogénat ainsi obtenu est séparé en deux fractions: la première, destinée à l'identification et à l'énumération des microalgues, est fixée au lugol alors que la seconde, destinée aux analyses lipidiques, est centrifugée, lyophilisée et congelée à -40°C. La surface échantillonnée est déterminée de manière indirecte par pesée d'une feuille d'aluminium plaquée sur la surface brossée, puis découpée.



Prélèvement du périlithon

2.3.3. Matière organique fine en suspension (MOFS) (< 1 mm)



Filet horizontal

La MOFS est récoltée grâce à un filet horizontal (35 cm de diamètre, 200 µm de maille) placé à l'entrée du radier, dans le sens du courant. Les matières en suspension récupérées sont ensuite tamisées (vide de maille de 1 mm) puis divisées, comme pour le biofilm, en deux fractions (Fig. 7). Une fraction fixée au lugol pour la détermination et le

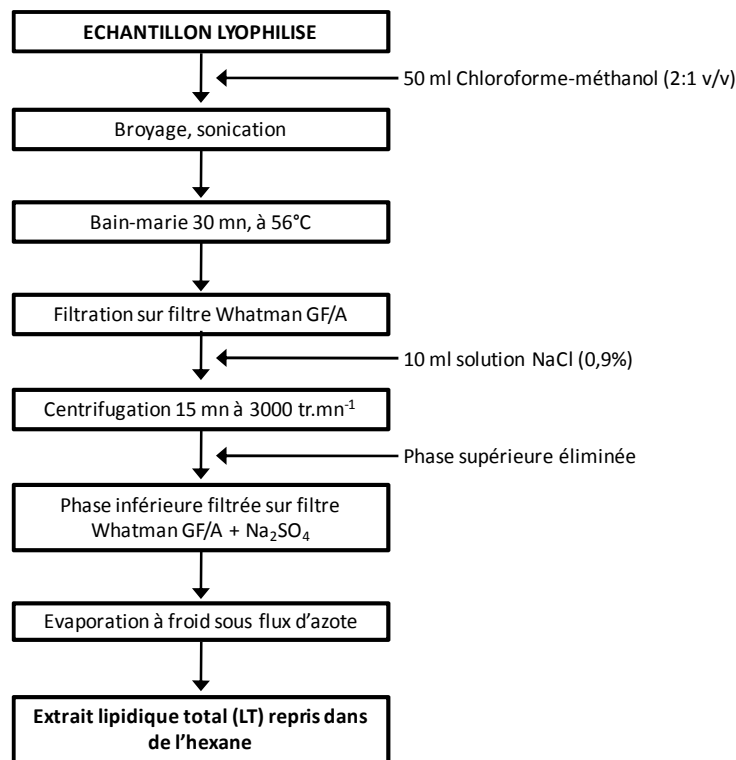


Fig. 8. Protocole d'extraction des lipides totaux (LT) (d'après Folch *et al.* 1957). Les volumes indiqués ont été utilisés pour les échantillons de saumon et sont donnés à titre indicatif. Ils ont été ajustés pour les autres types d'échantillons.

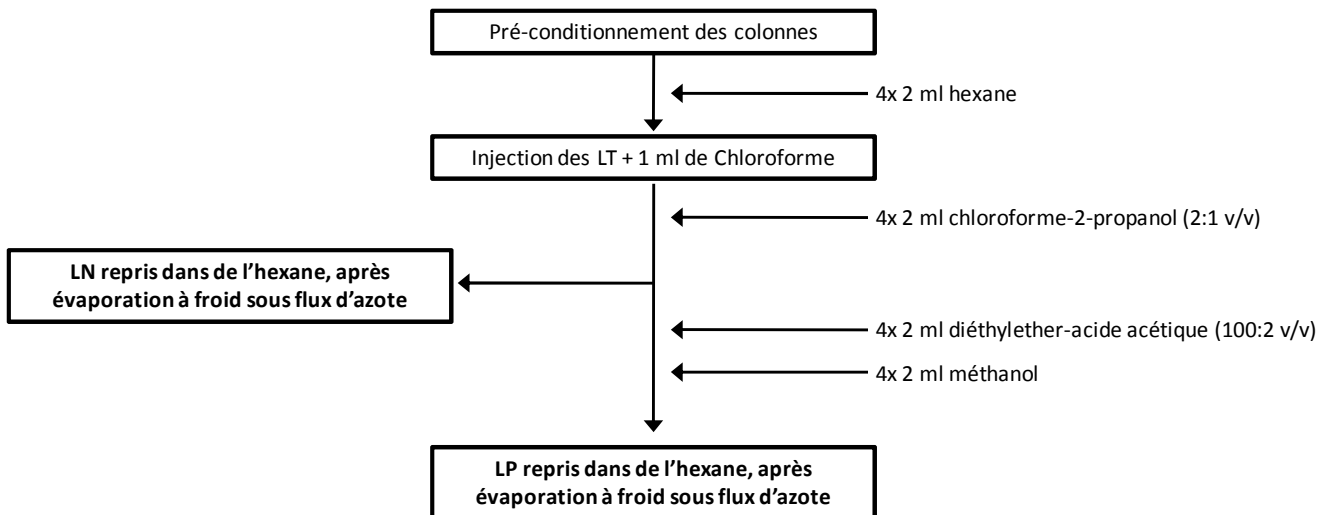


Fig. 9. Protocole de séparation des lipides neutres (LN) et polaires (LP). Les volumes indiqués ont été utilisés pour les échantillons de saumon et sont donnés à titre indicatif. Ils ont été ajustés pour les autres types d'échantillons.

comptage des microalgues et une fraction récupérée sur filtre Whatman GF/C, qui est congelée puis lyophilisée pour les analyses lipidiques.

3. Analyses lipidiques

Les analyses lipidiques sont effectuées sur les trois types de matières organiques (périlithon, MOFS et MODép), les macroinvertébrés, les juvéniles et tacons entiers et des échantillons d'aliment artificiel Nutra. Pour les échantillons de matière organique, la détermination de la composition en AG est réalisée à partir des lipides totaux (LT). En ce qui concerne les échantillons de macroinvertébrés, de saumons et d'aliment artificiel, les compositions en AG sont déterminées à partir des lipides neutres (LN) et des lipides polaires (LP) séparés sur mini-colonnes de silice (SPE Strata NH₂, Phenomenex).

3.1. Extraction des lipides totaux

La méthode d'extraction utilisée est une adaptation de la méthode de Folch *et al.* (1957) basée sur l'utilisation d'un mélange de chloroforme et méthanol (2:1 v/v) (Fig. 8). Afin de permettre la rupture des liaisons protéines-lipides, chaque échantillon est broyé dans ce mélange, soniqué pendant 3 à 4 minutes, puis chauffé à 56°C pendant 30 minutes. La phase lipidique est récupérée après adjonction d'eau physiologique (0,9% NaCl) et centrifugation. Après filtration sur filtre Whatman GF/A, séchage au Na₂SO₄ anhydre et évaporation sous flux d'azote, l'extrait lipidique total est récupéré et conservé dans de l'hexane à -40°C.

3.2. Séparation des lipides neutres et des lipides polaires sur mini-colonnes de silice

Cette étape est effectuée sur les échantillons de macroinvertébrés, de saumons et d'aliment artificiel. Pour chaque échantillon, les LN (triglycérides, diglycérides, AG libres) sont séparés des LP (principalement les phospholipides) grâce à des mini-colonnes de silice (SPE Strata NH₂, Phenomenex) (Fig. 9). L'extrait lipidique total dissous dans du chloroforme est déposé sur la colonne pré-conditionnée avec de l'hexane. Un premier éluant constitué d'un mélange chloroforme-2-propanol (2:1 v/v) permet d'entraîner et de récupérer la fraction LN. Les LP sont ensuite obtenus à l'aide d'un nouveau mélange diéthylether-acide acétique (100:2 v/v)

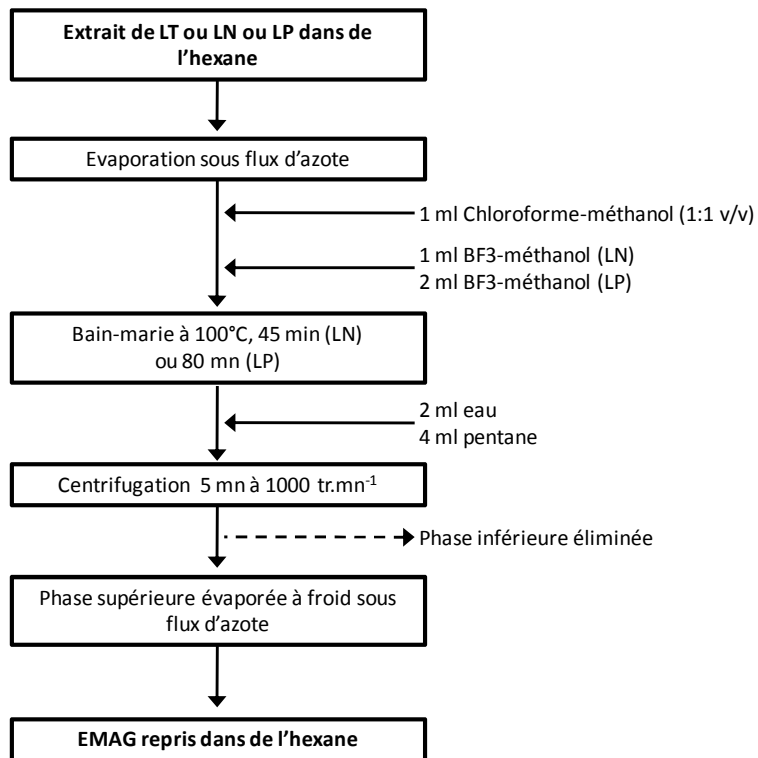


Fig. 10. Protocole d'obtention des esters méthyliques d'acides gras (EMAG).

suivi d'une élution au méthanol pur. Après évaporation à froid sous flux d'azote, les deux classes lipidiques sont reprises dans de l'hexane.

3.3. Préparation des esters méthyliques d'acides gras (EMAG)

Les AG étant peu volatils, il est difficile de réaliser une analyse directe en chromatographie en phase gazeuse (CPG). Il est donc nécessaire de transformer les AG en molécules plus légères à caractère non polaire: les esters méthyliques d'acides gras (EMAG). Pour ce faire, les extraits lipidiques totaux (sources trophiques) et les extraits des classes lipidiques sont estérifiés en utilisant un catalyseur, le boron trifluoride méthanolique à 14% (BF₃-méthanol) (Fig. 10). Afin d'optimiser la transméthylation acide, le mélange est chauffé à 100°C pendant 45 minutes (LN) ou 80 minutes (LP) (protocole préconisé par la firme Phenomenex). L'adjonction d'eau et de pentane suivie d'une centrifugation permettent de séparer les EMAG (phase supérieure) du matériel insaponifiable (phase inférieure). Les EMAG sont repris dans de l'hexane après évaporation sous azote, puis analysés en CPG.

3.4. Séparation des EMAG par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

3.4.1. Appareillage

Chromatographe :	CHROMPACK Modèle CP9001
Colonne capillaire :	Supelco L = 30 m, Ø = 0,32 mm, Phase stationnaire polaire FFAP CB, Epaisseur du film = 0,25 µm
Injecteur :	mode SPLIT
Détecteur à ionisation de flamme (FID)	
Gaz vecteur :	Hélium
Logiciel de traitement:	Varian CP-Maitre® (CHROMPACK)

3.4.2. Conditions opératoires

Conditions de température :	Injecteur = 300°C, Détecteur = 260°C
Programmation de température du four:	140–245°C à 3°C·min ⁻¹

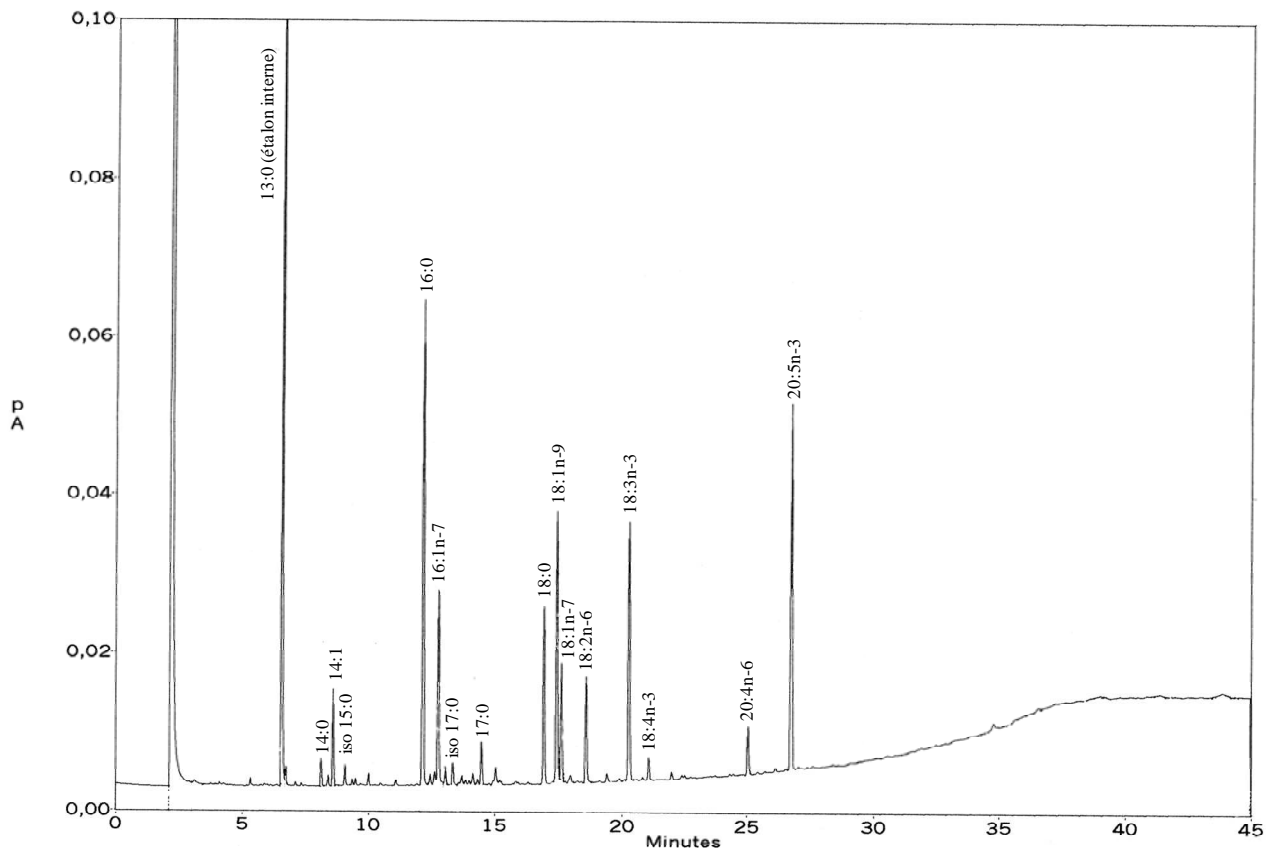


Fig. 11. Exemple d'un spectre d'AG extraits des lipides neutres de larves de *Simuliidae* (Chapeauroux, juin 2006).

3.4.3. Identification des acides gras

L'identification des AG est réalisée par comparaison du chromatogramme obtenu avec des chromatogrammes de mélanges d'AG connus provenant de notre laboratoire ou disponibles dans le commerce (Sigma, Supelco, Larodan Inc.). En cas de doute sur la nature d'un composé, l'échantillon est injecté dans un GC/MS (CPG GC6850 couplé à un spectromètre de masse 5975B, Agilent). Les spectres obtenus sont identifiés à partir de notre propre librairie et/ou avec celles disponibles sur le site "lipidlibrary" (<http://www.lipidlibrary.co.uk>). Un exemple de chromatogramme provenant d'un échantillon de larves de *Simuliidae* est présenté à la figure 11.

3.4.4. Quantification des acides gras

La quantité d'AG contenus dans chaque échantillon est estimée à partir de l'adjonction de l'étalon interne (13:0) de concentration connue. Ce composé est choisi en raison de son absence dans nos échantillons et de son comportement chromatographique (pic bien séparé des autres) (Desvillettes 1994). Ajouté après l'extraction des LT ou après la séparation des LN et LP, l'étalon interne permet également de prendre en compte les éventuelles pertes survenues au cours de la préparation des EMAG.

Chapitre III :

Alimentation, croissance et statut nutritionnel des tacons déversés le long d'un gradient amont-aval dans une large rivière européenne (l'Allier)

Descroix A., Desvillettes C., Martin P., Anneville O., Bec A. and Bourdier G. 2009. Feeding, growth and nutritional status of restocked salmon parr along the longitudinal gradient of a large European river: the Allier. **Ecology of Freshwater Fish**, 19: 282–296.

Chapitre III: Alimentation, croissance et statut nutritionnel des tacons déversés le long d'un gradient amont-aval dans une large rivière européenne (l'Allier)

Préambule	p 36
Feeding, growth and nutritional status of restocked salmon parr along the longitudinal gradient of a large European river: the Allier	
1. Abstract	p 39
2. Introduction	p 40
3. Study area	p 41
4. Materials and Methods	p 42
4.1. Sampling	p 42
4.1.1. <i>Atlantic salmon parr</i>	p 42
4.1.2. <i>Macroinvertebrate fauna</i>	p 43
4.2. Laboratory analysis	p 44
4.2.1. <i>Growth and nutritional condition of Atlantic salmon parr</i>	p 44
4.2.2. <i>Stomach contents and benthic sample analysis</i>	p 44
4.3. Data analysis	p 45
4.3.1. <i>Growth parameters</i>	p 45
4.3.2. <i>Prey availability and diet analysis</i>	p 45
5. Results	p 46
5.1. Fish samples	p 46
5.1.1. <i>Growth parameters</i>	p 46
5.1.2. <i>Condition factors</i>	p 48
5.1.3. <i>Lipid deposition</i>	p 48
5.2. Available food resources	p 48
5.3. Feeding of salmon parr	p 49
5.3.1. <i>Fish diet</i>	p 49
5.3.2. <i>Feeding strategy and prey selection</i>	p 50
6. Discussion	p 51
7. Acknowledgements	p 55

Préambule

Problématique

Notre étude bibliographique (**Chapitre I**) a souligné l'importance, vis-à-vis de leur cycle de vie, du rythme de croissance des jeunes saumons au cours de leur stade de vie résidentiel en eau douce. Sur l'axe Loire-Allier, la distance de migration est telle qu'il paraît difficile d'envisager un taux élevé de passage des smolts en mer sans l'existence d'une croissance rapide des juvéniles sur le Haut-Allier. De plus, le linéaire de frayères potentielles sur l'Allier s'étend sur plus de 200 km, du rhithron à l'épipotamon, englobant une large partie du *continuum* fluvial de la zone à truite à la zone à barbeau (Huet 1959). Les tacons destinés au renforcement de la population vont donc être confrontés à des conditions biotiques et abiotiques variables le long de ce gradient (Illies et Botosaneanu 1963, Vannote *et al.* 1980).

Sous nos latitudes, la distribution spécifique et la biomasse des macroinvertébrés changent en fonction du gradient longitudinal, de l'ordre de drainage et de la section du cours d'eau (Illies et Botosaneanu 1963, Vannote *et al.* 1980). En effet, les modifications progressives des conditions physiques et morphologiques (pente, largeur du lit, substrat, débit, température, etc.) engendrent des gradients, voire des discontinuités, qui influent sur la structure des peuplements d'invertébrés benthiques. Ainsi, Vignes (1998) suggère que les variations de la composition spécifique de la faune benthique pourraient expliquer les différences de croissance observées chez les jeunes saumons entre les secteurs de la haute et basse Nivelle (Fleuve côtier des Pyrénées Atlantiques).

Différents travaux montrent que la répartition spatiale des poissons ainsi que la richesse spécifique locale peuvent évoluer de façon prévisible le long du *continuum* fluvial (Changeux 1995, Mastrotillo *et al.* 1997). Il est généralement admis que la diversité spécifique s'accroît avec l'augmentation de la taille du cours d'eau, atteignant son maximum dans les zones intermédiaires (jonction rhithron-potamon). Sur une rivière telle que l'Allier, les jeunes tacons sont ainsi susceptibles de rencontrer une concurrence interspécifique d'intensité variable de l'amont vers l'aval. Chez le Saumon atlantique, la compétition pour l'habitat et la nourriture existe vis à vis du Chabot (*Cottus gobio*), de la Loche de rivière (*Barbatula barbatula*) et à un degré moindre du Vairon (*Phoxinus phoxinus*) et des juvéniles de Truite fario (*Salmo trutta*) (Kennedy et Strange 1986, Gabler et Amundsen 1999). L'ampleur de cette compétition dépend alors de la structure des habitats. Ainsi, les radiers étendus sur de grandes surfaces

permettent un partage de l'espace où les saumons vont avoir tendance à occuper les secteurs les moins profonds évitant ainsi la concurrence, notamment en présence de Truites fario (Heggenes et Saltveit 1990). La compétition interspécifique est, par contre, mal connue vis-à-vis des espèces habituellement présentes sur les radiers des zones de transition épipotamiques (Goujon, juvéniles de Barbeau, Spirlin, etc.).

Dans ce contexte, les travaux présentés dans ce chapitre ont eu pour **objectif d'analyser les modalités de croissance des juvéniles (0+) de saumon préalablement élevés au CNSS et relâchés dans le milieu naturel**. L'accent a été mis sur l'importance de la localisation géographique des secteurs de déversement le long du *continuum* fluvial de l'Allier. Pour cela, nous avons notamment déterminé l'abondance et la composition taxonomique des macroinvertébrés benthiques présents sur des radiers de repeuplement appartenant à des séquences d'écoulement réparties le long du gradient amont-aval. L'existence de variations dans le comportement alimentaire et la croissance des tacons a alors pu être mise en relation avec plusieurs paramètres évoluant en fonction du gradient longitudinal: abondance et composition spécifique des proies disponibles, qualité de l'habitat et concurrence interspécifique. En complément de l'indice classique d'évaluation de la condition physiologique des poissons (facteur de condition), nous avons mesuré l'accumulation des LN (triglycérides – di et monoglycérides – AG libres) chez les tacons. Ces derniers sont, en effet, capables d'accumuler une part importante de leur énergie sous forme de lipides, lorsque les conditions de croissance sont satisfaisantes (Naesje *et al.* 2006). Enfin, les données obtenues avec les juvéniles relâchés sur les cinq radiers ont été comparées avec celles obtenues sur les juvéniles élevés au CNSS, dans des bassins alimentés en eau de rivière et nourris avec un aliment artificiel ; ces derniers étant à priori susceptibles de présenter une meilleure croissance en raison notamment d'une formulation optimale des aliments.

Sites d'étude

Les sites d'études ont été sélectionnés en fonction de leur représentativité des faciès du *continuum* du cours d'eau, mais également en fonction d'impératifs liés au contexte de la gestion du saumon de l'Allier par les divers organismes impliqués (ONEMA, LOGRAMI, CNSS). Nous avons ainsi choisi les cinq radiers de déversements décrits dans le précédent chapitre (**Chapitre II**): le radier de Luc (Site 1), le radier de Chapeauroux (Site 2), le radier de Pradel (Site 3), le radier de Chambon (Site 4) et le radier de Cohade (Site 5) (Fig. 6).

Pour connaître la morphologie exacte des radiers retenus (longueur, largeur, pente...), un relevé topographique exhaustif a été mené par le CNSS en période d'étiage (Septembre 2006). Nous avons également vérifié que les radiers destinés à recevoir les juvéniles produits au CNSS n'avaient pas connu de reproduction naturelle l'automne précédent l'étude (Septembre-Octobre 2005).

Précisions méthodologiques

Les alevins ont été déversés entre le 20 et 30 mai 2006. Les procédures de repeuplement étant sous la responsabilité de l'ONEMA, nous n'avons pas pu décider des densités relâchées. Toutefois, celles-ci ont été adaptées, par les techniciens en charge du repeuplement, aux surfaces des radiers, soit 10 à 15 alevins·m⁻².

Malgré une reconnaissance des proies innée chez les Salmonidés, il est admis que les tacons élevés sur nourriture artificielle ont besoin de temps pour s'acclimater aux proies sauvages (Stradmeyer et Thorpe 1987a, 1987b, Reiriz *et al.* 1998). De ce fait, nos prélèvements ont débuté trois semaines après les déversements sur site et se sont poursuivis de juin à octobre 2006, période optimale de croissance et d'alimentation reconnue comme particulièrement décisive pour la survie hivernale et la future smoltification (Wankowski et Thorpe 1979a).

La croissance journalière des tacons a été obtenue par otolithométrie. Rappelons brièvement que les otolithes sont de petites concrétions d'aragonite présentes dans l'oreille interne des téléostéens et dont la croissance s'effectue par adjonction périodique de couches cristallines. Leur observation au microscope en lumière réfléchie permet d'étudier de manière précise leur accroissement et d'en déduire le rythme de croissance de l'organisme. L'analyse des otolithes a été effectuée en collaboration avec Orlane Anneville (INRA, CARRETEL, Thonon les bains) selon la méthode de Gerdeaux *et al.* (2006) habituellement utilisée pour traiter les otolithes de Salmonidés lacustres et qui s'est avérée adaptée à l'étude des otolithes de tacons 0+ de Saumon atlantique.

Le dosage des LN a été effectué par chromatographie sur baguettes de silice à l'aide d'un Iatroscan MKIII sur microcolonne chromarod III en utilisant la méthode de Desvilettes *et al.* (1997b).

Feeding, growth and nutritional status of restocked salmon parr along the longitudinal gradient of a large European river: the Allier

AURELIE DESCROIX¹, CHRISTIAN DESVILLETES¹, PATRICK MARTIN², ORLANE ANNEVILLE³,
ALEXANDRE BEC¹ AND GILLES BOURDIER¹

¹ Laboratoire "Microorganismes: Génome et Environnement" (LMGE), UMR CNRS 6023, Equipe "Fonctionnement des Réseaux Trophiques Aquatiques", UBP (Clermont-Ferrand II), F-63177, Aubière Cedex, France, ² Conservatoire National du Saumon Sauvage, Chanteuges, France, ³ Station d'Hydrobiologie Lacustre, Inra, Thonon, France.

Paru dans "Ecology of Freshwater Fish" 2009, Vol. 19, p. 282–296.

1. Abstract

The feeding, growth and nutritional status of salmon parr (0+) released at fry stage in different riffles were studied in a large temperate river (Allier, France) throughout the active feeding period. Significant differences were observed along the upstream-downstream gradient. Parr growth performance and energy storage were higher in downstream riffles and low in the most upstream one. These longitudinal growth variations are discussed in the context of diet and food availability differences, habitat variables and intra- and inter-species competition. The most favourable site for optimum growth and nutritional status appeared to be the intermediary riffle located in the grayling zone.

Key-words: feeding and growth ; nutritional status ; upstream-downstream gradient ; large temperate river ; *Salmo salar* L.

2. Introduction

Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) have already disappeared from most of the large European rivers and have been listed as endangered species (Hendry & Cragg-Hine 2003). In France, a wild population seems to subsist in the Loire basin with production areas mostly located in the upper part of its main tributary, the Allier (Thibault 1994). Consequently, serious conservation attempts have been made by French and European programmes on the Loire-Allier axis. Efficient conservation depends on sound understanding of *S. salar*'s life history, including growth, reproduction and mortality.

S. salar is an anadromous species which migrates long distances from rivers to the sea (940 km on the Loire-Allier axis). The survival of young salmon after entering the sea depends on local environmental conditions. There is an ecological "smolt window" during which the probability of survival is maximal (McCormick et al. 1998; Riley et al. 2002). Consequently, differences in migration onset timing may be crucial for survival (McCormick et al. 1999). The timing of smolt migration to the sea depends on climatic and anthropic conditions (photoperiod, temperature, flow, dams) but is also linked to the smolts' physiological status, which is in turn highly dependent on parr-stage growth (Duston & Saunders 1997; McCormick et al. 1998; Riley et al. 2002; Strothotte et al. 2005). Slow parr growth will tend to delay smolting, resulting in a shift in smolt departure time. Parr growth is influenced by habitat characteristics such as flow and temperature (Jensen 2003), density-dependent factors (competition, predation) (Grant & Imre 2005), and food supply availability (Richardson 1993; Erkinaro & Erkinaro 1998). Feeding is therefore of prime importance during juvenile salmon's freshwater residential stage (McCormick et al. 1998; Amundsen et al. 2001). Food and more particularly macroinvertebrate production in different sections of a river vary according to stream order and river zonation (Vannote et al. 1980). However, it remains unclear how food abundance and quality interact with parr growth along the upstream-downstream gradient of large European rivers. We hypothesized that different rearing conditions within the River Allier could be related to differences in available prey type and density along the upstream-downstream gradient, influencing parr growth.

The objectives of the present study were to investigate the relationship between variability in the growth performance of *S. salar* and the spatial variability of the abundance and composition of invertebrate fauna along an upstream-downstream gradient in the River Allier. As growing salmon parr may allocate energy to lipid deposition (Naesje et al. 2006), we

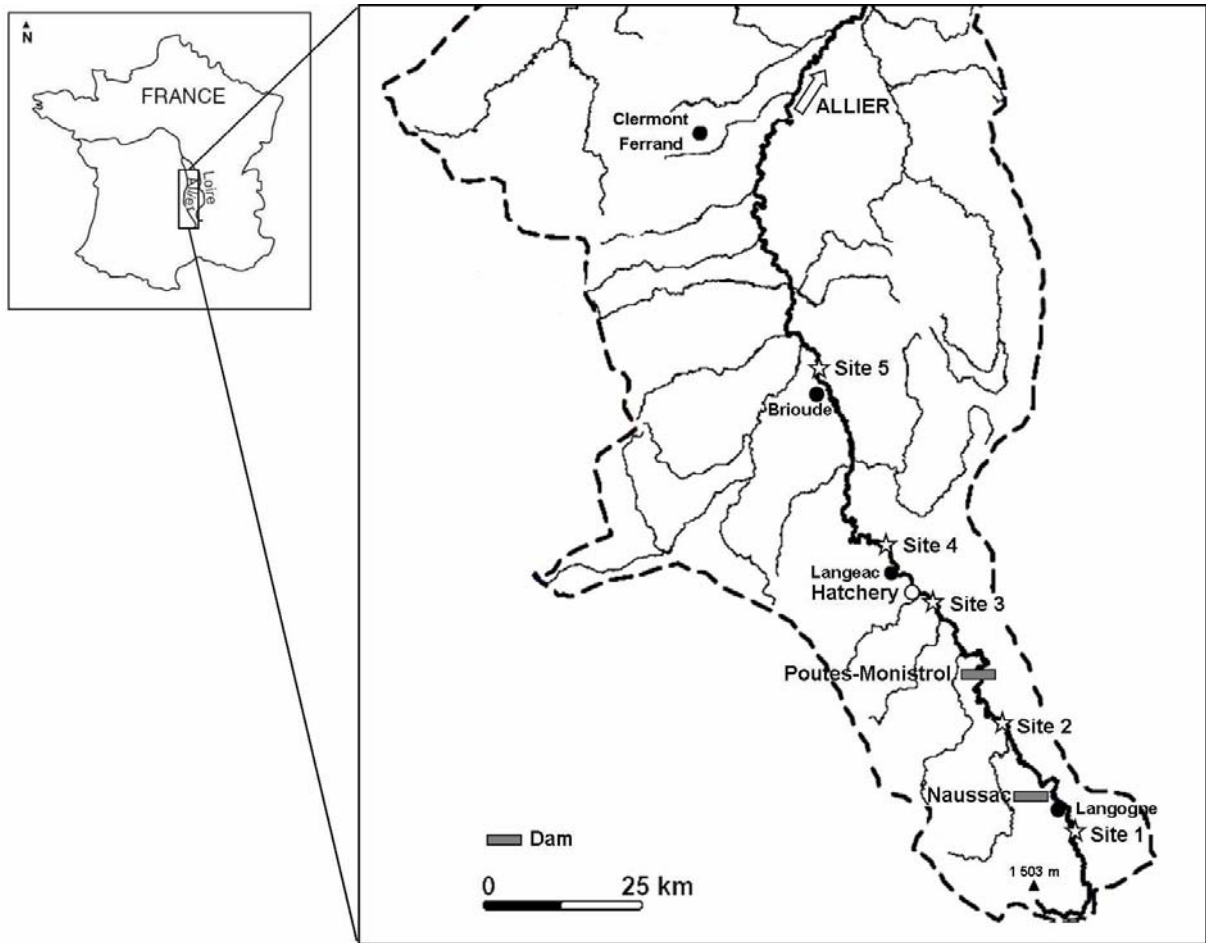


Fig. 12. Situation of the study area in France and location of the restocking riffles (white stars) and Chanteuges salmon hatchery (white circle) on the River Allier.

focused on temporal and spatial variations in neutral lipid contents and on parr condition factors. Detailed analysis of diet, growth and physiological status of age 0+ parr was performed, and results were compared along the upstream-downstream gradient. Finally, the results of this study will help identify the best stocking area in the River Allier.

3. Study area

The River Allier has its source in the French Massif Central at an altitude of 1,473 m on a flat metamorphic plateau (Fig. 12). This high plateau rapidly gives way to deep granite and basalt gorges only interrupted by a few intra-mountain basins. This area, known as the Upper Allier, was our main study location, and has been historically known as a natural breeding area for Atlantic salmon. It is a fourth to fifth order stream (Strahler 1957) with a watershed of 2,900 km². The mineral substratum is covered by epilithic biofilm. In spring and summer, stream-submerged macrophytes (*Ranunculus* and *Callitriche*) develop in downstream reaches, but do not induce excessive in-stream cover.

Five sites were chosen according to their upstream-downstream distribution on the salmon breeding linear and natural feeding area of the parr (Fig. 12). This linear covered more than 170 km and included the rhithron and epipotamon zones according to the classification of Illies & Botosaneanu (1963) (see Aarts & Nienhuis 2003 for a description of longitudinal zonation in European rivers). Study sites (see Table 2) were selected (1) to allow sampling in pool-riffle sequences placed along Huet's longitudinal zonation (Huet 1959), (2) as being part of reaches representative of the main river, with or without anthropogenic influence, and (3) because no natural spawning was observed in reaches during autumn 2005 (Bach et al. 2007). Site 1 was situated approximately 32 km from the sources in a granite and gneiss plateau dominated by forest and pasture. The reach was located in the trout zone, free of human disturbance. Site 2 was located in the granite and basalt gorges, 66 km from the sources (upper grayling zone); although the catchment area had little human land use, the reach was under the influence of the Naussac regulatory dam. Site 3 was situated at the end of the gorges (106 km from the sources) and belonged to the lower grayling zone; the catchment area exhibited the same characteristics as Site 2, and the hydroelectric dam of Poutes-Monistrol (20 km upstream) could also affect the natural flow regime. Site 4 was located in a small agricultural basin, 123 km from the sources; the reach was located in the upper barbel zone, and water quality suffered from discharge from the wastewater treatment plant of the town of

Table 2. Physical and biological characteristics of the five restocking riffles along the upstream-downstream gradient (mean values \pm S.E.).

	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5
Physical characteristics					
Catchment area (km ²)	48.8	514	1351	1781	2269
Altitude (m)	1000	740	540	495	434
Riffle slope (%)*	0.90	1.70	1.40	0.80	0.20
Riffle length (m)*	42	59	52	36	124
Riffle width (m)*	5.50	25	19	22	26
Water velocity (cm•s ⁻¹)*	26.8 (\pm 4.4)	47.4 (\pm 3.8)	87.1 (\pm 6.5)	68.8 (\pm 4.5)	77.7 (\pm 4.9)
Water depth (cm)*	16.7 (\pm 1.2)	44.0 (\pm 2.9)	34.1 (\pm 2.4)	43.0 (\pm 4.1)	47.9 (\pm 2.5)
Water temperature (°C)	14.0 (\pm 3.8)	14.3 (\pm 4.2)	16.2 (\pm 3.0)	18.1 (\pm 3.6)	17.9 (\pm 3.8)
Substrate types (%)**					
Boulder		4	1		
Cobble	30	48	40	52	32
Pebble	52	34	43	35	65
Gravel		1			2
Biological characteristics					
Fish zonations***	Trout zone	Grayling zone	Grayling zone	Barbel zone	Barbel zone
Density of <i>S. salar</i> (fish•100 m ⁻²)****	30.1 (\pm 9.1)	28.34 (\pm 9.1)	25.5 (\pm 3.1)	9.2 (\pm 0.4)	7.4 (\pm 2.5)
Density (fish•100 m⁻²)					
Barbel (<i>Barbus barbus</i> ; 0+)			7.5 (\pm 2.0)	17.0 (\pm 8.1)	13.3 (\pm 3.6)
Bullhead (<i>Cottus gobio</i>)	130.8 (\pm 11.7)				
Grayling (<i>Thymallus thymallus</i> ; 0+)		2 (\pm 0.4)			
Gudgeon (<i>Gobio gobio</i>)	12.2 (\pm 5.9)	4.5 (\pm 1.7)	8.2 (\pm 2.4)	8.1 (\pm 1.1)	18.3 (\pm 12.8)
Minnnow (<i>Phoxinus phoxinus</i>)	33.3 (\pm 12.6)	8.0 (\pm 2.7)	5.7 (\pm 3.0)	19.1 (\pm 8.4)	12.2 (\pm 2.0)
Spirlin (<i>Alburnoides bipunctatus</i>)		5.0 (\pm 1.1)	8.6 (\pm 2.7)	16.5 (\pm 6.4)	7.5 (\pm 1.8)
Stone loach (<i>Barbatula barbatula</i>)	43.3 (\pm 7.1)	26.0 (\pm 6.8)	57.1 (\pm 13.7)	21.9 (\pm 4.1)	40.6 (\pm 9.1)
Trout (<i>Salmo trutta</i> ; Adults)	17.5 (\pm 9.9)	5.5 (\pm 1.3)			

* Determined in September 2006 during the low water period.

** Wentworth (1922) classification.

*** Huet's European river zonation scheme (1959).

**** Mean values obtained from annual electrofishing surveys monitored by ONEMA and Chanteuges hatchery in late October 2006 (Bach et al. 2007).

Langeac (pop. 4,100). The last study reach (Site 5, barbel zone) lay 162 km from the sources, at the beginning of the southern Limagne graben, a major intensive agricultural plain; here, the river starts to meander and its water quality was only Grade B according to the national river water quality indicator, owing to ambient nutrient (N-NO_3^- and P-PO_4^{3-}) concentrations (Anonyme 2003). The physical parameters of each riffle are described in more detail in Table 2.

4. Materials and Methods

4.1. Sampling

4.1.1. Atlantic salmon parr

The fish used in the study originated from wild spawning *S. salar* caught each autumn in the river. Juveniles were reared from the egg stage in the Chanteuges salmon hatchery (see Fig. 12) and fed with commercial pellets for 6 weeks. In late May 2006, juveniles (0+ parr, total length ranging from 3 to 4 cm) were released in the selected Upper Allier riffles. The number of released fry could not be chosen, because the restocking procedure was supervised and executed only by the regional agency of the French ONEMA (National Office of Water and Aquatic Environments). Nevertheless, we made sure that restocked salmon densities were approximately adapted to riffle area, ranging between 10 and 15 fry·m⁻². After 3 weeks acclimatisation, sampling started and was conducted monthly during the period of maximal growth (June-October) and hence of high food demand. Sampling was performed in the riffles of Sites 1–5. To capture salmon juvenile, a Dream Electronic® portable electrofishing unit with an anode of 25 cm diameter was activated at points randomly selected in area with water depth <50 cm. All fish immobilised by the electric field were collected immediately with a separate dip net. Fish were caught at 5–15 points within the riffle and the distance between points was at least 2 m. Because our sampling locations were situated in restricted Atlantic salmon fishing areas, we were not allowed to capture more than twenty 0+ parr per site and date.

Six to nineteen 0+ parr were collected at each site and date. Total lengths and wet weights were immediately recorded in the field. Stomach contents were extracted by pulsed gastric lavage (Kamler & Pope 2001) and diet materials were preserved in 4% formaldehyde. Two

subsamples of 3–7 fish were immediately frozen in liquid nitrogen prior to otolith growth determination and lipid analysis. A total of 225 parr were thus collected during this study.

In the Chanteuges salmon hatchery, a stock of unreleased juveniles was reared in triplicate circular fibreglass tanks (1,000 L), containing 1,250 fish each. Constant water flow (pumped from the River Allier) and a current speed of 8–10 cm·s⁻¹ were maintained in all tanks under natural photoperiod. All parr were fed with Nutra HP[®] commercial diet (Skretting, France) throughout the study. Sampling was carried out on the same dates as electrofishing. A mean 12 fish were anaesthetised, weighed, measured and immediately frozen in liquid nitrogen prior to lipid analysis.

Additional data on riffle fish communities (see Table 2) were obtained from the annual electrofishing surveys monitored by ONEMA and the Chanteuges salmon hatchery (Bach et al. 2007). Abundance of salmon parr was estimated in October 2006 using the standardised protocol of Prevost & Nihouarn (1999). Densities (fish·100 m⁻²) were calculated from equations of direct proportionality between CPUE-type (number of individuals caught for one standard unit of effort of five minutes) abundance indices and removal density estimates. For other species inhabiting the riffles, several points were fished and the relative densities were related to the surface area sampled (Garner 1997; Bischoff & Freyhof 1999). All fish were captured with a Dream Electronic[®] portable electrofishing unit.

4.1.2. Macroinvertebrate fauna

To assess the abundance of potential macroinvertebrate prey in the environment, benthic fauna were collected at the same time periods as the parr were sampled. For schedule reasons, this could not be done in July and September. On each site, four samples were collected from randomly selected locations to give a good representation of habitats found in riffles. Sampling used a Surber benthic sampler (area, 0.1 m²; mesh size, 250- μ m) and samples were stored in an ice tank until taken to the laboratory. There, specimens were preserved in 70% ethanol in plastic bottles. The composition and relative abundance of the macroinvertebrate drift was not examined, assuming that long pools, characteristic of the River Allier, would act as barriers to stream drift (Martin & Knight 1989), so that invertebrates drifting in the riffle would mainly be species originating from the activity of benthic riffle fauna. This assumption was reinforced by the lack of any flood event during the survey, and the stable flow regime conditions.

4.2. Laboratory analysis

4.2.1. Growth and nutritional condition of Atlantic salmon parr

To estimate the growth trajectories of the fish in the various riffles, body size (total length and wet weight) was assessed by otolith growth and evaluation of individual NL contents.

Sagittal otoliths were extracted from 3 to 7 randomly chosen fish per month and per site. Each otolith was prepared according to an adapted method described by Rakocinski *et al.* (2006). They were glued (Crystalbond 509, AREMCO) on a glass slide and polished in the sagittal plane. Preparations were viewed by an image analysis system using an Olympus BH-2 MTV-3 microscope coupled to a high-resolution video camera (Sis ALTRA 20) and a computer equipped with AnalySiSgetIT software. Length and width, core size and distance to each daily increment were measured along the longitudinal axis of sectioned otoliths by ImageJ software.

To determine NL content, 3–7 frozen fish were freeze-dried and weighed (Mettler AE163 electrobalance) to determine dry mass. Total lipids were then extracted from each salmon carcass (including intestine and empty stomach) following a modified version of Folch *et al.*'s procedure (Folch *et al.* 1957). Lipid classes were separated and NL quantified using the Iatroscan Th10 mark IV analyser, which combines TLC and flame ionisation detection, following the method described elsewhere (Desvillettes *et al.* 1997).

4.2.2. Stomach contents and benthic sample analysis

Per site and date, 6–19 preserved stomach contents were analysed under a binocular loop. Food items were identified and enumerated. Macroinvertebrates were identified to genus level for Diptera, Ephemeroptera and Trichoptera and to family level for other taxa. When insect prey was damaged, only cephalic capsules were counted. Prey items were measured in a minimum of three alimentary tract contents per site and month. The total body length of each individual prey was determined with an image analysis system (LEICA Qwin) to the nearest 0.01 mm from the anterior head to the end of the last abdominal segment, excluding cerci and other appendages (Towers *et al.* 1994).

Preserved benthic macroinvertebrates were sorted out, counted and identified as described above. The dry mass (60 °C for >48h) of each sample was determined using a Mettler AE163 electrobalance.

4.3. Data analysis

4.3.1. Growth parameters

The effects of site and date on parr growth were determined by examining total length and wet weight evolution and daily growth rate calculated from otolith analysis. The length-weight relationship for fish in the various riffles and in the hatchery were established using the common formula (Ricker 1975):

$$W = \alpha \cdot TL^b$$

where W is body weight of fish in g, TL body length of fish in cm, and α and b are constants. Total length and weight were \log_{10} -transformed and least square regressions ($\log_{10}W \times \log_{10}TL$) were performed to determine the length-weight relationship ($\log_{10}W = \log_{10} \alpha + b \cdot \log_{10}TL$) for all sampled salmon parr by site. The exponential form of the slope (b-value) and intercept (α -value) thus obtained were used to calculate the relative condition factor (K_n -factor) for each fish according to the following equation (Le Cren 1951):

$$K_n = W / \alpha \cdot TL^b$$

where W is body weight in g, TL is body length in cm, and α and b are the exponential forms of the intercept and slope, respectively. To identify significant effects of site, hatchery and date, a two-way analysis of variance (ANOVA) was performed on each dependent variable followed by a *post hoc* pair-wise comparison Tukey test on fish size and weight, daily growth rate, condition factor and total lipid concentration. All data were checked for normality and variance homogeneity before analysis, and log-transformed when necessary.

4.3.2. Prey availability and diet analysis

To facilitate analysis, the various invertebrate items found in the stomachs and benthic samples were categorised as Coleoptera larvae and adults, Diptera larvae and pupae, Ephemeroptera nymphs, Plecoptera nymphs, Trichoptera larvae, and other prey (for items <5% abundance). The density, biomass and relative composition of benthic invertebrates were determined in order to study variations in prey availability during the survey in each restocking riffle. After \log_{10} -transformation, invertebrate density and biomass were analysed by two-way ANOVA followed by a *post hoc* pair-wise comparison Tukey test to test for site and date effects.

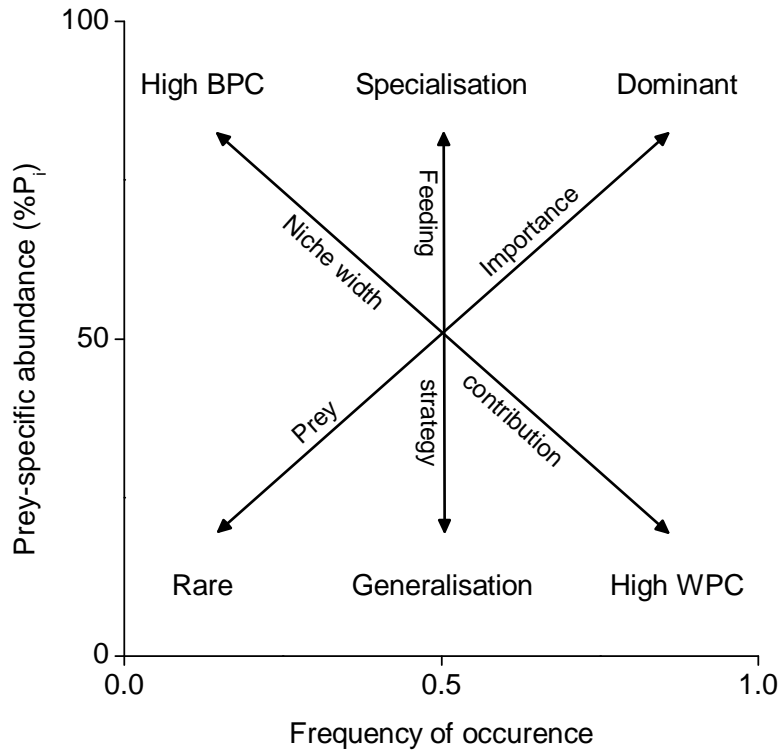


Fig. 13. Modified Costello graph showing explanatory axes (adapted from Amundsen et al. 1996). (1) Prey prevalence is represented in the diagonal from lower left (rare prey) to upper right (dominant prey); (2) feeding strategy is represented in the vertical axis from bottom (generalisation) to top (specialisation): specialisation by individual predators (upper left of the diagram) and specialisation of the predator population (upper right); and (3) contribution of between- and within-phenotype (or individual) components to the niche width is represented in the diagonal from lower right [most of the individuals utilize many resource types simultaneously, high within-phenotype component (WPC)] to upper left [different individuals specialize on different resource types: high between-phenotype component (BPC)].

Salmon parr diet was defined by the common numerical method. Percentage abundance (%A_i) and frequency of occurrence (F_i) were calculated for each prey category using the following formula (Amundsen et al. 1996):

$$\%A_i = (\sum S_i / \sum S_t) \times 100 \text{ and } F_i = (N_i / N) \times 100$$

where S_i is the stomach content (in this case, number) comprised of prey i, S_t is the total stomach content for all prey categories in t fish, N_i is the number of fish with prey i in their stomach, and N the total number of fish with stomach contents.

The graphical analysis proposed by Amundsen *et al.* (1996) was used to interpret the whole dataset of prey categories identified in stomach contents. This is a modification of Costello's method (Costello 1990) which allows foraging behaviour and prey importance to be analysed by a two-dimensional representation of frequency of occurrence (F_i) and prey-specific abundance. The prey-specific abundance (%P_i) takes into account only those predators in which the actual prey occurs (Amundsen et al. 1996):

$$\%P_i = (\sum S_i / \sum S_{ti}) \times 100$$

where S_i is the stomach content (in this case, number) comprised of prey i, and S_{ti} the total stomach content in only those fish that consumed prey i. According to Amundsen *et al.* (1996), the interpretation of the diagram (prey importance, feeding strategy and inter- and intra-individual components of the niche width) can be obtained by examining the distribution of prey categories (points) along the diagonal and axes of the graphic (see Fig. 13).

In addition, possible size selectivity was assessed by examining prey size evolution throughout the survey in each restocking riffle. Effects of date and site on prey size were assessed by two-way analysis of variance (ANOVA). When significant differences were found, they were located by *post-hoc* Tukey test. All statistical analyses were performed using SYSTAT 12 software and were considered significant at P < 0.05.

5. Results

5.1. Fish samples

5.1.1 Growth parameters

Significant variation in growth performances of *S. salar* parr was observed between restocking riffles and hatchery (ANOVAs and *post-hoc* Tukey tests: TL: F_{5, 255} = 13.70, P < 0.01, W: F_{5, 255} = 17.18, P < 0.01; Fig. 14a,b). The maximum length and weight were reached

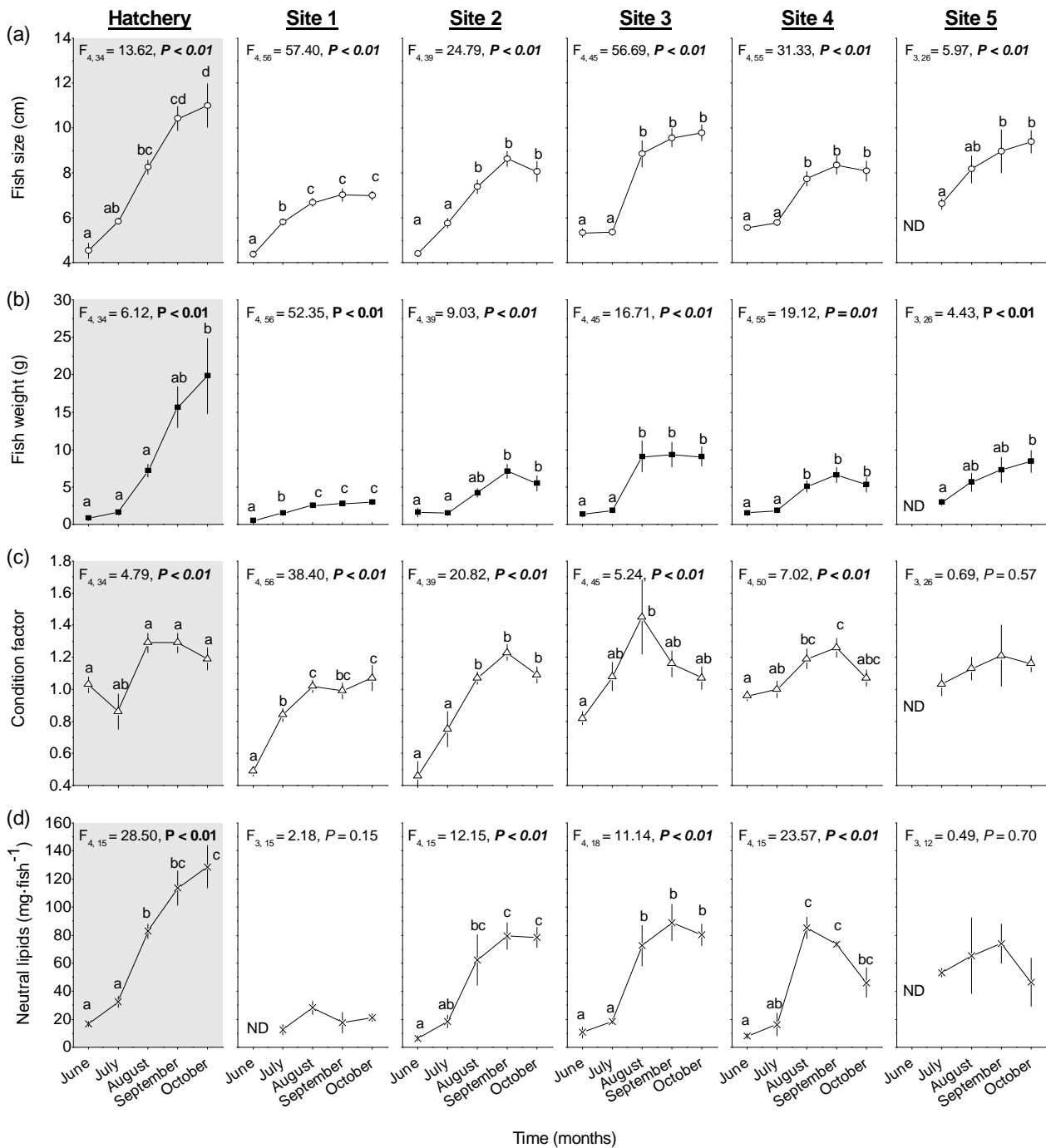


Fig. 14. Temporal/seasonal changes (June–October) in total length (mean, cm; **a**), wet weight (mean, g; **b**), condition factor (mean; **c**) and neutral lipid contents (mean, mg·fish⁻¹; **d**) of reared parr in the hatchery (in grey) and parr sampled in the five restocking sites. F and P-values are the results of two-way ANOVAs. Different letters indicate significant differences (ND = No data).

in Site 3 (TL = 9.78 ± 0.35 cm, W = 9.08 ± 1.31 g) and Site 5 (TL = 9.38 ± 0.50 cm, W = 8.41 ± 1.45 g) while lower growth performances were observed in Sites 4 and 2 (Site 4: TL = 8.09 ± 0.45 cm, W = 5.29 ± 0.97 g; Site 2: TL = 8.06 ± 0.45 cm, W = 5.49 ± 0.99 g), and especially in Site 1 (TL = 6.98 ± 0.19 cm, W = 2.95 ± 0.27 g). Thus, it appeared that the total length and wet weight of parr varied according to the upstream–downstream gradient, with better growth in fish from downstream (Sites 3, 4 and 5) than upstream riffles (Sites 1 and 2). In the hatchery, the maximum length and weight of reared fish was greater than that of the restocked fish, reaching a maximum of 11.00 ± 0.98 cm and 19.82 ± 5.04 g respectively. Furthermore, it is of interest to note that salmon growth recorded in the intermediary riffle (Site 3) was closest to that observed in the hatchery, although growth increased more regularly in the latter (Fig. 14a,b). In downstream sites, a greatest length and weight increase was observed between July and August, especially in Site 3.

These significant differences in parr growth patterns along the upstream–downstream gradient were confirmed by otolith analysis ($F_{4,67} = 8.26$, $P < 0.01$; Fig. 15). Tukey's *post-hoc* test indicated that parr otolith daily growth did not differ between the first and second sites (around $2.27 \pm 0.05 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$). These upstream riffles were separated from the three others (Sites 3, 4 and 5), where mean daily otolith growth was significantly higher, ranging from 2.63 ± 0.15 to $3.13 \pm 0.22 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$ (Fig. 15).

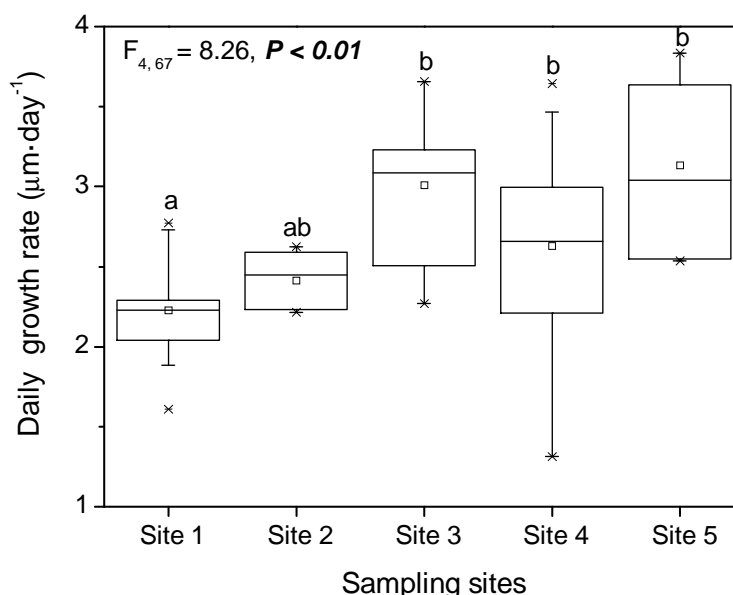


Fig. 15. Mean daily growth rates ($\mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$) of parr otoliths estimated from analysis undertaken with fish from the five restocking sites (June–October). F and P-values are the results of one-way ANOVA. Different letters indicate significant differences.

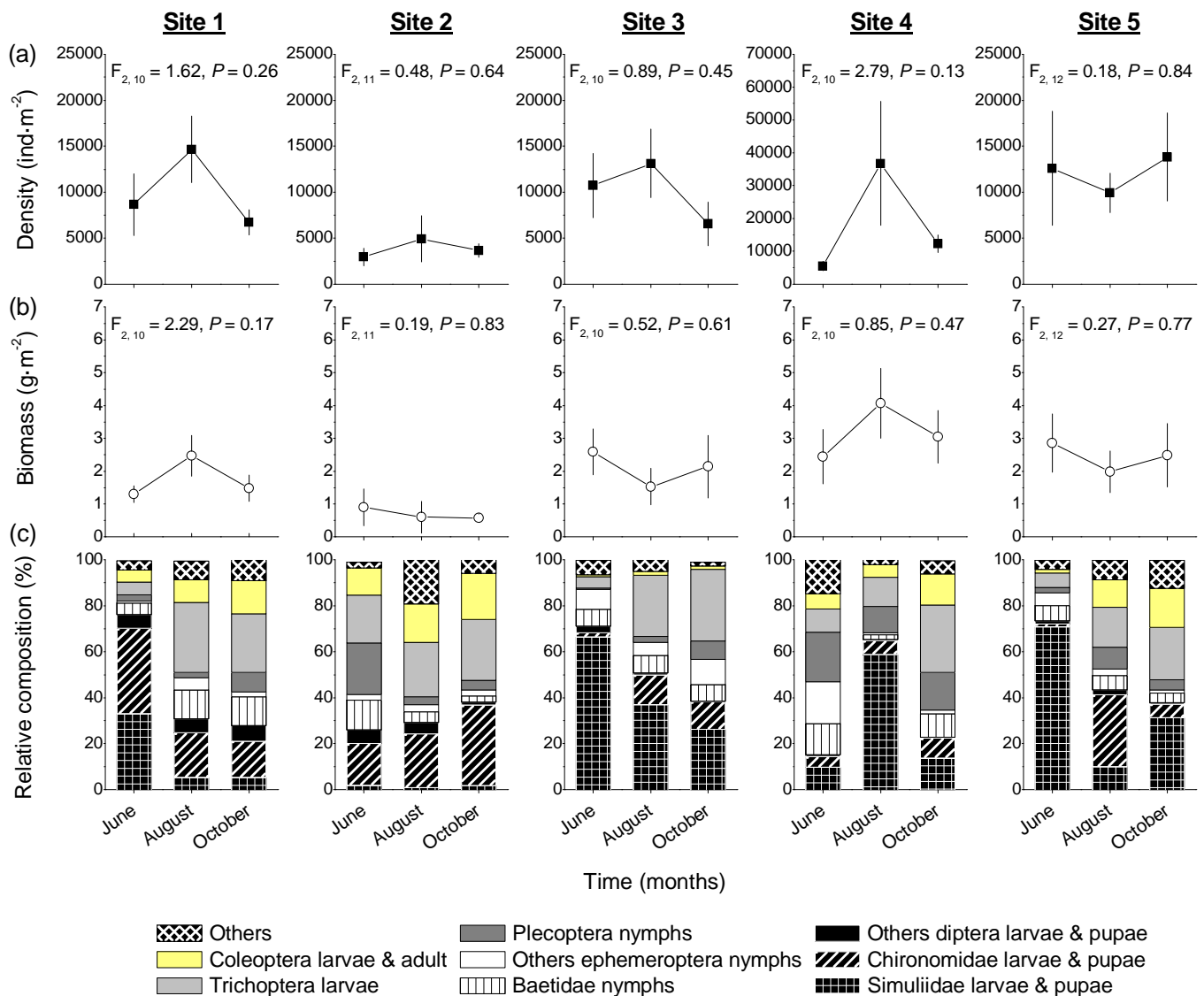


Fig. 16. Seasonal changes in density (mean, ind·m⁻²; **a**), biomass (mean, g·m⁻²; **b**) and taxonomic composition (%; **c**) of macroinvertebrates collected in the five riffles. F and P-values are the results of two-way ANOVAs.

5.1.2. Condition factors

Parr condition factors varied significantly with restocking riffle and hatchery tank (ANOVAs and *post-hoc* Tukey tests: $F_{5, 255} = 11.41$, $P < 0.01$; Fig. 14c). They also showed monthly variations in each site and in the hatchery, with the exception of Site 5 ($F_{3, 26} = 0.69$, $P = 0.57$). At the beginning of the survey, the relative condition factors appeared higher for hatchery-reared parr ($K_n = 1.03 \pm 0.05$) and restocked parr from Site 3 ($K_n = 0.82 \pm 0.04$) and Site 4 ($K_n = 0.96 \pm 0.03$) than in upstream sites (Site 1: $K_n = 0.49 \pm 0.03$; Site 2: $K_n = 0.46 \pm 0.09$). Values reached at the end of the study (October) showed no significant differences between sampling zones ($F_{4, 40} = 0.49$, $P = 0.75$), while the condition factor was highest for hatchery parr ($K_n = 1.07 \pm 0.08$; Fig. 14c).

5.1.3. Lipid deposition

Neutral lipid contents evolution varied significantly with site and hatchery (ANOVAs and *post-hoc* Tukey tests: $F_{5, 90} = 4.37$, $P < 0.01$; Fig. 14d). NL deposition was significantly higher in fish growing in Sites 2, 3, 4 and 5, while the amounts deposited in fish from Site 1 were the lowest observed. Moreover, NL storage was higher in hatchery-reared parr than in any riffle restocked fish. Monthly variations were also observed in each restocking riffle ($F_{4, 90} = 15.61$, $P < 0.01$), except in Sites 1 and 5. The NL concentration per fish increased markedly from July to August in Site 4, and from July to September in Sites 2, 3 and 5. In October, a tendency towards a decrease was then observed in parr from those riffles, but was not statistically significant (Fig. 14d).

5.2. Available food resources

The total density of all benthic macroinvertebrates significantly differed with riffle and month (ANOVAs and *post-hoc* Tukey tests: riffles, $F_{4, 53} = 2.92$, $P = 0.03$; months, $F_{2, 53} = 3.38$, $P = 0.04$), but their interaction was not significant ($F_{8, 53} = 1.92$, $P = 0.09$; Fig. 16a). Significant differences in macroinvertebrate biomass were observed only between sites ($F_{4, 53} = 5.06$, $P = 0.01$), and not months ($F_{2, 53} = 0.08$, $P = 0.92$; Fig. 16b). Site 2, with mineral microhabitats (no submerged macrophytes), exhibited the lowest recorded macroinvertebrate density and biomass, with minimum values found in October in this riffle ($3\ 657.47 \pm 741.73$ ind·m⁻², 0.57 ± 0.13 g·m⁻², respectively). On the other hand, the highest values ($36\ 737.30 \pm 18\ 880.28$ ind·m⁻², 4.07 ± 1.06 g·m⁻², respectively) were observed, in August, in Site 4, which

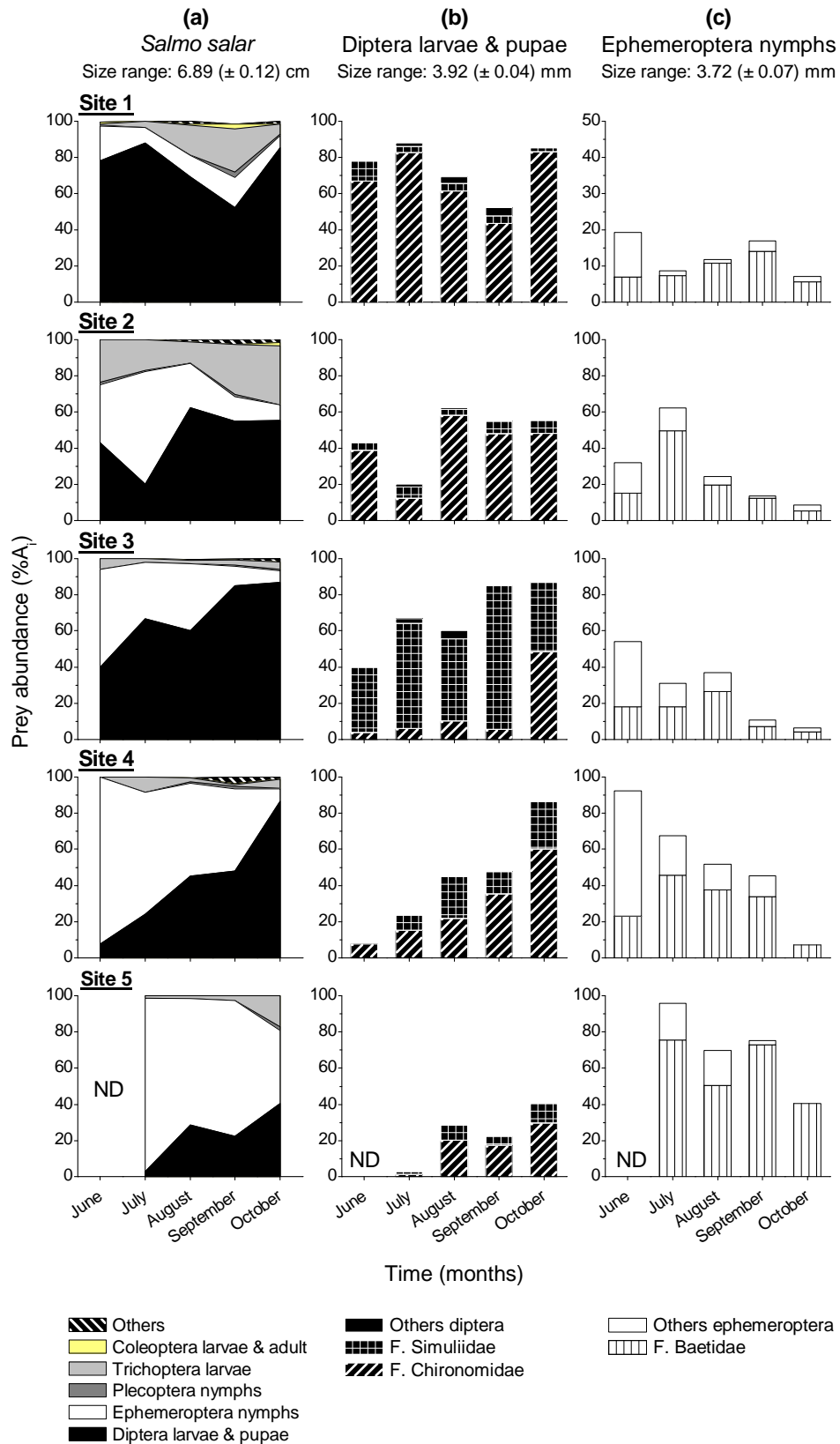


Fig. 17. Prey abundance in the stomach samples (a) and family composition of Diptera larvae and pupae (b) and Ephemeroptera nymphs (c) in the diet of *Salmo salar* parr in the five restocking riffles from June to October (ND = No data).

presented microhabitats of aquatic vegetation (hydrophytes). Within a given riffle, no significant differences in density and biomass were observed from June to October, and this was true for all riffles (Fig. 16a,b), although densities showed a slight tendency to be greater in August, except in the last downstream riffle (Site 5, see Fig. 16a).

A total of 67 different invertebrate taxa were recorded in the benthic samples, with a majority of insect larvae and pupae (mean = 94%). The incidence and relative composition of these taxonomic groups differed slightly along the upstream–downstream gradient (Fig. 16c). Diptera larvae dominated the benthic fauna of the Upper Allier: Chironomid larvae were most abundant in upstream (Sites 1 and 2) and Simuliid larvae in downstream riffles (Sites 3–5). Caddisfly larvae were the second most frequent invertebrate groups found in all sampled riffles. The third most abundant group was mayfly nymphs, with only one dominant family (*Baetidae*). Ephemeroptera nymphs were present in each riffle throughout the sampling period (Fig. 16c).

In all concerned riffles, there were no clear seasonal changes in macroinvertebrate taxonomic assemblage for the majority of families encountered. It seemed, however, that the amount of Diptera larvae tended to decrease with time as a consequence of adult emergence. In contrast, the amount of Trichoptera larvae increased from June to October following the development of the young instar cohorts (Fig. 16c).

5.3. Feeding of salmon parr

5.3.1. Fish diet

Over the entire survey, a total of 225 stomachs were examined, with only 10% empty stomachs. 21 prey taxa, mostly aquatic insects (mean = 98%), were identified from the full stomachs. In all riffles and over the whole survey, the dominant salmon parr prey were Diptera larvae ($A_i = 64\%$), Ephemeroptera nymphs ($A_i = 27\%$) and Trichoptera larvae ($A_i = 7\%$; Fig. 17a). Other taxa, such as Coleoptera, Gastropoda, Hydracarina, Oligochaeta and Plecoptera, were also consumed, but generally constituted $< 1\%$ of the salmon diet and could be regarded as secondary or occasional prey (Fig. 17).

Some gradual dietary changes in the resources used by salmon parr were observed from June to October and differences also occurred between riffles (Fig. 17). Mayfly nymphs (mainly *Baetidae*) decreased in importance with time in Sites 2 (62 to 9%), 3 (54 to 6%) and 4 (92 to 7%), whereas Diptera larvae increased (Site 2: 30 to 55%; Site 3: 40 to 87%; Site 4: 8

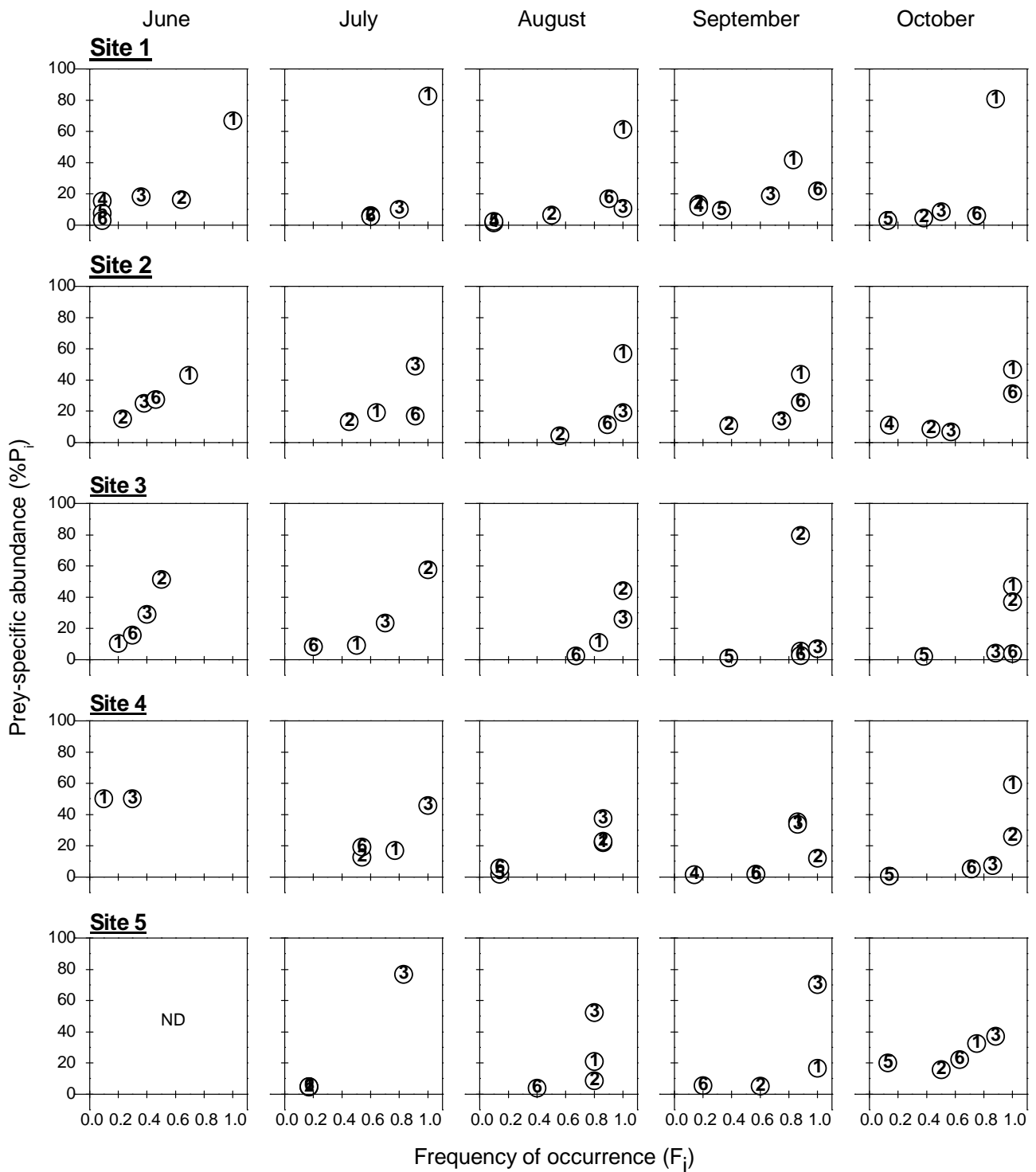


Fig. 18. Feeding strategy diagram in the five restocking riffles according to the Costello method. Prey-specific abundance (%P_i) plotted against frequency of occurrence (F_i) of food items in the diet of *Salmo salar* parr from the River Allier (ND = No data). Food items: 1. F. Chironomidae, 2. F. Simuliidae, 3. F. Baetidae, 4. Coleoptera, 5. Plecoptera, 6. Trichoptera.

to 86%). More specifically, Chironomid larvae provided major contributions to diet in Sites 2 and 4, while Simuliid larvae were predominant in Site 3. In Site 5, the mayfly Baetid dominated the diet throughout the sampling period, ranging from 40% to 76% of stomach contents. In the first (upstream) site, Chironomid larvae predominated, constituting from 43% to 83% of the salmon diet. Trichoptera larvae were also eaten by salmon parr but in lower proportions than the main prey taxa (Diptera and Ephemeroptera). These Trichoptera were more abundant in the stomachs of parr sampled in the two upstream riffles (Site 1: $A_i = 8\%$; Site 2: $A_i = 18\%$; Fig. 17).

Generally speaking, diet composition diversified as of August, with a greater contribution of secondary and occasional prey (Fig. 17a). The diversification of invertebrates in the salmon parr diet reflected that found in benthic samples (Fig. 16c). Despite this, 0+ salmon parr collected in the Upper Allier exhibited only slight seasonal variation in diet.

5.3.2. Feeding strategy and prey selection

The modified Costello plot confirmed previous observations made from Fig. 17. Considering the prey importance axis (see Fig. 13), parr diet was mostly based on rare items except for one or two prey categories which tended to be dominant prey (Fig. 18). The dominant preys appeared to vary from riffle to riffle. Indeed, Chironomid larvae were more prominent in the stomachs of parr from Sites 1 ($F_i > 0.80$, $\%P_i > 40\%$) and 2 ($F_i > 0.60$, $\%P_i > 40\%$), Simuliid larvae in Site 3 ($F_i > 0.50$, $\%P_i > 30\%$), and Baetid nymphs in Sites 4 ($F_i > 0.80$, $\%P_i > 30\%$) and 5 ($F_i > 0.80$, $\%P_i > 30\%$; Fig. 18). In the first three riffles, the most common prey found in stomach contents appeared to be that most available in the benthic fauna (see Fig. 16c). In the other sites, results were not so clear. Baetid nymphs were consumed heavily in Sites 4 and 5 but were not frequent in the environment (Fig. 16c and 18).

To assess possible prey size selectivity, the mean size evolution of prey was observed throughout the studied period in each restocking riffle (Fig. 19). A significant increase in prey size with time was observed in each riffle (ANOVA and *post-hoc* Tukey test: Sites, $F_{4, 2152} = 21.01$, $P < 0.01$; Dates, $F_{4, 2152} = 55.99$, $P < 0.01$), except in the last site, where no difference in prey size between months was recorded ($F_{3, 131} = 2.30$, $P = 0.08$). Thus, size of invertebrate prey increased with fish size in all sites whereas prey type stayed the same.

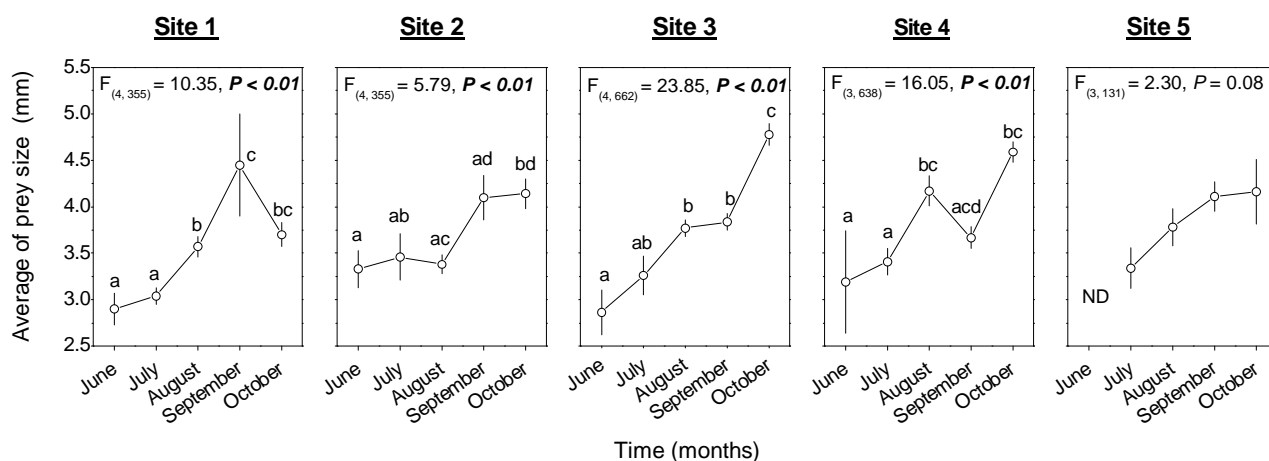


Fig. 19. Mean total length (mm) of *Salmo salar* preys and results of two-way ANOVAs. Different letters indicate significant differences between months in each site (ND = No data).

6. Discussion

The growth of restocked salmon parr in the River Allier varied along an upstream–downstream gradient. The highest growth performances were observed for parr from downstream riffles (Sites 3, 4 and 5), with optimal values recorded in the intermediary riffle (Site 3), whereas the lowest were found in the upstream riffle (Site 1). The same pattern was observed for NL composition and condition factors, with the lowest values recorded in the first site. The physiological status of restocked parr increased throughout the study period without reaching that of hatchery parr. However, a discrepancy in monthly evolution between lipid storage and condition factor was observed in the first riffle. These findings support the contention that the condition factor may be a relatively poor indicator of the energy status of both Atlantic salmon and of several other fish species (Simpson et al. 1992; Saliu et al. 2007), although it has often been assumed to indicate the lipid content/energy reserve of fish (Herbinger & Friars 1991; Johansen & Jobling 1998). The observed differences between hatchery parr and parr from upstream and downstream locations suggest sufficiently variable rearing conditions within the River Allier to influence growth and energy storage. It was hypothesised that this could be related to differences in available prey type and density along the upstream–downstream gradient, as well as differential expenditure between riffles (Shackley et al. 1994; Dempson et al. 2004).

Macroinvertebrate quantities in the bottom fauna tended to be highest in downstream sites, although the observed differences were not statistically significant owing to the wide standard errors. These variations, linked to the benthic fauna sampling design, were the direct result of microhabitat diversity in downstream riffles from Sites 3 to 5. In those riffles, contrary to what was observed upstream, the microhabitats of aquatic vegetation (hydrophytes) contained the richest fauna in terms of density. In contrast, mineral microhabitats were poorer in fauna. These findings agreed with previous studies undertaken in large temperate rivers, such as the Upper Rhone (Cogerino et al. 1995) or River Sieg, a Rhine tributary (Bischoff & Freyhof 1999). Macroinvertebrate assemblages in our studied riffles were greater than or equal to the relative total density of macroinvertebrate assemblages described from the Allier river basin (Nelva et al. 1979; Beauger et al. 2006). The lower densities and biomass recorded in Site 2 resulted from a specificity of this reach, which has torrential flow (see Table 2) and shows only mineral microhabitats, making densities closer to those reported for mountain streams (Lagarrigue et al. 2001).

In this context of normal prey abundance, 0+ parr can be considered as generalist feeders in the River Allier, with a relatively broad niche width composed of several rare preys caught occasionally. On the other hand, three predominant prey families were observed in the stomach contents: Baetid nymphs, Chironomid and Simuliid larvae. These types of prey constitute a large part of the salmon parr diet in different temperate and sub-arctic streams (Maitland 1965; Thonney & Gibson 1989; Keeley & Grant 1997). However, this preference varied in the Allier riffles along the upstream–downstream linear: Chironomid larvae were the predominant prey in upstream riffles (Sites 1 and 2), Simuliid larvae in the intermediary riffle (Site 3), and Baetid nymphs in downstream riffles (Sites 4 and 5). In the three upstream sites, 0+ parr fed more intensively on Chironomid and Simuliid larvae because these prey types were locally abundant. This similarity between environment components and salmon diet was already observed in other studies of stream-dwelling salmonids in North American rivers (Forrester et al. 1994; Keeley & Grant 1997). In addition to their abundance, the life mode of these preys may also explain this preference. They are mostly associated with the bottom and are therefore easy to capture due to their low mobility (Vignes 1998; Amundsen et al. 2001). This would imply that benthic feeding could prevail in these upstream riffles, which has also been demonstrated in other studies of juvenile salmon (Sosiak et al. 1979; Keeley & Grant 1995; Gabler et al. 2001). In downstream riffles (Sites 4 and 5), Simuliid larvae dominated the benthic fauna, whereas Baetid nymphs were preferentially chosen by parr. This poor

association between diet and available bottom prey observed in these sites may reflect more substantial drift feeding. *Baetidae* species are frequently regarded as intentional drifters, particularly when subject to Salmonid predation (Forrester 1994; Rader 1997). Consequently, their strong abundance in salmon parr diet can reflect an increasing drift feeding, as shown in some studies conducted in sub-arctic Norwegian rivers (Amundsen et al. 2001; Gabler et al. 2001).

Prey size was also an important factor in prey choice (Wankowski 1979). Many relationships between prey size and Salmonid body size have been established for small fish. They were often linked to morphological constraints, optimal prey size and feeding energetics (Keeley & Grant 1997). In the Upper Allier, mean prey size increased with fish body size but the type of prey preferentially chosen in each riffle stayed the same. No size-dependent diet segregation occurred here, even if variations in the taxonomic composition of diet have been frequently reported elsewhere between small and large parr (Keeley & Grant 1997; Erkinaro & Erkinaro 1998). In general, the favourite preys of 0+ parr are small sized and apparently found at high densities in the Upper Allier. According to Steingrimsson & Gislason (2002), a sufficient supply of large prey items or a greater abundance of small prey, such as Diptera larvae, may maintain the growth of salmonids.

Thus, growth performance and lipid storage were considerable in the intermediary and downstream riffles (Sites 3, 4 and 5) where Simuliid larvae and Baetid nymphs were predominantly consumed by Atlantic salmon. In contrast, lower values were observed in upstream riffles (Sites 1 and 2) where Chironomid larvae were preferentially selected, especially in Site 1. Whether Simuliid larvae and Baetid nymphs have higher nutritional value than Chironomid larvae remains to be determined. According to Bell *et al.* (1994), the amount of fatty acid supplied by prey, especially polyunsaturated and monounsaturated components, might be a discriminatory factor in prey's nutritional quality for salmon parr. However, it seems that variations in fatty acid composition between aquatic insects such as Chironomid larvae and Ephemeroptera nymphs are slight (Ghioni et al. 1996), and they remain unknown for Simuliid larvae. Experimental studies on feeding parr have shown that diet with similar fatty acid composition did not induce differences in fish body weight gain or in lipid storage (Polvi & Ackman 1992; Rollin et al. 2003). Therefore, it can be suggested that the low growth and lipid storage rates observed in salmon of the first riffle were not solely linked to the quality and abundance of food. Interactions between food abundance, prey assemblages and

several habitat variables could better explain the parr growth performance observed along the river linear.

Some studies have shown that water temperature and velocity are able to interact with food availability in determining the growth performance of Atlantic salmon. Jonsson *et al.* (2001) estimated that the optimum temperature for growth ranged between 16° and 20°C. In temperate rivers, Beland *et al.* (2004) showed that parr prefer areas with water depths ranging from approximately 10–60 cm and water velocities between 30 and 92 cm·s⁻¹. All downstream riffles (Sites 3–5) had mean values approximately within these ranges, while upstream riffles (Sites 1 and 2) had lower values (see Table 2). Here again, the Site 1 was the only one to exhibit a mean water temperature and velocity below these ranges. This might partly explain the difference in growth rate encountered between downstream and upstream riffles. On the other hand, Kemp *et al.* (2006) showed that fish growth and lipid content were better when the energy costs of foraging were low: i.e., at lower velocity. Accordingly, better growth performance would be found in Site 1. However, these findings are only relevant if prey abundance and competition are not the primary limiting factors. It was hypothesised that food limitation was slight, and – without enough knowledge of prey nutrient contents – competition could be considered as a substantial cause of reduced performance in parr from upstream riffles.

According to Imre *et al.* (2005), the growth of 0+ salmon seemed to start to decrease when salmon densities exceeded 30–40 fish·100 m⁻². There was a density-dependent limiting factor in response to intra-species competition. However, recorded salmon densities were good in the three upstream riffles (Site 1–3) and low in the last downstream riffles (Sites 4 and 5). Thus, no obvious intra-species competition seemed to lead to parr growth reduction in Site 1 (see Table 2). Considering the small size and densities of other fish species in this site (see Table 2), it can therefore be suggested that inter-species competition affects parr growth and nutritional status in the most upstream riffle (Kennedy & Strange 1986; Gabler & Amundsen 1999). Thus, competition for resources, such as habitat and food, could occur in this area. Such inter-species competition was previously reported by Gabler & Amundsen (1999) in the sub-arctic River Reisa. In addition to Cottidae, brown trout, stone loach and minnow are also known to compete with Atlantic salmon (Maitland 1965; Kennedy & Strange 1986). In contrast, the coexistence of some warmer water species, such as barbel and gudgeon, with wild or restocked salmon has been little studied. Barbel feed almost exclusively on benthic Diptera (Bischoff & Freyhof 1999) and gudgeon can reduce the drift of Baetid nymphs

(Winkelmann et al. 2007). The question arises as to whether feeding competition occurred between these fish and salmon in our riffles. Given the lack of detailed studies on the actors involved, it may be suggested that the low densities of parr observed in downstream riffles of the barbel zone (Sites 4 and 5) could be the result of such inter-species competition.

In conclusion, our results show that the growth, lipid storage and condition factors of salmon parr varied along a longitudinal gradient in a large temperate river. Indeed, these restocked parr face different biotic and environmental conditions along the upstream–downstream gradient. Not only temperature and food availability, but also inter-species competition may interact to determine growth. Site 1 can be considered as the extreme upstream limit for 0+ salmon restocking. The low growth and lipid storage recorded in this area during the active feeding period could be a major cause of overwintering mortality of parr facing harsh climatic conditions (Jobling 2001; Dempson et al. 2004). In contrast, while parr growth performances were good in downstream riffles (Sites 4 and 5), the densities usually found were low. Within these reaches of the downstream gradient, competition with other benthivorous species is suspected and will be examined in further research. Finally, the most favourable site for optimum growth and nutritional status was the intermediary riffle (Site 3), with values close to those achieved in hatchery-reared parr. Located in the grayling zone, reaches similar to Site 3 constitute a linear of about 25 km where progressive modifications in environmental parameters and fish species assemblage occur. To enhance salmon stocks in large European rivers, further studies will be necessary to analyse parr development in such specific intermediary areas of the lotic system.

7. Acknowledgements

We thank the *Conservatoire National du Saumon Sauvage* for their helpful contribution to electrofishing operations and hatchery samples, and D. Gerdeaux (*Station d'Hydrobiologie Lacustre*, Inra, Thonon) for his advice during the otolith study. We are grateful to M. Nicolas for the preparation and reading of the otoliths. We also thank him, B. Misson and J. Sauvanet for their help during the analysis of stomach contents and macroinvertebrate identification. We express our gratitude to L. Jouve and C. Lemarchand for help and support during the study. The English was revised by I. McGill.

Chapitre IV :

Influence des proies naturelles sur la croissance et la composition en acides gras de tacons 0+ déversés dans une large rivière européenne (l'Allier)

Descroix A., Desvillettes C., Bec A., Martin P. and Bourdier G. Impact of macroinvertebrate diet on growth and fatty acid profile on restocked 0+ salmon parr (*Salmo salar* L.) from a large European river (the Allier). **Publication soumise au "Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences", en révision.**

Chapitre IV: Influence des proies naturelles sur la croissance et la composition en acides gras de tacons 0+ déversés dans une large rivière européenne (l'Allier)

Préambule	p 58
Impact of macroinvertebrate diet on growth and fatty acid profile on restocked 0+ salmon parr (<i>Salmo salar</i> L.) from a large European river (the Allier)	
1. Abstract	p 61
2. Introduction	p 62
3. Materials and Methods	p 64
3.1. Study sites	p 64
3.2. Fish rearing and field sampling	p 64
3.2.1. <i>Fish samples</i>	p 64
3.2.2. <i>Stomach content analysis and macroinvertebrate samples</i>	p 65
3.3. Lipid analysis	p 66
3.4. Data analysis	p 67
4. Results	p 67
4.1 Feeding, growth and total FA content in farmed and restocked parr	p 67
4.1.1. <i>Feeding</i>	p 67
4.1.2. <i>Growth</i>	p 68
4.1.3. <i>Total FA content</i>	p 68
4.2. FA analyses of natural food v. commercial pellets	p 69
4.3. NLFA and PLFA compositions of farmed and restocked parr: differences and temporal changes	p 70
4.4. Diet effects on FA composition in farmed and restocked salmon parr	p 72
5. Discussion	p 72
6. Acknowledgements	p 77

Préambule

Problématique

Les résultats présentés dans le chapitre précédent (**Chapitre III**) nous ont permis de mettre en évidence des variations de croissance, du facteur de condition et de stockage de lipides de réserves chez les tacons déversés dans cinq radiers répartis le long du *continuum* fluvial de l'Allier. Les conditions biotiques (disponibilité et type de proies, compétitions intra- et interspécifiques) et les conditions environnementales (température, débit) rencontrées en sont les principaux facteurs explicatifs. Les meilleures performances de croissance et d'accumulation de lipides sont enregistrées chez les poissons provenant des radiers appartenant aux secteurs les plus avals (radiers de Pradel et de Chambon) et à un moindre degré dans le radier de la plaine potamique (Cohade). Le site le plus favorable est le radier de Pradel, situé au niveau de la transition rhithron-potamon ; la croissance des tacons capturés sur ce site atteignaient des valeurs proches de celles mesurées au CNSS. A l'opposé, les plus faibles valeurs de croissance ont été observées dans la partie amont du linéaire, principalement dans le radier de Luc, localisé en altitude dans la zone à truite.

Le régime alimentaire des saumons déversés est dominé par trois familles de macroinvertébrés (larves ou nymphes de *Baetidae*, *Chironomidae* et *Simuliidae*) avec des proportions relatives variant d'un site à l'autre. Ainsi, les nymphes de *Baetidae* et les larves de *Simuliidae* sont préférentiellement ingérées dans les sites avals alors que les larves de *Chironomidae* constituent la part dominante des contenus stomacaux des tacons du radier de Luc. Les travaux exposés dans ce chapitre s'appuient, en partie, sur ces observations et posent l'hypothèse que ces trois catégories de proies, en présentant des valeurs nutritionnelles différentes, sont susceptibles d'influencer différemment la croissance des tacons.

En eau douce, la qualité nutritionnelle des macroinvertébrés dépend majoritairement de leur contenu énergétique (Gupta et Pant 1983). Ce dernier varie selon les familles et le stade de développement larvaire et peut donc avoir des conséquences sur la croissance et le développement des Salmonidés, comme précédemment observé chez *Coregonus clupeaformis* (Nalepa *et al.* 2009). La qualité nutritionnelle des proies peut également être liée à la teneur en composés spécifiques utiles ou essentiels au développement du prédateur. Les AG et notamment les AGPI des macroinvertébrés peuvent donc jouer un rôle important (Desvillettes *et al.* 1997c). A ce sujet, nous avons souligné précédemment (**Chapitre I**) que la composition

en AG des larves et nymphes d'insectes aquatiques variait en fonction des groupes taxonomiques (Ghioni *et al.* 1996, Sushchik *et al.* 2003). Dès lors, une des hypothèses que nous souhaitons vérifier ici était de savoir si, **en raison de compositions en AG différentes, les macroinvertébrés ingérés pouvaient affecter la croissance des tacons ainsi que leur survie hivernale et leur smoltification.** Nous avons mis l'accent sur l'origine de composés particulièrement importants, tels que le 16:1 ω 7 et 18:1 ω 9, utilisés pour satisfaire les besoins énergétiques; le 18:3 ω 3 et 18:2 ω 6, précurseurs de bioconversion du 20:5 ω 3 et 20:4 ω 6; et les AGPI 20:5 ω 3, 22:6 ω 3 et 20:4 ω 6 considérés comme nécessaires à la croissance et à la survie des jeunes saumons.

Comme nous disposions de tacons élevés au CNSS sur nourriture artificielle, il nous est apparu également intéressant de comparer les profils d'AG de ces derniers avec ceux de leurs congénères déversés sur les radiers du Haut-Allier. En effet d'après plusieurs travaux, il existe une controverse quant à l'efficacité de l'incorporation d'huiles de poissons marins dans les aliments de Salmonidés migrateurs (Bell *et al.* 1997, Bendiksen *et al.* 2003). Même si la formulation de cette nourriture semble favoriser une croissance optimale des juvéniles, sa haute teneur en AGPI semblerait inhiber l'activité des désaturases permettant la bioconversion du 18:3 ω 3 et 18:2 ω 6 en AGPI à 20 atomes de carbones (Tocher *et al.* 2000). Des problèmes physiologiques sont alors susceptibles d'apparaître au cours de la smoltification, tels que l'altération de la production d'eicosanoïdes (Tocher *et al.* 2000). Il est probable que cela pourrait avoir des conséquences, en terme de survie, lorsque les saumons élevés sont uniquement destinés à être relâchés dans le milieu naturel. Dans ce contexte, nous souhaitons savoir si **les juvéniles de saumons préalablement nourris avec des granulés Nutra® riches en AGPI pouvaient rencontrer des difficultés de développement et/ou de croissance lorsqu'ils se retrouvent confronter à des proies naturelles dont les teneurs en AGPI sont différentes de celles des aliments artificiels.**

Sites d'étude

Parmi les cinq radiers de déversements étudiés dans le **Chapitre III**, seuls les trois sites offrant les situations les plus contrastées ont été choisis pour cette étude (Fig. 6): le radier de Luc (Site 1), le radier de Pradel (Site 2) et le radier de Cohade (Site 3).

Précisions méthodologiques

Les tacons utilisés pour cette étude font partie des lots issus des déversements et capturés en milieu naturel sur les radiers du Haut-Allier, et des lots élevés au CNSS. Les macroinvertébrés sont, eux, issus des échantillons de faune benthique précédemment collectés avec les filets Suber. Seuls les trois familles de larves ou nymphes d'insectes majoritairement retrouvées dans les contenus stomacaux des saumons déversés dans le Haut-Allier (**Chapitre III**) ont été analysées: les nymphes de *Baetidae* et les larves de *Chironomidae* et de *Simuliidae*.

Les analyses lipidiques ont, elles, été effectuées à partir des LN et des LP extraits de tous les échantillons (juvéniles et tacons, macroinvertébrés, aliment artificiel). Les LN, principalement constitués de triglycérides, reflètent à quelques modifications près l'origine alimentaire des AG, tandis que les phospholipides résultent de réorganisations liées aux nombreux processus métaboliques (croissance, adaptation à la température, etc.).

Impact of macroinvertebrate diet on growth and fatty acid profile on restocked 0+ salmon parr (*Salmo salar* L.) from a large European river (the Allier)

AURELIE DESCROIX¹, CHRISTIAN DESVILETTES¹, ALEXANDRE BEC¹, PATRICK MARTIN² AND
GILLES BOURDIER¹

¹ Laboratoire "Microorganismes: Génome et Environnement" (LMGE), UMR CNRS 6023, Equipe "Fonctionnement des Réseaux Trophiques Aquatiques", UBP (Clermont-Ferrand II), F-63177, Aubière Cedex, France, ² Conservatoire National du Saumon Sauvage, Chanteuges, France.

Soumis au "Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences", en révision.

1. Abstract

The influence of macroinvertebrate diet on growth and fatty acid (FA) profiles of salmon parr released at fry stage in different riffles was studied in a large temperate river (Allier, France). Comparisons were made between sites, and between restocked parr and hatchery-reared counterparts fed with a traditional fish diet. Significant differences were observed along the longitudinal gradient of the river, and between restocked and hatchery-reared parr. Growth performance and nutritional status were higher in the hatchery and in downstream riffles, and low in the most upstream site. These differences appeared to be related to different types of diet, and consequently to variations in polar and neutral lipid intakes. The most favourable site for optimum growth appeared to be the intermediary riffle, with values close to those achieved in the hatchery. Simuliids and Baetids, preferentially consumed in downstream sites, constitute an interesting type of food, showing quite different FA composition from vegetable oils. This could be of interest for composing a new diet formula for young salmon intended for river restocking, imitating these macroinvertebrate FA profiles.

Key-words: macroinvertebrates ; pellets ; dietary fatty acids ; growth ; restocked and farmed parr ; *Salmo salar* L.

2. Introduction

Salmonid farming in France traditionally uses diets based on marine fish meal and oil, because farmed species are commonly carnivorous. This is also the case in rearing young Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), even though juveniles and parr are known to be freshwater residents, and in their natural environment would encounter a diet consisting mainly of freshwater invertebrates (Thonney and Gibson 1989). However, according to several studies (Ghioni et al. 1996, Sushchik et al. 2003, Torres-Ruiz et al. 2007), the fatty acid (FA) compositions of such insect larvae are quite different from those of the fish oils used in farm diets. Invertebrates showed higher levels of 18:2 ω 6 and 18:3 ω 3, intermediate levels of 20:5 ω 3 and 20:4 ω 6, and lower levels, if any, of 22:6 ω 3 than found in fish-oil based diets. Lipids from freshwater invertebrates consumed by wild salmon parr presented FA profiles closer to those of vegetable-oil than of fish-oil diets (Bell et al. 1997). However, despite obvious economic and environmental arguments, vegetable oils are still little used in the production of salmon for river restocking: in general, salmonid aquaculture prefers the traditional diet based on marine fish oil.

Studies on anadromous salmonids have shown that the FA composition of wild parr and smolt differs from that of farmed counterparts (Bergström 1989, Ahlgren et al. 1994). Farmed salmon fed with fish-oil based diets were particularly rich in ω 3 highly unsaturated fatty acids (HUFA) and had a high ω 3/ ω 6 polyunsaturated fatty acid (PUFA) ratio (Bell et al. 2002), whereas wild parr and farmed parr fed with vegetable oils showed more C₁₈ PUFA, less ω 3 HUFA and a lower ω 3/ ω 6 PUFA ratio (Bell et al. 1998, 2003b). However, the most important fact is that these differences in diet may affect parr-smolt transformation (Bell et al. 1997, Bendiksen et al. 2003), a primordial stage in the salmonid life cycle. Fish-oil based diets can inhibit the desaturase activity in parr and thus affect smoltification, whereas vegetable-oil based diets seem to prevent this inhibition (Tocher et al. 2000). They also seem to enhance the ability of the fish to osmoregulate and thus to adapt to salinity changes (Sargent et al. 1999). Dietary FA must also provide enough energy to ensure sufficient parr growth, whether in the form of monounsaturated fatty acids (MUFA; mainly 18:1 ω 9, 22:1 ω 9) or other easily catabolized compounds (18:3 ω 3) (Henderson 1996, Bell et al. 2003b). Studies on salmonids undergoing parr-smolt transformation also showed that 18:1 ω 9, 22:1 ω 9, 18:3 ω 3 and 18:2 ω 6 were used differently depending on their contribution to different dietary formulae (Tocher et al. 2000, Bendiksen et al. 2003). They can be used as selective substrates either for β -

oxidation and/or, in the case of both 18:3 ω 3 and 18:2 ω 6, for bioconversion into HUFA when dietary 22:6 ω 3 and 20:4 ω 6 are insufficient (Henderson 1996, Bell et al. 1997). It therefore seems wasteful to continue to use marine fish oil diets to raise young salmon for river restocking.

In the wild, just a few insect orders (Diptera, Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera) are consumed by parr, due to special habitat (riffle), morphological and energetic constraints (Wankowski and Thorpe 1979, Keeley and Grant 1997). Moreover, the diversity and composition of available prey, which has been shown to vary along the upstream-downstream gradient in a large European river (Descroix et al. 2009), could affect parr lipid metabolism. Kaushik et al. (2006) observed that differences in prey diversity between the upper and lower reaches of the River Nivelle could explain the upstream-downstream differences in FA composition recorded in parr. This means that freshwater invertebrates are more diverse in their FA composition than is generally thought, a fact that recent studies tend to confirm (Sushchik et al. 2007, Torres-Ruiz et al. 2007). Mainly MUFA and PUFA content differed among macroinvertebrate taxa. In addition, Trichoptera (Hydropsychidae) and Ephemeroptera (Ephemerillidae) exhibited high percentages of ω 3 FA (e.g. EPA: 10-23%) and low percentages of ω 6 FA, while Diptera (Chironomidae) and Oligochaeta generally had low percentages of 18:2 ω 6 and 18:3 ω 3 (Ghioni et al. 1996, Torres-Ruiz et al. 2007). Young salmon will therefore encounter different dietary FA intakes from one site to another, which could affect growth, overwintering and subsequent smoltification in the wild (Nordgarden et al. 2002).

In this context, the objective of the present study was to investigate the dietary origin of the main FAs accumulated by restocked *S. salar* parr during their high-growth period, which will be involved in overwintering and further migration processes. The influence of natural food (aquatic macroinvertebrates) on salmon growth and the FA composition of whole-body neutral lipids (NL) and polar lipids (PL) was analyzed. Emphasis was placed on 16:0 (known to be incorporated into PLs), 16:1 ω 7, 18:1 ω 9 (used as oxidation substrate for energy, Bell et al. 1997), and C₁₈ PUFA, 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 and 22:6 ω 3 (regarded as essential dietary FA). The study was undertaken in three restocking riffles located along the upstream-downstream gradient in the River Allier (France), but comparisons were also performed between hatchery-reared parr fed with a traditional diet based on marine fish-oil and the restocked parr from the same broodstock (Chanteuges salmon hatchery). Our aim was to evaluate the importance of

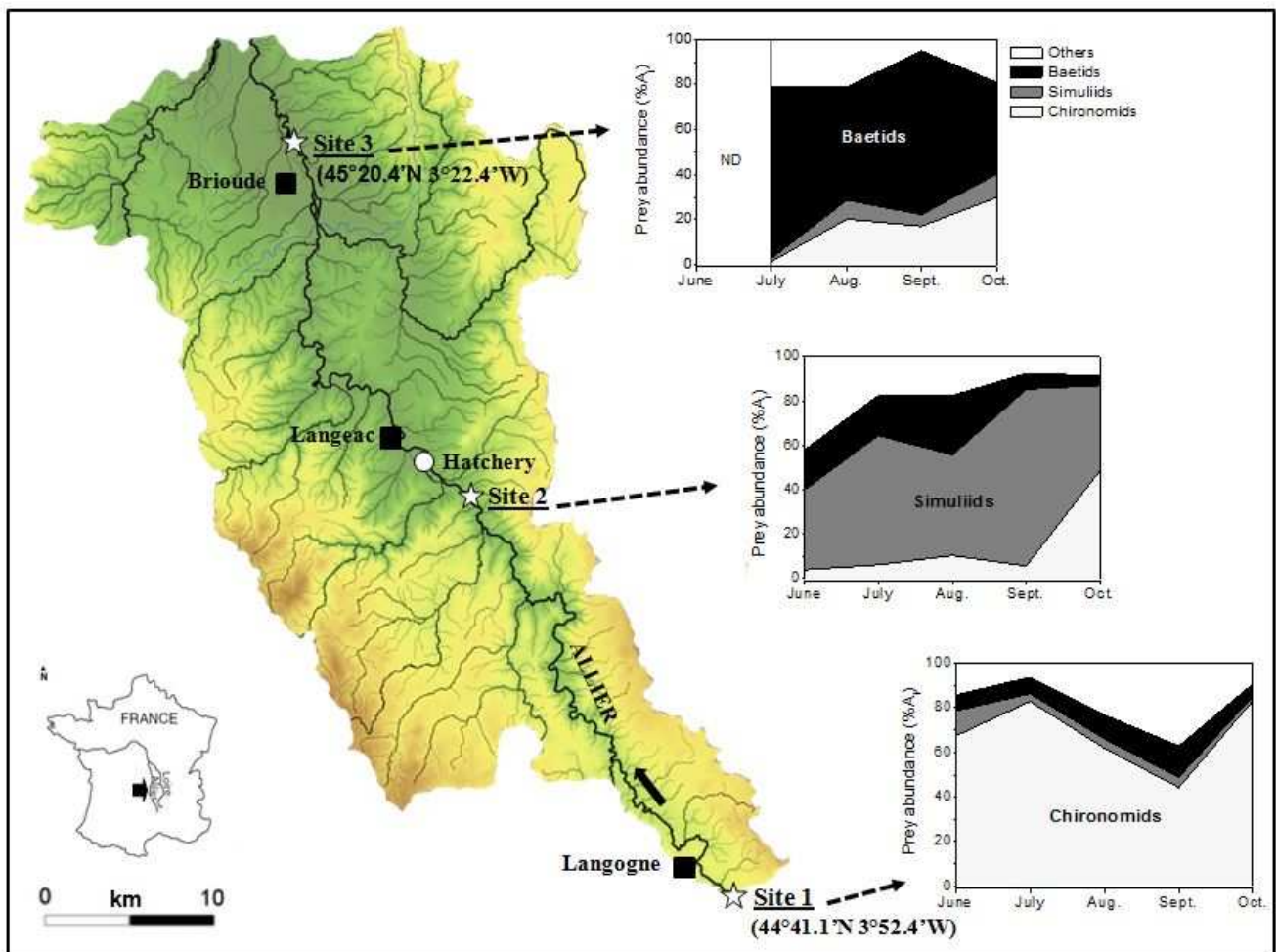


Fig. 19. Prey relative abundance in stomachs of *Salmo salar* parr sampled in three riffles from the Upper Allier. Sampling riffles (white stars) are located on the map as Site 1, Site 2 and Site 3. White circle indicates location of Chanteuges salmon hatchery (ND = No data) (modified from Descroix et al. 2009).

natural food, where FA composition varies over time and between sites, compared to hatchery feed where composition is constant.

3. Materials and methods

3.1. Study sites

The study was undertaken, from June to October 2006, in the River Allier, which belongs to the upstream river network of the Loire basin (France) (Fig. 19). The Loire-Allier axis is famous for its wild salmon population, the last in Europe able to make long distance migration in freshwater (940 km). The wild population is therefore reinforced by restocking the river with 0+ parr (in May) and 1+ smolt (in April) from the Chanteuges salmon hatchery (Haute-Loire, France; see Fig. 19).

Our sampling sites were located in Haut-Allier, the upper part of the River Allier, historically known as a natural breeding area for *S. salar*. There, the river is a fourth to fifth order stream (Strahler 1957) with a watershed of 2 900 km². Three sites were selected according to their upstream-downstream distribution along the river's longitudinal gradient. Site 1 offers middle-rhithron habitats belonging to the trout zone (Huet 1959). Site 2 is located in the grayling zone with lower-rhithron stream characteristics. Site 3 is typical of the upper-potamon fluvial areas located in the barbel zone. Sampling was only performed in riffles where no natural spawning had been observed during the previous autumn (2005). A detailed description of riffle habitats in each site can be found in Descroix *et al.* (2009).

3.2. Fish rearing and field sampling

3.2.1. Fish samples

All parr analyzed in this study originated from artificial spawning of wild *S. salar* caught each autumn in the River Allier. In the Chanteuges salmon hatchery (see Fig. 19) and after yolk-sac resorption, juveniles were reared in circular 400 L fibreglass tanks, with 18 000 fish per tank. Constant water flow (pumped from the River Allier) and a current speed of 8–10 cm·s⁻¹ in the periphery and close to 0 cm·s⁻¹ in the center were maintained in all tanks, under natural photoperiod. Fish were fed to apparent satiation 8 times daily with commercial

Table 3. FA composition (weight % of total FA) in total lipids extracted from commercial pellets and freshwater invertebrates (Mean \pm S.E.). Sites and months are pooled and results of one-way ANOVAs are shown. Different letters indicate significant differences between each type of food.

Fatty acids	Nutra pellets	Baetids	Simuliids	Chironomids	P value
14:0	6.19 (\pm 0.10) ^a	2.55 (\pm 0.32) ^b	1.32 (\pm 0.10) ^d	3.99 (\pm 0.21) ^c	< 0.001
16:0	17.73 (\pm 0.20) ^a	25.43 (\pm 2.42) ^b	20.83 (\pm 0.48) ^{ab}	17.44 (\pm 0.36) ^a	< 0.01
18:0	3.48 (\pm 0.00) ^a	10.67 (\pm 2.25) ^b	7.41 (\pm 0.41) ^{ab}	11.20 (\pm 0.83) ^b	< 0.001
Total SFA	30.13 (\pm0.30)^a	41.84 (\pm3.50)^b	36.71 (\pm0.84)^{ab}	39.91 (\pm1.06)^b	< 0.01
14:1	0.06 (\pm 0.00) ^a	0.04 (\pm 0.02) ^a	4.53 (\pm 0.33) ^b	0.58 (\pm 0.08) ^a	< 0.001
16:1 ω 7	6.47 (\pm 0.10) ^a	10.36 (\pm 1.33) ^b	9.88 (\pm 0.34) ^{ab}	7.30 (\pm 0.48) ^{ab}	< 0.05
18:1 ω 9	9.71 (\pm 0.40) ^a	4.14 (\pm 0.48) ^b	11.99 (\pm 0.46) ^d	6.28 (\pm 0.33) ^c	< 0.001
18:1 ω 7	2.53 (\pm 0.10) ^a	5.37 (\pm 0.63) ^b	3.86 (\pm 0.24) ^b	2.43 (\pm 0.22) ^a	< 0.001
20:1 ω 9	2.91 (\pm 0.40) ^a	0.06 (\pm 0.02) ^b	0.15 (\pm 0.04) ^b	0.14 (\pm 0.05) ^b	< 0.001
22:1 ω 9	3.14 (\pm 0.10) ^a	-	-	0.03 (\pm 0.01) ^b	< 0.001
22:1 ω 7	0.09 (\pm 0.00) ^a	-	-	-	< 0.001
Total MUFA	25.67 (\pm1.30)^a	22.12 (\pm1.68)^b	31.35 (\pm0.82)^c	20.33 (\pm0.59)^b	< 0.001
16:2 ω 4	1.00 (\pm 0.10) ^a	10.84 (\pm 4.57) ^b	0.38 (\pm 0.07) ^a	1.65 (\pm 0.24) ^a	< 0.01
16:3 ω 4	1.29 (\pm 0.10) ^a	0.22 (\pm 0.06) ^b	-	0.53 (\pm 0.06) ^c	< 0.001
16:4 ω 3	0.17 (\pm 0.01) ^a	0.13 (\pm 0.04) ^a	0.12 (\pm 0.03) ^a	0.86 (\pm 0.11) ^b	< 0.001
18:2 ω 6	8.47 (\pm 0.10) ^a	1.96 (\pm 0.25) ^b	5.18 (\pm 0.27) ^d	7.09 (\pm 0.28) ^c	< 0.001
20:2 ω 6	0.17 (\pm 0.01) ^{ab}	0.10 (\pm 0.09) ^b	0.08 (\pm 0.03) ^b	0.55 (\pm 0.17) ^a	< 0.05
20:4 ω 6	0.82 (\pm 0.01) ^a	0.55 (\pm 0.15) ^a	2.27 (\pm 0.319) ^b	0.77 (\pm 0.09) ^a	< 0.001
Total ω6 PUFA	10.16 (\pm0.10)^a	2.91 (\pm0.38)^b	8.01 (\pm0.45)^c	9.07 (\pm0.39)^{ac}	< 0.001
18:3 ω 3	1.33 (\pm 0.00) ^a	7.74 (\pm 1.25) ^b	9.48 (\pm 0.71) ^b	17.12 (\pm 0.84) ^c	< 0.001
18:4 ω 3	2.24 (\pm 0.10) ^a	0.76 (\pm 0.13) ^b	0.92 (\pm 0.06) ^b	0.89 (\pm 0.10) ^b	< 0.001
20:4 ω 3	0.62 (\pm 0.00) ^a	0.11 (\pm 0.04) ^b	0.10 (\pm 0.02) ^b	0.52 (\pm 0.12) ^a	< 0.001
20:5 ω 3	12.27 (\pm 0.60) ^a	7.49 (\pm 0.99) ^b	10.60 (\pm 0.40) ^a	6.33 (\pm 0.48) ^b	< 0.001
22:5 ω 3	1.43 (\pm 0.10) ^a	-	-	-	< 0.001
22:6 ω 3	10.30 (\pm 0.60) ^a	-	0.06 (\pm 0.02) ^b	-	< 0.001
Total ω3 PUFA	29.13 (\pm0.20)^a	17.17 (\pm1.83)^b	21.31 (\pm0.84)^{bc}	25.90 (\pm1.11)^{ac}	< 0.001
Total PUFA	43.73 (\pm0.50)^a	32.42 (\pm3.88)^b	31.14 (\pm1.08)^b	38.74 (\pm0.95)^{ab}	< 0.01
ω 3/ ω 6	2.87 (\pm 0.10)	11.78 (\pm 5.05)	2.85 (\pm 0.17)	2.98 (\pm 0.24)	= 0.08
NI	0.48 (\pm 0.01)	3.64 (\pm 2.39)	0.79 (\pm 0.22)	1.04 (\pm 0.25)	= 0.24

SFA = saturated fatty acids, MUFA = monounsaturated fatty acids, PUFA = polyunsaturated fatty acids

NI = no identified

pelleted food (Nutra HP® 0.3, Skretting, France). This diet contains 57% crude protein, 17% lipids, 8.5% carbohydrates, 10% ash, 0.5% cellulose, 1.3% phosphorus, and 19.9 MJ·kg⁻¹ digestible energy.

In May, an initial sample of these juvenile farm salmon (15 fish, total length ranging from 3 to 4 cm) was collected prior to the beginning of the experiment. Remaining juveniles were then restocked in the river, except for one batch which was isolated from the rest and randomly divided between three 1 000 L tanks containing 1 250 fish each: i.e., was hatchery-reared. Their diet consisted of fish-oil based pellets (Nutra HP® 1.0, Skretting, France) containing 53% crude protein, 19% lipids, 10.5% carbohydrates, 10% ash, 0.5% cellulose, 1.3% phosphorus, and 20.1 MJ·kg⁻¹ digestible energy. More details of the FA composition of this artificial diet are shown in Table 3. Parr were fed 6 times a day until the end of the experiment (October). A mean 12 reared salmon were collected each month from June to October. All fish were anaesthetized and immediately frozen in liquid nitrogen prior to lyophilisation, dry-weight determination and lipid analysis.

All other batches of juveniles were released in the river in late May 2006. In the three selected riffles, release densities were around 10–15 fry·m⁻². After 3 weeks' acclimatization, sampling started and was conducted monthly during the same period as for hatchery-reared parr (June-October). At each site and date, 6 to 19 0+ parr were captured by backpack electrofishing. Stomach contents were extracted by pulsed gastric lavage and diet materials were preserved in 4% formaldehyde. A total of 130 restocked parr were thus collected, of which 69 were immediately frozen in liquid nitrogen pending lyophilisation, dry-weight determination and lipid analysis.

3.2.2. Stomach content analysis and macroinvertebrate samples

Restocked salmon food items were identified and enumerated under a binocular microscope. Macroinvertebrate prey were identified to genus level for Diptera, Ephemeroptera and Trichoptera and to family level for other taxa. Each item's contribution to stomach fullness was described as percentage prey abundance (%A_i) (Amundsen et al. 1996):

$$\%A_i = (\sum S_i / \sum S_t) \times 100$$

where S_i is the stomach content (in this case, number) for prey i, and S_t the total stomach content for all prey categories in the fish. Although prey proportions varied between sites, Baetid nymphs, Chironomid and Simuliid larvae predominated over the survey as a whole (Descroix et al. 2009), and these three families were therefore specifically analyzed for FA

composition. They were collected from a minimum of four locations within each riffle, using a Surber benthic sampler fitted with a 250- μm mesh net. All sampled macroinvertebrates were kept overnight in a tank filled with river water at 4°C, to achieve gut-clearance. The next morning, all Baetid, Chironomid and Simuliid specimens were carefully hand-sorted and counted. Specimens of each family were pooled in pre-weighed vials to obtain appropriate biomass for lipid analysis. When possible, three replicated samples were formed for each taxon, freeze-dried, weighed (Mettler AE163 electrobalance, sensitivity 0.001 mg) and stored at -40°C prior to lipid extraction.

3.3. Lipid analysis

Lipids were analyzed in whole salmon parr, natural food (insect larvae) and artificial pellets. Total lipids were extracted with chloroform-methanol according to the method of Folch *et al.* (1957). For each sample, NLs were separated from PLs (mainly phospholipids) in pre-packed solid-phase silica columns (SPE Strata NH₂). Columns were pre-conditioned with hexane and total lipid extract dissolved in chloroform was then added. The NL fraction was eluted with chloroform-2-propanol (2:1 v/v), and PLs were eluted with diethylether-acetic acid (100:2 v/v) followed by methanol. After solvent evaporation, lipid extracts were methylated with BF₃ (14% w/v in methanol) to convert FAs into their corresponding methyl esters (FAME). Samples were heated at 100°C for 45 min, re-suspended in hexane and concentrated under N₂. FAMEs were separated and analyzed on a Chrompack CP9001 gas chromatograph fitted with a Supelco® Omegawax™ column and an FID detector (split injection; injector temperature: 260°C; carrier gas: helium; oven rise from 140 to 245°C at 3°C·min⁻¹). Individual FAMEs were identified by comparing retention times with those obtained from Supelco® and our own laboratory standards, and quantified using 13:0 as internal standard added just before FA derivatization. Peaks registering less than 0.1% of total area were considered non-detected. GC/MS was used to confirm identification of some FAs. FAMEs were injected in a GC6850 Agilent gas chromatograph fitted with a 5975B Agilent mass spectrometer. Spectra separated with a DB wax column were identified using our own spectrum library and the lipidlibrary (<http://www.lipidlibrary.co.uk>).

3.4. Data analysis

The statistical analyses were performed on the most important encountered FAs: 16:0, 16:1 ω 7, and 18:1 ω 9, known as a specific oxidation substrate for energy especially during the seaward migration; 18:2 ω 6, which is converted into 20:4 ω 6; and 18:3 ω 3, which is elongated and desaturated to 20:5 ω 3 and then to 22:6 ω 3 (Tocher et al. 2000, Bell et al. 2003a, Bendiksen et al. 2003). 20:4 ω 6 and 20:5 ω 3 are involved in eicosanoid synthesis and therefore in adaptation to salinity changes (Sargent et al. 1999).

Means and standard errors were calculated to characterize FA concentrations (as mg·g⁻¹ d.w.) in farmed and restocked parr, commercial pellets and natural prey. Site/hatchery, date and invertebrate taxon effects were analyzed by analysis of variance (ANOVA), followed where appropriate by Tukey's *post-hoc* test to determine significant differences. All data were checked for normality and variance homogeneity before analysis, and log-transformed when necessary. Discriminant function analysis (DFA) was performed to differentiate parr groups that tended to have similar FA concentrations according to growth-period location (Hatchery, Site 1, Site 2 or Site 3). One DFA was performed for FAs in NLs and another for FAs in PLs. All statistical analyses used XLStat-Pro software. Differences were considered significant for $p < 0.05$ [ns = non-significant ($p > 0.05$); * = significant ($p \leq 0.05$); ** = highly significant ($p \leq 0.01$); *** = very highly significant ($p \leq 0.001$)].

4. Results

4.1. Feeding, growth and total FA content in farmed and restocked parr

4.1.1. Feeding

Over the entire survey 25 prey taxa, mostly aquatic insects (mean = 99%), were identified in parr stomachs. In the three riffles, the predominant prey were Diptera larvae ($A_i = 72\%$ on average) and Ephemeroptera nymphs ($A_i = 22\%$; Fig. 19). More specifically, Chironomid larvae (*Orthocladinae*, *Chironominae* and *Tanypodinae*) provided major contributions to salmon diet in Site 1 ($A_i = 71\%$), Simuliid larvae (*Simulium* and *Prosimulium*) in Site 2 ($A_i = 58\%$) and Baetid nymphs (*Baetis rhodanii*, *Acentrella sinaica* and *Proclleon bifidum*) in Site 3 ($A_i = 60\%$). Others prey items, such as Coleoptera (*Elmis*), Gastropoda (*Ancylus fluviatilis*),

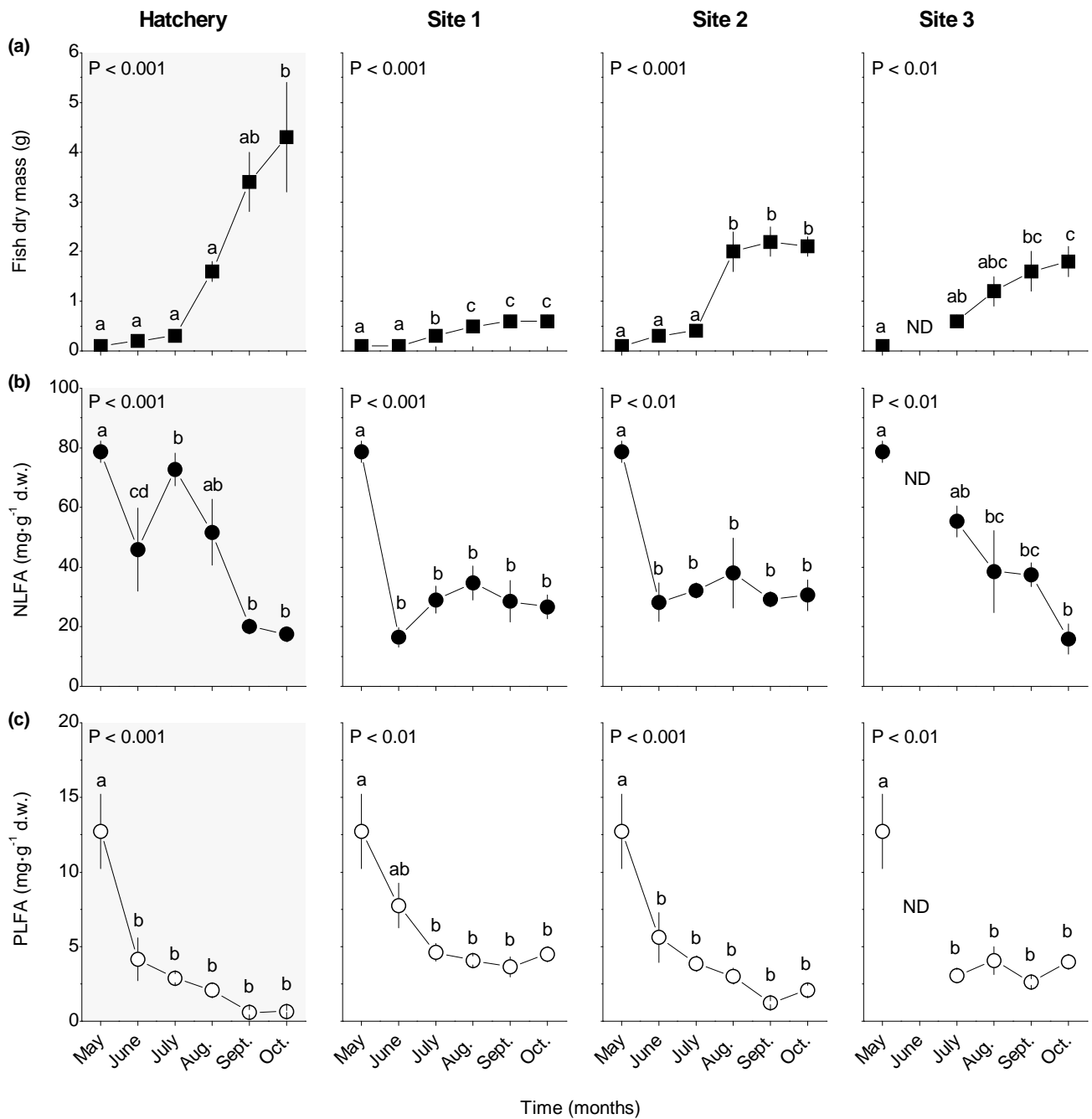


Fig. 20. Temporal changes (May to October) in dry weights (mean, g; a) and amounts of total FA extracted from NLs (mean, mg·g⁻¹ d.w.; b) and PLs (mean, mg·g⁻¹ d.w.; c) of hatchery-reared parr (in grey) and restocked parr (Sites 1–3). Results of two-way ANOVAs and Tukey post-hoc tests are shown, with different letters indicating significant differences between months in each site (ND = No data).

Oligochaeta, Plecoptera (*Capnia* spp. and Leuctridae) and Trichoptera (*Psychomyia pusilla*, *Hydropsyche* spp. and *Rhyacophila s. stricto*), were also consumed but generally constituted no more than an average of 14% of the diet, and were therefore regarded as secondary or occasional prey (Fig. 19).

4.1.2. Growth

Significant variation in mean parr dry weight (Fig. 20a) was found between restocking riffles and hatchery (ANOVAs and *post-hoc* Tukey tests: $F_{3, 172} = 16.60$, $p < 0.01$). At the end of the survey, the maximum dry-weights were reached in Sites 2 (2.12 ± 0.24 g) and 3 (1.83 ± 0.32 g), with lower values in the most upstream site (Site 1: 0.64 ± 0.06 g). In the hatchery, the maximum dry-weight of reared fish was greater than for restocked fish, reaching 4.31 ± 1.09 g in October ($F_{3, 31} = 6.89$, $p < 0.01$). Furthermore, it is of interest to note that growth in the intermediate riffle (Site 2) was the closest to that observed in the hatchery, although individual dry-weight increased more regularly in the latter. Significant monthly variations were also recorded in each restocking riffle and hatchery tank ($F_{5, 172} = 18.36$, $p < 0.01$): growth rates were low during the first two months after restocking (June and July) and increased over time as of July (Fig. 20a).

4.1.3. Total FA content

During the two months following restocking, NLFA storage ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ d.w.) was higher in hatchery-reared parr than in restocked fish in any riffle (ANOVAs and *post-hoc* Tukey tests: $F_{3, 12} = 20.48$, $p < 0.01$; Fig. 20b). On the other hand, at the end of the study no significant differences in NLFA amounts were observed between restocking riffles and hatchery salmon ($F_{3, 13} = 2.46$, $p = 0.12$). In terms of absolute values ($\text{mg}\cdot\text{fish}^{-1}$), NLFA were significantly higher in fish growing in Sites 2 and 3 than in fish from Site 1. But in terms of relative amounts ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ d.w.), no real differences in NLFA concentrations were found. Significant monthly variations were observed in fish from each restocking riffle and from the hatchery ($F_{5, 75} = 23.96$, $p < 0.01$). After a marked decrease between May and June, these FAs increased and stabilized around $28 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ d.w. in all sites, excepted in Site 3 ($16 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ d.w.; Fig. 20b).

PLFA relative concentrations decreased from May to August in the hatchery and in each restocking riffle ($F_{5, 74} = 42.55$, $p < 0.01$). At the end of the survey, PLFA contents in farmed

Table 3. FA composition (weight % of total FA) in total lipids extracted from commercial pellets and freshwater invertebrates (Mean \pm S.E.). Sites and months are pooled and results of one-way ANOVAs are shown. Different letters indicate significant differences between each type of food.

Fatty acids	Nutra pellets	Baetids	Simuliids	Chironomids	P value
14:0	6.19 (\pm 0.10) ^a	2.55 (\pm 0.32) ^b	1.32 (\pm 0.10) ^d	3.99 (\pm 0.21) ^c	< 0.001
16:0	17.73 (\pm 0.20) ^a	25.43 (\pm 2.42) ^b	20.83 (\pm 0.48) ^{ab}	17.44 (\pm 0.36) ^a	< 0.01
18:0	3.48 (\pm 0.00) ^a	10.67 (\pm 2.25) ^b	7.41 (\pm 0.41) ^{ab}	11.20 (\pm 0.83) ^b	< 0.001
Total SFA	30.13 (\pm0.30)^a	41.84 (\pm3.50)^b	36.71 (\pm0.84)^{ab}	39.91 (\pm1.06)^b	< 0.01
14:1	0.06 (\pm 0.00) ^a	0.04 (\pm 0.02) ^a	4.53 (\pm 0.33) ^b	0.58 (\pm 0.08) ^a	< 0.001
16:1 ω 7	6.47 (\pm 0.10) ^a	10.36 (\pm 1.33) ^b	9.88 (\pm 0.34) ^{ab}	7.30 (\pm 0.48) ^{ab}	< 0.05
18:1 ω 9	9.71 (\pm 0.40) ^a	4.14 (\pm 0.48) ^b	11.99 (\pm 0.46) ^d	6.28 (\pm 0.33) ^c	< 0.001
18:1 ω 7	2.53 (\pm 0.10) ^a	5.37 (\pm 0.63) ^b	3.86 (\pm 0.24) ^b	2.43 (\pm 0.22) ^a	< 0.001
20:1 ω 9	2.91 (\pm 0.40) ^a	0.06 (\pm 0.02) ^b	0.15 (\pm 0.04) ^b	0.14 (\pm 0.05) ^b	< 0.001
22:1 ω 9	3.14 (\pm 0.10) ^a	-	-	0.03 (\pm 0.01) ^b	< 0.001
22:1 ω 7	0.09 (\pm 0.00) ^a	-	-	-	< 0.001
Total MUFA	25.67 (\pm1.30)^a	22.12 (\pm1.68)^b	31.35 (\pm0.82)^c	20.33 (\pm0.59)^b	< 0.001
16:2 ω 4	1.00 (\pm 0.10) ^a	10.84 (\pm 4.57) ^b	0.38 (\pm 0.07) ^a	1.65 (\pm 0.24) ^a	< 0.01
16:3 ω 4	1.29 (\pm 0.10) ^a	0.22 (\pm 0.06) ^b	-	0.53 (\pm 0.06) ^c	< 0.001
16:4 ω 3	0.17 (\pm 0.01) ^a	0.13 (\pm 0.04) ^a	0.12 (\pm 0.03) ^a	0.86 (\pm 0.11) ^b	< 0.001
18:2 ω 6	8.47 (\pm 0.10) ^a	1.96 (\pm 0.25) ^b	5.18 (\pm 0.27) ^d	7.09 (\pm 0.28) ^c	< 0.001
20:2 ω 6	0.17 (\pm 0.01) ^{ab}	0.10 (\pm 0.09) ^b	0.08 (\pm 0.03) ^b	0.55 (\pm 0.17) ^a	< 0.05
20:4 ω 6	0.82 (\pm 0.01) ^a	0.55 (\pm 0.15) ^a	2.27 (\pm 0.319) ^b	0.77 (\pm 0.09) ^a	< 0.001
Total ω6 PUFA	10.16 (\pm0.10)^a	2.91 (\pm0.38)^b	8.01 (\pm0.45)^c	9.07 (\pm0.39)^{ac}	< 0.001
18:3 ω 3	1.33 (\pm 0.00) ^a	7.74 (\pm 1.25) ^b	9.48 (\pm 0.71) ^b	17.12 (\pm 0.84) ^c	< 0.001
18:4 ω 3	2.24 (\pm 0.10) ^a	0.76 (\pm 0.13) ^b	0.92 (\pm 0.06) ^b	0.89 (\pm 0.10) ^b	< 0.001
20:4 ω 3	0.62 (\pm 0.00) ^a	0.11 (\pm 0.04) ^b	0.10 (\pm 0.02) ^b	0.52 (\pm 0.12) ^a	< 0.001
20:5 ω 3	12.27 (\pm 0.60) ^a	7.49 (\pm 0.99) ^b	10.60 (\pm 0.40) ^a	6.33 (\pm 0.48) ^b	< 0.001
22:5 ω 3	1.43 (\pm 0.10) ^a	-	-	-	< 0.001
22:6 ω 3	10.30 (\pm 0.60) ^a	-	0.06 (\pm 0.02) ^b	-	< 0.001
Total ω3 PUFA	29.13 (\pm0.20)^a	17.17 (\pm1.83)^b	21.31 (\pm0.84)^{bc}	25.90 (\pm1.11)^{ac}	< 0.001
Total PUFA	43.73 (\pm0.50)^a	32.42 (\pm3.88)^b	31.14 (\pm1.08)^b	38.74 (\pm0.95)^{ab}	< 0.01
ω 3/ ω 6	2.87 (\pm 0.10)	11.78 (\pm 5.05)	2.85 (\pm 0.17)	2.98 (\pm 0.24)	= 0.08
NI	0.48 (\pm 0.01)	3.64 (\pm 2.39)	0.79 (\pm 0.22)	1.04 (\pm 0.25)	= 0.24

SFA = saturated fatty acids, MUFA = monounsaturated fatty acids, PUFA = polyunsaturated fatty acids

NI = no identified

fish were the closest to those observed in Site 2: i.e., slightly lower than in fish growing in Sites 1 and 3 (Fig. 20c).

4.2. FA analysis of natural food v. commercial pellets

The FA composition of total lipids extracted from each type of food (prey and commercial pellets) is shown in Table 3. Saturated fatty acids (SFA) represented 30% of total FA in Nutra pellets and more than 36% in invertebrate prey. 16:0 was the predominant SFA, ranging between 17% and 25%, with quite similar proportions in Nutra pellets and Chironomid and Simuliid larvae (around 17–21%). 18:0 was also present but in smaller values, and was more abundant in insect larvae (7–11%).

MUFAs generally represented 20% to 32% of total FA in all diets. 16:1 ω 7 was the most abundant MUFA in both Baetids and Chironomids while 18:1 ω 9 predominated in both hatchery diet and Simuliids. Significant differences were also recorded with 20:1 ω 9 and 22:1 ω 9, which were present in pellets (2–3%) but were found in low or negligible concentrations in insect larvae (Table 3).

PUFAs were more abundant in the hatchery (44% of total FA) compared to wild diets (31–39%). 18:2 ω 6 was detected in low proportions in Baetids (< 2%) and in larger proportions in pellets (8%), Chironomids (7%) and Simuliids (5%). 18:3 ω 3 was found in greater percentages in invertebrates (7–17%), especially Chironomids, than in hatchery diet (< 2%). In contrast, 18:4 ω 3 was observed in negligible proportions in larvae and represented just 2% of the total FA in pellets. Negligible proportions of 20:4 ω 6 were also found in all diets, except in Simuliids (2%). On the other hand, 20:5 ω 3 was present in abundance, particularly in hatchery diet and Simuliids (11–12%). In Baetids and Chironomids, this component represented 6% to 7% of total FA. The most remarkable differences were observed for 22:6 ω 3: Nutra pellets showed about 10 times as much 22:6 ω 3 as did insect larvae, which seemed to contain only small proportions or none at all. In general, ω 3 PUFAs were always more abundant than ω 6 PUFAs in all types of diet. The sums of ω 3 and ω 6 PUFA, however, were higher in pellets and chironomids than in other diets, although the ω 3/ ω 6 ratio showed no significant difference between types of food (Table 3).

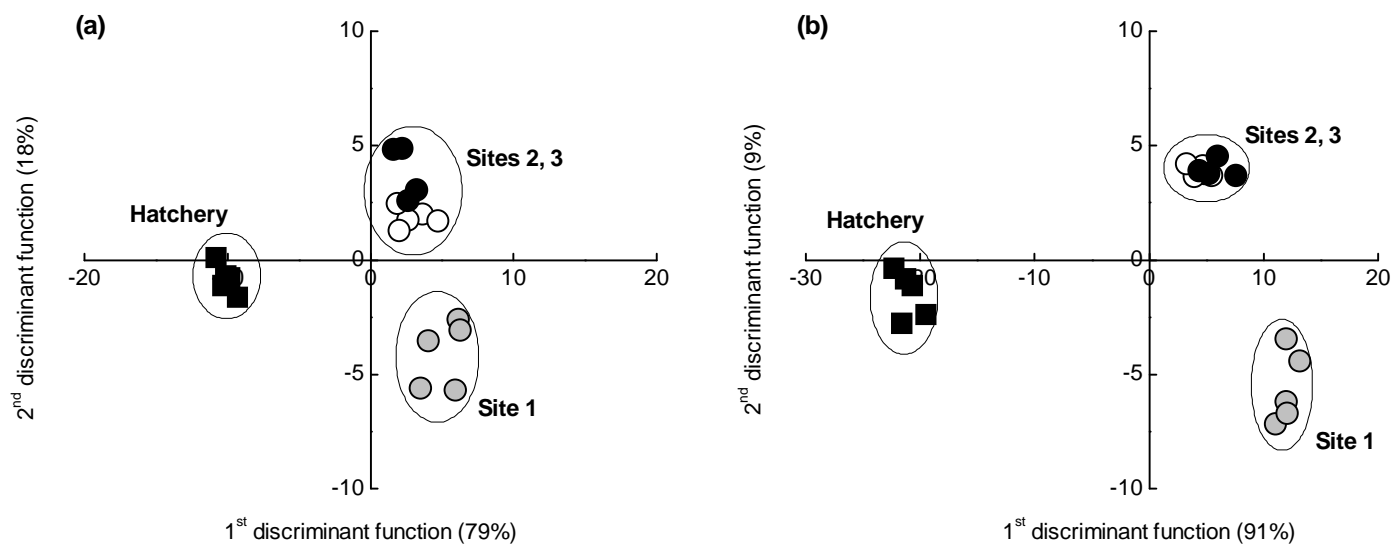


Fig. 21. The first two components of the discriminant function analysis with individual FAs ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ d.w.) extracted from salmon NLs (a) and PLs (b) as covariates and sample location (Hatchery, Site 1, Site 2 and Site 3) as grouping variable.

4.3. NLFA and PLFA compositions of farmed and restocked parr: differences and temporal changes

Based on the 8 selected FAs (16:0, 16:1 ω 7, 18:1 ω 9, 18:2 ω 6, 18:3 ω 3, 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 and 22:6 ω 3), discriminant function analysis (DFA) differentiated groups of parr that tended to have similar FA concentrations in NL and PL (Fig. 21). In NLFA and PLFA, the first two discriminant analysis functions explained 97% and 100% of inter-group variance, respectively (NLFA: Wilks' $\lambda = 0.00$, $p < 0.01$, PLFA: Wilks' $\lambda = 0.01$, $p < 0.01$). In NLFA, 79% of the variance was observed on the first discriminant function and separated the FA concentrations of parr fed with Nutra pellets in the hatchery from those released in the Upper Allier riffles. The second discriminant function showed a less pronounced difference (18% of inter-group variance), discriminating the FA composition of salmon collected in the most upstream riffle (Site 1) from those sampled in the other sites (Sites 2 and 3). These same significant differences were observed with PLFAs, the first axis explaining 91% of inter-group variance and the second axis 9%. Thus, some NLFAs and PLFAs showed significantly different evolution between hatchery-reared parr and their counterparts released in riffles (Fig 21).

At the beginning of the survey (June–July), the concentrations of 18:1 ω 9, 18:2 ω 6, 20:5 ω 3 and 22:6 ω 3 appeared to be higher in the NLs of farmed than restocked parr (Fig. 22). The same trend was observed with 16:0, 16:1 ω 7 and 20:4 ω 6, although not significant in these cases. On the other hand, farmed parr contained smaller amounts of 18:3 ω 3 (0.69 ± 0.11 mg·g⁻¹ d.w.) in their NLs in June–July than did those released in riffles (range: 2.03 ± 0.80 to 6.98 ± 1.50 mg·g⁻¹ d.w.). At the end of the study (in October), these values did not show significant differences between farmed and restocked parr, except for 18:1 ω 9, 18:3 ω 3 and 20:4 ω 6. 18:1 ω 9 was more abundant in NLs of farmed (3.06 ± 0.38 mg·g⁻¹ d.w.) than restocked parr (range: 1.22 ± 0.39 to 2.16 ± 0.36 mg·g⁻¹ d.w.). Restocked parr contained significantly higher amounts of 18:3 ω 3 (range: 1.39 ± 0.51 to 3.42 ± 0.85 mg·g⁻¹ d.w.) and 20:4 ω 6 (range: 0.21 ± 0.09 to 0.39 ± 0.06 mg·g⁻¹ d.w.) than farmed parr (0.16 ± 0.03 and 0.13 ± 0.02 mg·g⁻¹ d.w. respectively; Fig 22).

For PLFA, no significant differences were recorded from June to July between hatchery and restocked salmon, except for 18:2 ω 6, 18:3 ω 3 and 20:5 ω 3 (Fig. 23). Restocked parr showed higher levels of these PUFAs than did farmed parr. In October, on the other hand, all the various FAs were more abundant in restocked than farmed parr. Moreover, these FA concentrations seemed to be higher in the first riffle (Site 1) than in the others,

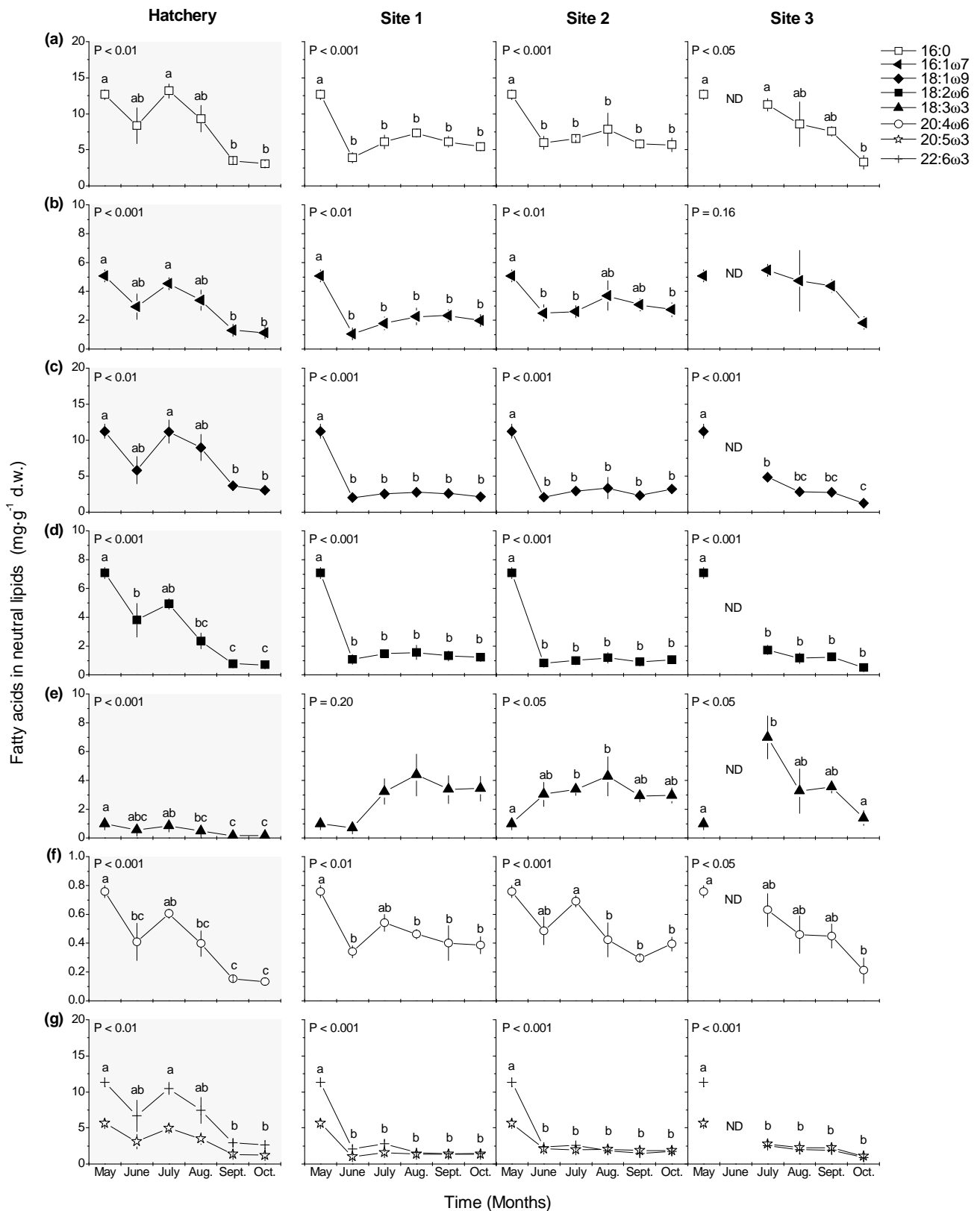


Fig. 22. Monthly variations in the average amounts (as $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ d.w.) of FA extracted from NLs of hatchery-reared parr (in grey) and restocked parr. Results of two-way ANOVAs and Tukey post-hoc tests are shown, with different letters indicating significant differences between months in each site (ND = No data).

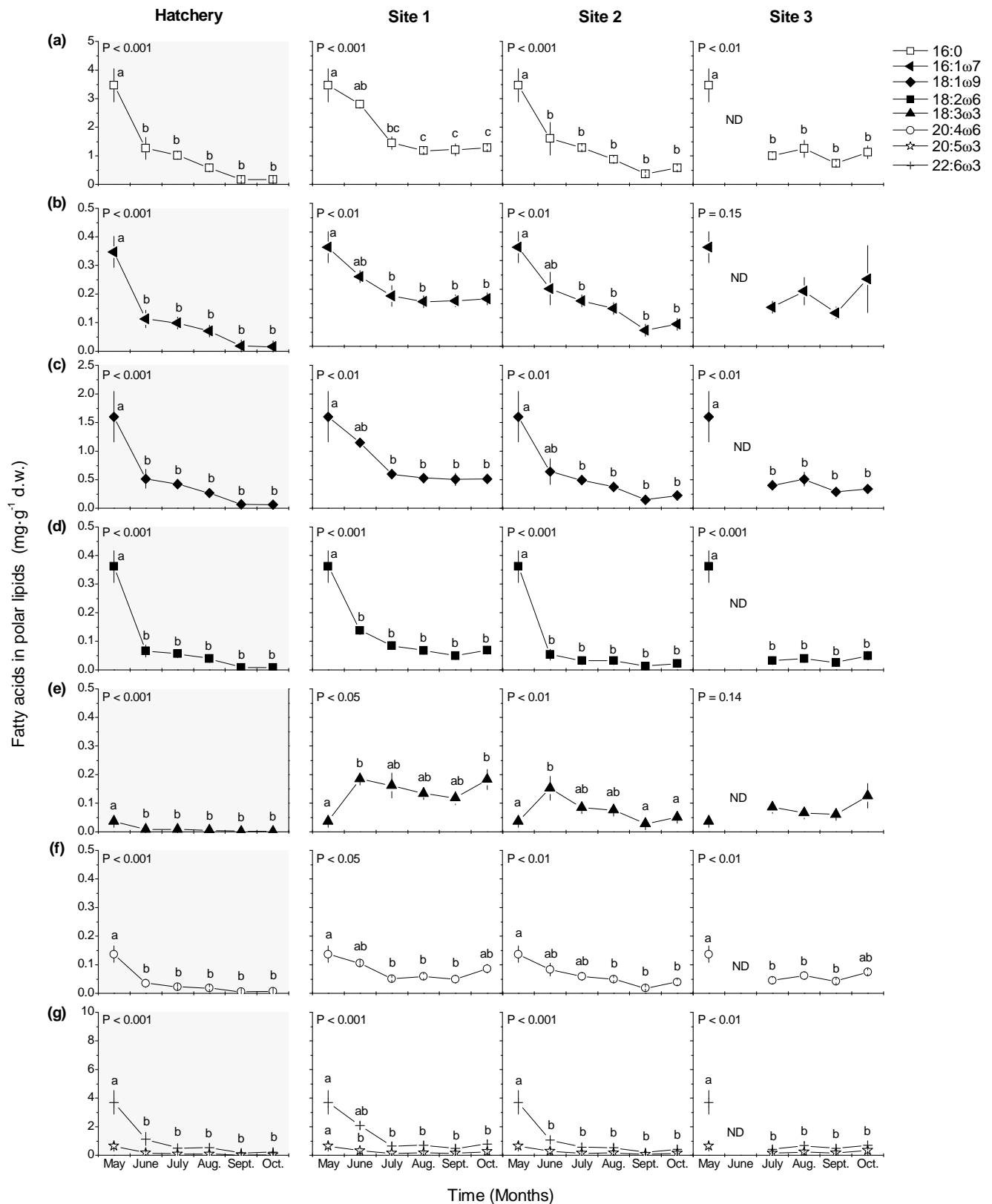


Fig. 23. Monthly variations in the average amounts (as $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ d.w.) of FA extracted from PLs of hatchery-reared parr (in grey) and restocked parr. Results of two-way ANOVAs and Tukey post-hoc tests are shown, with different letters indicating significant differences between months in each site (ND = No data).

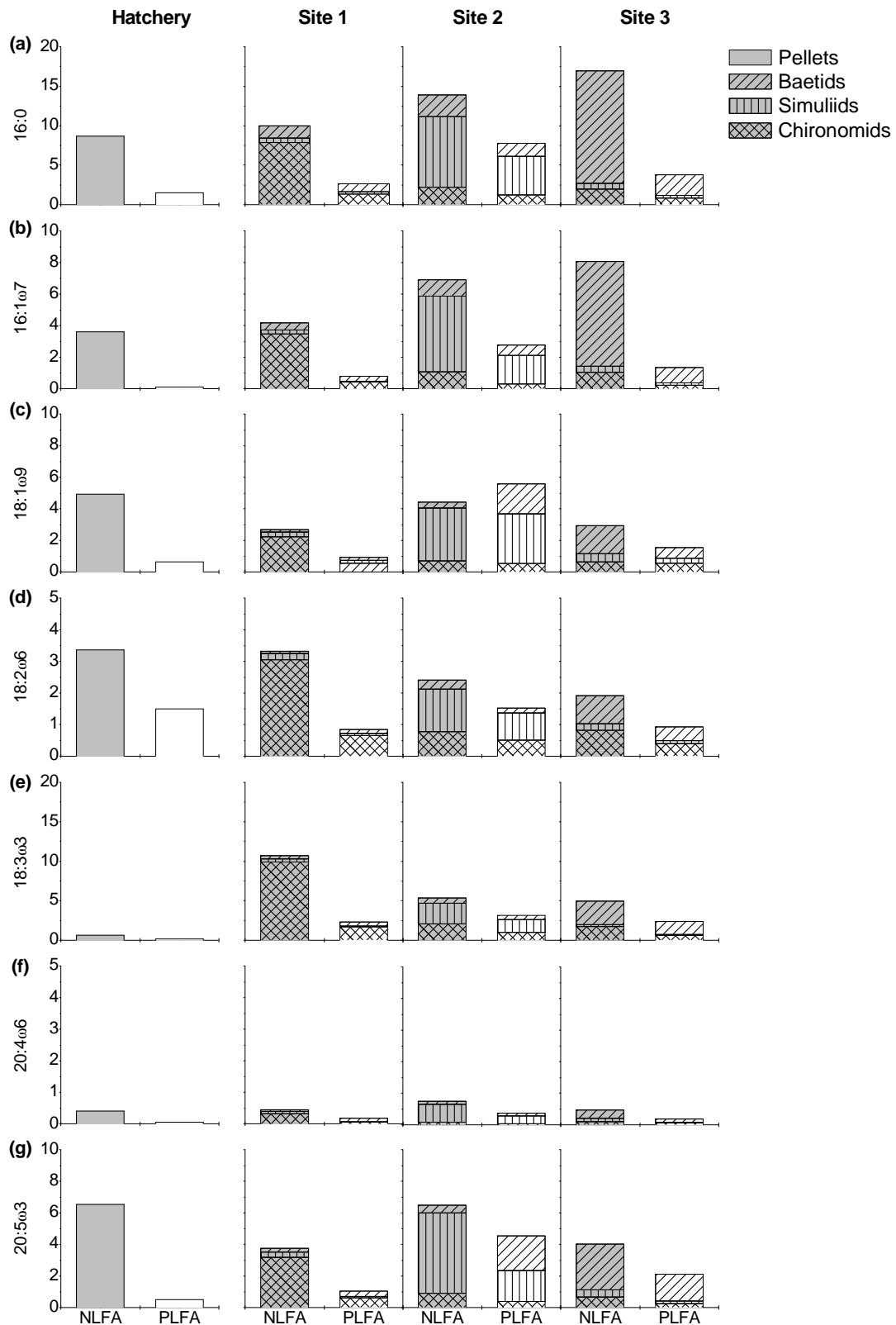


Fig. 24. Selected dietary FA inputs from commercial pellets (left column) and from the three predominant macroinvertebrate prey (right columns, Sites 1–3). Values are mean (mg·g⁻¹ d.w.) of NLFA (in grey) and PLFA (in white). For macroinvertebrates, values were recalculated as a function of the average proportion of each prey type encountered throughout the survey in the stomach contents of parr from Sites 1 to 3.

except for 20:5 ω 3 (Fig. 23).

4.4. Diet effects on FA composition in farmed and restocked salmon parr

Figure 24 shows the potential contribution of the NLFA and PLFA supply of the different foods (Nutra pellets and insect larvae) eaten by salmon parr in the hatchery and natural reaches during the entire survey. In the hatchery, all FAs were primarily provided in the form of NLs in pellets, except 18:2 ω 6 which was also provided as PLs (1.49 mg·g⁻¹ d.w.). For parr collected in riffles, a significant proportion of FA came from NL prey (Chironomids in Site 1, Simuliids in Site 2 and Baetids in Site 3), but also from PL prey, especially in Sites 2 and 3. Moreover, in these sites, FAs were provided as PLs by more than one type of prey. NL 16:0 and NL 16:1 ω 7 were particularly abundant in the prey predominating in the stomach contents of restocked parr from Sites 2 and 3. In contrast, their contribution remained lower in parr from Site 1 and hatchery, especially with respect to PL input. The second MUFA, 18:1 ω 9, was strongly represented in the NLs of artificial food. It was also found in large quantities in the NLs and PLs of Simuliids and markedly in the PLs of Baetids ingested by parr from Site 2. Concerning ω 3 PUFAs, the main difference was observed for 18:3 ω 3 and 22:6 ω 3. 18:3 ω 3 was, logically, recorded in small quantities in pellets, but was found in abundance in the natural diet of restocked parr, especially in the first riffle, in the form of either NLs or PLs. In contrast, 22:6 ω 3 was absent from macroinvertebrate NLs and PLs (Table 3). 20:5 ω 3 was provided in large quantities by the NLs from Nutra pellets and Chironomid larvae, whereas huge quantities of 20:5 ω 3 were detected in the PLs from Baetids and Simuliids consumed by parr from Site 2 and to a lesser extent from Site 3. Finally for ω 6 PUFA, diet was rich in 18:2 ω 6 whatever the place of growth (hatchery or riffles), whereas only Simuliids ingested by parr in Site 2 provided significant amounts of 20:4 ω 6, in the form of both PLs and NLs (Fig. 24).

5. Discussion

Despite the variety of prey potentially available in the riffle habitats of the River Allier, only three prey families predominated in the stomach contents of restocked *Salmo salar* parr: Baetid nymphs, and Chironomid and Simuliid larvae. These macroinvertebrate prey have been reported as being a major part of salmon parr diet in numerous studies undertaken in

reaches of temperate and northern streams (Thonney and Gibson 1989, Keeley and Grant 1997). However, 0+ parr feeding varied in the River Allier along the upstream–downstream gradient. Thus, Chironomid larvae were the predominant prey ingested in the upstream riffle (Site 1), Simuliid larvae in the intermediary riffle (Site 2) and Baetid nymphs in the downstream riffle (Site 3). In Sites 1 and 2, parr fed mostly on larvae which predominated in the benthic fauna in terms of numerical abundance (Chironomids or Simuliids, Descroix et al. 2009). This was not the case in the last riffle (Site 3), where the main prey ingested (Baetids) was a significant but not predominant taxon in the benthos (Descroix et al. 2009). The importance of secondary prey as a source of FA could not be taken into account in the present study. However, apart from two site-specific sampling dates (September for Site 1 and June for Site 2), all secondary prey taken together never exceeded 20% of the diet.

Significant variations in parr growth performance and NLFA contents were observed between riffles, and between parr reared in the hatchery and those released in the river. Such differences suggest variable growth conditions along the longitudinal gradient of the river, sufficient to influence body composition. This could primarily be related to differences in the type of prey ingested, as well as differential energy expenditure linked to intra- and inter-species competition (Descroix et al. 2009). It is only at the beginning of the study (June to July), that restocked parr accumulated less NLFA than hatchery-reared salmon. This could not be attributed to difficulties encountered in prey capture by unexperienced released juveniles. According to Reiriz et al. (1998), naïve restocked salmon parr acquire in 6 to 7 days the appropriate prey selection criteria usually exhibited by their wild counterpart. From a nutritional view point, it is likely that the type of prey ingested influenced the growth of restocked salmon along the longitudinal gradient in the present study. But, it is difficult to attribute these growth differences solely to variations in the FA composition of Baetids, Chironomids and Simuliids, because the digestibility of these prey and their calorific values and carbohydrate and protein contents probably differ (Gupta and Pant 1983, Batzer et al. 1993). Furthermore, many experimental studies have shown that when only the FA composition of artificial diets is modified (replacing fish oil by vegetable oil), the growth performances of parr or smolt remain unchanged and fish health and welfare are not affected (Robin et al. 2003, Miller et al. 2007). On the other hand, such experimental practices generally cause substantial change in the flesh FA composition of salmon parr and of several other species of anadromous salmonid (Bendiksen et al. 2003, Huang et al. 2008). Thus, one of the main reasons for conducting the present study was to assess whether different prey

types with possibly varying FA profiles would at least influence the body-lipid FA composition, if not growth, of restocked salmon parr previously raised on artificial diet. In fact, the FA composition of freshwater aquatic insects turned out to be more diverse than we had thought, a fact that recent studies tend to corroborate (Sushchik et al. 2007, Torres-Ruiz et al. 2007).

For instance, MUFA and PUFA contents differed between the macroinvertebrates predominantly consumed by restocked parr. Baetid nymphs and Chironomid larvae contained higher lipid levels of 16:1 ω 7 and Simuliid larvae of 18:1 ω 9. These FAs were reported to be the predominant monounsaturates in Chironomid larvae and Ephemeroptera nymphs (Bell et al. 1994, Ghioni et al. 1996). Concerning PUFAs, the ω 3 series were the principal components observed in all taxa (17–26%), confirming previous observations by Bell et al. (1994). However, ω 6 PUFAs were detected in appreciable amounts (3–9%), especially 18:2 ω 6. This FA exhibited the highest levels in Chironomids and the lowest in Baetids, which is consistent with observations by Sushchik et al. (2003). In contrast, only Simuliid larvae had significant proportions of 20:4 ω 6, the major precursor of eicosanoids (Sargent et al. 1999). Another FA that may be involved in the synthesis of eicosanoids is 20:5 ω 3. This component was reported to be the most abundant ω 3 PUFA in several taxa of freshwater insects, including Plecoptera and Ephemeroptera (Ghioni et al. 1996). This was particularly true for Simuliids in this study, while 20:5 ω 3 appeared to be less abundant than 18:3 ω 3 in Chironomids. Negligible amounts of 22:6 ω 3 were recorded in all analyzed prey, as previously reported (Bell et al. 1994, Goedkoop et al. 2000). Contrary to the general contention that vegetable oil and macroinvertebrate FA patterns are similar (Bell et al. 1997, Tocher et al. 2001), it appeared from the present study that the FA composition of taxa such as Simuliids and Baetids was not so close to that of vegetable oil. They contained more 16:0, 18:0, 16:1 ω 7 and less 18:1 ω 9 than rapeseed and linseed oils (Tocher et al. 2000). Regarding ω 3 and ω 6 PUFAs, Simuliid larvae showed larger amounts of 20:4 ω 6 and 20:5 ω 3. Finally, only the FA profiles of Chironomids seemed to be close to those of vegetable oil, with high percentages of 18:2 ω 6 and 18:3 ω 3 and a low percentage of 20:5 ω 3.

DFA analysis distinguished restocked parr in the three riffles from the hatchery-reared parr. This clearly indicates that artificial versus river insect diet significantly affected NLFA and PLFA patterns in juvenile Atlantic salmon throughout the survey. From June to August, the levels of 16:0, 16:1 ω 7, 18:1 ω 9 and 18:2 ω 6 were lower in restocked than in hatchery-reared parr. We assume that these FAs were readily mobilized to compensate for the increase

in energy expenditure when young salmon were released into the riffles. FAs such as 18:1 ω 9 and 18:2 ω 6 are known to be the major substrates for β -oxidation in salmonids (Henderson 1996, Bell et al. 2002), while 16:0 is preferentially incorporated into PLs (Tocher et al. 2008). Restocked salmon have to adapt quickly to their new environment, confronting new stimuli generally absent or limited in a hatchery environment: variable water velocity, live prey to seek and capture, etc.. At the end of the survey (September-October), differences in the concentration of these FAs between farmed and restocked parr tended to disappear. 16:1 ω 7 and 18:1 ω 9 were provided in variable but appreciable quantities, whether by natural prey or pellets. However, compared to 18:1 ω 9, 16:1 ω 7 was not detected in abundance in NLFA and PLFA, especially in restocked salmon. This specific trend seems to suggest that 16:1 ω 7 was selectively catabolized by parr living in the riffles, in preference to 18:1 ω 9. This could be a relatively new finding, since 18:1 ω 9 has often been regarded as the predominant FA used for energy cover by hatchery-reared salmon fed on various experimental diets (Bell et al. 2003b). 16:1 ω 7 is a typical diatom FA (Desvillettes and Bec 2009) which is probably more abundantly produced than 18:1 ω 9 in river ecosystems, and therefore more easily transferred to higher levels in a food web (Sushchik et al. 2006).

The most pronounced differences in FA pattern linked to ingested food concerned ω 6 and ω 3 PUFA contents. The high level of 18:2 ω 6 in the artificial diet (8%) was linked to the incorporation of small quantities of poultry fat into Nutra pellet oil. Farmed parr had a greater amount of 18:2 ω 6 in their NLs than did restocked parr, while 20:4 ω 6 was less abundant. At the end of the survey, in October, the amount of 20:4 ω 6 in the PLs of hatchery-reared parr was significantly lower than that of any restocked parr. Hatchery-reared parr did not seem to biosynthesize this component, probably due to the abundant dietary supply of 20:5 ω 3 and 22:6 ω 3. Dietary HUFAs (including 20:4 ω 6) are known to partially inhibit FA desaturase activity in salmonids (Tocher et al. 2006). The high level of 22:6 ω 3, logically detected in pellets and in the NLs of hatchery parr, may well have affected the conversion of 18:3 ω 3, and probably of 18:2 ω 6 into 20:4 ω 6 (Bendiksen et al. 2003). Concerning released salmon, it is interesting to note that parr from Site 2, which obtained significant levels of 20:4 ω 6 from their Simuliid prey, contained lower levels of this FA in their PLs than did parr in either other site. Our suggestion is that dietary 20:4 ω 6 may have inhibited the bioconversion of 18:2 ω 6 into 20:4 ω 6, which was not the case with the other restocked parr, owing to low levels of 20:4 ω 6 obtained from Baetid or Chironomid prey. Moreover, the lack of 22:6 ω 3 in prey ingested by restocked parr would in theory enable C₁₈ PUFA bioconversion activity to be

maintained. However, 18:2 ω 6 could have probably been used as the principal Δ 6-desaturase endogenous conversion substrate, because 18:3 ω 3 levels accumulated in the NLs of restocked parr. According to Bell et al. (2003b), these results might suggest that 18:3 ω 3 was stored for future β -oxidation during anadromous migration or, presumably, during overwintering. Similar observations were reported in a study using deuterated 18:3 ω 3, which showed that catabolism via β -oxidation was preferred to conversion to 22:6 ω 3 in juvenile rainbow trout (Bell et al. 2001). In the present study, 22:6 ω 3 was recorded in very large quantities in Nutra pellets and not in macroinvertebrate prey. On the other hand, the PLs of restocked parr contained similar amounts of this HUFA to those observed in the PLs of farmed salmon. 22:6 ω 3 synthesis occurs via the Sprecher pathway from 20:5 ω 3 originating from ingested prey and converted into C₂₄ PUFAs that are further retroconverted into 22:6 ω 3 (Miller et al. 2007). Because Δ 6-desaturase also catalyses conversion of 18:3 ω 3 into 18:4 ω 3 and of 24:5 ω 3 into 24:6 ω 3, dietary 20:5 ω 3 is easily converted into 24:5 ω 3. Thus, 18:3 ω 3 and 24:5 ω 3 compete for Δ 6-desaturase, inhibiting 18:3 ω 3 desaturation in restocked parr (Ruyter et al. 2000, Zheng et al. 2005).

The last interesting observation highlighted by the present study was that many FAs, such as 16:1 ω 7, 18:1 ω 9, 18:2 ω 6, 18:3 ω 3 and 20:5 ω 3, were provided in Sites 2 and 3 in the form of PLs. Intact PLs are required for optimal growth, development and survival in larval and early juvenile fish, of both marine and freshwater species (Coutteau et al. 1997). Indeed, Tocher et al. (2008) reported that the quantitative PL requirements of larval and juvenile salmon ranged from about 2% to 6% of diet, and apparently decreased with age. If no requirement has been observed in salmon greater than 7.5g, this may be due the short-term nature of the studies performed. Thus, in Atlantic salmon cultured over a 24-month growth cycle, low dietary phospholipid levels might induce growth depression and other effects over this longer period of culture (Tocher et al. 2008). In this context, it can be suggested that the high growth performances recorded from August to October at Sites 2 and 3 could be partly related to the high input of these dietary PLs. Indeed, salmon parr from Site 1, which exhibited the lowest final growth, received the bulk of their FAs in the form of NLs (except 18:3 ω 3). In fish larvae and juveniles feeding on NL-rich diets, insufficient dietary PL limits lipoprotein synthesis, leading to impaired FA transport to tissue (Tocher et al. 2008). In contrast, hatchery-reared salmon had the best growth although their diet contained mostly NLFAs and few PLFAs. This could indicate that there is probably some minimal level of dietary PL required by salmon parr which could be covered by Nutra pellets but not Chironomid based diet of Site 1 parr.

Once this minimal level of PL met, there is probably little additional benefit for salmon. Obviously further investigations on macroinvertebrates phospholipid structure are needed to confirm or not our suggestion and whether Simuliid and Baetid could be of greater nutritional interest than Chironomid larvae.

In conclusion, our results show that the type of prey ingested and growth performance of restocked Atlantic salmon parr varied along the longitudinal gradient of the River Allier, a large temperate river. Indeed, these 0+ parr experience varying growth conditions along the upstream-downstream gradient: differences not only in energy expenditure but also in the type of prey ingested and consequently in dietary FA intake. Site 1 can be considered as the extreme upstream limit for 0+ salmon restocking. The low growth recorded in this area could be detrimental to overwintering survival and subsequent smoltification. This can be supported by the significant percentage (12%) of parr that delay migration in the most upstream parts of the River Allier (Cuinat 1986) and by problems encountered by their future smolt to achieve complete downstream migration (Martin et al. 2009). In contrast, the most favourable site for growth was the intermediate riffle (Site 2), with values close to those achieved in hatchery-reared parr. Simuliid larvae and Baetid nymphs seem to be an interesting type of food, with FA composition not so close to that of vegetable oils, as frequently postulated with freshwater insects: while closer to the FA composition of a diet using vegetable oil than one rich in marine fish-oil, they are still quite different. Because during the two months following restocking NLFA storage was lower in restocked fish (in any site), it would be therefore useful to think of a new diet formula based on the FA profiles of these two families of freshwater insect. Moreover, it would be of interest to test whether such diets could be beneficial to salmon fry or parr intended for river restocking rather than commercial aquaculture and human consumption.

6. Acknowledgements

We thank the *Conservatoire National du Saumon Sauvage* for their helpful contribution to electrofishing operations and hatchery samples. We are grateful to B. Misson and J. Sauvanet for their help during the analysis of stomach contents and macroinvertebrate identification. We express our gratitude to L. Jouve and C. Lemarchand for help and support during the study. The English was revised by I. McGill.

Chapitre V :

Utilisation des acides gras comme indicateurs de l'assimilation des sources de matière organique par quatre familles de macroinvertébrés

Descroix A., Desvilettes C., Sauvanet J., Sargos D., Bec A., Mison B. et Bourdier G. Use of fatty acid signatures as dietary indicators in four major invertebrate families from the River Allier (France). **En préparation pour soumission à "Fundamental and Applied Limnology"** (ex Archiv Für Hydrobiology).

Chapitre V: Utilisation des acides gras comme indicateurs de l'assimilation des sources de matière organique par quatre familles de macroinvertébrés

Préambule p 80

Use of fatty acid signatures as dietary indicators in four major invertebrate families from the River Allier (France)

1. Résumé p 83

2. Introduction p 84

3. Matériel et méthodes p 86

3.1. Sites d'étude p 86

3.2. Prélèvements et traitement des échantillons p 87

3.2.1. Macroinvertébrés p 87

3.2.2. Biofilm périlithique p 87

3.2.3. Matière organique fine en suspension (MOFS) p 88

3.2.4. Matière organique déposée (MODép) p 88

3.3. Analyse lipidique p 88

3.4. Analyse des données p 89

4. Résultats p 90

4.1. Communauté et biomasse des microalgues dans le périlithon et la MOFS p 90

4.2. Evolution des compositions taxonomiques de macroinvertébrés p 91

4.3. Compositions en AG des LT des sources de matière organique p 91

4.4. Compositions en AG des LN de consommateurs (macroinvertébrés) p 93

4.5. Compositions en AG des LP de consommateurs (macroinvertébrés) p 95

4.6. Analyse factorielle discriminante (AFD) p 98

5. Discussion p 99

5.1. Composition en AG des sources de matière organique p 99

5.2. Transfert des AG entre les sources de matière organique et les macroinvertébrés
..... p 102

Préambule

Problématique

Nous avons précédemment mis en évidence des variations de croissance et d'accumulation de lipides chez les jeunes saumons déversés le long du *continuum* fluvial de l'Allier. Nos résultats ont suggéré que, du fait de conditions environnementales et biotiques différentes le long du gradient amont-aval, les dépenses énergétiques et le régime alimentaire subissaient des variations importantes. Nous avons ainsi observé que les sites avals (radiers de Pradel et de Cohade) étaient les plus favorables à la croissance des juvéniles de saumon, notamment au niveau du radier de Pradel, avec des valeurs de croissance proches de celles enregistrées chez des juvéniles en condition d'élevage (CNSS). Ces performances de croissance semblent résulter d'apports alimentaires importants en LP contenus dans les nymphes de *Baetidae* et les larves de *Simuliidae* majoritairement consommées au niveau de ces radiers (Pradel et Cohade). A l'opposé, les plus faibles croissances observées dans la partie amont du linéaire (radier de Luc) résulteraient d'un apport alimentaire plus faible en LP par rapport aux radiers de Pradel et de Cohade, non compensé par un apport important en LN provenant des larves de *Chironomidae*. Les larves de *Simuliidae* et les nymphes de *Baetidae* apparaissent ainsi comme des proies plus favorables à la croissance des jeunes saumons que les larves de *Chironomidae*. Nos résultats montrent que de fortes variations des compositions en AG essentiels et des teneurs en lipides peuvent être observées chez les différents taxons de macroinvertébrés aquatiques, ce qui est en accord avec les études précédemment effectuées par Ghioni *et al.* (1996) et Sushchik *et al.* (2003). De ce fait, les différentes larves et nymphes ont des potentialités nutritionnelles différentes selon la famille à laquelle elles appartiennent.

Les macroinvertébrés représentent un compartiment trophique clé des radiers. Ils se situent à l'interface des sources de matière organique autochtone et allochtone et de la communauté piscicole (Rader 1997). Les macroinvertébrés appartiennent à des groupes fonctionnels différents, aux modes d'alimentation variés, qui utilisent les diverses sources de matière organique présentes sur les radiers: biofilms périlithiques, matière organique fine en suspension (MOFS), matière organique déposée dans les interstices du substrat (MODép). Ils vont ainsi transférer une part de l'énergie et de la matière aux maillons trophiques supérieurs. Dans ce contexte, il apparaît donc important de **déterminer l'origine des composés lipidiques pouvant être soit directement synthétisés par les macroinvertébrés, soit**

provenir de l'alimentation de ces derniers (Napolitano *et al.* 1996). L'utilisation des AG comme marqueurs organiques va également nous permettre de visualiser les transferts dans le réseau trophique, depuis les sources de matière organique particulaire jusqu'aux macroinvertébrés. L'objectif de cette étude est de **préciser la ou les sources de matière organique réellement assimilées par les macroinvertébrés occupant les zones de radier du Haut-Allier**. Nous mettrons l'accent sur les AG dominants et sur ceux présentant un intérêt écologique en tant que biomarqueurs ou comme AG essentiels: les marqueurs de diatomées [14:0, 16:1 ω 7, Σ (16:2 ω 4, 16:3 ω 4, 16:4 ω 1) et 20:5 ω 3] (Dunstan *et al.* 1994, Napolitano *et al.* 1996, Torres-Ruiz *et al.* 2007) ; les marqueurs d'origine bactérienne [Σ (*iso* et *anteiso* 15:0, *iso* 16:1, *iso* et *anteiso* 17:0), 18:1 ω 7 et AG cycliques] (Scribe *et al.* 1990, Kaneda 1991, Desvilettes *et al.* 1997a) ; les marqueurs de matière organique d'origine allochtone [AGS à longue chaîne carbonée (C₂₄–C₂₈)] (Scribe et Bourdier 1995, Mills *et al.* 2003) ; les AG ubiquistes [12:0, 16:0, 18:0 et 18:1 ω 9] ; et les AG considérés comme essentiels au développement des larves ou nymphes d'insectes aquatiques [18:2 ω 6, 18:3 ω 3, 20:4 ω 6] (Ghioni *et al.* 1996, Brett et Müller-Navarra 1997).

Sites d'étude

Les échantillons analysés dans cette étude proviennent des trois sites suivants et déjà retenus pour l'étude présentée au **Chapitre IV**: le radier de Luc (Site 1), le radier de Pradel (Site 2) et le radier de Cohade (Site 3) (Fig. 6).

Précisions méthodologiques

Quatre types de macroinvertébrés aquatiques ont été sélectionnés pour cette étude: les nymphes de *Baetidae* (racleur-brouteur), les larves de *Chironomidae* (collecteur) et les larves de *Simuliidae* (filtreur) abondamment retrouvées dans la faune benthique des radiers du Haut-Allier et majoritairement consommées par les jeunes saumons déversés ; les larves d'*Hydropsychidae* (collecteur-filtreur), bien que proie secondaire des saumons, seront également étudiées en raison de leur abondance dans les radiers du Haut-Allier (Descroix *et al.* 2009b) et de leur rôle trophique (Monaghan *et al.* 2001).

Les macroinvertébrés proviennent des échantillons prélevés pour les travaux précédents. En ce qui concerne les différentes sources de matière organique (pérlithon, MOFS et

MODép), elles ont été récoltées parallèlement aux macroinvertébrés, à raison d'un prélèvement mensuel sur chacun des trois radiers entre juin et octobre 2006.

La séparation des AG a été effectuée à partir des lipides totaux (LT) pour les sources de matière organique, et à partir des LN et des LP pour les quatre familles de macroinvertébrés.

Utilisation des acides gras comme indicateurs de l'assimilation des sources de matière organique par quatre familles de macroinvertébrés

AURELIE DESCROIX, CHRISTIAN DESVILLETES, JEREMY SAUVANET, DENIS SARGOS,
ALEXANDRE BEC, BENJAMIN MISON ET GILLES BOURDIER

Laboratoire "Microorganismes: Génome et Environnement" (LMGE), UMR CNRS 6023, Equipe "Fonctionnement des Réseaux Trophiques Aquatiques", UBP (Clermont-Ferrand II), F-63177, Aubière Cedex, France.

En préparation pour soumission à "Fundamental and Applied Limnology" (ex Archiv Für Hydrobiology).

1. Résumé

L'objectif de cette étude est de déterminer, grâce au suivi des acides gras (AG) biomarqueurs, les principales sources de matière organique assimilées par quatre familles d'insectes aquatiques (*Baetidae*, *Chironomidae*, *Hydropsychidae* et *Simuliidae*) dominants les assemblages de macroinvertébrés occupant les zones de radier d'un grand cours d'eau tempéré, l'Allier. Les compositions en AG des trois sources de matière organique disponibles (matière organique déposée dans les interstices du substrat, matière organique fine en suspension et biofilm périlithique) et de chaque famille de macroinvertébrés ont été analysées et comparées. Nous avons pu ainsi souligner l'importance du carbone issu de la production primaire autochtone dans le régime alimentaire des larves. Quelque soit la position des radiers le long du *continuum* fluvial, les lipides des macroinvertébrés contenaient, en effet, des AG marqueurs caractéristiques des diatomées. De plus, l'assimilation de carbone d'origine autochtone semble augmenter dans les sites les plus avals, où les macroinvertébrés ont tendance à s'alimenter de manière opportuniste sur les microalgues sestoniques et/ou benthiques.

Mots clés: *Baetidae* ; *Chironomidae* ; *Hydropsychidae* ; *Simuliidae* ; périlithon ; matière organique ; acides gras ; réseaux trophiques aquatiques.

2. Introduction

Les séquences radiers-fosses de dissipation, situées à la jonction du rhithron et du potamon, jouent un rôle primordial dans le fonctionnement écologique des grands cours d'eau tempérés (Bisson et Montgomery 1996, Bunn et Davies 2000). Les zones de radiers y sont caractérisées par l'occurrence de faibles profondeurs combinées à de fortes vitesses de courant sur une gamme de substrats variés (Lohfthouse et Robert 2008). Ces faciès abritent des assemblages de macroinvertébrés soumis à de fortes contraintes hydrauliques (Petts *et al.* 1993, Mérigoux et Dolédec 2004) et qui restent particulièrement sensibles aux dégradations des cours d'eau (Lautenschläger et Kiel 2005). Ils représentent le compartiment trophique clé des radiers, à l'interface des sources de matières organiques allochtone et autochtone et de la communauté piscicole. Parmi ces macroinvertébrés, un petit nombre de familles d'insectes a une importance toute particulière. Leurs stades larvaires de petite taille et leur présence en densité élevée pendant la période estivale (juin à septembre) en font les proies préférées de la plupart des juvéniles et petites espèces de poissons occupant les microhabitats des radiers. Il s'agit généralement de *Chironomidae* et *Simuliidae* (Diptères), de *Baetidae* et *Ephemerillidae* (Ephéméroptères), et de certains Trichoptères tels que les *Hydropsychidae* (Magalhães 1993, Winkelmann *et al.* 2007b, Descroix *et al.* 2009b). En outre, ils appartiennent à des groupes fonctionnels (Compin et Céréghino 2007) utilisant les différentes sources de matière organique qui transitent, se déposent ou se développent dans ces zones de radiers. Ils transfèrent ainsi une part de l'énergie et de la matière au maillon trophique supérieur et participent aux régulations par effet bottom-up (Wallace et Webster 1996). Toutefois, comme le précisent ces auteurs, les groupes fonctionnels sont classiquement définis à partir de la structure des pièces buccales ou de leur mode d'alimentation, et non en fonction de la nourriture ingérée (contenus digestifs) ou réellement assimilée (digestion). Or, ceci peut poser problème lorsque l'on cherche à identifier les voies de transit de matière et d'énergie entre les macroinvertébrés et les sources de matière organique particulière (Anderson et Cabana 2007). Ainsi, les larves d'*Hydropsychidae*, répertoriées comme filtreurs de particules organiques (Benke et Wallace 1980), sont capables d'ingérer des diatomées et des macroinvertébrés issus de la dérive (Petersen 1989), alors que les larves de *Chironomidae*, rangées parmi les collecteurs de particules organiques (< 1mm) (Wallace et Webster 1996), présentent des régimes alimentaires assez variés. En effet, les sous-familles de *Chironomidae* retrouvées au sein des radiers (*tanypodinae*, *orthoclaadiinae* et *chironominae*) ingèrent des débris et des

microalgues mais peuvent également présenter des comportements de piqueur-suceur et de coprophage (Berg 1995). La complexité de la matière organique rencontrée au niveau des radiers, sous forme de biofilms épilithiques, de matière organique fine en suspension (MOFS) et de matière organique déposée dans les interstices du substrat (MODép), rend encore plus difficile la compréhension des relations trophiques, en s'appuyant uniquement sur les groupes fonctionnels (Mihuc 1997).

Pour remédier à cela, un certain nombre de méthodes basées sur l'assimilation ont été développées pour déterminer la nature de la matière organique ingérée par les macroinvertébrés en milieu lotique (Lau *et al.* 2009). La recherche de différentes signatures isotopiques du carbone et de l'azote au sein des consommateurs benthiques est une des techniques pouvant être utilisée (Anderson et Cabana 2007). L'utilisation des acides gras (AG), en tant que biomarqueurs des ressources trophiques d'origine allochtone ou autochtone, constitue également une alternative intéressante (Torres-Ruiz *et al.* 2007). Certains AG spécifiques provenant de l'alimentation peuvent en effet être identifiés chez les consommateurs secondaires et permettre ainsi de visualiser les flux de matières et d'énergies d'un compartiment trophique à un autre (Desvilettes *et al.* 1997a, Sushchik *et al.* 2003). Un autre intérêt des biomarqueurs lipidiques réside dans le fait que certains AG polyinsaturés (AGPI) des séries $\omega 3$ et $\omega 6$ sont indispensables à la croissance et au développement de nombreux organismes aquatiques (Arts *et al.* 2001). Ces composés issus des producteurs primaires, principalement des microalgues en milieu aquatique, présentent pour certains, un caractère essentiel et sont peu modifiés au cours de leur transfert le long des chaînes trophiques. Ils peuvent donc représenter des indicateurs de la qualité nutritionnelle de la matière organique particulaire (Müller-Navarra *et al.* 2000). La validité de cette approche dépend toutefois du contexte taxonomique de l'étude et de la connaissance du métabolisme lipidique des organismes concernés (Sargent *et al.* 1987). En effet, un certain nombre d'organismes autotrophes ne présentent pas forcément de marqueurs taxonomiques spécifiques (cyanobactéries, chlorophycées...). De même, certains consommateurs peuvent modifier ou cataboliser une partie des AG d'origine alimentaire. Jusqu'à récemment cette technique a été peu employée en milieu lotique, mais depuis 2006 les recherches effectuées démontrent sa pertinence (Sushchik *et al.* 2006, 2007, Torres-Ruiz *et al.* 2007). Il est ainsi possible, grâce à un certain nombre de biomarqueurs, de caractériser les contributions alimentaires, qu'elles proviennent de sources autotrophes (production microalgale) ou hétérotrophes (détritiques organiques) (Goedkoop *et al.* 2000, Lau *et al.* 2009).

Dans ce contexte, nous avons utilisé l'approche basée sur les AG biomarqueurs pour déterminer les sources de matière organique que peuvent réellement assimiler quatre familles clé de macroinvertébrés occupant les zones de radier d'une rivière alluviale de 4^{ème} à 5^{ème} ordre de drainage (Strahler 1957). Ces familles ont été sélectionnées en fonction de leur importance fonctionnelle dans l'exploitation de la matière organique disponible, de leur importance numérique *in situ* (Beauger *et al.* 2006, Descroix *et al.* 2009b) et de leur statut de proies principales pour les juvéniles de Saumon atlantique (Vignes 1995, Descroix *et al.* 2009b). Ainsi, les profils d'AG ont été déterminés à partir des lipides neutres (LN) et des lipides polaires (LP) extraits des larves de *Chironomidae* (collecteur) et de *Simuliidae* (filtreur), et des nymphes de *Baetidae* (racleur de substrat). Ces trois familles sont préférentiellement consommées par les tacons en période estivale (Descroix *et al.* 2009b). Un quatrième taxon, les larves d'*Hydropsychidae* (collecteur-filtreur), bien que proie secondaire des saumons, a également été étudié en raison de son abondance numérique et de son rôle trophique dans les radiers (Monaghan *et al.* 2001). Nous avons également recherché la présence d'AG marqueurs caractéristiques des lipides totaux (LT) issus de trois sources de matière organique habituellement disponibles en milieu lotique (MOFS, MODép et biofilms périlithiques). L'accent a été mis sur l'importance des diatomées en tant que source d'alimentation et producteurs d'AGPI long (20:5 ω 3). La validité de plusieurs AG biomarqueurs est discutée.

3. Matériel et méthodes

3.1. Sites d'étude

L'étude a été réalisée sur la partie supérieure de la rivière Allier, un des principaux affluents de la Loire (France). Ce secteur, appelé Haut-Allier (ordre de drainage 4 à 5), englobe les zones de rhithron et d'épipotamon qui correspondent au linéaire de reproduction du Saumon atlantique. La rivière s'écoule sur un socle géologique majoritairement constitué de granite et de gneiss, et présente un profil sinueux naturel caractérisé par une succession de séquences plat-radier-fosse. Le lit est constitué d'un substrat grossier de pierres, de galets et de blocs rocheux recouvert d'un biofilm périlithique. Des macrophytes sont également présents au niveau de l'épipotamon, mais non envahissants. Trois radiers d'étude sont ainsi sélectionnés en fonction de leur distribution amont-aval sur un linéaire d'environ 170 km

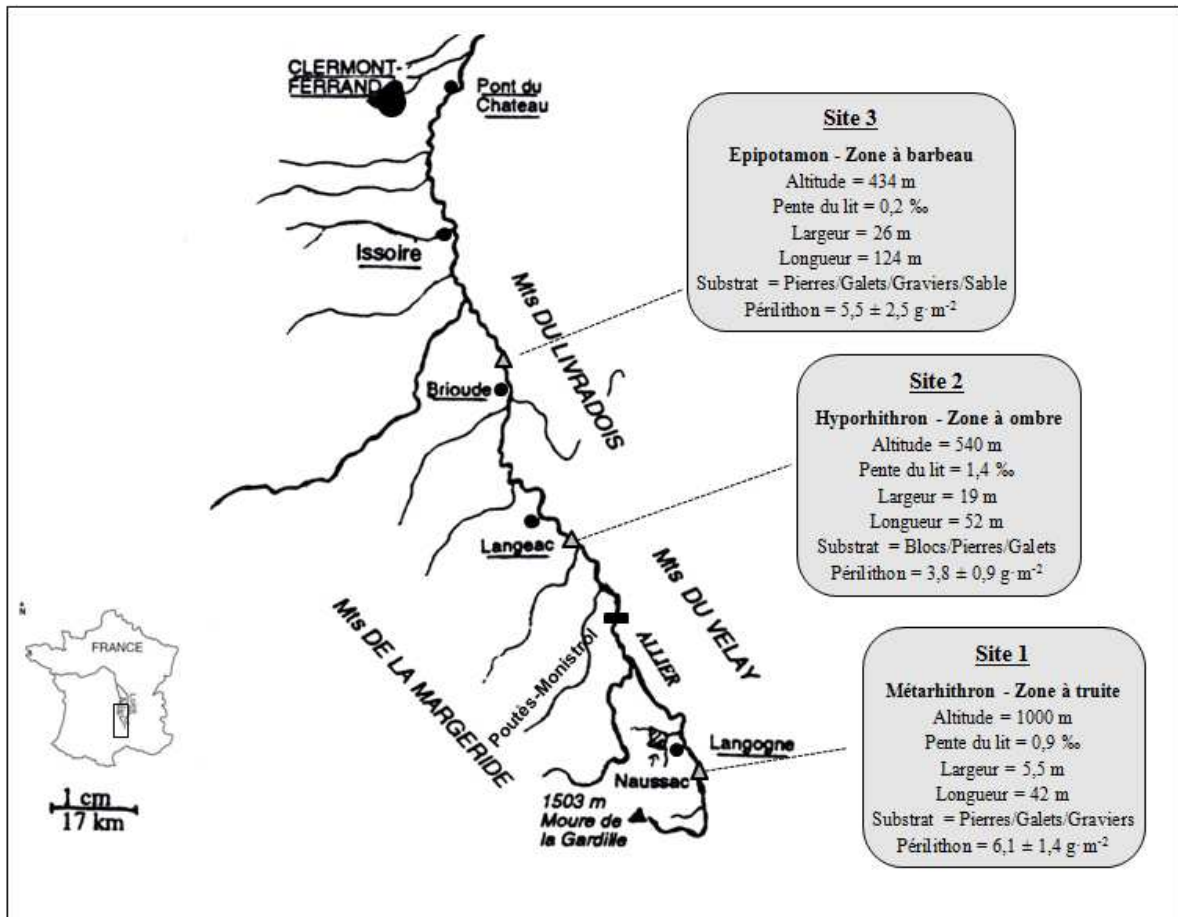


Fig. 25. Localisation et caractéristiques des sites d'étude sur le Haut-Allier.

(Fig. 25): le Site 1 se situe à 32 km des sources au niveau de la zone rhithrale moyenne, le Site 2 se localise à 106 km des sources en fin de rhithron et le Site 3 dans la partie supérieure du potamon à 162 km des sources. Une description plus détaillée de ces radiers est donnée dans Descroix *et al.* (2009b).

3.2. Prélèvements et traitement des échantillons

L'étude est réalisée entre les mois de juillet et d'octobre 2006. Des prélèvements mensuels de macroinvertébrés benthiques, de matière organique déposée dans les interstices du substrat (MODép), de matière organique fine en suspension (MOFS) dérivant dans la colonne d'eau et de biofilm périlithique sont effectués dans chacun des trois radiers sélectionnés.

3.2.1. Macroinvertébrés

Les macroinvertébrés sont prélevés à l'aide d'un filet Surber (vide de maille de 250 μm). Pour obtenir une bonne représentativité des microhabitats, plusieurs prélèvements de 0,1 m² sont réalisés sur chaque radier et à chaque sortie. Les échantillons récoltés sont ensuite placés individuellement dans un bac d'eau froide, puis ramenés au laboratoire où ils sont laissés à 4°C pendant 24h afin d'obtenir la vidange complète des tubes digestifs. Un sous-échantillon, correspondant au contenu de 4 filets Surber, est préservé dans de l'éthanol (70%) afin de permettre le dénombrement et l'identification des organismes présents. Chaque invertébré est ainsi identifié sous loupe binoculaire au niveau du genre pour les Diptères, les Epheméroptères et les Trichoptères, et de la famille pour les autres taxa (Tachet *et al.* 2000). Dans le deuxième sous-échantillon (4 à 8 filets Surber), seuls les spécimens appartenant aux familles de macroinvertébrés fréquemment consommées par les tacons de Saumon atlantique sont récupérés (Vignes 1995, Descroix *et al.* 2009b). Ainsi, les nymphes de *Baetidae* et les larves de *Chironomidae*, d'*Hydropsychidae* et de *Simuliidae* sont triées, dénombrées et regroupées en sous-échantillons de taille homogène. Ces derniers sont ensuite congelés, lyophilisés, puis pesés (électrobalance Mettler AE163, sensibilité 0,001 mg) et conservés à -40°C avant d'être analysés (extractions lipidiques).

3.2.2. Biofilm périlithique

Pour récolter le biofilm périlithique, trois à quatre galets sont prélevés au hasard dans chacun des radiers et à chacune des dates d'échantillonnage. Le périlithon est ensuite récupéré

par brossage de la surface exposée à la lumière, dilué dans de l'eau filtrée, puis séparé en deux fractions. La première fraction (40 ml) est fixée au lugol (1%) afin de procéder à la détermination et à l'énumération des espèces de microalgues en microscopie inversée selon la méthode d'Utermöhl (Lund *et al.* 1958). La seconde fraction est maintenue au frais sur le terrain. Une fois au laboratoire, le contenu de cette fraction destinée aux analyses lipidiques, est centrifugé (6 minutes à 1500 tr·mn⁻¹), lyophilisé puis pesé et conservé à -40°C. Les surfaces échantillonnées sont déterminées de manière indirecte par pesée d'une feuille d'aluminium plaquée sur la surface brossée et découpée.

3.2.3. Matière organique fine en suspension (MOFS)

La MOFS (< 1mm) est récoltée grâce à un filet horizontal (35 cm de diamètre, vide de maille 200 µm) solidement ancré au niveau de la partie amont du radier dans le sens du courant, approximativement à égale distance de la surface et du fond de la colonne d'eau. Les gros débris (feuilles et brindilles) sont ensuite éliminés par tamisage (vide de maille 1 mm). Comme pour le périlithon, le filtrat obtenu est séparé en deux fractions: une fraction (40 ml) fixée au lugol pour la détermination et le comptage des microalgues et une fraction maintenue au frais pour les analyses lipidiques. Cette fraction est récupérée sur des filtres Whatman GF/C préalablement décontaminés au four (24h à 550°C). Les filtres ainsi obtenus sont ensuite lyophilisés, pesés et stockés à -40°C.

3.2.4. Matière organique déposée (MODép)

La MODép est récoltée lors du prélèvement des macroinvertébrés. A partir des échantillons obtenus grâce aux filets Surber, la MODép est récupérée, tamisée (vide de maille de 1 cm) et centrifugée (6 minutes à 1500 tr·mn⁻¹). Elle est ensuite congelée, lyophilisée, puis pesée et conservée à -40°C.

3.3. Analyse lipidique

Dans la mesure du possible, les analyses lipidiques sont effectuées sur des triplicats d'échantillons de sources de matière organique (périlithon, MOFS et MODép) et de macroinvertébrés (*Baetidae*, *Chironomidae*, *Hydropsychidae* et *Simuliidae*). La composition en AG est déterminée à partir des lipides totaux (LT) pour les sources de matière organique et à partir des lipides neutres (LN) et des lipides polaires (LP) pour les macroinvertébrés. Les

lipides sont extraits avec un mélange de chloroforme-méthanol suivant la méthode Folch *et al.* (1957) modifiée par Desvilettes *et al.* (1994). Les LN et les LP sont ensuite séparés par chromatographie sur mini-colonnes de silice (SPE Strata NH₂, Phenomenex) (Descroix *et al.* 2009a en référé). Les esters méthyliques d'acides gras (EMAG) sont obtenus par dérivation des extraits lipidiques à l'aide de BF₃-méthanol (14%), puis analysés en chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire de type OmegawaxTM (Supelco® 30 m x 0,32 mm ID). Le chromatographe (Chrompack CP 9001) est équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (Injecteur en mode Split, Température de l'injecteur = 260°C, Gaz vecteur = hélium). La température du four est programmée pour passer de 140 à 245°C, avec une progression de 3°C·min⁻¹. Les AG sont alors identifiés par comparaison avec des standards connus (Sigma, Supelco, Larodan Inc.) et quantifiés grâce à l'incorporation d'un étalon interne (13:0). En cas de doute sur la nature d'un composé, l'échantillon est injecté dans un GC/MS (Agilent GC6850 couplé à un spectromètre de masse 5975B). Les spectres sont identifiés à partir de notre propre librairie de spectres et avec celle consultable sur Internet (<http://www.lipidlibrary.co.uk>).

3.4. Analyse des données

Les analyses sont effectuées sur les AG ou groupes d'AG dominants en terme de pourcentage (% en poids des AG) et ceux présentant un intérêt écologique. Pour faciliter les analyses, les AG sélectionnés ont été regroupés en catégories: les marqueurs de diatomées [14:0, 16:1 ω 7, Σ (16:2 ω 4, 16:3 ω 4, 16:4 ω 1), 20:5 ω 3] (Dunstan *et al.* 1994, Napolitano *et al.* 1996), les marqueurs d'origine bactérienne [Σ (*iso* et *anteiso* 15:0, *iso* 16:1, *iso* et *anteiso* 17:0), 18:1 ω 7, AG cyclique] (Scribe *et al.* 1990, Kaneda 1991, Desvilettes *et al.* 1997a), les marqueurs de matière organique d'origine allochtone [Σ (C₂₄-C₂₈)] (Scribe et Bourdier 1995, Mills *et al.* 2003), les AG ubiquistes [12:0, 16:0, 18:0, 18:1 ω 9] et les AG souvent considérés comme essentiels au développement des larves ou nymphes d'insectes aquatiques [18:2 ω 6, 18:3 ω 3, 20:4 ω 6] à l'exception du 20:5 ω 3 déjà sélectionné en tant que biomarqueur des diatomées (Ghioni *et al.* 1996, Brett et Müller-Navarra 1997).

Moyennes et erreur-standards sont calculées pour caractériser les compositions en AG (en % de poids) des LT extraits des différentes sources de matière organique, et des LN et LP extraits des macroinvertébrés. Des analyses de variance (ANOVA) sont effectuées pour déterminer les effets de sites et dates. Lorsqu'un effet significatif apparaît, un test de

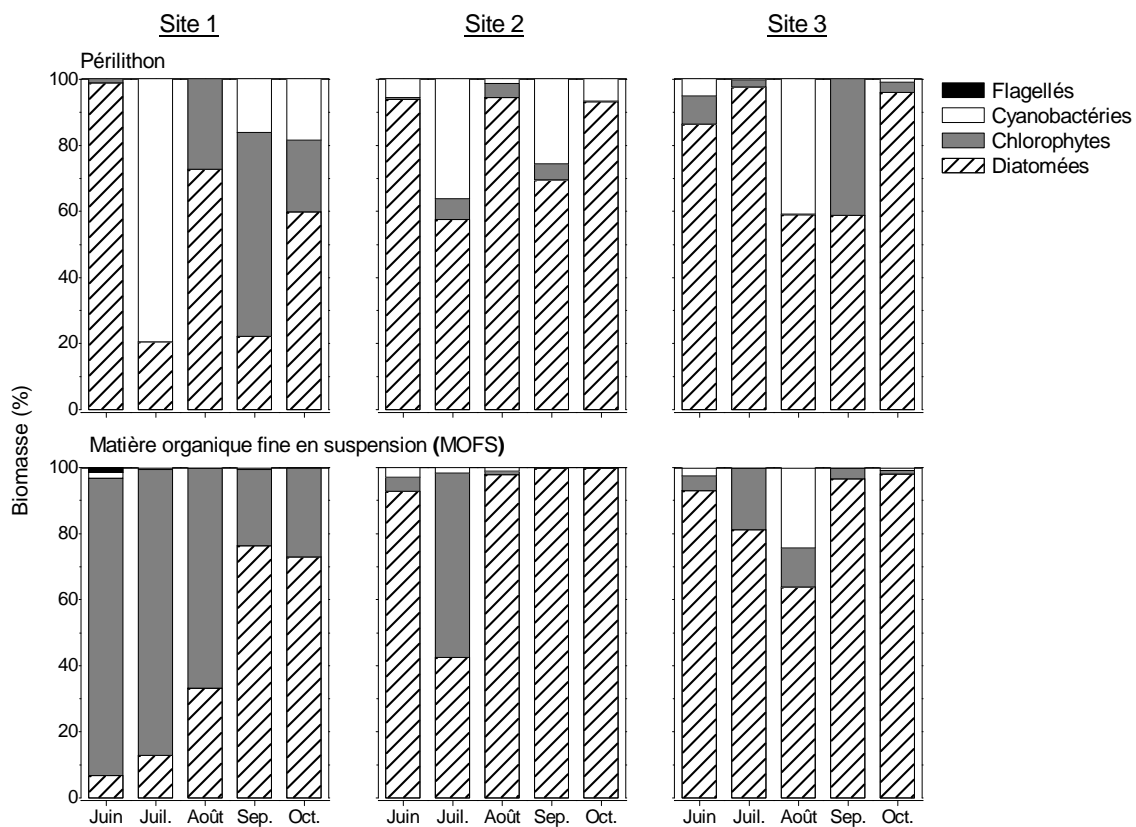


Fig. 26. Evolution temporelle de la biomasse des microalgues (% de biovolume) retrouvées dans le périlithon et la matière organique fine en suspension (MOFS) prélevés dans les trois radiers du Haut-Allier.

comparaison multiple (Test de Tukey) est effectué afin de déterminer les différences. Toutes les données sont préalablement testées (normalité des résidus et égalité des variance) et transformées en $\log_{10}(x+1)$ si nécessaire. De plus, des analyses factorielles discriminantes (AFD) sont utilisées pour discriminer les échantillons en fonction de leur composition en AG. Les différents AG ou groupes d'AG sont alors utilisés comme variables explicatives et le type d'échantillons comme variable indépendante (LT pour les sources de matière organique, LN et LP pour les macroinvertébrés). Une AFD est réalisée pour les LN et pour les LP.

Toutes les analyses statistiques sont effectuées avec le logiciel XLStat-Pro. Les différences sont considérées comme significatives lorsque $p < 0,05$.

4. Résultats

4.1. Communauté et biomasse des microalgues dans le périlithon et la MOFS

Diatomées, chlorophytes (Ulvophycées et Chlorophycées) et cyanobactéries sont les principales microalgues retrouvées dans le périlithon et la MOFS (Fig. 26).

Au sein du périlithon et en dehors des mois de juillet et de septembre pour le Site 1, les diatomées sont dominantes tout au long de la période d'étude (Site 1: 55%, Site 2: 82%, Site 3: 80%). Les principales espèces identifiées sont *Melosira varians* (Ehrenberg), *Gomphoneis minuta* (Stone), *Navicula menisculus*, *Navicula lanceolata* (Kützing), *Navicula radiosa* (Kützing) et *Nitzschia fonticola* (Grunow). Sur les sites aval (Sites 2 et 3), les chlorophytes (*Stigeoclonium* sp. et *Ulothrix* sp.) ne représentent que de faibles proportions de la biomasse, à l'exception de la valeur observée en septembre sur le Site 3 (11%). Par contre, ces microalgues contribuent de manière marquée aux biomasses rencontrées d'août à octobre sur le premier site. Ce secteur se caractérise également par un important développement de cyanobactéries au mois de juillet (79% de la biomasse algale périlithique). Dans les autres sites, les cyanobactéries peuvent constituer jusqu'à 35–40% de la biomasse en juillet (Site 2) et en août (Site 3). Ces cyanobactéries appartiennent principalement aux genres *Oscillatoria* et *Homoeothrix* (Fig. 26).

Les microalgues rencontrées dans la MOFS sont essentiellement des diatomées et des chlorophytes. Les espèces majoritairement rencontrées paraissent provenir du périlithon (par lessivage), *Melosira varians* et *Fragilaria* sp. en ce qui concerne les diatomées et *Stigeoclonium* sp. en ce qui concerne les chlorophytes. Quelques chlorococcales du genre

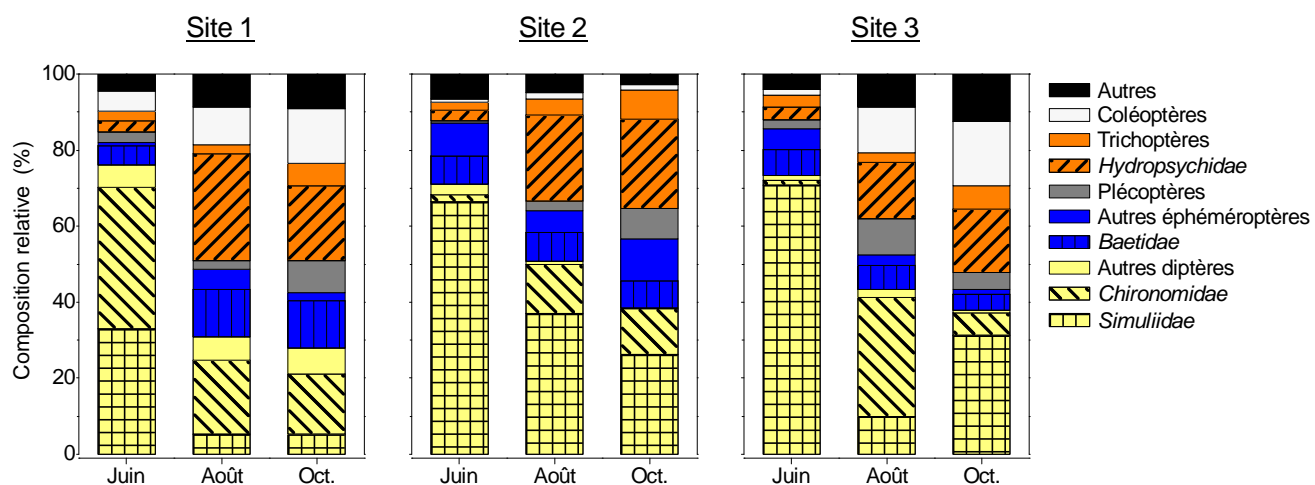


Fig. 27. Evolution temporelle de la composition relative (% des individus) des macroinvertébrés prélevés dans les trois radiers du Haut-Allier.

Scenedesmus n'ont toutefois pas été observées dans le biofilm. Les cyanobactéries sont généralement peu abondantes, excepté le pic de développement observé en août dans le Site 3 (24% de la biomasse). Le Site 1 se distingue assez curieusement des autres sites par les très fortes proportions de chlorophytes dénombrées en période estivale (juin-août) au sein de la MOFS (Fig. 26).

4.2. Evolution des compositions taxonomiques de macroinvertébrés

Une soixantaine de groupes taxonomiques sont identifiés sur les radiers des Sites 1, 2 et 3. La majorité sont des larves et des nymphes d'insectes aquatiques (94% des individus) appartenant majoritairement aux ordres suivants: Coléoptères, Diptères, Ephéméroptères, Plécoptères, Trichoptères. Les autres taxons de plus faible abondance sont surtout constitués de Gastéropodes (*Ancylidae*) et d'Oligochètes. Sur le plan numérique, les Diptères, les Trichoptères et les Ephéméroptères sont dominants et représentent en moyenne 50%, 19% et 15% de la faune benthique (Fig. 27).

Parmi les Diptères, les larves de *Chironomidae* (sous-famille *orthoclaadiinae*, *chironominae* et *tanypodinae*) se retrouvent majoritairement sur le radier du Site 1 (24% des individus), tandis que les larves de *Simuliidae* (*Simulium* et *Prosimulium*) sont plus abondantes dans les radiers des Sites 2 (43% des individus) et 3 (37% des individus). Chez les larves de Trichoptères, on observe une famille dominante, quelque soit le site, celle des *Hydropsychidae*, comprenant deux espèces majoritaires: *Cheumatopsyche lepida* et *Hydropsyche* sp. Les nymphes d'Ephéméroptères également présentes sur chaque radier, représentent de 6 à 10% de la faune benthique. Plusieurs familles sont observées, mais les *Baetidae* représentées par trois espèces (*Baetis rhodanii*, *Acentrella sinaica* et *Procloeon bifidum*) constituent la principale famille en terme d'abondance numérique (Fig. 27).

4.3. Compositions en AG des LT des sources de matière organique

Entre 60 et 64 AG sont identifiés dans les LT du périlithon, de la MOFS et de la MODép ; toutefois ne seront présentés ici que les AG dominants et ceux ayant un intérêt écologique (cf. Matériel et méthodes).

Les proportions d'AG ubiquistes ne montrent aucune différence significative entre les différentes sources de matière organique (ANOVA: $F_{2, 134} = 2,52$ $p = 0,09$; Fig. 28). Le 16:0

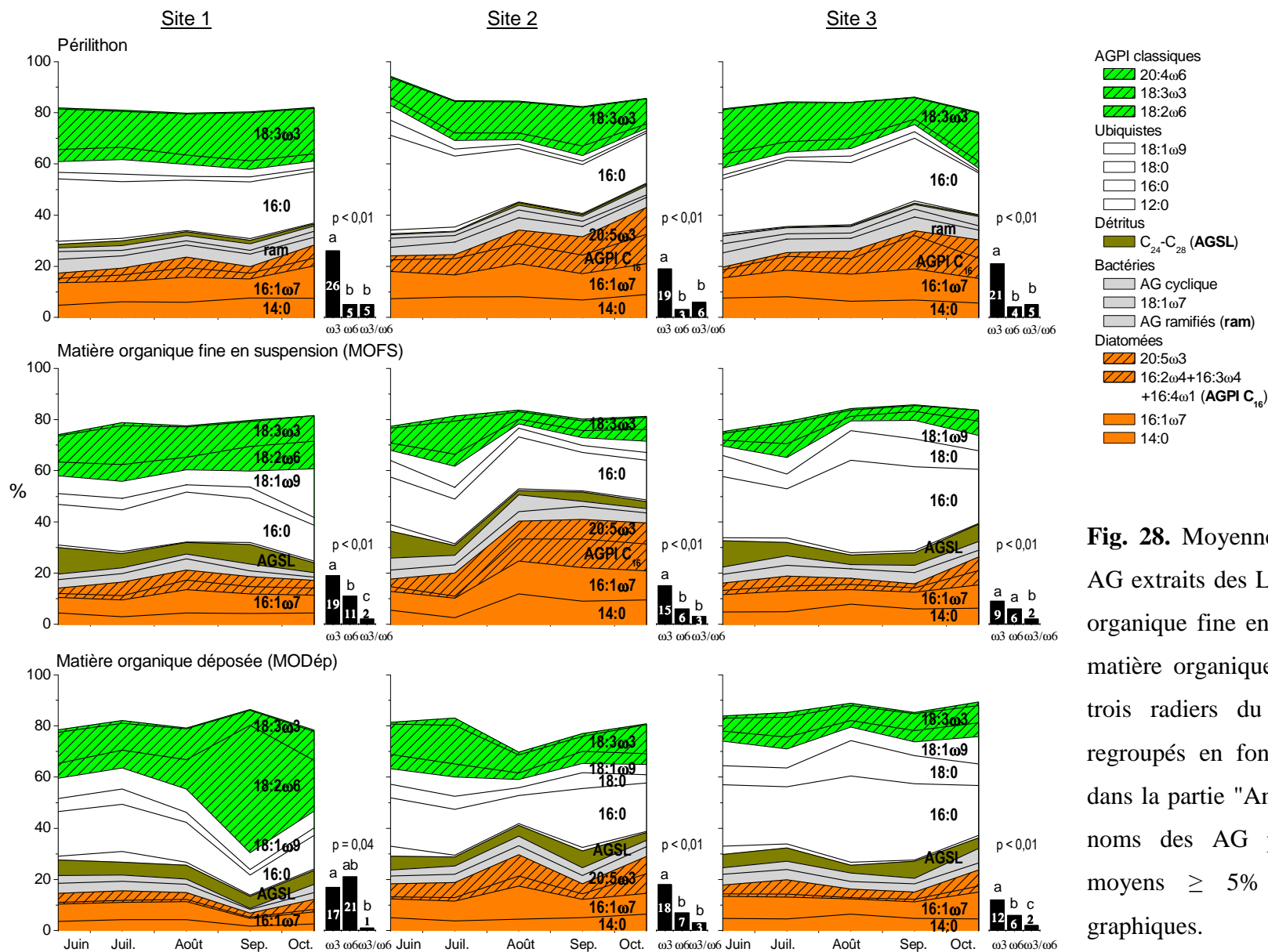


Fig. 28. Moyennes (% relatifs) des profils en AG extraits des LT du périlithon, de la matière organique fine en suspension (MOFS) et de la matière organique déposée (MODép) dans les trois radiers du Haut-Allier. Les AG sont regroupés en fonction des propriétés définies dans la partie "Analyse des données". Seuls les noms des AG présentant des pourcentages moyens $\geq 5\%$ sont mentionnés sur les graphiques.

est généralement l'AG ubiquiste retrouvé le plus abondamment dans tous les échantillons (moyenne: 19–23% des AG totaux). Le 18:0 et 18:1 ω 9 sont également présents mais en plus faibles proportions, représentant environ 2 à 7% des AG totaux. On les retrouve en quantités moins importantes au sein des biofilms périlithiques (moyenne: 2–3% des AG totaux) qu'au sein de la MOFS et de la MODép (moyenne: 6–7% des AG totaux ; Fig. 28).

En ce qui concerne les AG marqueurs de diatomées, leurs pourcentages présentent des différences significatives entre les trois sources de matière organique (ANOVA: $F_{2, 134} = 13,18$ $p < 0,01$). En effet tout au long de l'étude et quelque soit le site, ces marqueurs sont détectés en proportions plus élevées dans le périlithon (moyenne: 27% des AG totaux) et la MOFS (moyenne: 23%) qu'au niveau de la MODép (moyenne: 18%). Le 14:0 et le 16:1 ω 7 sont les marqueurs dominants (moyenne: 7–10% des AG totaux) alors que le 20:5 ω 3 et la somme des AGPI C_{16} (16:2 ω 4+16:3 ω 4+16:4 ω 1) sont observées en proportions moins importantes (moyenne: 2–6%) et varient en fonction du site. Ils sont généralement retrouvés en plus faibles pourcentages dans les Sites 1 et 3, quelque soit la date d'échantillonnage et le type de matière organique (Fig. 28).

Les trois sources de matière organique présentent des teneurs en AGPI classiques significativement différentes (ANOVA: $F_{2, 134} = 8,11$ $p < 0,01$). Ils sont en effet retrouvés en proportions plus élevées au niveau des LT de la MODép (moyenne: 21% des AG totaux) et du périlithon (moyenne: 19%) qu'au niveau des LT extraits de la MOFS (moyenne: 13%). Le 18:3 ω 3 et le 18:2 ω 6 constituent l'essentiel de ces AGPI, si l'on excepte bien sûr le 20:5 ω 3 répertorié en tant que biomarqueur des diatomées, tandis que le 20:4 ω 6 ne représente pas plus de 1% des AG totaux (Fig. 28).

Les proportions d'AG marqueurs des bactéries sont plus élevées au niveau du biofilm (moyenne: 9% des AG totaux) qu'au niveau de la MOFS (moyenne: 6%) et de la MODép (moyenne: 6%). Ces différences sont significatives quelque soit le site (ANOVA: $F_{2, 134} = 33,74$ $p < 0,01$). Parmi ces AG, les formes cycliques sont peu représentées et n'ont été observées (en quantité non négligeable) qu'au niveau des biofilms (moyenne: 2% des AG totaux). En revanche, les AGS à longue chaîne carbonée (C_{24} – C_{28}), caractéristiques du matériel détritique allochtone, y sont plus faiblement représentés (moyenne: 1% des AG totaux) alors qu'ils constituent en moyenne, 6% des AG totaux extrait de la MOFS et 5% de ceux issus de la MODép (ANOVA: $F_{2, 134} = 63,43$ $p < 0,01$; Fig. 28).

Les profils d'AG des échantillons de périlithon, de MOFS et de MODép présentent aussi des variations temporelles significatives (ANOVAs: $p < 0,01$), principalement en ce qui

concernent les AG ubiquistes et les marqueurs de diatomées. Les proportions d'AG ubiquistes diminuent de juin à octobre au niveau du biofilm de chacun des sites, tandis que les marqueurs de diatomées augmentent tout au long de la période d'étude dans chaque source de matière organique (Biofilm, MOFS, MODép). De plus, des variations significatives entre les sites (ANOVAs: $p < 0,01$) apparaissent pour les AGPI classiques plus abondants dans le Site 1, les marqueurs de diatomées plus élevés dans le Site 2 et les AG ubiquistes plus importants dans le Site 3. Enfin, on peut également noter que les valeurs du rapport AGPI $\omega 3$ / AGPI $\omega 6$ sont significativement plus élevées dans les biofilms que dans les deux autres sources de matière organique (ANOVA: $F_{2, 44} = 30,05$ $p < 0,01$). La MOFS et la MODép contiennent en effet plus d'AGPI $\omega 6$ et moins d'AGPI $\omega 3$ que le biofilm périlithique (Fig. 28).

4.4. Compositions en AG des LN de consommateurs (macroinvertébrés)

Entre 50 et 65 AG sont identifiés dans les LN des macroinvertébrés aquatiques. Comme précédemment, seuls les AG ou groupes d'AG dominants sont pris en compte (Fig. 29). Les AG ubiquistes, les marqueurs de diatomées et les AGPI classiques sont les trois catégories d'AG majoritairement observées dans les LN des larves ou nymphes d'insectes aquatiques. Des marqueurs bactériens (moyenne: 4–10% des AG extraits des LN) sont également détectés alors qu'aucun marqueur de détritits allochtone (C_{24} – C_{28}) n'est retrouvé.

Les AG ubiquistes sont les AG dominants quelque soit le taxon étudié. Ils représentent en moyenne 32 à 41% des LN et présentent des différences inter-famille significatives (ANOVA: $F_{3, 58} = 9,06$ $p < 0,01$). En effet, ils sont généralement détectés en proportions plus élevées dans les LN des larves d'*Hydropsychidae* (moyenne: 51% des AG extraits des LN) que dans les autres familles d'invertébrés (moyenne: 33–42%). Cette différence est occasionnée par la présence du 12:0 uniquement observé en abondance chez les larves d'*Hydropsychidae* (moyenne: 12% des AG extraits des LN ; Fig. 29).

Les AG regroupés en tant que marqueurs de diatomées représentent en moyenne 21 à 36 % des AG extraits des LN. Leurs proportions sont significativement plus élevées chez les nymphes de *Baetidae* (ANOVA: $F_{3, 58} = 6,57$ $p < 0,01$), en raison des fortes teneurs en AGPI C_{16} (16:2 ω 4+16:3 ω 4+16:4 ω 1) observées au cours des mois de juin et juillet. Chez la plupart des familles étudiées, à l'exception des larves d'*Hydropsychidae*, le 16:1 ω 7 et le 20:5 ω 3 représentent pour l'ensemble des sites, respectivement 8 à 12% et 6 à 11% des AG extraits

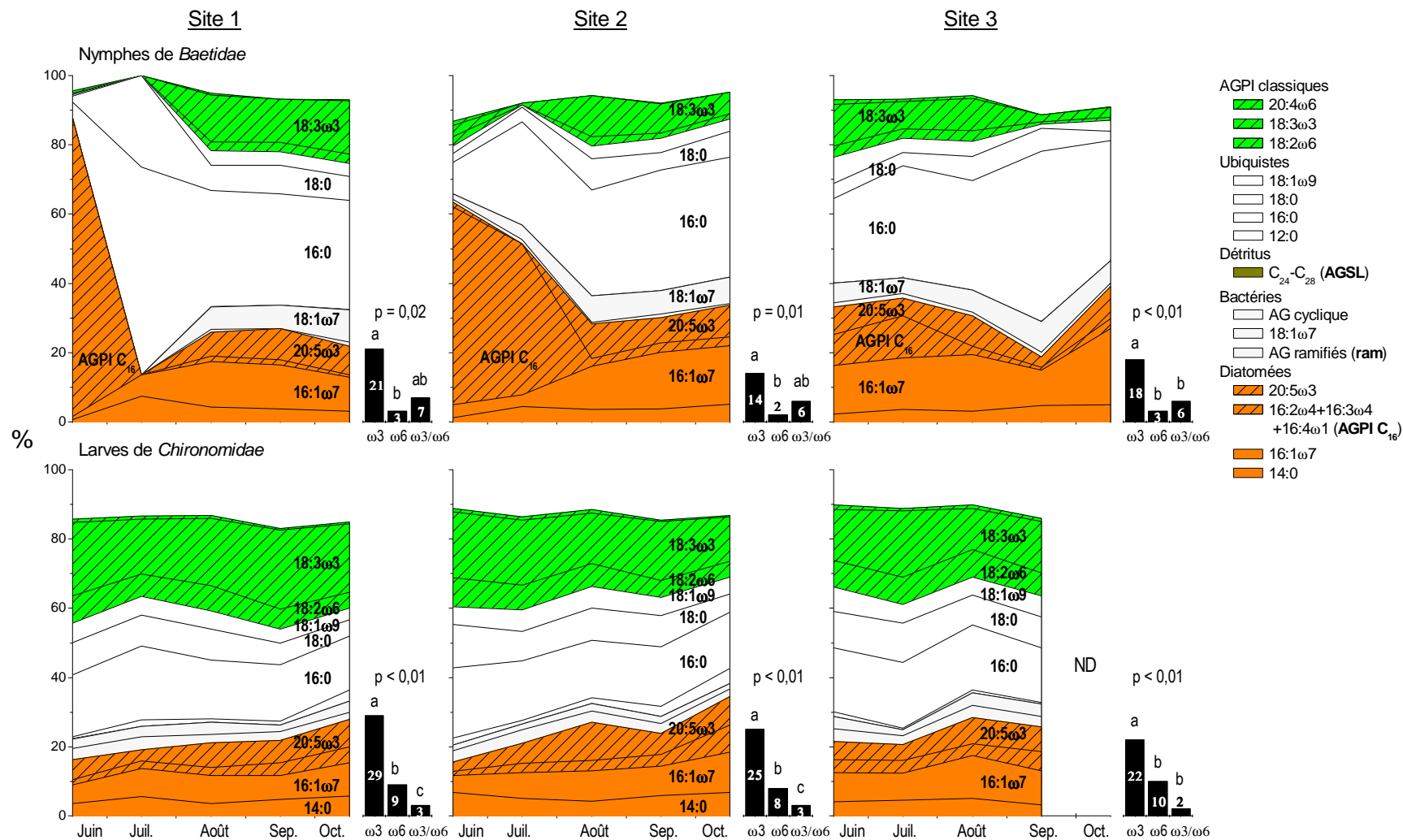


Fig. 29. Moyennes (% relatifs) des profils en AG extraits des LN des nymphes de *Baetidae* et des larves de *Chironomidae* dans les trois radiers du Haut-Allier. Les AG sont regroupés en fonction des propriétés définies dans la partie "Analyse des données". Seuls les noms des AG présentant des pourcentages moyens $\geq 5\%$ sont mentionnés sur les graphiques (ND = pas de données).

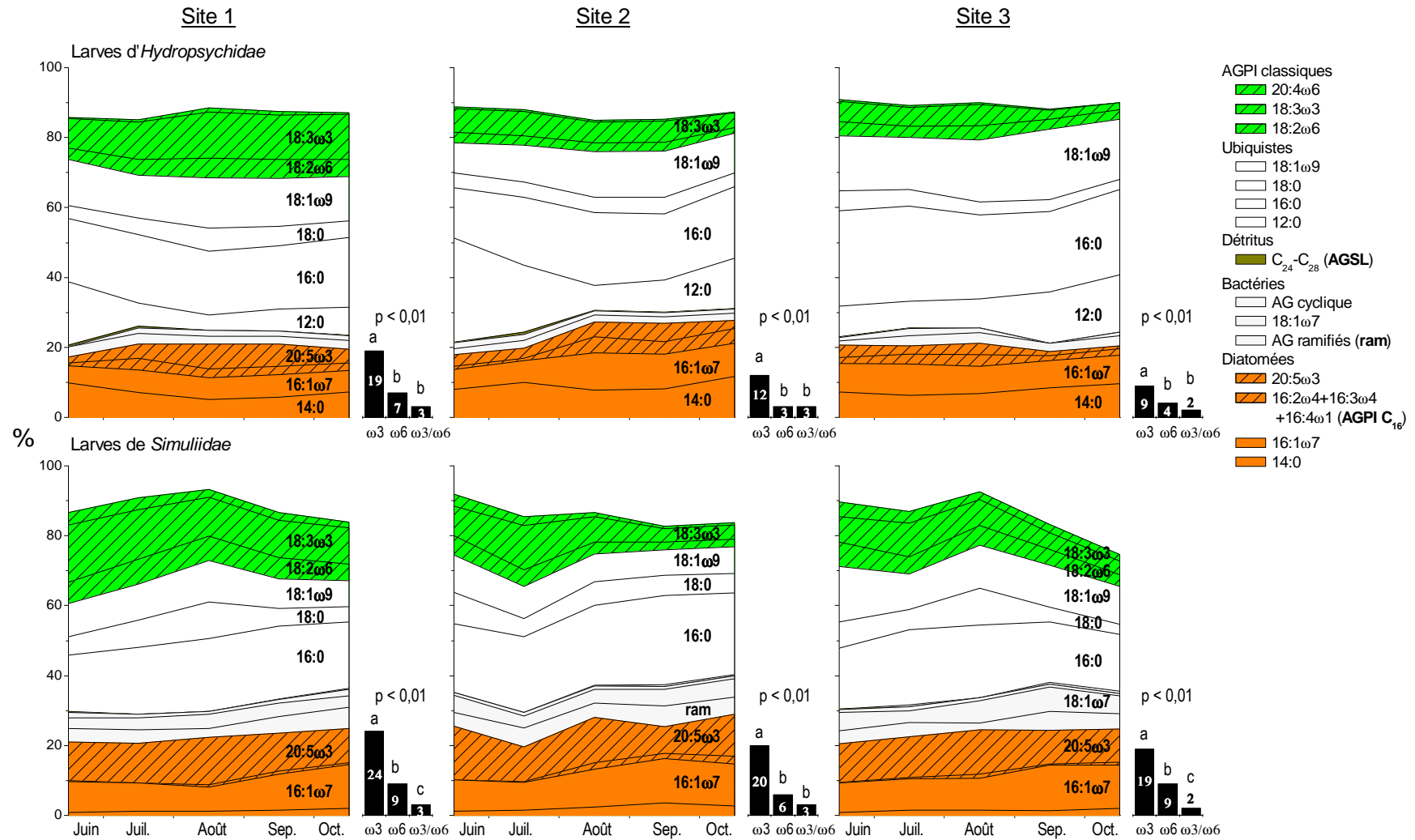


Fig. 29bis. Moyennes (% relatifs) des profils en AG extraits des LN des larves d'*Hydropsychidae* et de *Simuliidae* dans les trois radiers du Haut-Allier. Les AG sont regroupés en fonction des propriétés définies dans la partie "Analyse des données". Seuls les noms des AG présentant des pourcentages moyens $\geq 5\%$ sont mentionnés sur les graphiques.

des LN. Les larves de *Simuliidae* sont apparues dans chaque site comme particulièrement riches en 20:5 ω 3 (moyenne: 11% des AG extraits des LN ; Fig. 29).

Des différences significatives de concentrations relatives en AGPI classiques sont également observées entre les familles étudiées (ANOVA: $F_{3, 58} = 23,98$ $p < 0,01$). Les teneurs les plus élevées sont mesurées chez les larves de *Chironomidae* (moyenne: 25% des AG extraits des LN) et de *Simuliidae* (moyenne: 16%) en raison de fortes valeurs de 18:2 ω 6 (moyenne: 7–5%) et de 18:3 ω 3 (moyenne: 9–17%) observées chez ces deux familles. A l'opposé, ces AG se retrouvent en plus faibles proportions chez les nymphes de *Baetidae* et les larves d'*Hydropsychidae*. Le 20:4 ω 6 est, quant à lui, toujours retrouvé en proportion négligeable dans la majorité des familles analysées (moyenne $\leq 1\%$ des AG extraits des LN), à l'exception des larves de *Simuliidae* chez qui il représente 2% des AG extraits des LN (Fig. 29).

Les AG marqueurs des bactéries sont plus abondants chez les larves de *Simuliidae* (moyenne: 10% des AG extraits des LN) alors qu'ils ne représentent en moyenne que 4 à 6% des AG extraits des LN chez les autres taxons (ANOVA: $F_{3, 58} = 27,91$ $p < 0,01$). Ce sont majoritairement des AG ramifiés impairs et du 18:1 ω 7 ; les AG cycliques n'ont été retrouvés que chez les larves de *Simuliidae* où ils représentent environ 1% des LN (Fig. 29).

En général, les profils d'AG des larves ou nymphes de macroinvertébrés (*Baetidae*, *Chironomidae*, *Hydropsychidae* et *Simuliidae*) ne montrent aucune variation temporelle ou inter-sites significatives (ANOVAs: $p > 0,05$). On peut cependant noter des différences significatives dans les sommes des AGPI ω 3 et des AGPI ω 6 entre les taxons (ANOVAs: $F_{3, 57} = 12,88$ $p < 0,01$ et $F_{3, 57} = 34,19$ $p < 0,01$ respectivement). Ils sont en effet significativement plus abondants dans les larves de Diptères (*Chironomidae* et *Simuliidae*) que dans les deux autres familles. Les valeurs du rapport AGPI ω 3/ AGPI ω 6 sont significativement plus élevées dans les nymphes de *Baetidae* que dans les deux autres familles (ANOVA: $F_{3, 56} = 15,76$ $p < 0,01$; Fig. 29).

4.5. Compositions en AG des LP de consommateurs (macroinvertébrés)

Les AG ubiquistes sont les AG dominants les LP des larves et nymphes étudiées (Fig. 30). Leurs proportions ne présentent aucune différence significative entre les taxons (moyenne: 40–50% des AG extraits des LP ; ANOVA: $F_{3, 58} = 2,56$ $p = 0,06$). Le 16:0 est particulièrement abondant dans l'ensemble des familles analysées (moyenne: 17–23% des AG

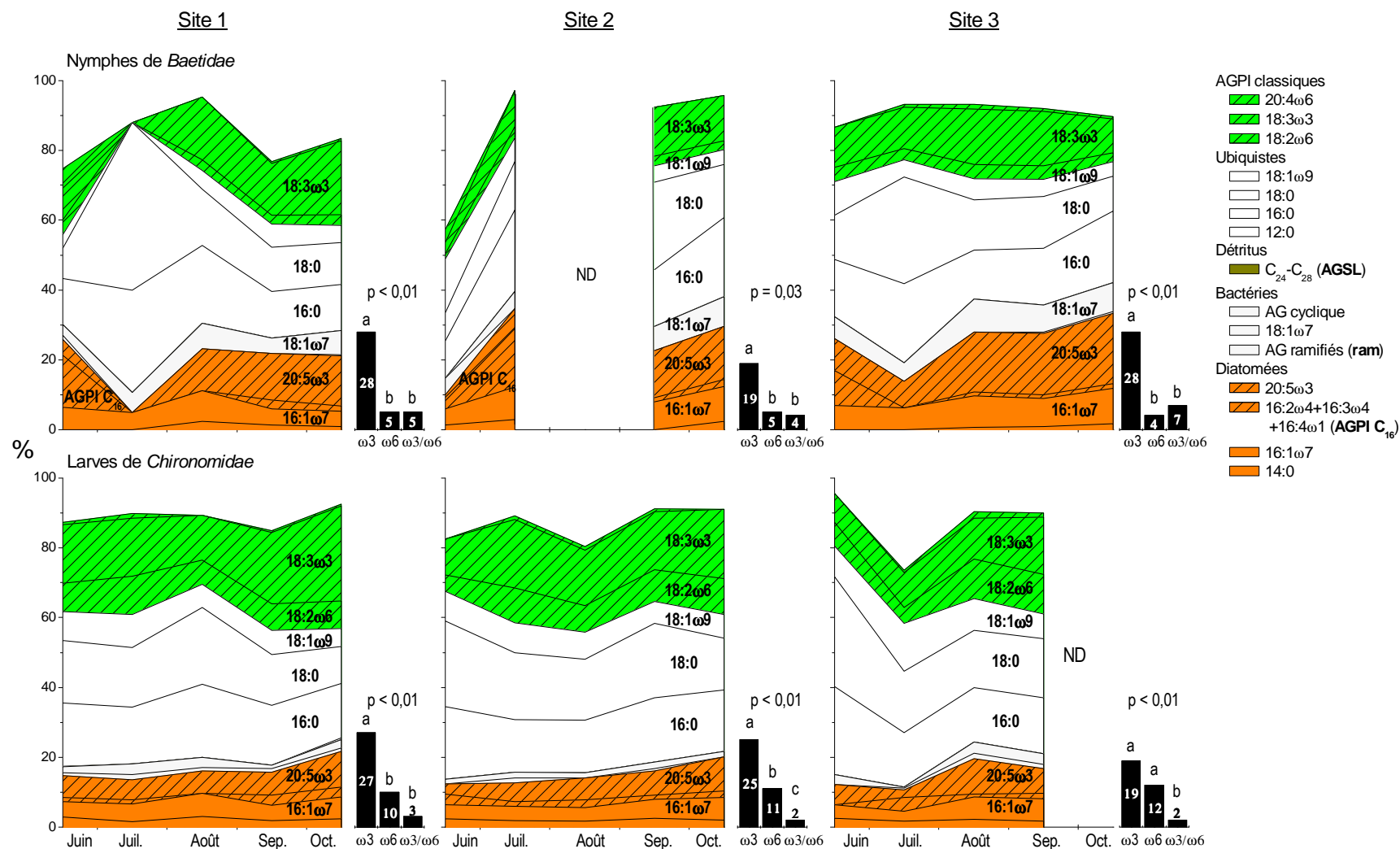


Fig. 30. Moyennes (% relatifs) des profils en AG extraits des LP des nymphes de *Baetidae* et des larves de *Chironomidae* dans les trois radiers du Haut-Allier. Les AG sont regroupés en fonction des propriétés définies dans la partie "Analyse des données". Seuls les noms des AG présentant des pourcentages moyens $\geq 5\%$ sont mentionnés sur les graphiques (ND = pas de données).

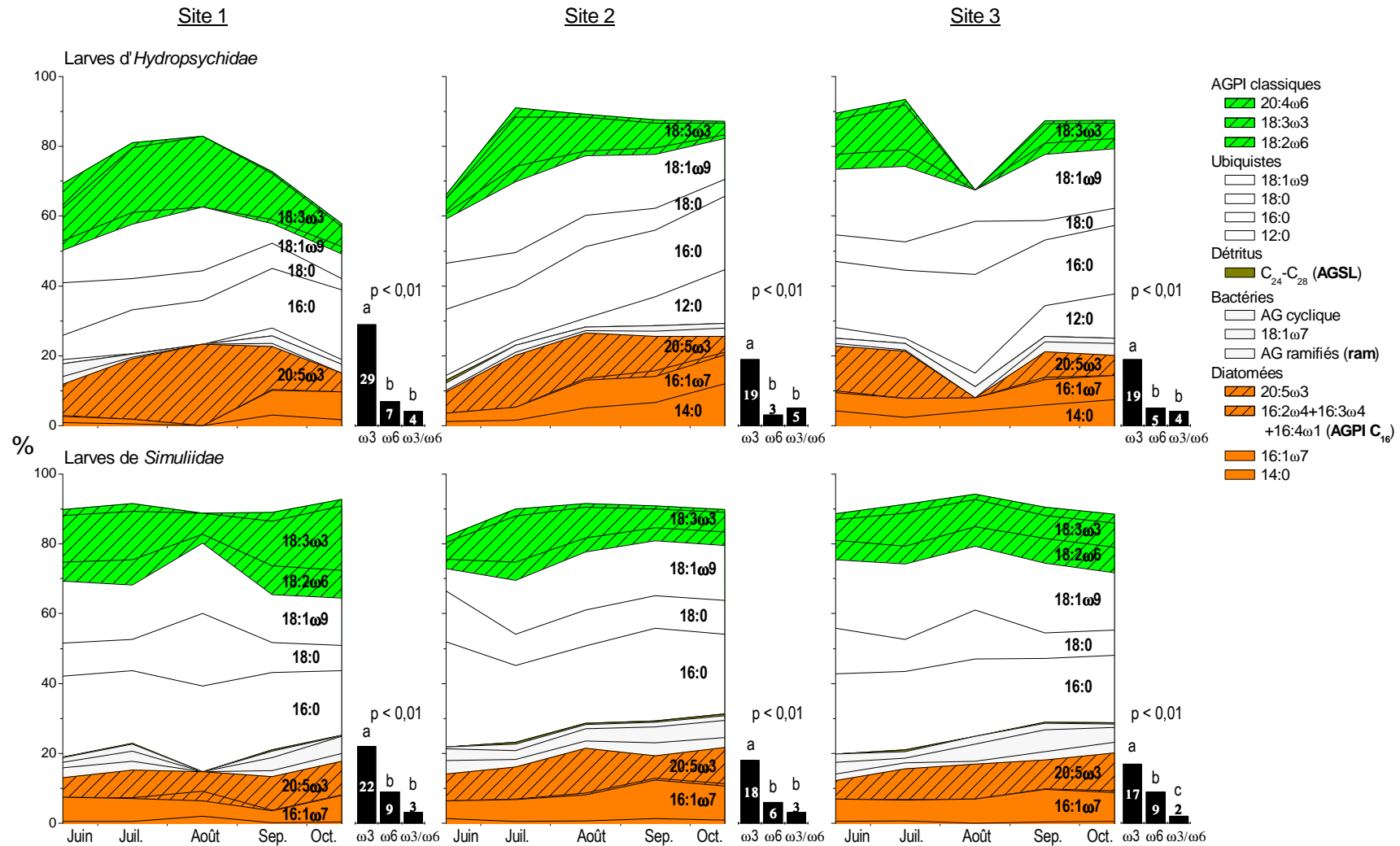


Fig. 30bis. Moyennes (% relatifs) des profils en AG extraits des LP des larves d'*Hydropsychidae* et de *Simuliidae* dans les trois radiers du Haut-Allier. Les AG sont regroupés en fonction des propriétés définies dans la partie "Analyse des données". Seuls les noms des AG présentant des pourcentages moyens $\geq 5\%$ sont mentionnés sur les graphiques.

extraits des LP). Le 18:0, lui, présente des teneurs élevées chez les nymphes de *Baetidae* (moyenne: 17% des AG extraits des LP) et les larves de *Chironomidae* (moyenne: 19%) alors que le 18:1 ω 9 est détecté en proportions plus importantes chez les larves d'*Hydropsychidae* (moyenne: 15%) et de *Simuliidae* (moyenne: 16% ; Fig. 30).

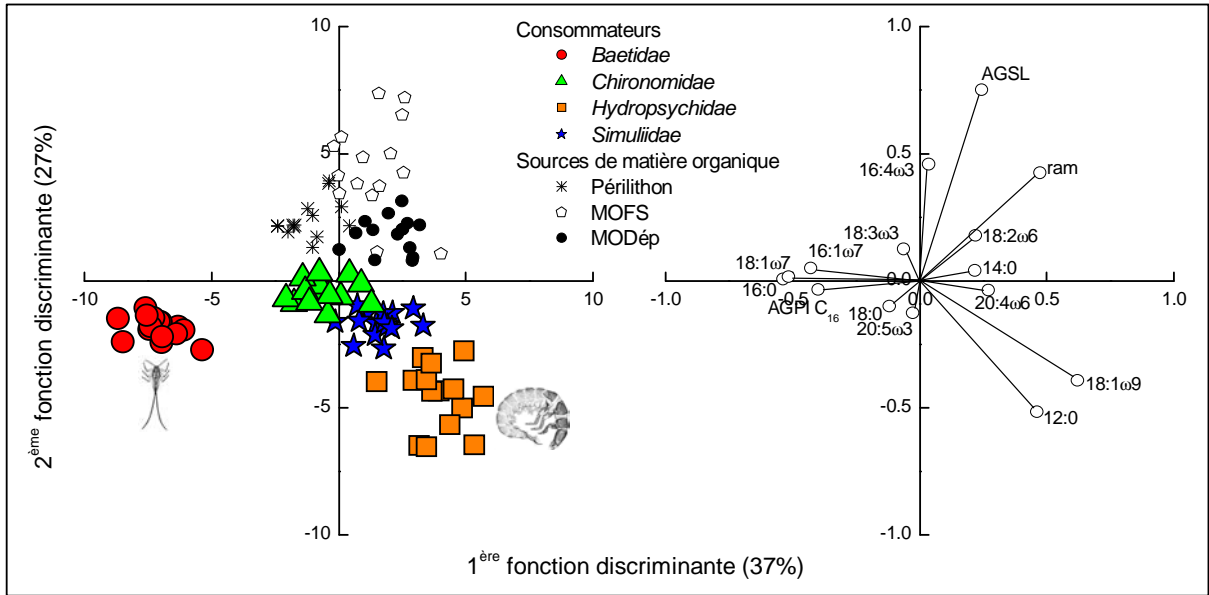
Les AG marqueurs de diatomées sont surtout représentés par de fortes valeurs de 20:5 ω 3 et de 16:1 ω 7, constituant respectivement 7 à 11% et 5 à 7% des AG extraits des LP des différents taxons. Le 14:0 n'est retrouvé en abondance que chez les larves d'*Hydropsychidae* (moyenne: 4% des AG extraits des LP) tandis que les AGPI C₁₆ (16:2 ω 4+16:3 ω 4+16:4 ω 1) sont présents uniquement au sein des LP des nymphes de *Baetidae* (moyenne: 4%) et des larves de *Chironomidae* (moyenne: 2% ; Fig. 30).

Les concentrations les plus élevées en AGPI classiques sont mesurées dans les LP des larves de *Chironomidae* (moyenne: 25% des AG extraits des LP) alors que les autres taxons présentent des concentrations significativement plus faibles comprises entre 13 et 16% (ANOVA: $F_{3, 58} = 9,22$ $p < 0,01$). Ces AGPI comprennent principalement du 18:3 ω 3, 18:2 ω 6 et du 20:4 ω 6. Ce dernier est, toutefois, présent en faible quantité dans l'ensemble des LP analysés (moyenne: 1–2% AG extraits des LP; Fig. 30).

Les marqueurs d'AG bactériens sont significativement plus élevés chez les larves de *Simuliidae* (moyenne: 7% des AG extraits des LP) et les nymphes de *Baetidae* (moyenne: 6% ; ANOVA: $F_{3, 58} = 18,75$ $p < 0,01$) que chez les deux autres macroinvertébrés. Le 18:1 ω 7 est le principal AG bactérien retrouvé au niveau des LP (moyenne: 2–6% des AG extraits des LP) tandis que les formes ramifiées sont très faiblement représentées (moyenne: 0–2%) et les AG cycliques absents, excepté chez les larves de *Simuliidae* (moyenne: 1% ; Fig. 30).

Les profils d'AG des LP de larves ou nymphes de macroinvertébrés (*Baetidae*, *Chironomidae*, *Hydropsychidae* et *Simuliidae*) ne montrent aucune variation inter-sites significatives (ANOVAs: $p > 0,05$) et s'il existe de rares différences significatives des évolutions temporelles, celles-ci ne montrent aucune tendance précise. Néanmoins, nous pouvons noter que la somme des AGPI ω 6 est significativement plus élevée dans les LP des larves de Diptères (*Chironomidae* et *Simuliidae*) que dans ceux des deux autres familles d'invertébrés (ANOVA: $F_{3, 56} = 10,89$ $p < 0,01$). A l'inverse, même si aucune différence significative inter-famille n'est observée pour la somme des AGPI ω 3 (ANOVAs: $F_{3, 56} = 1,53$ $p = 0,22$), les valeurs des rapports AGPI ω 3/ AGPI ω 6 apparaissent être plus importantes dans les LP des nymphes de *Baetidae* et des larves d'*Hydropsychidae* que chez les deux Diptères (ANOVA: $F_{3, 56} = 11,01$ $p < 0,01$; Fig. 30).

Lipides neutres



Lipides polaires

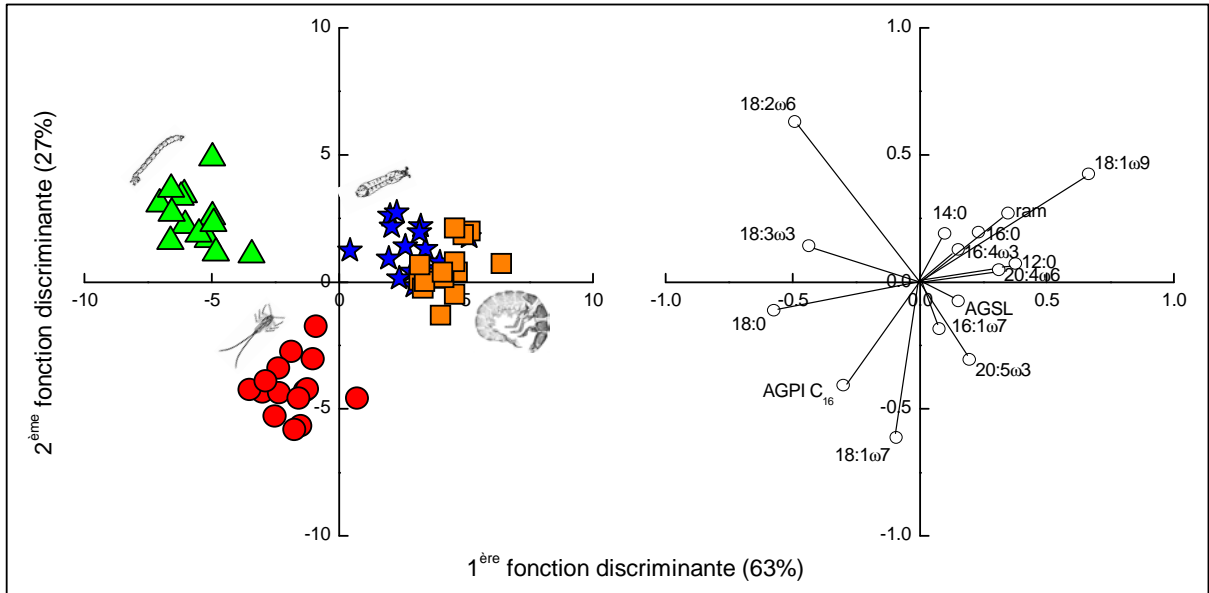


Fig. 31. Analyses factorielles discriminantes réalisées avec les AG (%) extraits des LT, LN et LP comparant les profils des sources de matière organique (Périlithon, MOFS et MODép) avec les profils des macroinvertébrés (*Baetidae*, *Chironomidae*, *Hydropsychidae* et *Simuliidae*).

4.6. Analyse factorielle discriminante (AFD)

Les AFD effectuées sur les profils d'AG (ou groupes d'AG) extraits des différentes sources de matière organique (pérlithon, MOFS et MODép) et des larves ou nymphes de macroinvertébrés (*Baetidae*, *Chironomidae*, *Hydropsychidae* et *Simuliidae*) prélevées sur l'ensemble des sites permettent de discriminer les différents échantillons (Fig. 31).

La première AFD effectuée avec les AG extraits des LT des trois sources de matière organique et des LN de macroinvertébrés démontre l'existence de différences significatives (Wilks' $\lambda = 0,00$ $F = 23,52$ $p < 0,01$). Les deux premières fonctions discriminantes représentent plus de 64% de l'inertie totale (respectivement 37% et 27% de l'inertie pour les axes 1 et 2). Le premier axe permet ainsi de différencier les LN extraits des nymphes de *Baetidae* de l'ensemble des échantillons (LT des sources de matière organique et LN des macroinvertébrés) en fonction des AG suivants: 16:0, 16:1 ω 7, 16:2 ω 4+16:3 ω 4+16:4 ω 1 et 18:1 ω 7. Le second axe permet de discriminer les larves d'*Hydropsychidae* des larves de Diptères (*Chironomidae* et *Simuliidae*) en raison de fortes concentrations en 12:0 et 18:1 ω 9. Il permet également de différencier les larves de Diptères, riches en 18:0, 18:3 ω 3, 20:4 ω 6 et 20:5 ω 3, des trois sources de matière organique. En ce qui concerne les trois types de matière organique, l'AFD permet de différencier la MOFS du pérlithon et de la MODép grâce à ses concentrations en AGS à longue chaîne carbonée (C₂₄-C₂₈; Fig. 31).

La seconde AFD effectuée avec les AG extraits des LP de macroinvertébrés traduit également l'existence de différences significatives entre les échantillons (Wilks' $\lambda = 0,00$ $F = 19,19$ $p < 0,01$). Les deux premières fonctions discriminantes représentent plus de 90% de l'inertie totale (respectivement 63% et 27% de l'inertie pour les axes 1 et 2). En fonction du premier axe, les larves d'*Hydropsychidae* et de *Simuliidae* se séparent des deux autres familles de macroinvertébrés en raison des proportions élevées en AG ramifiés, 18:1 ω 9 et 20:4 ω 6 détectées dans leurs LP. Le second axe permet de différencier les LP des nymphes de *Baetidae*, riches en 18:1 ω 7, 16:2 ω 4+16:3 ω 4+16:4 ω 1 et 20:5 ω 3, des larves de *Chironomidae* riches en 18:0, 18:2 ω 6 et 18:3 ω 3 (Fig. 31).

5. Discussion

Le but de ce travail était de déterminer, grâce à l'approche par les AG biomarqueurs, les principales sources d'alimentation de quatre familles de macroinvertébrés fréquemment rencontrées dans les zones de radiers d'un grand cours d'eau tempéré. Aucune différence de composition taxonomique entre les sites n'a pu être observée au sein de ces familles, et ce malgré une répartition longitudinale allant du métarhithron à l'épipotamon. Ces observations semblent être concordantes avec celles précédemment effectuées par Beauger *et al.* (2006) sur l'Allier. En revanche, des différences inter-sites sont apparues en ce qui concerne le développement des microalgues. Le Site 1, malgré sa localisation amont, s'est différencié par de fortes biomasses en cyanobactéries ainsi qu'en chlorophytes périlithiques et sestoniques (MOFS). Ce radier, bien que situé en altitude (1000 m), semble subir des étiages assez importants. Le manque d'ombrage constaté combiné à l'élévation de la température de l'eau peuvent favoriser la croissance des chlorophytes et des cyanobactéries (Potopova 2005). De plus, une dégradation estivale de la qualité de l'eau, liée aux rejets ponctuels de la laiterie Rissoan située à quelques kilomètres en amont (Village de Luc, 48), a également pu faciliter cette prolifération microalgale.

D'un point de vue général, la présence de diatomées, telles que *Melosira varians*, et de cyanobactéries, du genre *Oscillatoria*, au sein des biofilms périlithiques de chaque site traduit le caractère mésoeutrophe de ce cours d'eau, occasionné par un enrichissement en N-NO_3^- et P-PO_4^- (Chetelat *et al.* 1999).

5.1. Compositions en AG des sources de matière organique

Les trois sources de matière organique prélevées sur les radiers se distinguent grâce à un petit nombre d'AG présents en différentes concentrations. Ainsi, les AGS à longue chaîne carbonée ($\text{C}_{24}\text{-C}_{28}$) sont mieux représentés au niveau de la MOFS et de la MODép qu'au niveau des biofilms périlithiques, et ce quelque soit le site considéré. Ces composés, issus de la dégradation des cires cuticulaires végétales, traduisent l'apport allochtone de matière organique d'origine terrestre (Mills *et al.* 2003). Ils ne représentent, dans leur totalité, qu'un assez faible pourcentage des AG détectés (5 à 6%), ce qui reste inférieur aux valeurs reportées en rivière par Hu *et al.* (2006) malgré la bonne persistance de ces AG au cours du temps (Budge et Parrish 1998). Il semble donc que la part représentée par les végétaux vasculaires

d'origine terrestre (feuilles mortes) ne soit pas prépondérante au sein de la MODép ou de la matière organique transitant au niveau des radiers. Cette observation semble logique puisque la campagne de prélèvement s'est déroulée bien après l'apport automnal de litière dans le cours d'eau et se situait au niveau de secteurs de drainage d'ordre 4 à 5. Dans ce type de secteur, l'essentiel de la matière organique particulaire provient à la fois du balayage du périlithon et du matériel fin allochtone dérivant depuis l'amont (Zimmermann-Timm 2002). Lors d'un travail effectué sur la Savannah river (US), Mills *et al.* (2003) sont arrivés à des conclusions identiques. Ils ont ainsi montré que la matière organique en suspension du secteur le plus aval de cette rivière californienne d'ordre 5 se caractérisait par la présence d'AG marqueurs à longue chaîne carbonée, mais également d'AGPI caractéristiques de microalgues.

Sur le Haut-Allier, les marqueurs de diatomées (14:0, 16:1 ω 7, 20:5 ω 3 et la somme des 16:2 ω 4+16:3 ω 4+16:4 ω 1) sont présents en fortes proportions (18–23% des AG totaux) dans la MOFS et la MODép, quelque soit le site. Sachant que les AGPI se dégradent rapidement dans la matière organique sénescence (Cranwell 1982), les AGPI C₁₆ et 20:5 ω 3 ne semblent donc pas provenir de débris issus de la décomposition de la litière automnale, mais résulteraient plutôt de la mise en suspension de matériel algal périlithique (Torres-Ruiz *et al.* 2007). Les données issues des AFD (Fig. 31) montrent que les profils d'AG des biofilms périlithiques se distinguent légèrement des deux autres sources de matière organique, grâce aux marqueurs de diatomées 16:1 ω 7 et AGPI C₁₆. Dans le contexte particulier que constitue une rivière tempérée à haute énergie, tel que le Haut-Allier, la variabilité taxonomique des microalgues benthiques reste faible. En terme de biomasse, les diatomées sont donc largement dominantes, suivies par les divers groupes de chlorophytes et de cyanobactéries (Allan et Castillo 1995). Dès lors, les marqueurs de diatomées détectés en proportions plus élevées dans le périlithon des trois sites (14:0, 16:1 ω 7, 20:5 ω 3 et AGPI C₁₆) constituent des biomarqueurs fiables pour ce type de cours d'eau, en raison de l'absence de chrysophytes, tel le genre *Hydrurus* (Chrysophycées), susceptibles de contenir aussi ces composés (Sargent *et al.* 1995b, Napolitano 1998). Alors que le 20:5 ω 3 est reconnu comme caractéristique des diatomées marines, lacustres et benthiques (Viso et Marty 1993, Napolitano 1998, Sushchik *et al.* 2007), des AG comme le 16:2 ω 4, 16:3 ω 4 et 16:4 ω 1 ne sont pas toujours signalés comme étant de bons traceurs de ces microalgues. Difficiles à identifier en CPG, ces molécules représentent pourtant, avec le 20:5 ω 3, l'essentiel des AGPI extraits des cultures de diatomées en phase de croissance (Bergé *et al.* 1995). Leur origine métabolique a été élucidée par Domergue *et al.*

(2003). Le 16:2 ω 4 et 16:3 ω 4 sont formés dans les chloroplastes des diatomées grâce à l'action des Δ 12 et Δ 15 désaturases agissant à partir du 16:1 ω 7, tandis que le 16:4 ω 1 est synthétisé dans le réticulum endoplasmique. En rivière, il apparaît donc improbable que de tels composés soient produits par d'autres organismes que les diatomées épilithiques.

Nos trois sources de matière organique contiennent aussi de forts pourcentages d'AGPI classiques (18:3 ω 3 et 18:2 ω 6 principalement), qui sont cependant plus élevés au niveau des LT de la MODép et du périlithon. En raison de leur caractère ubiquiste, ces deux AGPI ne peuvent pas être aisément assignés à un type d'organisme particulier (Desvillettes *et al.* 1997a). En effet, ce sont les principaux AGPI des feuilles de végétaux terrestres (Browse *et al.* 1986) et de l'ensemble des chlorophytes et des cyanobactéries (Napolitano 1998, Caudales *et al.* 2000). Ils sont également présents en quantités relativement plus faibles chez les diatomées (Viso et Marty 1993). En milieu lotique, les agrégats de matière organique détritique sont colonisés par un grand nombre de microorganismes, essentiellement des bactéries et des hyphomycètes (Zimmermann-Timm 2002), qui représentent une part importante des biofilms périlithiques (Bouletreau *et al.* 2006). Le développement des bactéries se traduit alors par la présence de marqueurs spécifiques, tels que les AG impairs ramifiés (forme *iso* et *anteiso*), le 18:1 ω 7 et les AG cycliques (cy17:0 et cy19:0) (McLeod et Wing 2009). Des études antérieures effectuées sur le périlithon des cours d'eau soulignent également la présence des marqueurs de bactéries hétérotrophes (Napolitano *et al.* 1996, Sushchik *et al.* 2007), qui, dans notre étude, sont plus abondamment observés au niveau des biofilms. Aucune donnée n'est en revanche disponible sur la composition en AG des hyphomycètes aquatiques (Desvillettes *et al.* 1997a). D'après les recherches menées sur les mycètes des sols, il est toutefois possible que les hyphomycètes se caractérisent par de fortes concentrations en AGPI de la série ω 6 (Ruess *et al.* 2005). Dans la mesure où ces microorganismes colonisent en priorité la litière végétale et les débris végétaux allochtones (Gessner et Chauvet 1997), les plus faibles valeurs de rapport ω 3/ ω 6 observés dans la MOFS et la MODép pourraient être mises en relation avec un développement plus important de ces microorganismes au sein de ces deux sources de matière organique.

5.2. Transfert des acides gras entre les sources de matière organique et les macroinvertébrés

Les résultats obtenus par une AFD à partir des AG extraits des LN des macroinvertébrés échantillonnés sur les trois radiers (voir Fig. 31), différencient les nymphes de *Baetidae* des autres familles de macroinvertébrés. Les nymphes de *Baetidae* sont des racleurs-brouteurs dont le comportement alimentaire a fait l'objet de nombreux travaux (Diaz Villanueva et Albarino 2003, Heard et Buchanan 2004). La structure particulière de leurs maxilles et mandibules ne permet que l'ingestion des couches supérieures des biofilms et principalement des diatomées pédonculées et érigées (Diaz Villanueva et Albarino 2003). Nos données confirment que la principale source de matière organique ingérée, et surtout assimilée, par les nymphes de *Baetidae* est constituée de diatomées périlithiques. C'est en effet au sein de cette famille que nous avons retrouvé les plus fortes teneurs en AG marqueurs de diatomées, notamment en AGPI C₁₆ (16:2 ω 4+16:3 ω 4+16:4 ω 1), 20:5 ω 3 et 16:1 ω 7 (Sushchik *et al.* 2003). De plus, ce sont les marqueurs les plus spécifiques des diatomées, à savoir les AGPI C₁₆, qui semblent discriminer le plus ces nymphes des trois autres familles de macroinvertébrés (Fig. 31). Il est également important de souligner qu'une baisse importante des AG marqueurs de diatomées est observée au sein des nymphes de *Baetidae* du Site 1, lorsque les cyanobactéries deviennent dominantes dans le biofilm (juillet, Figs. 26 et 29).

Les trois autres familles de macroinvertébrés étudiées ici appartiennent à des groupes trophiques exploitants la matière organique particulaire, soit par des dispositifs de filtration (larves de *Hydropsychidae* et de *Simuliidae*), soit par simple collecte au niveau des interstices du substrat (larves de *Chironomidae*). Contrairement à ce qui était envisagé, les marqueurs de détritrus organiques allochtones (C₂₄–C₂₈) ont été détectés uniquement chez les larves d'*Hydropsychidae* et en proportions très faibles. Ces composés sont pourtant abondamment retrouvés chez d'autres organismes filtreurs, tels que les bivalves (Bachok *et al.* 2003). Deux hypothèses sont alors susceptibles d'expliquer l'absence ou la très faible représentation de ces AG chez ces larves ou nymphes de macroinvertébrés: soit les fines particules organiques sont peu digestibles, soit les larves ou leurs microorganismes symbiotiques intestinaux catabolisent la plupart de ces composés (White et Lichtwardt 2004). Nous pouvons également envisager que la majeure partie du matériel particulaire ingéré soit constituée de diatomées. En effet, ces trois familles de larves (*Hydropsychidae*, *Chironomidae* et *Simuliidae*) contiennent des AG

marqueurs de diatomées, mais avec cependant des teneurs en AGPI C₁₆ (16:2 ω 4+16:3 ω 4+16:4 ω 1) plus faibles que chez les nymphes de *Baetidae*.

Parmi ces familles, les larves de *Simuliidae* sont reconnues pour filtrer de fines particules sestoniques (50–200 μ m) (Hershey et Lamberti 1998). Cependant, les recherches expérimentales de Monaghan *et al.* (2001) effectuées en utilisant divers substrats organiques marqués au ¹⁴C ont montré que ces Diptères assimilaient à part égale la radioactivité issue de diatomées et de très fines particules organiques (15-52 μ m). Nos résultats vont donc dans le sens d'une importante ingestion de diatomées par les larves de *Simuliidae*. Ces mêmes auteurs ont également mis en évidence une assimilation des diatomées chez les larves d'*Hydropsychidae*, mais cette fois combinée à une filtration de particules détritiques de plus grande taille. Ce comportement pourrait ainsi expliquer pourquoi nous avons retrouvé des AGS à longue chaîne carbonée (C₂₄–C₂₈) uniquement dans cette famille. La présence de marqueurs de diatomées, suggèrent néanmoins une alimentation mixte de la part de ces larves de Trichoptères comme le rapportent Torrez-Ruiz *et al.* (2007). En outre, les LN et LP des larves d'*Hydropsychidae* analysés ici se distinguent par de fortes teneurs en 18:1 ω 9, dont l'origine est assez difficile à interpréter. Chez les animaux, cet AG est un produit classique de la synthèse des AG monoinsaturés, réalisée à partir du 18:0 via la Δ 9-désaturase (Grahl-Nielsen *et al.* 2003). De plus, cet AG est abondant dans la MOFS et la MODép de nos radiers, ce qui peut indiquer la présence de microfaune (nématodes, rotifères, larves écloses d'insectes) au sein de ces deux sources de matière organique (Leduc et Probert 2009). Pour certains auteurs, les teneurs élevées de 18:1 ω 9 chez les crustacés Amphipodes ou certains microcrustacés Calanoïdes traduit un comportement de prédation (Nelson *et al.* 2001, Leduc et Probert 2009). La capture (filet de filtration) et l'ingestion de microinvertébrés par les larves d'*Hydropsychidae* entraîneraient alors une augmentation des concentrations en 18:1 ω 9. Les comportements passifs de prédation ne sont en effet pas inhabituels chez ces larves de Trichoptères (Grubaugh *et al.* 1996).

En ce qui concerne les larves de *Chironomidae*, de fortes teneurs en 18:3 ω 3 et 18:2 ω 6 sont observées dans leurs LN et LP, sans que l'on puisse relier leurs présences à une source précise d'alimentation. Les marqueurs de diatomées observés chez ces larves indiquent, comme pour les autres familles, l'ingestion de diatomées. Il est néanmoins important de souligner que nos échantillons de *Chironomidae*, quelque soit le site, ne sont pas homogènes sur le plan taxonomique. Trois sous-familles différentes (*orthocladiinae*, *chironominae* et *tanypodinae*) ont été prélevées ; celles-ci peuvent présenter des modes d'alimentation très variés (Baker et

McLachlan 1979, Murphy et Giller 2000, Spänhoff *et al.* 2004), rendant les signatures lipidiques difficiles à interpréter. On remarquera aussi que les larves de *Chironomidae*, comme l'ensemble des autres larves ou nymphes étudiées ici, contiennent des proportions significatives d'AG marqueurs des bactéries. D'après Goedkoop *et al.* (2000), Sushchik *et al.* (2003) et Torrez-Ruiz *et al.* (2007), ces AG traduisent l'assimilation de bactéries présentes dans les matrices périlithiques ou attachées aux particules et agrégats de matière organique particulaire. Toutefois, une partie de ces AG pourraient aussi provenir des symbiontes présents en grande densité dans les tubes digestifs (Dillon et Dillon 2004).

Enfin, un problème d'interprétation apparaît concernant le 18:1 ω 7, composant habituel des lipides bactériens (Sargent et White 1981, Bühring *et al.* 2005). Ce dernier est présent en trop grande quantité chez les nymphes de *Baetidae* (5 à 6%), pour qu'il puisse provenir uniquement des bactéries. Des observations identiques ont été reportées par Bell *et al.* (1994), Ghioni *et al.* (1996) et Suschik *et al.* (2003). Les genres de macroinvertébrés qu'ils ont analysés, *Ecdyonurus*, *Caenis*, *Ephemerella* et *Pothamanthus*, se caractérisaient tous par de fortes teneurs en 18:1 ω 7, que se soit dans les lipides de réserves ou dans les phospholipides. Il semble donc que nous soyons en présence ici d'un trait métabolique spécifique propre à l'ordre des Epheméroptères. Cet AG semblerait alors plutôt être produit *de novo* par désaturation du 18:0. Habituellement, la synthèse de 18:1 ω 7 n'est pas fréquente chez les animaux. Cependant, elle existe et a même pu être mise en évidence chez les mammifères (Cook et Spence 1973). De manière plus générale, cette observation pose la question de la connaissance du métabolisme des AG chez les larves ou nymphes d'insectes aquatique qui a été encore peu étudiée. A l'heure actuelle, nous ne savons pas si les familles analysées ici ont la possibilité de synthétiser du 18:2 ω 6, comme cela semble être le cas chez les Orthoptères et Hémiptères terrestres (Batcabe *et al.* 2000, Canavoso *et al.* 2001). Nous avons également pu remarquer que les LP des larves ou nymphes contenaient de très faible quantité de 20:4 ω 6, à l'exception des *Simuliidae*. Ceci est en accord avec les études précédentes (Ghioni *et al.* 1996, Sushchik *et al.* 2003) et paraît lié au fait que cet AG se concentre surtout au niveau des phospholipides de certains tissus (tubes de Malpighi) et non dans l'ensemble des tissus et organes de l'insecte (Howard et Stanley-Samuelson 1996). Il est aussi possible, que la concentration générale en 20:4 ω 6 soit très faible en raison de la conversion de ce composé en prostaglandines (Hoback *et al.* 1999). De plus, la disponibilité trophique du 20:5 ω 3, autre précurseur des prostaglandines, pourrait rendre alors inutile la synthèse et/ou l'accumulation

de 20:4ω6. A l'évidence des études supplémentaires concernant le métabolisme des lipides chez les insectes aquatiques sont nécessaires dans ce domaine.

Ainsi, la part représentée par la production primaire autochtone est importante dans les radiers du Haut-Allier, comme l'indiquent les teneurs élevées en AG marqueurs de microalgues (diatomées) observées dans les lipides des trois sources de matière organique. Dans le contexte théorique du *continuum* fluvial, ces observations sont logiques et rejoignent celles de Benfield *et al.* (2000) et Mills *et al.* (2003) qui constatent une diminution de l'importance de la matière organique d'origine allochtone en fonction de l'élévation de l'ordre de drainage des cours d'eau. Quelque soit la position des radiers étudiés, ici d'ordre 4 à 5, les nymphes de *Baetidae* et les larves de *Chironomidae*, d'*Hydropsychidae* et de *Simuliidae* paraissent tributaires de la production de microalgues et plus précisément de diatomées. Ces résultats confirment les travaux de Doucett *et al.* (1996) et de Fureder *et al.* (2003) basés sur des analyses d'isotopes stables du carbone et de l'azote dans la chaîne trophique du saumon ou sur les macroinvertébrés de rivières alpines. L'assimilation de carbone d'origine autochtone augmente dans les sites aval et les macroinvertébrés ont donc tendance à s'alimenter de manière opportuniste sur des microalgues sestoniques et/ou benthiques.

Discussion générale et perspectives

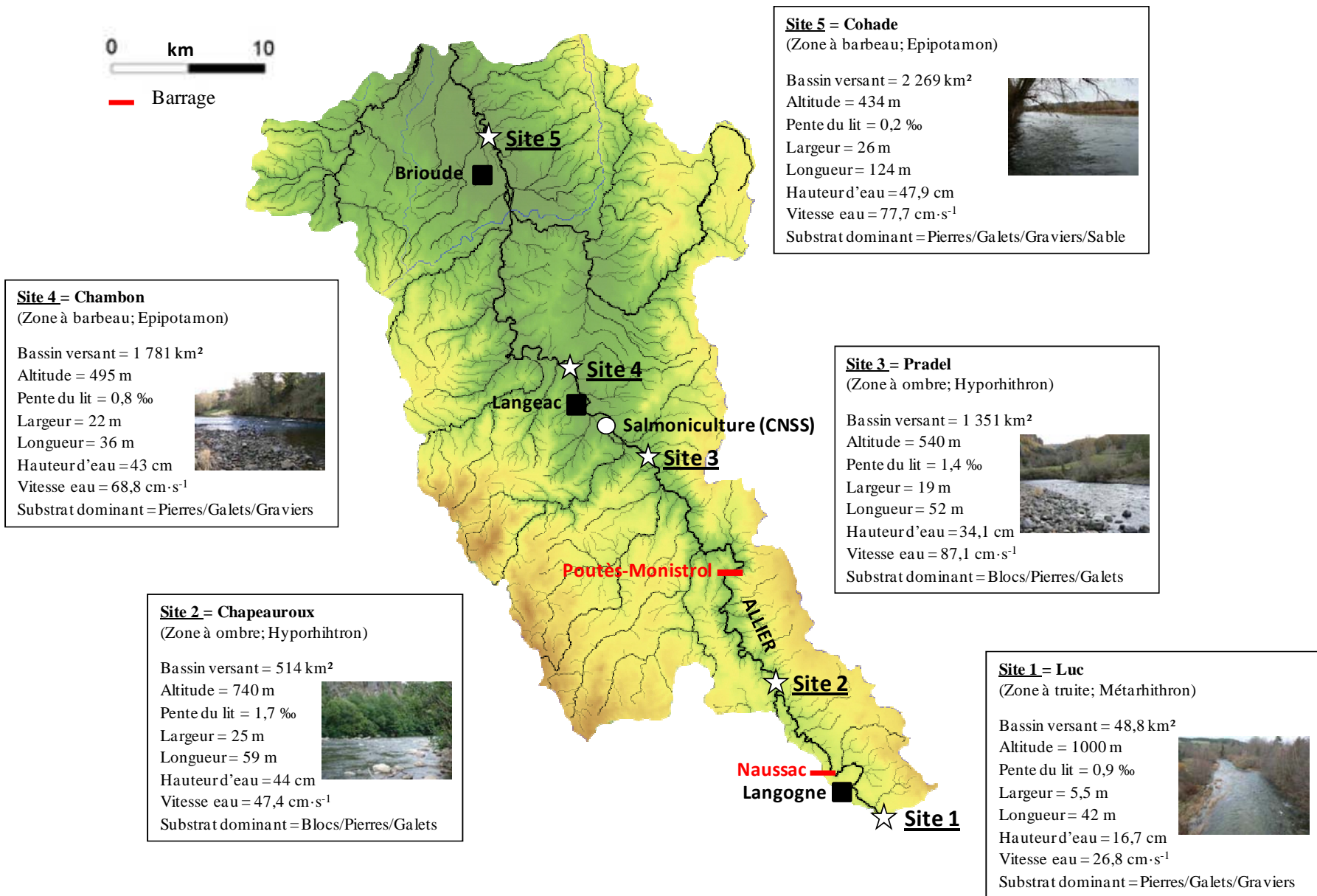


Fig. 32. Localisation et caractéristiques des sites d'étude (☆) sur le Haut-Allier.

Nos travaux ont été conduits dans le contexte général du renforcement de la population naturelle de saumon de l'Allier et se sont focalisés sur les modalités de croissance en grand cours d'eau. Ce projet s'est ainsi intéressé au développement des juvéniles (0+) de Saumon atlantique relâchés dans le milieu naturel, avant de considérer la chaîne trophique dans son ensemble. Cette approche constitue une des originalités de ce travail, puisque les populations résiduelles de saumons sauvages sont rarement étudiées dans les grands systèmes fluviaux. Nous avons ainsi pu mettre en évidence des variations de croissance, du facteur de condition et d'accumulation des lipides de réserve chez les tacons déversés le long du *continuum* fluvial de l'Allier. Les meilleures performances de croissance ont été observées chez les poissons prélevés au niveau des radiers appartenant aux secteurs aval et intermédiaire (Cohade, Chambon et Pradel), alors que les plus faibles valeurs ont été enregistrées dans la partie amont du linéaire (juvéniles prélevés à Chapeauroux et à Luc), principalement dans le radier de Luc localisé dans la zone à truite (Fig. 32). Le secteur de transition rhithron-potamon (radier de Pradel) s'est révélé être le plus favorable pour une croissance optimale des tacons. Les valeurs de croissance, de facteur de condition et d'accumulation de lipides enregistrées sur ce site sont relativement proches de celles mesurées chez des juvéniles maintenus en conditions contrôlées au CNSS. Ainsi, les différences observées le long du gradient amont-aval semblent confirmer, en partie, l'influence des conditions environnementales (vitesse du courant, température et profondeur de la lame d'eau) sur la croissance des juvéniles de saumon (Jonsson *et al.* 2001, Beland *et al.* 2004). De ce point de vue, les sites amont (Luc et Chapeauroux) présentent des caractéristiques d'habitat légèrement moins marquées par rapport à celles considérées comme favorables par plusieurs auteurs (Jonsson *et al.* 2001, Beland *et al.* 2004). Localisé à 1000 m d'altitude, le radier de Luc est caractérisé notamment par les plus faibles valeurs de température et de débit en période estivale sur le secteur étudié. Le long de ce gradient amont-aval, les variations des abondances et des compositions taxonomiques des proies sont finalement assez peu marquées: même si une densité de macroinvertébrés légèrement plus élevée a été relevée en aval (Cohade, Chambon et Pradel), aucune différence significative entre les sites n'a été mise en évidence sur notre linéaire d'étude. Les densités mesurées dans l'ensemble des radiers sont du même ordre de grandeur, voire légèrement supérieures, à celles enregistrées par Nelva *et al.* (1979) et Beauger *et al.* (2006) sur le bassin de l'Allier. Les conditions abiotiques particulières qui caractérisent les zones de radiers (Richards *et al.* 1997), limitent probablement la variabilité taxonomique des assemblages de macroinvertébrés en dépit de la zonation longitudinale à plus grande échelle. Trois groupes de macroinvertébrés communément observés sur les radiers (Vignes 1995,

Céréghino *et al.* 2001, Lagarrigue *et al.* 2001) ont été identifiés comme dominants les communautés benthiques: les larves de Diptères (*Chironomidae* et *Simuliidae*), les larves de Trichoptères et les nymphes d'Ephéméroptères (*Baetidae*). De ce fait, on peut considérer que la disponibilité en proies n'est pas un facteur limitant, alors que la compétition interspécifique entre les tacons et les autres espèces de poisson pourrait influencer sur la croissance (Kennedy et Strange 1986, Gabler et Amundsen 1999). Une telle compétition est très probable sur le radier de Luc et les secteurs les plus amont. En effet, les espèces communément présentes dans la zone à truite (*Cottidae*, *Salmo trutta*, *Barbatula barbatula*, *Phoxinus phoxinus*) sont des concurrents, soit pour l'habitat, soit pour la nourriture (Maitland 1965, Kennedy et Strange 1986, Gabler et Amundsen 1999). Les radiers situés les plus en aval, au niveau de l'épipotamon (Cohade), ont produit des tacons de taille élevée, mais en faible densité. Nous avons donc émis l'hypothèse de l'existence d'une compétition interspécifique également importante dans ces secteurs, compétition susceptible d'affecter la survie des juvéniles ou de provoquer des phénomènes de déplacement hors des radiers. **Peu étudiée notamment vis-à-vis des espèces traditionnellement présentes sur ces secteurs épipotamiques (Goujons, juvéniles de Barbeaux, Spirilin), une telle compétition pourrait intervenir dans le développement des tacons en grande rivière (Bischoff et Freyhof 1999, Winkelmann *et al.* 2007b). A l'avenir, il nous semblerait intéressant de procéder à une analyse détaillée de la coexistence de ces poissons avec les juvéniles de saumon, en insistant notamment sur leurs régimes alimentaires respectifs et leurs éventuelles interférences.** A ce propos, le comportement alimentaire des jeunes saumons relâchés sur l'Allier n'apparaît pas fondamentalement différent de celui décrit dans les rivières subarctiques ou dans de plus courts linéaires que l'Allier (Maitland 1965, Thonney et Gibson 1989, Keeley et Grant 1997). L'analyse des contenus stomacaux des saumons de l'Allier confirme que, quel que soit le type de cours d'eau considéré, les tacons sont des prédateurs généralistes et opportunistes (Thonney et Gibson 1989) s'alimentant sur le fond au dépend des proies les moins mobiles (Vignes 1998, Amundsen *et al.* 2001) ou dans la dérive (Forrester 1994, Rader 1997). Bien que séduisante, l'hypothèse d'une influence du type de proie sur la croissance des tacons en fonction de la répartition amont-aval, est discutable. A ce sujet, Steingrimsson et Gislason (2002) pensent que l'accès à des densités normales de petites proies, telles que les larves de Diptères, suffit à soutenir la croissance des jeunes Salmonidés en rivière. Pourtant, les meilleures performances physiologiques (accumulation de réserves lipidiques) et de croissance ont été observées dans les radiers aval et intermédiaire (Cohade, Chambon et Pradel) où les larves de *Simuliidae* et les nymphes de *Baetidae* ont été préférentiellement

consommées. A l'opposé, les plus faibles valeurs de ces paramètres ont été enregistrées dans les radiers amont (Luc et Chapeauroux) où les larves de *Chironomidae* ont constitué la part dominante des contenus stomacaux, principalement au niveau de Luc. En limitant notre approche aux situations les plus contrastées (radiers de Luc, Pradel et Cohade), nous avons pu démontrer que ces trois familles de macroinvertébrés avaient des profils d'AG significativement différents, influençant directement la composition en AG des tacons. A la suite d'analyses statistiques discriminantes des patterns d'AG, nous confirmons que les tacons échantillonnés à Luc diffèrent de leurs congénères provenant des radiers de Pradel et Cohade. Par ailleurs et à notre connaissance, notre travail a permis pour la première fois de considérer la forme macromoléculaire sous laquelle ces AG sont apportés aux juvéniles par leurs proies. Les nymphes de *Baetidae* et les larves de *Simuliidae* délivrent l'essentiel des composés d'intérêt soit énergétique (16:1 ω 7 et 18:1 ω 9), soit physiologique (AG essentiels: 18:2 ω 6, 18:3 ω 3 et 20:5 ω 3), sous forme de LP et principalement de phospholipides. Or chez les larves et juvéniles de poissons, il est généralement admis qu'une alimentation pauvre en phospholipides, en limitant la synthèse des lipoprotéines, conduit à une altération du métabolisme des AG et à une diminution de la croissance des premiers stades de vie (Tocher *et al.* 2008). Il est alors logique d'envisager que le type de proie dominant le régime alimentaire des saumons influe sur leur croissance. Nos résultats sont en accord avec cette donnée, puisque les juvéniles 0+ de Pradel et de Cohade qui ont principalement ingérés des larves de *Simuliidae* ou des nymphes de *Baetidae*, présentent les meilleures performances de croissance. A l'opposé, ceux de Luc où l'essentiel des AG était fourni sous forme de triglycérides (LN) par les larves de *Chironomidae* ont présenté les performances de développement les plus faibles. Il convient cependant de nuancer cette affirmation, car de manière contradictoire, les tacons maintenus en élevage se caractérisent par une croissance proche de l'optimum alors que l'aliment qui leur a été distribué (granulés Nutra®) délivre uniquement des AG sous forme de LN. Dès lors, l'existence d'une hiérarchie de facteurs influençant la croissance des tacons nous paraît probable. En salmoniculture, les conditions contrôlées d'élevage sont considérées comme optimales (densités faibles limitant la concurrence, courant constant dans les bacs, nourriture *ad libitum*). Associées à la très forte digestibilité des aliments formulés pour les Salmonidés, elles permettent de compenser le déficit en phospholipides alimentaires qui, en outre, n'est surtout limitant que pendant les premiers mois d'alimentation (Coutteau *et al.* 1997). En milieu naturel, l'ensemble des paramètres abiotiques et biotiques éminemment variables sont sans doute prédominants sur la qualité nutritionnelle. Cependant, des lipides reçus sous une forme plus facilement assimilable

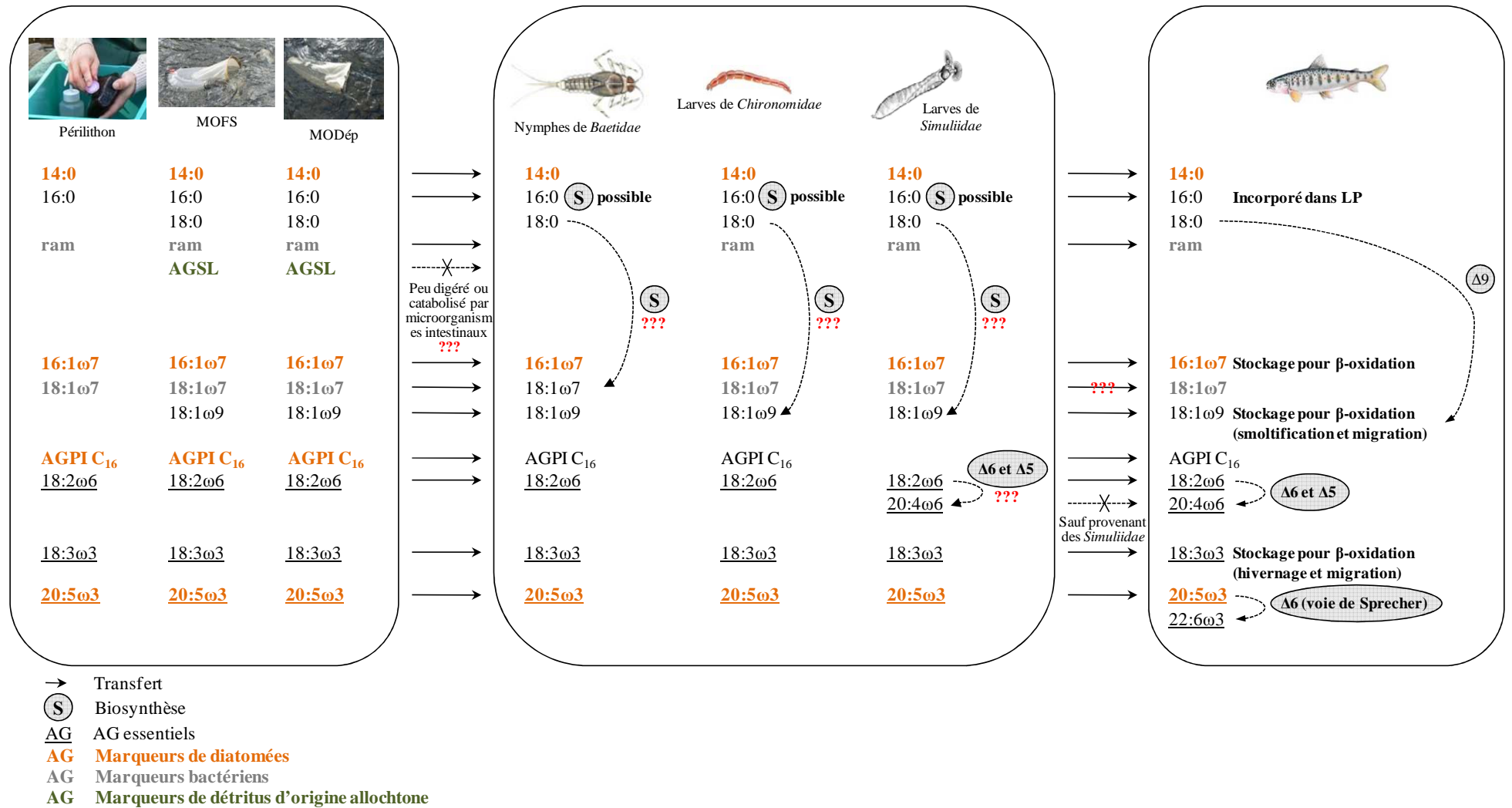


Fig. 33. Représentation schématique des transferts des AG dans la chaîne trophique, matières organiques – macroinvertébrés (proies préférentielles) – jeunes Saumons atlantiques (AGSL = Acides gras saturés longs, ram = Acides gras ramifiés, AGPI = Acides gras polyinsaturés, MOFS = Matière organique fine en suspension, MODép = Matière organique déposée).

dans une situation concurrentielle d'accès à la nourriture, pourraient constituer un facteur favorable pour le développement des juvéniles. **Dans ce contexte, les aspects liés à la digestibilité des proies et à leur teneur énergétique constituent une perspective intéressante à ce travail. En effet, le contenu énergétique (Kcal. g·poids sec⁻¹) des macroinvertébrés est dépendant du groupe taxonomique d'appartenance (Rodgers et Qadri 1977, Gupta et Pant 1983), du stade larvaire considéré et de la saison (Batzer *et al.* 1993). Des proies telles que les larves de *Simuliidae*, dont la cuticule peu sclérifiée en comparaison de celle des nymphes de *Baetidae*, est probablement un gage de bonne digestibilité, pourraient se révéler particulièrement favorables. De plus, ces Diptères sont fréquemment reportés comme proie dominante dans la diète de différentes espèces de poissons autre que les juvéniles de Salmonidés et de Barbeau (*Barbus fluviatilis*) (Piria *et al.* 2005, Oscoz *et al.* 2006). Leur distribution, au sein des radiers, s'étage le long du *continuum* grâce à l'existence de plusieurs espèces des genres *Prosimulium* et *Simulium* présentant des *preferendum* d'habitat variés (Lautenschläger et Kiel 2005). On peut donc penser que de part leur position trophique, ces Diptères jouent un rôle clé dans l'écosystème lotique.**

Un de nos objectifs initiaux était également d'évaluer l'influence des macroinvertébrés préférentiellement ingérés par les jeunes saumons dans la formation et/ou le transfert des AG impliqués dans les processus de survie hivernale (accumulation d'AG à 18 atomes de carbone des séries $\omega 9$, $\omega 3$ ou $\omega 7$) et dans la future smoltification des tacons (20:4 ω 6 et 20:5 ω 3). De manière globale, nous avons également souhaité visualiser le transfert de ces composés et celle d'AG traceurs, depuis les sources de matière organique jusqu'aux juvéniles de saumon, afin de mieux décrire les flux de carbone liés aux lipides au niveau de radiers répartis le long du *continuum* fluvial (Luc, Pradel et Cohade) (Fig. 33). En dépit de modes d'alimentation différents et quelque soit la position des radiers, les macroinvertébrés ingérés par les tacons sont fortement tributaires de la production primaire autochtone, plus précisément liée aux diatomées. Cela se traduit, au niveau des LN de ces insectes, par des teneurs élevées en AG issus de ces microalgues (16:1 ω 7, AGPI C₁₆ et 20:5 ω 3). Les diatomées sont vraisemblablement récupérées à partir du périlithon (nymphes de *Baetidae*), mais aussi de la MOFS (larves de *Simuliidae*) ou de la MODép dans les interstices (larves de *Chironomidae*). La présence de marqueurs de diatomées dans la matière organique dérivant dans la colonne d'eau (MOFS) traduit à nos yeux, à la fois l'importance de l'effet du lessivage des biofilms par le courant et la forte production algale du périlithon de l'Allier liée au statut mésotrophe de la rivière (Biggs et Close 1989, Biggs 2000). Les contributions issues de la matière

allochtone ont été plus difficiles à mettre en évidence. Les AG longs saturés, marqueurs de la dégradation des cires cuticulaires des litières (C₂₄–C₃₂), n'ont pas été détectés chez les larves, à l'exception des larves d'*Hydropsychidae* toutefois peu consommées par les tacons. L'hypothèse est que ces AG sont, soit catabolisés par les insectes, soit que les particules auxquelles ils sont associés ne sont pas digérées. De même, si la présence de marqueurs bactériens dans les lipides des proies pourrait soutenir l'hypothèse d'une assimilation de bactéries liées aux agrégats de matière organique (Sushchik *et al.* 2003, Torres-Ruiz *et al.* 2007), leur présence pourrait également être liée à des symbiontes digestifs (Dillon et Dillon 2004). Plusieurs AG n'ont ainsi pu être assignés à une source particulière de matière organique, notamment le 18:2 ω 6 et le 18:3 ω 3, AG pourtant essentiels pour les consommateurs (Arts *et al.* 2001). L'importance des diatomées et de la production primaire dans le fonctionnement de l'écosystème se reflète jusqu'aux tacons au travers de la présence de deux AG, le 20:5 ω 3 et le 16:1 ω 7. Le premier, formé dans le réticulum endoplasmique des diatomées (Domergue *et al.* 2003), s'accumule chez les macroinvertébrés (principalement les nymphes de *Baetidae* et les larves de *Simuliidae*), puis est en partie bioconverti en 22:6 ω 3 par les tacons. Les saumons évitent ainsi une coûteuse synthèse de 22:6 ω 3, molécule indispensable à l'intégrité de leur système nerveux, à partir de 18:3 ω 3 (Arts et Kohler 2009). En quantité absolue, le 16:1 ω 7 est souvent le premier AG produit par les diatomées (Domergue *et al.* 2003). Nous avons pu observer qu'il semble fortement retenu par les macroinvertébrés analysés ici. Transféré chez les jeunes saumons, il serait alors préférentiellement choisi, par rapport aux 18:3 ω 3 ou 18:1 ω 9, comme substrat pour les dépenses énergétiques. Le 18:3 ω 3 et le 18:1 ω 9 seraient alors, quant à eux, stockés pour être éventuellement catabolisés au cours de l'hiver (Bell *et al.* 2002). Les tacons assimilent également, via l'ingestion des macroinvertébrés, d'autres AG tels que le 18:2 ω 6 et le 18:3 ω 3, dont l'origine à la base de la chaîne trophique reste non résolue (microalgues, débris végétaux allochtones, hyphomycètes). Le 20:4 ω 6, autre composé essentiel pour la production des eicosanoïdes, est probablement biosynthétisé *de novo* à partir du 18:2 ω 6 alimentaire (Henderson 1996, Bell *et al.* 1997, Miller *et al.* 2007); le 20:4 ω 6 est en effet très peu abondant chez les macroinvertébrés des rivières, à l'exception notable des larves de *Simuliidae*. **Ces résultats nécessitent cependant d'être approfondis en utilisant le fractionnement isotopique du carbone au niveau des AG par analyse isotopique des composés spécifiques (AICS). Cette technique analytique représente une perspective extrêmement intéressante pour nos travaux entrepris dans la chaîne trophique du saumon. En effet, lorsque les AG sont synthétisés *de novo* dans un organisme, ils sont**

appauvris en ^{13}C (McCutchan *et al.* 2003). Par contre lorsque les AG, notamment les AG essentiels, sont transmis des producteurs aux consommateurs sans modification, les signatures en $\delta^{13}\text{C}$ restent proches dans une gamme de 2 à 4 ‰ (Ruess *et al.* 2005). Nous pouvons alors envisager de déterminer les signatures d'AG, tels que le 20:5 ω 3 et le 16:1 ω 7 originaires des diatomées, mais aussi du 18:2 ω 6 et du 18:3 ω 3 à l'origine encore incertaine, des composés bactériens et des composés caractéristiques de la MOFS.

En conclusion, au cours de ce travail de thèse, nous avons décrit les variations de croissance et d'accumulation de lipides chez les juvéniles (0+) de Saumon atlantique déversés le long du *continuum* fluvial de l'Allier. Les secteurs de rhithron, et principalement les radiers situés dans la zone à truite (Luc), devraient constituer la limite amont pour les repeuplements en juvéniles. Les plus faibles performances de croissance et de conditions physiologiques enregistrées dans cette zone au cours de la période d'alimentation active ne favorisent pas la survie hivernale et la smoltification de la majorité des tacons au printemps suivant.

A l'opposé, les secteurs de transition rhithron-épipotamon qui s'étagent de Langeac (limite aval) au pont d'Alleyras (limite amont) semblent constituer des secteurs de croissance intéressants, avec des paramètres environnementaux (température et débit) et trophiques (abondance et composition des proies) favorables au développement des tacons. A ce sujet, l'étude menée sur le radier de Pradel montre des performances proches de celles obtenues en salmoniculture (CNSS). Les secteurs épipotamiques, et plus particulièrement ceux situés dans la plaine de Brioude (radier de Cohade), sont également à envisager puisqu'ils diminuent la distance de migration des smolts. Cependant, il apparaît déterminant d'effectuer des analyses complémentaires concernant l'abondance et le régime alimentaire des espèces de poissons concurrentes présentes sur ces secteurs, car la survie des juvéniles y est assez faible.

L'approche par les AG biomarqueurs, nous a permis de souligner l'importance de la production primaire autochtone dans l'origine du carbone lié aux lipides dans une rivière d'ordre 4 à 5. Finalement, plusieurs AG nécessaires au développement des smolts ont leur origine chez les diatomées benthiques. Nous rejoignons ainsi les conclusions de Doucett *et al.* (1996) obtenues sur les tacons de la rivière Catamaran (Canada), où ces auteurs montrent également que dans les secteurs aval, seuls 30 à 40% du carbone présent dans les tissus des tacons de Saumon atlantique dérivent de la matière organique allochtone.

Références

- Aarts, B.G.W., et Nienhuis, P.H.** 2003. Fish zonation and guilds as the basis for assessment of ecological integrity of large rivers. *Hydrobiologia*. **500**(1-3): 157–178.
- Ackman, R.G.** 1995. Composition and nutritive value of fish and shellfish lipids. *In Fish and Fishery Products: Composition, Nutritive Properties and Stability. Edited by A. Ruiter.* CABI, Oxford. p. 117–156.
- Ackman, R.G.** 1998. Comparison of lipids in marine and freshwater organisms. *In Lipids in freshwater ecosystems. Edited by M.T. Arts et B.C. Waimann.* Springer-Verlag. New York. p. 86–103.
- Ahlgren, G., Blomqvist, P., Boberg, M., et Gustaffson, I.-B.** 1994. Fatty acid content of the dorsal muscle—an indicator of fat quality in freshwater fish. *Journal of Fish Biology*. **45**(1): 131–157.
- Ahlgren, G., Carlstein, M., et Gustafsson, I.-B.** 1999. Effects of natural and commercial diets on the fatty acid content of European grayling. *Journal of Fish Biology*. **55**(6): 1142–1155.
- Ahlgren, G., Goedkoop, W., Markensten, H., Sonesten, L., et Boberg, M.** 1997. Seasonal variations in food quality for pelagic and benthic invertebrates in Lake Erken - the role of fatty acids. *Freshwater Biology*. **38**(3): 555–570.
- Allan, J., et Castillo, M.M.** 1995. *Stream Ecology. Structure and function of running waters.* Springer Verlag, p. 436.
- Amundsen, P.-A., et Gabler, H.-M.** 2008. Food consumption and growth of Atlantic salmon *Salmo salar* parr in sub-Arctic rivers: empirical support for food limitation and competition *Journal of Fish Biology*. **73**(1): 250–261.
- Amundsen, P.-A., Gabler, H.-M., et Riise, L.S.** 2001. Intraspecific food resource partitioning in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr in a subarctic river. *Aquatic Living Resources*. **14**(4): 257–265.
- Amundsen, P.-A., Gabler, H.-M., et Staldvik, F.J.** 1996. A new approach to graphical analysis of feeding strategy from stomach contents data—modification of the Costello (1990) method. *Journal of Fish Biology*. **48**(4): 607–614.
- Amundsen, P.-A., Knudsen, R., et Klemetsen, A.** 2007. Intraspecific competition and density dependence of food consumption and growth in Arctic charr. *Journal of Animal Ecology*. **76**(1): 149–158.
- Anderson, C., et Cabana, G.** 2007. Estimating the trophic position of aquatic consumers in river food webs using stable nitrogen isotopes. *Journal of the North American Benthological Society*. **26**(2): 273–285.
- Anonyme** 2003. Système d'évaluation de la qualité de l'eau des cours d'eau. Grilles d'évaluation SEQ-Eau (Version 2). MEDD & Agences de l'eau. 40 pp.
- Armstrong, J.D., Kemp, P.S., Kennedy, G.J.A., Ladle, M., et Milner, N.J.** 2003. Habitat requirements of Atlantic salmon and brown trout in rivers and streams. *Fisheries Research*. **62**(2): 143–170.

- Arts, M.T., Ackman, R.G., et Holub, B.J.** 2001. "Essential fatty acids" in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **58**(1): 122–137.
- Arts, M.T., et Kohler, C.C.** 2009. Health and condition in fish: the influence of lipids on membrane competency and immune response. *In Lipids in Aquatic Ecosystems. Edited by M.T. Arts, M. Kainz et M.T. Brett.* Springer. New York. p. 237–255.
- Bacchi, M.** (2000). Structure et dynamique des peuplements macrobenthiques en Loire. Impact des facteurs hydrologiques et sédimentaires. Thèse de Doctorat, Université François Rabelais, Tours, 226 pp.
- Bach, J.-M., Lelievre, M., Postic-Puivif, A., Viallard, J., Baran, P., Bomassi, P., et Brugel, C.** 2007. Programme de restauration du saumon atlantique dans le bassin de la Loire – Bilan des activités de l'année 2006. LOGRAMI – ONEMA SD 71, 93 pp.
- Bachok, Z., Mfilinge, P.L., et Tsuchiya, M.** 2003. The diet of the mud clam *Geloina coaxans* (Mollusca, Bivalvia) as indicated by fatty acid markers in a subtropical mangrove forest of Okinawa, Japan. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **292**(2): 187–197.
- Baglinière, J.L., et Champigneulle, A.** 1982. Densité des populations de truite commune (*Salmo trutta* L.) et de juvéniles de saumon atlantique (*Salmo salar* L.) sur le cours principal du Scorff (Bretagne): preferendums physiques et variations annuelles (1976-1980). *Acta Oecologica*. **3**: 241–256.
- Baglinière, J.L., et Champigneulle, A.** 1986. Population estimates of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*, as indices of smolt production in the R. Scorff, Brittany. *Journal of Fish Biology*. **29**(4): 467–482.
- Baglinière, J.L., et Maise, G.** 1985. Precocious maturation and smoltification in wild atlantic salmon in the armoricain Massif, France. *Aquaculture*. **45**(1-4): 249–263.
- Baglinière, J.L., Maise, G., et Nihouarm, A.** 1993. Comparison of two methods of estimating Atlantic salmon (*Salmo salar*) wild smolt production. *In Production of juveniles Atlantic salmon, Salmo salar, in natural waters. Edited by R.J. Gibson et R.E. Cutting.* Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences. **118**. p. 189–291.
- Baglinière, J.L., et Porcher, J.-P.** 1994. Caractéristique des stocks de reproducteurs et comportement lors de la migration génésique. *In Le saumon atlantique: biologie et gestion de la ressource. Edited by J.C. Guegen et P. Prouzet.* IFREMER. Brest. p. 101–122.
- Baglinière, J.L., Tabet Aoul, K., et Menella, J.Y.** 2002. Occurrence of an adult Atlantic salmon in the River Rhône, France. *Journal of Fish Biology*. **60**(1): 249–255.
- Baker, A.S., et McLachlan, A.J.** 1979. Food preferences of Tanytopodinae larvae (Diptera: Chironomidae). *Hydrobiologia*. **62**(3): 283–288.
- Baldy, V., Chauvet, E., et Gessner, M.O.** 1995. Bacteria, fungi and the breakdown of leaf litter in a large river. *OIKOS*. **74**(1): 93–102.

- Bardonnnet, A., et Baglinière, J.L.** 2000. Freshwater habitat of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. **57**(2): 497–506.
- Batcabe, J.P., Howell, J.D., Bomquist, G.J., et Borgeson, C.E.** 2000. Effects of developmental age, ambient temperature, and dietary alterations on delta(12) desaturase activity in the house cricket, *Acheta domesticus*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. **44**(3): 112–119.
- Batzer, D.P., McGee, M., Resh, V.H., et Smith, R.R.** 1993. Characteristics of invertebrates consumed by mallards and prey response to wetland flooding schedules. Wetlands. **13**: 41–49.
- Beauger, A., Lair, N., Reyes-Marchant, P., et Peiry, J.-L.** 2006. The distribution of macroinvertebrate assemblages in a reach of the River Allier (France), in relation to riverbed characteristics. Hydrobiologia. **571**(1): 63–76.
- Bec, A., Desvillettes, C., Véra, A., Fontvieille, D., et Bourdier, G.** 2003a. Nutritional value of different food sources for the benthic *Daphnidae* *Simocephalus vetulus*: role of fatty acids. Archiv für Hydrobiologie. **156**(2): 145–163.
- Bec, A., Desvillettes, C., Véra, A., Lemarchand, C., Fontvieille, D., et Bourdier, G.** 2003b. Nutritional quality of a freshwater heterotrophic flagellate: trophic upgrading of its microalgal diet for *Daphnia hyalina*. Aquatic Microbial Ecology. **32**(2): 203–207.
- Beghin, V.** (1999). Étude de la matière organique et du réseau trophique en estuaire du Seine; utilisation des marqueurs biogéochimiques (acides gras et stérols). Thèse de Doctorat: Sciences biologiques et appliquées, Université Lille 1, 174 pp.
- Beland, K.F., Trial, J.G., et Kocik, J.F.** 2004. Use of riffle and run habitats with aquatic vegetation by juvenile Atlantic salmon. North American Journal of Fisheries Management. **24**(2): 525–533.
- Bell, G., Ghioni, C., et Sargent, J.** 1994. Fatty acid compositions of 10 freshwater invertebrates which are natural food organisms of Atlantic salmon parr (*Salmo salar*): a comparison with commercial diets. Aquaculture. **128**(3-4): 301–313.
- Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., McGhee, F., Dick, J.R., Porter, A., Smullen, R.P., et Sargent, J.R.** 2002. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. Journal of Nutrition. **132**(2): 222–230.
- Bell, J.G., McEvoy, J., Webster, J.L., McGhee, F., Millar, R.-M., et Sargent, J.R.** 1998. Flesh lipid and carotenoid composition of Scottish farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). Journal of agricultural and food chemistry. **46**(1): 119–127.
- Bell, J.G., McEvoy, L.A., Estevez, A., Shields, R.J., et Sargent, J.R.** 2003a. Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. Aquaculture. **227**(1-4): 211–220.
- Bell, J.G., Tocher, D.R., Farndale, B.M., Cox, D.I., McKinney, R.W., et Sargent, J.R.** 1997. The effect of dietary lipid on polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation. Lipids. **32**(5): 515–525.

- Bell, J.G., Tocher, D.R., Henderson, R.J., Dick, J.R., et Crampton, V.A.** 2003b. Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. *Journal of Nutrition*. **133**(9): 2793–2801.
- Bell, J.G., Youngson, A., Mitchell, A.I., et Cowey, C.B.** 1989. The effects of enhanced intake of linoleic acid on the fatty acid composition of tissue polar lipids of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Lipids*. **24**(3): 240–242.
- Bell, M.V., Dick, J.R., et Porter, A.E.A.** 2001. Biosynthesis and tissue deposition of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids*. **36**(10): 1153–1159.
- Bendiksen, E.A., Arnesen, A.M., et Jobling, M.** 2003. Effects of dietary fatty acid profile and fat content on smolting and seawater performance in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*. **225**(1): 149–163.
- Benfield, E.F., Webster, J.R., Hutchens, J.J., Tank, J.L., et Turner, P.A.** 2000. Organic matter dynamics along a stream-order and elevational gradient in a southern Appalachian stream. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*. **27**: 1341–1345.
- Benke, A.C., et Wallace, J.B.** 1980. Trophic basis of production among net-spinning caddisflies in a southern Appalachian stream. *Ecology*. **61**(1): 108–118.
- Berg, H.B.** 1995. Larval food and feeding behavior. *In* The Chironomidae: biology and ecology of non-Biting midges. *Edited by* P.D. Armitage, P.S. Cranston et L.C.V. Pinder. Chapman & Hall. London. p. 136–168.
- Berg, O.K., Thronaes, E., et Bremset, G.** 2000. Annual cycle in body composition and energy in brown trout in a temperate zone lake. *Ecology of Freshwater Fish*. **9**(3): 163–169.
- Bergé, J.P., Gouygou, J.P., Dubacq, J.P., et Durand, P.** 1995. Reassessment of lipid-composition of the diatom *Skeletonema costatum*. *Phytochemistry*. **39**(5): 1017–1021.
- Bergström, E.** 1989. Effect of natural and artificial diets on seasonal changes in fatty acid composition and total body lipid content of wild and hatchery-reared Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr-smolt. *Aquaculture*. **82**(1-4): 205–217.
- Bernhardt, E.S., et Likens, G.E.** 2004. Controls on periphyton biomass in heterotrophic streams. *Freshwater Biology*. **49**(1): 14–27.
- Biggs, B.J.F.** 2000. Eutrophication of streams and rivers: Dissolved nutrient-chlorophyll relationships. *Journal of the North American Benthological Society*. **19**(1): 17–31.
- Biggs, B.J.F., et Close, M.E.** 1989. Periphyton biomass dynamics in gravel bed rivers: The relative effects of flows and nutrients. *Freshwater Biology*. **22**(2): 209–231.
- Bisbal, G.A., et McConnaha, W.E.** 1998. Consideration of ocean conditions in the management of salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **55**(9): 2178–2186.

- Bischoff, A., et Freyhof, J.** 1999. Seasonal shifts in day-time resource use of 0+ barbel, *Barbus barbus*. *Environmental Biology of Fishes*. **56**(1-2): 199–212.
- Bisson, R.A., et Montgomery, D.R.** 1996. Valley segments, stream reaches and channel units. *In Methods in stream ecology. Edited by F.R. Hauer et G.A. Lamberti.* Academic Press. London. p. 23–52.
- Blomquist, G.J., Dwyer, L.A., Chu, A.J., Ryan, R.O., et de Renobales, M.** 1982. Biosynthesis of linoleic acid in a termite, cockroach and cricket. *Insect Biochemistry*. **12**(3): 349–353.
- Boëchat, I.G., et Adrian, R.** 2005. Biochemical composition of algivorous freshwater ciliates: you are not what you eat. *FEMS Microbiology Ecology*. **53**(3): 393–400.
- Bouletreau, S., Garabetian, F., Sauvage, S., et Sánchez-Pérez, J.M.** 2006. Assessing the importance of a self-generated detachment process in river biofilm models. *Freshwater Biology*. **51**(5): 901–912.
- Bourdier, G., et Amblard, C.** 1987. Evolution de la composition en acides gras d'un phytoplancton lacustre (Lac Pavin, France). *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie*. **72**(1): 81–95.
- Bousquet, B.** (1979). Biologie et migration des smolts de Saumon atlantique (*Salmo salar* L.) dans les bassins Loire-Allier et Adour-Gave d'Oloron. Thèse dr. 3ème cycle. INP Toulouse, 72 pp. + Annexes
- Boyer, L.** 2005. Multiscale variation in the functional composition of stream macroinvertebrate communities in low-order mountain streams. *Limnetica*. **24**(3-4): 245–250.
- Brett, M.T., et Müller-Navarra, D.C.** 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic food web processes. *Freshwater Biology*. **38**(3): 483–499.
- Broglio, E., Jonasdottir, S.H., Calbet, A., Jakobsen, H.H., et Saiz, E.** 2003. Effect of heterotrophic versus autotrophic food on feeding and reproduction of the calanoid copepod *Acartia tonsa*: relationship with prey fatty acid composition. *Aquatic Microbial Ecology*. **31**(3): 267–278.
- Browse, J., McCourt, P.J., et Somerville, C.R.** 1986. Fatty acid composition of leaf lipids determined after combined digestion and fatty acid methyl ester formation from fresh tissue. *Annals of Biochemistry*. **152**(1): 141–145.
- Budge, S.M., Iverson, S.J., Bowen, W.D., et Ackman, R.G.** 2002. Among- and within-species variability in fatty acid signatures of marine fish and invertebrates on the Scotian Shelf, Georges Bank, and southern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **59**(5): 886–898.
- Budge, S.M., Iverson, S.J., et Koopman, H.N.** 2006. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: A primer on analysis and interpretation. *Marine Mammal Science*. **22**(4): 759–801.

- Budge, S.M., et Parrish, C.C.** 1998. Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland. II. Fatty acids. *Organic Geochemistry*. **29**(5): 1547–1559.
- Bühning, S.I., Elvert, M., et Witte, U.** 2005. The microbial community structure of different permeable sandy sediments characterized by the investigation of bacterial fatty acids and fluorescence in situ hybridization. *Environmental Microbiology*. **7**(2): 281–293.
- Bunn, S.E., et Davies, P.M.** 2000. Biological processes in running waters and their implications for the assessment of ecological integrity. *Hydrobiologia*. **422/423**: 61–70.
- Canavoso, L.E., Jouni, Z.E., Karnas, K.J., Pennington, J.E., et Wells, M.A.** 2001. Fat Metabolism in Insects. *Annual Review of Nutrition*. **21**: 23–46.
- Caudales, R., Wells, J.M., et Butterfield, J.E.** 2000. Cellular fatty acid composition of cyanobacteria assigned to subsection II, order Pleurocapsales. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **50**(3): 1029–1034.
- Céréghino, R., Giraudel, J.L., et Compin, A.** 2001. Spatial analysis of stream invertebrates distribution in the Adour-Garonne drainage basin (France), using Kohonen self organizing maps. *Ecological Modelling*. **146**(1-3): 167–180.
- Chamberlain, P.M., Bull, I.D., Black, H.I.J., Ineson, P., et Evershed, R.P.** 2006. Collembolan trophic preferences determined using fatty acid distributions and compound-specific stable carbon isotope values. *Soil Biology and Biochemistry*. **38**(6): 1275–1281.
- Changeux, T.** 1995. Fish community structure at the scale of a large European basin: longitudinal organization, slope influence and regional tendencies. *Bulletin français de la pêche et de la pisciculture*. **337-338-339**: 63–74.
- Chetelat, J., Pick, F.R., Morin, A., et Hamilton, P.B.** 1999. Periphyton biomass and community composition in rivers of different nutrient status. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **56**(4): 560–569.
- Cogerino, L., Cellot, B., et Bournaud, M.** 1995. Microhabitat diversity and associated macroinvertebrates in aquatic banks of a large European river. *Hydrobiologia*. **304**(2): 103–115.
- Cohendet, F.** 1993. Le saumon de l'Allier. Son histoire, sa vie, son devenir. Compagnie Générale des Eaux, Association Internationale de Défense du Saumon Atlantique, 795 pp.
- Compin, A., et Céréghino, R.** 2007. Spatial patterns of macroinvertebrate functional feeding groups in streams in relation to physical variables and land-cover in southwestern France. *Landscape Ecology*. **22**(8): 1215–1225.
- Cook, H.W., et Spence, M.W.** 1973. Formation of monoenoic fatty acids by desaturation in rat brain homogenate. *The Journal of Biological Chemistry*. **248**(5): 1786–1793.
- Corraze, G.** 1999. Nutrition lipidique. *In* Nutrition et Alimentation des Poissons et Crustacés. Edited by J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot et R. Métailler. INRA Editions. Paris. p. 147–170.

- Costello, M.J.** 1990. Predator feeding strategy and prey importance: a new graphical analysis. *Journal of Fish Biology*. **36**(2): 261–263.
- Coutteau, P., Geurden, I., Camara, M.R., Bergot, S., et Sorgeloos, P.** 1997. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture*. **155**(1-4): 153–168.
- Cranwell, P.A.** 1982. Lipids of aquatic sediments and sedimenting particulates. *Progress in Lipid Research*. **21**(4): 271–308.
- Crozier, W.W., et Kennedy, G.J.A.** 1995. Application of a fry (0+) abundance index, based on semi-quantitative electrofishing, to predict Atlantic salmon smolt runs in the River Bush, Northern Ireland. *Journal of Fish Biology*. **47**(1): 107–114.
- Cuinat, R.** 1986. Atlantic salmon in an extensive French river system: the Loire-Allier. *In Atlantic salmon: Planning for the future. Edited by D. Mills et D. Piggins*. p. 389–399.
- Dempson, J.B., Schwarz, C.J., Shears, M., et Furey, G.** 2004. Comparative proximate body composition of Atlantic salmon with emphasis on parr from fluvial and lacustrine habitats. *Journal of Fish Biology*. **64**(5): 1257–1271.
- Descroix, A., Desvillettes, C., Bec, A., Martin, P., et Bourdier, G.** 2009a. Impact of macroinvertebrate diet on growth and fatty acid profile on restocked 0+ salmon parr (*Salmo salar* L.) from a large European river (the Allier). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **En cours de soumission**.
- Descroix, A., Desvillettes, C., Martin, P., Anneville, O., Bec, A., et Bourdier, G.** 2009b. Feeding, growth and nutritional status of restocked salmon parr along the longitudinal gradient of a large European river: the Allier. *Ecology of Freshwater Fish*. **19**: 282–296.
- Desvillettes, C.** (1994). Dynamique des acides gras dans la chaîne trophique Phytoplancton - Zooplancton - Larves de brochet et évolution des constituants lipidiques chez le brochet (*Esox lucius* L.) aux premiers stades de vie. Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, 222 pp.
- Desvillettes, C., et Bec, A.** 2009. Formation and transfer of fatty acids in aquatic microbial food webs – Role of heterotrophic protists. *In Lipids in Aquatic Ecosystems. Edited by M.T. Arts, M.T. Brett et M. Kainz*. Springer-Verlag. New York. **In press**. p.
- Desvillettes, C., Bourdier, G., Amblard, C., et Barth, B.** 1997a. Use of fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae. *Freshwater Biology*. **38**(3): 629–637.
- Desvillettes, C., Bourdier, G., et Breton, J.-C.** 1997b. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in pike (*Esox lucius* L) eggs and larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*. **16**(5): 381–393.
- Desvillettes, C., Bourdier, G., et Breton, J.-C.** 1997c. The effect of invertebrate diets on lipids, fatty acid composition and physiological condition of pike larvae (*Esox Zucius*). *Journal of Applied Ichthyology*. **13**(4): 183–190.

- Di Constanzo, G., Duportail, G., Florents, A., et Leray, C.** 1983. The brush border membrane of trout intestine: Influence of its lipid composition in ion permeability, enzyme activity and membrane fluidity. *Molecular Physiology*. **4**(5-6): 279–290.
- Diaz Villanueva, V., et Albarino, R.** 2003. Algal ingestion and digestion by two Ephemeropteran larvae from a Patagonian Andean stream. *In* Research update on Ephemeroptera & Plecoptera. *Edited by* E. Gaino. Università di Perugia, Italia. p. 31–38.
- Dillon, R.J., et Dillon, V.M.** 2004. The gut bacteria of insects: Nonpathogenic Interactions. *Annual Review of Entomology*. **49**: 71–92.
- Domergue, F., Spiekermann, P., Lerchl, J., Beckmann, C., Kilian, O., Kroth, P., Boland, W., Zähringer, U., et Heinz, E.** 2003. New insight into *Phaeodactylum tricornutum* fatty acid metabolism. Cloning and functional characterization of plastidial and microsomal delta12 fatty acid desaturases. *Plant Physiology*. **131**: 1648–1660.
- Doucett, R.R., Power, G., Barton, D.R., Drimmie, R.J., et Cunjak, R.A.** 1996. Stable-isotope analysis of nutrient pathways leading to Atlantic salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **53**: 2058–2066.
- Dunstan, G.A., Volkman, J.K., Barrette, S.M., Leroi, J.M., et Jeffrey, S.W.** 1994. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatoms (*Bacillariophyceae*). *Phytochemistry*. **35**(1): 155–161.
- Duston, J., et Saunders, R.L.** 1997. Life histories of Atlantic salmon altered by winter temperature and summer rearing in fresh- or sea-water. *Environmental Biology of Fishes*. **50**(2): 149–166.
- Ederington, M.C., McManus, G.B., et Harvey, H.R.** 1995. Trophic transfer of fatty acids, sterols, and a triterpenoid alcohol between bacteria, a ciliate, and the copepod *Acartia tonsa*. *Limnology and oceanography*. **40**(5): 860–867.
- Elliott, J.M.** 1993. The pattern of natural mortality throughout the life cycle in contrasting populations of brown trout, *Salmo trutta* L. *Fisheries Research*. **17**(1-2): 123–136.
- Elliott, J.M.** 2001. The relative role of density in the stock-recruitment relationship of salmonids. *In* Stock, Recruitment and Reference Points: Assessment and management of Atlantic salmon. *Edited by* E. Prévost et G. Chaput. INRA Editions. Paris. p. 25–66.
- Elson, P.** 1957. The importance of size in the change from parr to smolt in Atlantic salmon. *Canadian Fish Culturist*. **21**(1): 1–6.
- Englund, V., Niemelä, E., Lämsman, M., et Heino, M.** 1999. Variations in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., smolt age in tributaries of the River Teno, Finland. *Fisheries Management and Ecology*. **6**(1): 83–86.
- Erkinaro, H., et Erkinaro, J.** 1998. Feeding of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr in the subarctic River Teno and three tributaries in northernmost Finland. *Ecology of Freshwater Fish*. **7**(1): 13–24.

- Erkinaro, J., et Niemelä, E.** 1995. Growth differences between the Atlantic salmon parr, *Salmo salar*, of nursery brooks and natal rivers in the River Teno watercourse in northern Finland. *Environmental Biology of Fishes*. **42**(3): 277–287
- Farkas, T.** 1984. Adaptation of fatty acid composition to temperature: a study on carp (*Cyprinus carpio* L.) liver slices. *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **79**(4): 531–535.
- Finlay, J.C., Khandwala, S., et Power, M.E.** 2002. Spatial changes of carbon flow in a river food web. *Ecology*. **83**(7): 1845–1859.
- Finstad, A.G., Naesje, T.F., et Forseth, T.** 2004. Seasonal variation in the thermal performance of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Freshwater Biology*. **49**(11): 1459–1467.
- Folch, J.M., Less, M., et Stanley, G.H.** 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. **226**(1): 497–509.
- Folmar, L.C., et Dickoff, W.W.** 1980. The parr-smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids. A review of selected literature. *Aquaculture*. **21**(1): 1–37.
- Forrester, G.E.** 1994. Diel patterns of drift by five species of mayfly at different levels of fish predation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **51**(11): 2549–2557.
- Forrester, G.E., Chace, J.G., et McCarthy, W.** 1994. Diel and density-related changes in food consumption and prey selection by brook trout in a New Hampshire stream. *Environmental Biology of Fishes*. **39**(3): 310–311.
- FRANE** 2008. L'Allier rivière sauvage. Fédération pour la Région Auvergne pour la Nature et l'Environnement (FRANE), Ceyrat. p. 59.
- Füreder, L., Welter, C., et Jackson, J.K.** 2003. Dietary and stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) analyses in alpine stream insects. *International Review of Hydrobiology*. **88**(3-4): 314–331.
- Gabler, H.-M., et Amundsen, P.-A.** 1999. Resource partitioning between Siberian sculpin (*Cottus poecilopus* Heckel) and Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) in a sub-Arctic river, northern Norway. *Ecology of Freshwater Fish*. **8**(4): 201–208.
- Gabler, H.-M., Amundsen, P.-A., et Herfindal, T.** 2001. Diet segregation between introduced bullhead (*Cottus gobio* L.) and Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) in a sub-Arctic river. *Archiv für Hydrobiologie*. **151**(4): 609–625.
- Garner, P.** 1997. Sample sizes for length and density estimation of 0+ fish when using point sampling by electrofishing. *Journal of Fish Biology*. **50**(1): 95–106.
- Gerbi, A., Zerouga, M., Debray, M., Durand, G., Chanez, C., et Bourre, J.-M.** 1994. Effect of fish oil diet on fatty acid composition of phospholipids of brain membranes and on kinetic properties of Na^+ , K^+ -ATPase isoenzymes of weaned and adult rats. *Journal of Neurochemistry*. **62**(4): 1560–1569.

- Gessner, M.-O., Bärlocher, F., et Chauvet, E.** 2003. Qualitative and quantitative analyses of aquatic hyphomycetes in streams. *In* Freshwater mycology. *Edited by* C.K.M. Tsui et K.D. Hyde. Fungal Diversity Research Series. **10**. p. 127–157.
- Gessner, M.O., et Chauvet, E.** 1997. Growth and production of aquatic hyphomycetes in decomposing leaf litter. *Limnology and oceanography*. **42**(3): 496–505.
- Ghioni, C., Bell, J.G., et Sargent, J.R.** 1996. Polyunsaturated fatty acids in neutral lipids and phospholipids of some freshwater insects. *Comparative Biochemistry and Physiology, A: Comparative Physiology*. **114**(2): 161–170.
- Gibson, R.J.** 1993. The Atlantic salmon in fresh water: spawning, rearing and production. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. **3**(1): 39–73.
- Gillan, F.T., Johns, R.B., Verheyen, T.V., Volkman, J.K., et Bavor, H.J.** 1981. Transmonounsaturated fatty acids in marine bacterial isolate. *Applied and Environmental Microbiology*. **41**(4): 849–856.
- Goad, L.J.** 1981. Sterol biosynthesis and metabolism in marine invertebrates. *Pure and Applied Chemistry*. **51**: 837–852.
- Goedkoop, W., Sonesten, L., Ahlgren, G., et Boberg, M.** 2000. Fatty acids in profundal benthic invertebrates and their major food resources in Lake Erken, Sweden: seasonal variation and trophic indications. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **57**(11): 2267–2279.
- Goedkoop, W., Sonesten, L., Markensten, H., et Ahlgren, G.** 1998. Fatty acid biomarkers show dietary differences between dominant chironomid taxa in Lake Erken. *Freshwater Biology*. **40**(1): 135–143.
- Grahl-Nielsen, O., Andersen, M., Derocher, A.E., Lydersen, C., Wiig, O., et Kovacs, K.M.** 2003. Fatty acid composition of the adipose tissue of polar bears and of their prey: ringed seals, bearded seals and harp seals. *Marine Ecology Progress Series*. **265**: 275–282.
- Grant, J.W.A., et Imre, I.** 2005. Patterns of density-dependent growth in juvenile streamdwelling salmonids. *Journal of Fish Biology*. **67**(Supp. B): 100–110.
- Grubaugh, J.W., Wallace, J.B., et Houston, E.S.** 1996. Longitudinal changes of macroinvertebrate communities along an Appalachian stream *continuum*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **53**(4): 896–909.
- Gupta, P.K., et Pant, M.C.** 1983. Seasonal variation in the energy content of benthic macroinvertebrates of Lake Nainital, U.P., India. *Hydrobiologia*. **99**(1): 19–23.
- Hanson, B.J., Cummins, K.W., Cargill, A.S., et Lowry, R.R.** 1985. Lipid content, fatty acid composition, and the effect of diet on fats of aquatic insects. *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **80**(2): 257–276.
- Heard, S.B., et Buchanan, C.K.** 2004. Grazer–collector facilitation hypothesis supported by laboratory but not field experiments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **61**(6): 887–897.

- Heggnes, J., et Metcalfe, N.B.** 1991. Bimodal size distributions in wild juvenile Atlantic salmon populations and their relationship with age at smolt migration. *Journal of Fish Biology*. **39**(6): 905–907
- Heggnes, J., et Saltveit, S.J.** 1990. Seasonal and spatial microhabitat selection and segregation in young Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and brown trout, *Salmo trutta* L., in Norwegian river. *Journal of Fish Biology*. **36**(5): 707–720.
- Heland, M., et Dumas, J.** 1994. Ecologie et comportement des juvéniles. *In* Le saumon atlantique : biologie et gestion de la ressource. *Edited by* J.C. Gueguen et P. Prouzet. IFREMER. Brest. p. 29–46.
- Henderson, R.J.** 1996. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Archiv fur Tierernahrung - Archives of Animal Nutrition*. **49**(1): 5–22.
- Henderson, R.J., et Tocher, D.R.** 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research*. **26**(4): 281–347.
- Hendry, K., et Cragg-Hine, D.** 2003. Ecology of the Atlantic Salmon. *Conserving Natura 2000 Rivers Ecology Series No. 7*. English Nature, Peterborough.
- Herbinger, C.M., et Friars, G.W.** 1991. Correlation between condition factor and total lipid content in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquaculture Research*. **22**(4): 527–529.
- Hershey, A.E., et Lamberti, G.A.** 1998. Stream macroinvertebrate communities. *In* Ecology and management of streams and rivers in the Pacific Northwest coastal regions. *Edited by* R.E. Bilby et R.J. Naiman. Springer-Verlag Publishers. New York. p. 169–192.
- Hieber, M., et Gessner, M.O.** 2002. Contribution of stream detritivores, fungi, and bacteria to leaf breakdown based on biomass estimates. *Ecology*. **83**(4): 1026–1038.
- Hoback, W.W., Rana, R.L., et Stanley, D.W.** 1999. Fatty acid compositions of phospholipids and triacylglycerols of selected tissues, and fatty acid biosynthesis in adult periodical cicadas, *Magicicada septendecim*. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*. **122**(3): 355–362.
- Hodkova, M., Simek, P., Zahradnickova, H., et Novakova, O.** 1999. Seasonal changes in the phospholipid composition in thoracic muscles of a Heteropteran, *Pyrrhocoris apterus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. **29**(4): 367–376.
- Howard, R.W., et Stanley-Samuelson, D.W.** 1996. Fatty acid composition of fat body and Malpighian tubules of the tenebrionid beetle, *Zophobas atratus*: significance in eicosanoid-mediated physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **115**(4): 429–437.
- Hu, J., Zhang, H., et Peng, P.** 2006. Fatty acid composition of surface sediments in the subtropical Pearl River estuary and adjacent shelf, Southern China. *Estuarine, coastal and shelf science*. **66**: 346–356.
- Huang, S.S.Y., Fu, C.H.L., Higgs, D.A., Balfry, S.K., Schulte, P.M., et Brauner, C.J.** 2008. Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and

- ionoregulatory development of spring chinook salmon parr, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture*. **274**(1): 109–117.
- Hudson, E.D., Parrish, C.C., et Helleur, R.J.** 2001. Biogeochemistry of sterols in plankton, settling particles and recent sediments in a cold ocean ecosystem (Trinity Bay, Newfoundland). *Marine chemistry*. **76**(4): 253–270.
- Huet, M.** 1959. Profiles and biology of Western European streams as related to fish management. *Transactions of the American Fisheries Society*. **88**(3): 155–163.
- Hutchings, J.A., et Jones, M.E.B.** 1998. Life history variation and growth rate thresholds for maturity in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **55**(Supp. 1): 22–47.
- Illies, J., et Botosaneanu, L.** 1963. Problèmes et méthodes de la classification et de la zonation écologique des eaux courantes, considérées surtout du point de vue faunistique. *International Association of Theoretical and Applied Limnology*. **12**: 1–57.
- Imre, I., Grant, J.W.A., et Cunjak, R.A.** 2005. Density-dependent growth of young-of-the-year Atlantic salmon *Salmo salar* in Catamaran Brook, New Brunswick. *Journal of Animal Ecology*. **74**(3): 508–516.
- Iverson, S.J.** 2009. Tracing aquatic food webs using fatty acids: from qualitative indicators to quantitative determination. *In Lipids in Aquatic Ecosystems*. Edited by M.T. Arts, M.T. Brett et M. Kainz. Springer-Verlag. New York. **In press**. p.
- Jensen, A.J.** 2003. Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the regulated river Alta: effects of altered water temperature on parr growth. *River research and applications*. **19**(7): 733–747.
- Jobling, M.** 2001. Nutrient partitioning and the influence of feed composition on body composition. *In Food Intake in Fish*. Edited by D. Houlihan, T. Boujard et M. Jobling. London: Blackwell Science Ltd. p. 354–375.
- Jobling, M., et Bendiksen, E.A.** 2003. Dietary lipids and temperature interact to influence tissue fatty acid compositions of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquaculture Research*. **34**(15): 1423–1441.
- Johansen, S.J.S., et Jobling, M.** 1998. The influence of feeding regime on growth and slaughter traits of cage-reared Atlantic salmon. *Aquaculture International*. **6**(1): 1–17.
- Jonsson, B., Forseth, T., Jensen, A.J., et Naesje, T.F.** 2001. Thermal performance in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Functional Ecology*. **15**(6): 701–711.
- Jonsson, N., Jonsson, B., et Hansen, L.P.** 1998. Long-term study of the ecology of wild Atlantic salmon smolts in a small Norwegian river. *Journal of Fish Biology*. **52**(3): 638–650.
- Kainz, M., Arts, M.T., et Mazumder, A.** 2004. Essential fatty acids in the planktonic food web and their ecological role for higher trophic level. *Limnology and oceanography*. **49**(5): 1784–1793.

- Kainz, M., et Fisk, A.** 2009. Integrating lipids and contaminants in aquatic ecology and ecotoxicology. *In Lipids in Aquatic Ecosystems. Edited by M.T. Arts, M.T. Brett et M. Kainz.* Springer. New York. **In press.** p.
- Kamler, J.F., et Pope, K.L.** 2001. Nonlethal methods of examining fish stomach content. *Reviews in Fisheries Science.* **9**(1): 1–11.
- Kaneda, T.** 1991. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiological Reviews.* **55**(2): 288–302.
- Kaneshiro, E.S.** 1980. Positional distribution of fatty acids in the major glycerophospholipids of *Paramecium tetraurelia*. *Journal of lipid research.* **21**: 559–570.
- Kaushik, S.J., Corraze, G., Radunz-Neto, J., Larroquet, L., et Dumas, J.** 2006. Fatty acid profiles of wild brown trout and Atlantic salmon juveniles in the Nivelle basin. *Journal of Fish Biology.* **68**(5): 1376–1387.
- Keeley, E.R., et Grant, J.W.A.** 1995. Allometric and environmental correlates of territory size in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* **52**(1): 186–196
- Keeley, E.R., et Grant, J.W.A.** 1997. Allometry of diet selectivity in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* **54**(8): 1894–1902.
- Kemp, P.S., Gilvear, D.J., et Armstrong, J.D.** 2006. Variation in performance reveals discharge-related energy costs for foraging Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Ecology of Freshwater Fish.* **15**(4): 565–571.
- Kennedy, G.J.A., et Strange, C.D.** 1986. The effects of intra- and interspecific competition on the survival and growth of stocked juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and resident trout, *Salmo trutta* L., in an upland stream. *Journal of Fish Biology.* **28**(4): 479–489.
- Lagarrigue, T., Baran, P., Lascaux, J.M., et Belaud, A.** 2001. Growth variability analysis of a brown trout (*Salmo trutta* L.) population in a Pyrenean mountain stream. *Bulletin français de la pêche et de la pisciculture.* **357/360**: 573–594.
- Lamberti, G.A.** 1996. The role of periphyton in benthic food webs. *In Algal ecology. Edited by R.J. Stevenson, M. Bothwell et R.L. Lowe.* Academic Press. Los Angeles, California. p. 533–572.
- Lau, D.C.P., Leung, K.M.Y., et Dudgeon, D.** 2009. Are autochthonous foods more important than allochthonous resources to benthic consumers in tropical headwater streams? *Journal of the North American Benthological Society.* **28**(2): 426–439.
- Lautenschläger, M., et Kiel, E.** 2005. Assessing morphological degradation in running waters using Blackfly communities (Diptera, *Simuliidae*): Can habitat quality be predicted from land use ? *Limnologia.* **35**(2): 262–273.
- Le Cren, E.D.** 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology.* **20**(2): 201–219.

- Leduc, D., et Probert, P.K.** 2009. The effect of bacterivorous nematodes on detritus incorporation by macrofaunal detritivores: A study using stable isotope and fatty acid analyses. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **371**(2): 130–139.
- Leonard, A.E., Pereira, S.L., Sprecher, H., et Huang, H.S.** 2004. Elongation of long-chain fatty acids. *Progress in Lipid Research*. **43**(1): 36–54.
- Léveillé, J.-C., Amblard, C., et Bourdier, G.** 1997. Fatty acids as specific algal markers in a natural lacustrine phytoplankton. *Journal of Plankton Research*. **19**(4): 469–490.
- Lohfthouse, C., et Robert, A.** 2008. Riffle–pool sequences and meander morphology. *Geomorphology*. **99**(1-4): 214–223.
- Lund, J.W.G., Kipling, C., et Crenne, D.** 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia*. **11**(2): 143–170.
- Magalhães, M.F.** 1993. Feeding of an Iberian stream cyprinid assemblage: seasonality of resource use in a highly variable environment. *Oecologia*. **96**(2): 253–260.
- Maitland, P.S.** 1965. The feeding relationships of Salmon, Trout, Minnows, Stone Loach and Three-Spined Stickle-Backs in the River Endrick, Scotland. *Journal of Animal Ecology*. **34**(1): 109–133.
- Martin, J.C., et Knight, A.W.** 1989. The effect of long pools on the drift of macro-invertebrates in a mountain stream. *Hydrobiologia*. **185**(1): 63–70.
- Martin, P., Rancon, J., Segura, G., Laffont, J., Rousseau, K., Boeuf, G., et Dufour, S.** 2009. Downstream migration of hatchery-reared Atlantic salmon smolt involves both active and passive movements depending on photoperiod and temperature. *Aquaculture*. **En cours de soumission**.
- Mastrorillo, S., Dauba, F., Oberdorff, T., Guégand, J.-F., et Lek, S.** 1998. Predicting local fish species richness in the garonne river basin. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie*. **321**(5): 423–428
- Mastrorillo, S., Lek, S., et Dauba, F.** 1997. Predicting the abundance of minnow *Phoxinus phoxinus* (Cyprinidae) in the River Ariege (France) using artificial neural networks. *Aquatic Living Resources*. **10**(3): 169–176.
- McCormick, S.D., Cunjak, R.A., Dempson, B., O'Dea, M.F., et Carey, J.B.** 1999. Temperature-related loss of smolt characteristics in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the wild. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **56**(9): 1649–1658.
- McCormick, S.D., Hansen, L.P., Quinn, T.P., et Saunders, R.L.** 1998. Movement, migration, and smolting of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **55**(Supp. 1): 77–92.
- McCutchan, J.H., Lewis, W.R., Kendall, C., et McGrath, C.C.** 2003. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *OIKOS*. **102**(2): 378–390.

- Mérigoux, S., et Dolédec, S.** 2004. Hydraulic requirements of stream communities: a case study on invertebrates. *Freshwater Biology*. **49**(5): 600–613.
- Metcalf, N.B.** 1998. The interaction between behavior and physiology in determining life history patterns in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **55**(Supp 1): 93–103.
- Metcalf, N.B., et Thorpe, J.E.** 1990. Determinants of geographical variation in the age of seaward-migrating salmon, *Salmo salar*. *Journal of Animal Ecology*. **59**(1): 135–145.
- Metcalf, N.B., et Thorpe, J.E.** 1992. Anorexia and defended energy levels in overwintering juvenile salmon. *Journal of Animal Ecology*. **61**(1): 175–181.
- Mihuc, T.B.** 1997. The functional trophic role of lotic primary consumers: generalist versus specialist strategies. *Freshwater Biology*. **37**(2): 455–462.
- Miller, M.R., Nichols, P.D., et Carter, C.G.** 2007. Replacement of dietary fish oil for Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) with a stearidonic acid containing oil has no effect on omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid concentrations. *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **146**(2): 197–206.
- Mills, G.L., McArthur, J.V., et Wolfe, C.P.** 2003. Lipid composition of suspended particulate matter (SPM) in a southeastern blackwater stream. *Water Research*. **37**(8): 1783–1793.
- Milner, N.J., Elliott, J.M., Armstrong, J.D., Gardiner, R., Welton, J.S., et Ladle, L.** 2003. The natural control of salmon and trout populations in streams. *Fisheries Research*. **62**(2): 111–125.
- Monaghan, M.T., Thomas, S.A., Minshall, G.W., Newbold, J.D., et Cushing, C.E.** 2001. The influence of filter-feeding benthic macroinvertebrates on the transport and deposition of particulate organic matter and diatoms in two streams. *Limnology and oceanography*. **46**(5): 1091–1099.
- Müller-Navarra, D.C., Brett, M.T., Liston, A.M., et Goldman, C.R.** 2000. A highly unsaturated fatty acid predicts carbon transfer between primary producers and consumers. *Nature*. **403**(1): 74–77.
- Muje, P., Agren, J.J., Lindqvist, O.V., et Hanninen, O.** 1989. Fatty acid composition of vendace (*Coregonus albula* L.) muscle and its plankton feed. *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **92**(1): 75–79.
- Murphy, J., et Giller, P.S.** 2000. Detrital inputs to two low-order streams differing in riparian vegetation. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*. **27**(3): 1351–1356.
- Naesje, T.F., Thorstad, E.B., Forseth, T., Aursand, M., Saksgard, R., et Finstad, A.G.** 2006. Lipid class content as an indicator of critical periods for survival in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Ecology of Freshwater Fish*. **15**(4): 572–577.

- Nalepa, T.F., Pothoven, S.A., et Fanslow, D.L.** 2009. Recent changes in benthic macroinvertebrate populations in Lake Huron and impact on the diet of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Aquatic Ecosystem Health & Management*. **12**(1): 2–10.
- Napolitano, G.E.** 1998. Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems. *In* *Lipids in freshwater ecosystems*. Edited by M.T. Arts et B.C. Waimann. Springer-Verlag. New-York. p. 21–44.
- Napolitano, G.E., Shantha, N.C., Hill, W.R., et Luttrell, A.E.** 1996. Lipid and fatty acid compositions of stream periphyton and Stoneroller Minnows (*Campostoma anomalum*): trophic and environmental implications. *Archiv für Hydrobiologie*. **137**(2): 211–225.
- Nelson, M.M., Mooney, B.D., Nichols, P.D., et Phleger, C.F.** 2001. Lipids of Antarctic ocean amphipods: food chain interactions and the occurrence of novel biomarkers. *Marine chemistry*. **73**(1): 53–64.
- Nelva, A.** 1979. Interprétation statistique de données d'échantillons de macrofaune benthique pour dresser un état de référence dans une rivière (le chapeauroux, affluent de l'Allier, département de la Lozère). *Annales de la Station biologique de Besse-en-Chandesse*. **13**: 209–235.
- Nelva, A., Persat, H., et Chessel, D.** 1979. Une nouvelle méthode d'étude des peuplements ichtyologiques dans les grands cours d'eau par échantillonnage ponctuel d'abondance. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*. **289**: 1295–1298.
- Nicieza, A.G., Braña, F., et Toledo, M.M.** 1991. Development of length-bimodality and smolting in wild stocks of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., under different growth conditions. *Journal of Fish Biology*. **38**(4): 509–523.
- Nordgarden, U., Hemre, G.-I., et Hansen, T.** 2002. Growth and body composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr and smolt fed diets varying in protein and lipid contents. *Aquaculture*. **207**(1): 65–78.
- O'Leary, T., Leeming, R., Nichols, P.D., et Volkman, J.K.** 1999. Assessment of the sources, transport and fate of sewage derived organic matter in Port Phillip Bay, Australia, using the signature lipid, coprostanol. *Marine and Freshwater Research*. **50**(6): 547–556.
- Oberdorff, T., et Porcher, J.-P.** 1992. Fish assemblage structure in Brittany streams (France). *Aquatic Living Resources*. **5**: 215–223.
- Olsen, Y.** 1998. Lipids and essential fatty acids in aquatic food webs: What can freshwater ecologists learn from mariculture ? *In* *Lipids in Freshwater Ecosystems*. Edited by M.T. Arts et B.C. Wainman. Springer. New York. p. 319.
- Oscoz, J., Leunda, P.M., Miranda, R., et Escala, M.C.** 2006. Summer feeding relationships of the co-occurring *Phoxinus phoxinus* and *Gobio lozanoi* (Cyprinidae) in an Iberian river. *Folia Zoologica*. **55**(4): 418–432.
- Petersen, L.B.** 1989. Resource utilization of coexisting species of Hydropsychidae (Trichoptera). *Archiv für Hydrobiologie*. **83**: 83–119.

- Petts, G.E., Armitage, P.D., et Castella, E.** 1993. Physical habitat changes and macroinvertebrate response to river regulation: the river Rede, UK. *Regulated Rivers: Research & Management*. **8**(1-2): 167–178
- Piria, M., Treer, T., Anicic, I., Safner, R., et Odak, T.** 2005. The natural diet of five cyprinid fish species. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. **70**(1): 21–28.
- Polvi, S.M., et Ackman, R.G.** 1992. Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle lipids and their response to alternative dietary fatty acid sources. *Journal of agricultural and food chemistry*. **40**(6): 1001–1007.
- Potopova, M.** 2005. Relationships of soft-bodied algae to waterquality and habitat characteristics in U.S. rivers: analysis of the NAtional Water-Quality Assessment (NAWQA) program data set. Report No. 05-08. The Academy of Natural Sciences - Phycology Section, Patrick Center for Environmental Research Philadelphia. 28 pp.
- Prevost, E., et Nihouarn, A.** 1999. Relationship between abundance indices of CPUE type and density estimates by the removal method for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) young of the year. *Bulletin français de la pêche et de la pisciculture*. **72**(352): 19–29.
- Prouzet, P.** 1990. Stock characteristics of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in France: a review. *Aquatic Living Resources*. **3**(2): 85–97.
- Prouzet, P., et Cuende, F.-X.** 1994. Le saumon en France. Exploitation, gestion et avenir. *In* Le saumon atlantique: biologie et gestion de la ressource. *Edited by* J.C. Guegen et P. Prouzet. IFREMER. Brest. p. 255–267.
- Qiu, X.** 2003. Biosynthesis of docosahexaenoic acid (DHA, 22:6-4, 7,10,13,16,19): two distinct pathways. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. **68**(2): 181–186.
- Quéméneur, M., et Marty, Y.** 1992. Sewage influence in a macrotidal estuary: fatty acid and sterol distribution. *Estuarine, coastal and shelf science*. **34**(4): 347–363.
- Rader, R.B.** 1997. A functional classification of the drift: traits that influence invertebrate availability to salmonids. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **54**(6): 1211–1234.
- Rakocinski, C.F., Peterson, M.S., Comynsa, B.H., Zapfe, G.A., et Fulling, G.L.** 2006. Do abiotic factors drive the early growth of juvenile spot (*Leiostomus xanthurus*) ? *Fisheries Research*. **82**(1-3): 186–193.
- Reiriz, L., Nicieza, A.G., et Braña, F.** 1998. Prey selection by experienced and naive juvenile Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology*. **53**(1): 100–114.
- Richards, C., Haro, R.J., Johnson, L.B., et Host, G.E.** 1997. Catchment and reach-scale properties as indicators of macroinvertebrate species traits. *Freshwater Biology*. **37**(1): 219–230.
- Richardson, J.S.** 1993. Limits to productivity in streams: Evidence from studies of macroinvertebrates. *In* Production of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*, in natural waters. *Edited by* R.J. Gibson et R.E. Cutting. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences. **118**. p. 9–15.

- Ricker, W.E.** 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada. **191**. 382 pp.
- Riley, W.D., Eagle, M.O., et Ives, S.J.** 2002. The Onset of downstream movement of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in a chalk stream. Fisheries Management and Ecology. **9**(2): 87–94.
- Robin, J.H., Regost, C., Arzel, J., et Kaushik, S.J.** 2003. Fatty acid profile of fish following a change in dietary fatty acid source: model of fatty acid composition with a dilution hypothesis. Aquaculture. **225**(1-4): 283–293.
- Rodgers, D.W., et Qadri, S.U.** 1977. Seasonal variations in calorific values of some littoral benthic invertebrates of the Ottawa River, Ontario. Canadian Journal of Zoology. **55**(5): 881–884.
- Rollin, X., Peng, J., Pham, D., Ackman, R.G., et Larondelle, Y.** 2003. The effects of dietary lipid and strain difference on polyunsaturated fatty acid composition and conversion in anadromous and landlocked salmon (*Salmo salar* L.) parr. Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry. **134**: 349–366.
- Rossi, S., Sabates, A., Latasa, M., et Reyes, E.** 2006. Lipid biomarkers and trophic linkages between phytoplankton, zooplankton and anchovy (*Engraulis encrasicolus*) larvae in the NW Mediterranean. Journal of Plankton Research. **28**(6): 551–562.
- Roussel, J.M., et Bardonnnet, A.** 1997. Diel and seasonal patterns of habitat use by fish in a natural salmonid brook: An approach to the functional role of the riffle-pool sequence. Bulletin français de la pêche et de la pisciculture. **346**: 573–588.
- Ruess, L., Tiunov, A., Haubert, D., Richnow, H.H., Häggblom, M.M., et Scheu, S.** 2005. Carbon stable isotope fractionation and trophic transfer of fatty acids in fungal based soil food chains. Soil Biology & Biochemistry. **37**(5): 945–954.
- Ruyter, B., Rosjo, C., Masoval, K., Einen, O., et Thomassen, M.S.** 2000. Influence of dietary n-3 fatty acids on the desaturation and elongation of [1-¹⁴C] 18:2n-6 and [1-¹⁴C] 18:3n-3 in Atlantic salmon hepatocytes. Fish Physiology and Biochemistry. **23**(2): 151–158.
- Saliu, J.K., Joy, O., et Catherine, O.** 2007. Condition factor, fat and protein content of five fish species in Lekki Lagoon, Nigeria. Life Science Journal. **4**(4): 54–57.
- Salveit, S.J.** 1990. Effect of decreased temperature on growth and smoltification of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) and brown trout (*Salmo trutta*) in a Norwegian regulated river. Regulated rivers. **5**(4): 295–303.
- Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D., et Estevez, A.** 1999a. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. Aquaculture. **177**(1-4): 191–199.
- Sargent, J., McEvoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J., et Tocher, D.** 1999b. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. Aquaculture. **179**(1): 217–229.

- Sargent, J.R.** 1989. The lipids. *In Fish Nutrition. Edited by J.E. Halver.* Academic Press Inc. San Diego. p. 153–218.
- Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J., et Tocher, D.R.** 1995a. Requirement criteria for essential fatty acids. *Journal of Applied Ecology.* **11**(3-4): 183–198.
- Sargent, J.R., Bell, M.V., et Henderson, R.J.** (1995b) Protists as sources of (n-3) polyunsaturated fatty acids for vertebrate development *Protistological Actualities, Proceedings of the IInd European Congress Protist.,* 54–64.
- Sargent, J.R., Parkes, R.J., Mueller-Harvey, I., et Henderson, R.J.** 1987. Lipid biomarkers in marine ecology. *In Microbes in the sea. Edited by M.A. Sleight.* Ellis Horwood. Chichester. p. 119–138.
- Sargent, J.R., et White, K.J.** 1981. Lipids and hydrocarbons in the marine food web. *In Analysis of Marine Ecosystems. Edited by A.R. Longhurst.* Academic Press. London. p. 453–491.
- Scribe, P., et Bourdier, G.** 1995. La matière organique lacustre: approche par les marqueurs moléculaires. *In Limnologie générale. Edited by Masson.* Paris. p.
- Scribe, P., Ngoumbi-Nzouzi, J.S., Fuché, C., Pèpe, C., et Saliot, A.** 1990. Biogeochemistry of organic matter in Lake Geneva: I. Particulate hydrocarbons as biogenic and anthropogenic molecular markers. *Hydrobiology.* **207**(1): 319–331.
- Shackley, P.E., Talbot, C., Cowan, A., et Watt, A.** 1994. The use of body water, sodium, potassium and calcium content to investigate the nutritional status of first year Atlantic salmon parr in two Scottish highland streams. *Journal of Fish Biology.* **44**(4): 693–706.
- Shrimpton, J.M., Björnsson, B.T., et McCormick, S.D.** 2000. Can Atlantic salmon smolt twice? Endocrine and biochemical changes during smolting. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* **57**(10): 1969–1976.
- Simpson, A.L., Metcalfe, N.B., Huntingford, F.A., et Thorpe, J.E.** 1996. Pronounced seasonal differences in appetite of Atlantic Salmon parr, *Salmo salar*. Effects of nutritional state and life-history strategy. *Functional Ecology.* **10**(6): 760–767.
- Simpson, A.L., Metcalfe, N.B., et Thorpe, J.E.** 1992. A simple non-destructive biometric method for estimating fat levels in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquaculture Research.* **23**(1): 23–29.
- Skilbrei, O.T., Hansen, T., et Stefansson, S.O.** 1997. Effects of decreases in photoperiod on growth and bimodality in Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture Research.* **28**(1): 43–49.
- Sosiak, A.J., Randall, R.G., et McKenzie, J.A.** 1979. Feeding by hatchery-reared and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr in streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* **36**: 1408–1412.
- Spänhoff, B., Kaschek, N., et Meyer, E.I.** 2004. Laboratory investigation on community composition, emergence patterns and biomass of wood-inhabiting Chironomidae (Diptera)

- from a sandy lowland stream in Central Europe (Germany). *Aquatic Ecology*. **38**(4): 47–560.
- Sprecher, H.** 2000. Metabolism of highly unsaturated *n*-3 and *n*-6 fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1486**(2-3): 219–231.
- Stanley-Samuelson, D.W.** 1994. Prostaglandins and related eicosanoids in insects. *Advances in Insect Physiology*. **24**: 115–147.
- Stanley-Samuelson, D.W., Jurenka, R.A., Cripps, C., Blomquist, G.J., et de Renobales, M.** 1988. Fatty acids in insects: Composition, metabolism, and biological significance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. **9**(1): 1–33.
- Steingrímsson, S.Ó., et Gíslason, G.M.** 2002. Body size, diet and growth of landlocked brown trout, *Salmo trutta*, in the subarctic River Laxa, North-East Iceland. *Environmental Biology of Fishes*. **63**(4): 417–426.
- Stoknes, I.S., Økland, H.M.W., Falch, E., et Synnes, M.** 2004. Fatty acid and lipid class composition in eyes and brain from teleosts and elasmobranchs. *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **138**(2): 183–191.
- Stradmeyer, L., et Thorpe, J.E.** 1987a. Feeding behaviour of wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr in mid- to late summer in a Scottish river. *Aquaculture fisheries management*. **18**(1): 33–49.
- Stradmeyer, L., et Thorpe, J.E.** 1987b. The responses of hatchery-reared Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr to pelleted and wild prey. *Aquaculture fisheries management*. **18**(1): 51–61.
- Strahler, A.N.** 1957. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Transactions - American Geophysical Union*. **38**: 913–920.
- Strothotte, E., Chaput, G.J., et Rosenthal, H.** 2005. Seasonal growth of wild Atlantic salmon juveniles and implications on age at smoltification. *Journal of Fish Biology*. **67**(6): 1585–1602.
- Suberkropp, K.** 2001. Fungal growth, production, and sporulation during leaf decomposition in two streams. *Applied and Environmental Microbiology*. **67**(11): 5063–5068.
- Sul, D., et Erwin, J.A.** 1997. The membrane lipids of the marine ciliated protozoan *Parauronema acutum*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*. **1345**(2): 162–171.
- Sushchik, N.N., Gladyshev, M.I., Kalachova, G.S., Makhutova, O.N., et Ageev, A.V.** 2006. Comparison of seasonal dynamics of the essential PUFA contents in benthic invertebrates and grayling *Thymallus arcticus* in the Yenisei river. *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **145**(3-4): 278–287.
- Sushchik, N.N., Gladyshev, M.I., Kravchuk, E.S., Ivanova, E.A., Ageev, A.V., et Kalachova, G.S.** 2007. Seasonal dynamics of long-chain polyunsaturated fatty acids in littoral benthos in the upper Yenisei river. *Aquatic Ecology*. **41**(2): 349–365.

- Sushchik, N.N., Gladyshev, M.I., Moskvichova, A.V., Makhutova, O.N., et Kalachova, G.S.** 2003. Comparison of fatty acid composition in major lipid classes of the dominant benthic invertebrates of the Yenisei river. *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **134**(1): 111–122.
- Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M., et Usseglio-Polatera, P.** 2000. Invertébrés d'eau douce. Systématique, biologie, écologie. Paris. p. 587.
- Thibault, M.** 1987. Eléments de la problématique du saumon Atlantique en France. *In* Restauration des rivières à saumons. *Edited by* M. Thibault et R. Billard. INRA Publications. Paris. p. 413–425.
- Thibault, M.** 1994. Aperçu historique sur l'évolution des captures et des stocks. *In* Le saumon atlantique. *Edited by* J.C. Gueguen et P. Prouzet. IFREMER. Plouzané. p. 175–184.
- Thoney, J.-P., et Gibson, R.J.** 1989. Feeding strategies of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) in a Newfoundland river. *Canadian Field-Naturalist*. **103**: 48–56.
- Thorpe, J.E., Metcalfe, N.B., et Huntingford, F.A.** 1992. Behavioural influences on life-history variation in juveniles Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Environmental Biology of Fishes*. **33**(4): 331–340.
- Tocher, D.R., Bell, J.G., Dick, J.R., Henderson, R.J., McGhee, F., Michell, D., et Morris, P.C.** 2000. Polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation and the effects of dietary linseed and rapeseed oils. *Fish Physiology and Biochemistry*. **23**(1): 59–73.
- Tocher, D.R., Bell, J.G., MacGlaughlin, P., McGhee, F., et J.R., D.** 2001. Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of liver in salmonids: effects of dietary vegetable oil. *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **130**(2): 257–270.
- Tocher, D.R., Bendiksen, E.A., Campbell, P.J., et Bell, J.G.** 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*. **280**(1): 21–34.
- Tocher, D.R., Dick, J.R., MacGlaughlin, P., et Bell, J.G.** 2006. Effect of diets enriched in $\Delta 6$ desaturated fatty acids (18:3n-6 and 18:4n-3), on growth, fatty acid composition and highly unsaturated fatty acid synthesis in two populations of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **144**(2): 245–253.
- Torres-Ruiz, M., Wehr, J.D., et Perrone, A.A.** 2007. Trophic relations in a stream food web: importance of fatty acids for macroinvertebrate consumers. *Journal of the North American Benthological Society*. **26**(3): 509–522.
- Towers, D.J., Henderson, I.M., et Veltman, C.J.** 1994. Predicting dry weight of New Zealand aquatic macroinvertebrates from linear dimensions. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. **28**(2): 159–166.

- Treer, T., Piria, M., Anicic, I., Safner, R., et Tomljanovic, T.** 2006. Diet and growth of spiralin, *Alburnoides bipunctatus* in the barbel zone of the Sava River. *Folia Zoologica*. **55**(1): 97–106.
- Utrilla, C.G., et Lobón-Cerviá, J.** 1999. Life-history patterns in a southern population of Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology*. **55**(1): 68–83.
- Valiente, A.G., Juanes, F., et Garcia-Vazquez, E.** 2005. Reproductive strategies explain genetic diversity in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Environmental Biology of Fishes*. **74**(3-4): 323–334.
- Vannote, R.L., Minshall, G.W., Cummins, K.W., Sedell, J.R., et Cushing, C.E.** 1980. The river *continuum* concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **37**(1): 130–137.
- Vera, A., Desvillettes, C., Bec, A., et Bourdier, G.** 2001. Fatty acid composition of freshwater heterotrophic flagellates: an experimental study. *Aquatic Microbial Ecology*. **25**(3): 271–279.
- Vignes, J.-C.** 1995. L'alimentation des jeunes saumons (*Salmo salar* L.) dans une rivière du Pays-Basque, la Nivelle. *Munibe (Ciencias Naturales)*. **47**: 97–100.
- Vignes, J.-C.** 1998. Relationships between size of Atlantic salmon parr (*Salmo salar*) and some characteristics of their prey. *Cybium*. **22**(1): 49–56.
- Viso, A.-C., et Marty, J.-C.** 1993. Fatty acids from 28 marine microalgae. *Phytochemistry*. **34**(6): 1521–1533.
- Volkman, J.K., Barrett, S.M., Blackburn, S.I., Mansour, M.P., Sikes, E.L., et Gelin, F.** 1998. Microalgal biomarkers: a review of recent research developments. *Organic Geochemistry*. **29**(5-7): 1163–1179.
- Wallace, J.B., et Webster, J.R.** 1996. The role of macroinvertebrates in stream ecosystem function. *Annual Review of Entomology*. **41**: 115–139.
- Wankowski, J.W.J.** 1979. Morphological limitations, prey size selectivity, and growth response of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Journal of Fish Biology*. **14**(1): 89–100.
- Wankowski, J.W.J., et Thorpe, J.E.** 1979a. The role of food particle size in the growth of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Fish Biology*. **14**(4): 351–370.
- Wankowski, J.W.J., et Thorpe, J.E.** 1979b. Spatial distribution and feeding in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. juveniles. *Journal of Fish Biology*. **14**(3): 239–247.
- Watanabe, T.** 1982. Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology, B: Comparative Biochemistry*. **73**(1): 3–15.
- White, M.M., et Lichtwardt, R.W.** 2004. Fungal symbionts (Harpellales) in Norwegian aquatic insect larvae. *Mycologia*. **96**(4): 890–910.

- Winkelmann, C., Petzoldt, T., Koop, J.H.E., Matthaei, C.D., et Benndorf, J.** 2007a. Benthivorous fish reduce stream invertebrate drift in a large-scale field experiment *Aquatic Ecology*. **42**(3): 483–493.
- Winkelmann, C., Worischka, S., Koop, J.H.E., et Benndorf, J.** 2007b. Predation effects of benthivorous fish on grazing and shredding macroinvertebrates in a detritus-based stream food web. *Limnologica*. **37**(2): 121–128.
- Zheng, X., Torstensen, B.T., Tocher, D.R., Dick, J.R., Henderson, R.J., et Bell, J.G.** 2005. Environmental and dietary influences on highly unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl desaturase and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Biochimica et Biophysica Acta*. **1734**(1): 13–24.
- Zhukova, N.V., et Kharlamenko, V.I.** 1999. Sources of essential fatty acids in the marine microbial loop. *Aquatic Microbial Ecology*. **17**(2): 153–157.
- Zimmermann-Timm, H.** 2002. Characteristics, dynamics and importance of aggregates in rivers: An invited review. *International Review of Hydrobiology*. **87**(2-3): 197–240.

Annexes

ANNEXE 1. Densité moyenne (ind.·m⁻²) et composition de la faune benthique collectée dans chacun des radiers de déversement entre juin et octobre 2006.

Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Luc	Chapeauroux	Pradel	Chambon	Cohade
Annélides				166.0	45.4	96.4	404.1	329.9
Enarthropodes								
	Arachnides	Hydracariens		116.1	135.1	29.0	48.8	209.0
	Insectes			11536.7	5079.3	12053.4	20356.5	17206.6
		Coléoptères		1252.8	655.5	339.0	1501.3	1576.2
			<i>F. Elmidae</i>					
				1245.9	648.1	328.6	1458.3	1566.5
				1.2	1.1			1.0
				710.6	163.6	66.2	198.5	81.3
				124.2	231.2	22.1	593.3	814.7
				393.6	178.4	240.3	645.6	646.3
				3.5				3.9
				1.2			2.3	
				11.6	66.5		8.1	8.7
					1.1			
					3.2			
			<i>F. Gyrinidae</i>	2.3	5.3	8.1	34.8	6.8
				2.3	5.3	1.2	4.6	4.8
			<i>F. Hydraenidae</i>	3.5	1.1		8.1	1.9
				5573.3	2600.9	7601.7	11665.6	10157.7
		Diptères						
			<i>F. Athericidae</i>	538.8	50.7	46.4	74.3	94.8
			<i>F. Blephariceridae</i>			87.1	3.5	1.9
			<i>F. Ceratopogonidae</i>		5.3	1.2	2.3	8.7
			<i>F. Chironomidae</i>	3417.1	2388.7	2583.5	2455.7	2464.4
				54.6	82.3	3.5	19.7	51.3
					125.6			
					1.1			
			<i>F. Dixidae</i>	3.5	2.1			3.9
			<i>F. Limoniidae</i>	15.1	46.4			2.9
				1.2	5.3			1.9
				13.9	34.8			1.0
					6.3			
			<i>F. Simuliidae</i>	1493.2	62.3	4846.4	9098.4	7522.0
				491.1	17.9	2741.4	188.1	34.8
				726.9	26.4	114.9	1172.7	494.4
			<i>F. Tabanidae</i>	1.2				1.9
			<i>F. Thaumaleidae</i>		22.2			6.8
			<i>F. Tipulidae</i>			1.2	11.6	1.0

Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Luc	Chapeauroux	Pradel	Chambon	Cohade
		Ephéméroptères		1526.9	370.5	1652.2	1665.0	1350.7
			<i>F. Baetidae</i>	1119.3	257.6	777.9	992.7	796.3
			<i>Acentrella sinaica</i>	173.0	39.1	274.0	471.4	148.0
			<i>Baetis sp.</i>	846.4	206.9	455.2	409.9	547.7
			<i>Procloeon bifidum</i>	58.1	5.3	26.7	48.8	39.7
			<i>F. Caenidae</i>	36.0				6.8
			<i>F. Ephemerellidae</i>	58.1	64.4	199.7	308.9	151.9
			<i>Ephemerella</i>	33.7	39.1	199.7	308.9	150.9
			<i>Torleya major</i>	22.1	25.3			1.0
			<i>F. Heptageniidae</i>	260.1	31.7	479.5	185.8	77.4
			<i>Ecdyonurus velosus</i>	54.6	19.0	183.5	157.9	38.7
			<i>Epeorus torrentium</i>	197.4	2.1	290.3	8.1	13.5
			<i>Heptagenia</i>		3.2		1.2	15.5
			<i>Rhithrogena</i>	1.2	4.2		7.0	2.9
			<i>F. Leptophlebiidae</i>	11.6			3.5	115.1
			<i>Habroleptoides</i>				3.5	111.3
			<i>Habrophlebia</i>					1.9
			<i>Leptophlebia</i>					1.0
			<i>F. Oligoneuriidae</i>		1.1	170.7	96.4	12.6
			<i>F. Polymitarcyidae</i>					51.3
			<i>F. Potamanthidae</i>				1.2	70.6
		Hétéroptères		2.3	4.2	5.8	29.0	100.6
			<i>F. Aphelocheiridae</i>		3.2		27.9	100.6
			<i>Aphelocheirus aestivalis</i>		3.2		15.1	92.9
			<i>F. Corixidae</i>		1.1			
			<i>F. Notonectidae</i>				1.2	
			<i>F. Veliidae</i>	2.3				
		Mégaloptères	<i>F. Sialidae</i>	7.0	2.1	12.8		1.0
		Odonates		43.0	5.3	4.6	30.2	24.2
			<i>F. Cordulegasteridae</i>			1.2		
			<i>F. Gomphidae</i>	40.6	5.3	2.3	26.7	24.2
			<i>Onychogomphus</i>	37.2	4.2	1.2	19.7	21.3
			<i>Ophiogomphus cecilia</i>	1.2	1.1		5.8	1.9

Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Luc	Chapeauroux	Pradel	Chambon	Cohade
		Plécoptères		681.6	383.2	393.6	2481.3	699.6
			<i>F. Capniidae</i>	217.1	242.8	144.0	1572.1	104.5
			<i>Capnia</i>	190.4	242.8	124.2	1567.5	69.7
			<i>Capnioneura</i>	23.2		10.4	4.6	20.3
			<i>Capnopsis schilleri</i>			1.2		6.8
			<i>F. Chloroperlidae</i>	2.3				5.8
			<i>Chloroperla</i>					5.8
			<i>Siphonoperla</i>	2.3				
			<i>F. Leuctridae</i>	58.1	51.7	48.8	478.4	327.0
			<i>Eulectra geniculata</i>	2.3	2.1	2.3	169.5	3.9
			<i>Leuctra</i>	19.7	3.2	43.0	33.7	2.9
			<i>F. Nemouridae</i>	31.3	19.0	30.2	87.1	15.5
			<i>Amphinemura</i>	13.9				
			<i>Nemoura</i>	2.3	17.9			
			<i>Nemurella picteti</i>	2.3	1.1	2.3	87.1	15.5
			<i>Protonemura</i>	12.8				
			<i>F. Perlidae</i>		2.1	2.3	2.3	2.9
			<i>Dinocras</i>			1.2	2.3	
			<i>Perla</i>		2.1	1.2		2.9
			<i>F. Perlodidae</i>	262.4	38.0	16.3	53.4	96.8
			<i>Isogenus nubecula</i>	262.4	38.0	16.3	53.4	64.8
			<i>Perlodes</i>					5.8
			<i>S.F. Perloidea</i>	3.5	3.2	2.3	63.9	1.0
			<i>F. Taeniopterygidae</i>	81.3	24.3	140.5	181.1	123.9
			<i>Brachyptera</i>	7.0		26.7	19.7	42.6
			<i>Rhabdiopteryx</i>	34.8	1.1	8.1	26.7	57.1
			<i>Taeniopteryx</i>	39.5	23.2	105.7	134.7	24.2
		Trichoptères		2413.9	1031.3	2028.4	2975.9	3277.2
			<i>F. Beraeidae</i>	3.5	2.1			1.0
			<i>Emodes</i>	1.2	2.1			1.0
			<i>F. Brachycentridae</i>	12.8	36.9	127.7	146.3	82.2
			<i>Brachycentrus</i>	2.3	29.6	120.8	135.8	61.9
			<i>Micrasema</i>	7.0	2.1	7.0	10.4	20.3
			<i>Oligoplectrum maculatum</i>	3.5				

Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Luc	Chapeauroux	Pradel	Chambon	Cohade
			<i>F. Ecnomidae</i>	<i>Ecnomus</i>	2.3	2.1	30.2	
			<i>F. Glossosomatidae</i>		7.0	5.3		7.7
				<i>sF. Agapetinae</i>	1.2		13.9	0.0
				<i>sF. Glossosomatinae</i>	5.8	5.3	12.8	6.8
			<i>F. Goeridae</i>		0.0	8.4	2.3	1.2
				<i>Goera pilosa</i>	0.0	4.2	2.3	1.2
			<i>F. Hydropsychidae</i>		1950.7	212.2	1559.4	2033.1
				<i>Cheumatopsyche lepida</i>	38.3	34.8	222.9	604.9
				<i>Diplectroma felix</i>		2.1		3.5
				<i>Hydropsyche sp.</i>	1911.2	172.1	1329.5	1411.9
			<i>F. Hydropsychidae</i>		3.5	3.2	1.2	2.3
				<i>Ithytrichia lamellaris</i>				2.3
			<i>F. Lepidostomatidae</i>				2.3	8.1
			<i>F. Leptoceridae</i>		4.6	7.4		1.2
				<i>Athripsodes</i>		2.1		
				<i>Oecetis</i>		5.3		1.2
			<i>F. Limnephilidae</i>		91.7	1.1	7.0	1.2
				<i>Allogamus</i>	70.8			
				<i>Apatania</i>	1.2			
			<i>F. Molannidae</i>		26.7		1.2	
				<i>Molannodes tinctus</i>			1.2	
			<i>F. Philopotamidae</i>		2.3	1.1	76.6	532.9
				<i>Chimarra marginata</i>	1.2		68.5	530.6
				<i>Philopotamus</i>				2.3
				<i>Wormaldia</i>		1.1	8.1	
			<i>F. Phryganeidae</i>		20.9	2.1	4.6	3.5
				<i>Hagenella clathrata</i>	1.2			
				<i>Oligostomis reticulata</i>	16.3	1.1	4.6	3.5
				<i>Trichostegia minor</i>	2.3	1.1		
			<i>F. Polycentropodidae</i>		19.7	25.3	19.7	25.5
				<i>Holocentropus</i>		4.2		
				<i>Neureclipsis bimaculata</i>	11.6	4.2	17.4	16.3
				<i>Plectrocnemia</i>	1.2	1.1		
				<i>Polycentropus</i>	5.8	12.7	1.2	9.3

Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Luc	Chapeauroux	Pradel	Chambon	Cohade	
			<i>F. Psychomyiidae</i>	83.6	589.0	27.9	75.5	264.2	
			<i>Lype</i>					6.8	
			<i>Psychomyia pusilla</i>	83.6	565.8	27.9	75.5	255.4	
			<i>F. Rhyacophilidae</i>	113.8	90.8	82.4	83.6	17.4	
			<i>Hyperhyacophila</i>	5.8	2.1	7.0	1.2		
			<i>Hyporhyacophila</i>	54.6	41.2	27.9	27.9	3.9	
			<i>Pararhyacophila</i>	9.3	5.3	12.8	20.9		
			<i>Rhyacophila stricto sensu</i>	43.0	42.2	34.8	33.7	13.5	
			<i>F. Sericostomatidae</i>	24.4	3.2	17.4			
			<i>Notidobia</i>		3.2	1.2			
			<i>Oecismus monedula</i>	23.2		3.5			
			<i>Sericostoma</i>	1.2					
	Malacostracés					1.2	34.8	37.7	
		Amphipodes	<i>F. Gammaridae</i>				13.9	17.4	
		Isopodes	<i>F. Asellidae</i>			1.2	20.9	20.3	
			<i>Asellus aquaticus</i>				7.0	4.8	
			<i>Proasellus</i>					1.0	
Mollusques				617.7	153.1	449.3	392.5	367.7	
		Gastéropodes		616.5	143.6	449.3	390.1	360.9	
			<i>F. Ancyliidae</i>	<i>Ancylus fluviatilis</i>	613.1	139.3	449.3	390.1	358.0
			<i>F. Lymnaeidae</i>	2.3				1.9	
			<i>F. Planorbidae</i>					1.0	
Plathelminthes				8.1	5.3	5.8	26.7	158.7	
	Turbellariés			8.1	5.3	5.8	17.4	158.7	
			<i>F. Planariidae</i>			4.6	13.9	97.7	
			<i>Dugesia spp.</i>					44.5	
Total				12444.7	5418.1	12635.1	21264.4	18309.6	

ANNEXE 2. Moyennes (\pm E.S.) des lipides totaux en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ p.s. extraits des différents types d'échantillons collectés dans chacun des sites entre juin et octobre 2006.

	<i>Salmo salar</i> L.	Granulés Nutra	Macroinvertébrés				Sources de matières organiques		
			<i>Baetidae</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Hydropsychidae</i>	<i>Simuliidae</i>	Pérlithon	MOFS	MODép
Salmoniculture (CNSS)	51,6 (\pm 7,1)	57,5 (\pm 5,0)							
Luc	32,4 (\pm 2,3)		156,6 (\pm 60,3)	82,6 (\pm 22,7)	67,7 (\pm 14,1)	78,9 (\pm 10,1)	14,9 (\pm 1,1)	9,0 (\pm 0,9)	11,5 (\pm 1,6)
Chapeauroux	41,7 (\pm 3,3)		142,1 (\pm 35,5)	88,6 (\pm 23,1)	30,0 (\pm 4,5)	28,6 (\pm 10,5)	7,5 (\pm 0,6)	4,3 (\pm 0,5)	8,0 (\pm 1,3)
Pradel	34,8 (\pm 2,8)		248,1 (\pm 93,8)	132,2 (\pm 16,6)	55,6 (\pm 3,9)	146,5 (\pm 52,8)	16,5 (\pm 0,7)	6,3 (\pm 0,6)	11,5 (\pm 2,7)
Chambon	36,9 (\pm 3,9)		99,5 (\pm 12,0)	127,9 (\pm 25,7)	39,6 (\pm 4,5)	65,1 (\pm 7,4)	11,8 (\pm 1,7)	6,6 (\pm 1,0)	8,3 (\pm 0,8)
Cohade	40,1 (\pm 5,4)		96,2 (\pm 8,7)	75,7 (\pm 27,7)	58,7 (\pm 8,5)	84,1 (\pm 15,7)	17,6 (\pm 2,5)	5,6 (\pm 0,4)	8,5 (\pm 1,4)

Croissance et régime alimentaire des juvéniles de Saumon atlantique (*Salmo salar* L.) dans la rivière Allier: Origine et transferts des acides gras dans la chaîne trophique.

Ce projet de recherche a été conduit dans le contexte général du renforcement de la population naturelle de saumon de l'Allier et s'est focalisé sur les modalités de croissance des juvéniles et des tacons en grand cours d'eau. Nous nous sommes ainsi intéressés au développement des juvéniles (0+) de Saumon atlantique relâchés dans le milieu naturel, avant de considérer ensuite la chaîne trophique dans son ensemble. Notre travail avait ainsi plusieurs objectifs : (i) effectuer une analyse détaillée de l'alimentation, de la croissance et du statut nutritionnel des tacons issus d'une salmoniculture, relâchés et recapturés le long du *continuum* fluvial de l'Allier, (ii) évaluer si, en raison de composition en acides gras (AG) différentes, les macroinvertébrés pouvaient affecter la croissance des tacons, ainsi que leur survie hivernale, (iii) déterminer, grâce à une approche par les AG biomarqueurs, l'origine des composés lipidiques retrouvés dans les macroinvertébrés et identifier les sources de carbone assimilées par ces derniers le long du *continuum* fluvial. Des prélèvements mensuels de saumons, de macroinvertébrés et des différentes sources de matière organique ont été effectués sur cinq radiers répartis le long du *continuum* fluvial (rhithron-épipotamon). Des variations de croissance, de facteur de condition et d'accumulation de lipides ont ainsi pu être observées chez les jeunes saumons déversés le long de l'Allier. Les secteurs de transition rhithron-épipotamon ont semblé constituer des secteurs de croissance intéressants pour le développement des saumons grâce à des paramètres environnementaux (température et débit) et trophiques (abondance et composition des proies) favorables. Les valeurs obtenues dans ces secteurs étaient proches de celles enregistrées chez des juvéniles en salmoniculture. De plus, ces performances de croissance semblaient résulter d'apports alimentaires importants en lipides polaires (LP) contenus dans les nymphes de *Baetidae* et les larves de *Simuliidae* majoritairement consommées au niveau de ces radiers les plus à l'aval. A l'opposé, les secteurs de rhithron, et principalement les radiers situés dans la zone à truite, semblent constituer la limite amont pour les repeuplements en juvéniles. En effet, les plus faibles croissances observées dans cette zone suggèrent des apports alimentaires plus faibles en LP, non compensés par un apport important en lipides neutres provenant des larves de *Chironomidae* ingérés dans ces radiers amont. Ainsi, les larves de *Simuliidae* et les nymphes de *Baetidae*, préférentiellement consommées dans les radiers aval, sont apparues comme étant des proies plus favorables à la croissance et à la survie hivernale des jeunes saumons, que les larves de *Chironomidae*. L'approche par les AG biomarqueurs, a également permis de souligner qu'en dépit de modes d'alimentation différents et quelque soit la position des radiers, les macroinvertébrés ingérés par les tacons étaient fortement tributaires de la production primaire autochtone, plus précisément de celle liée aux diatomées. Une approche complémentaire par analyse isotopique du carbone des AG permettrait de confirmer les origines des AG essentiels chez les tacons et la valeur de certains AG en tant que biomarqueurs dans cet écosystème.

Mots clés: *Salmo salar* L. ; Croissance ; Alimentation ; *Continuum* fluvial ; Macroinvertébrés ; Matière organique ; Acides gras ; Réseau trophique aquatique.

Growth and feeding of juveniles salmon (*Salmo salar* L.) in the River Allier: Origin and transfers of fatty acids in the food-web.

This project was conducted in the overall context of enhancing the natural salmon population of the River Allier and focused on growth performances of their juveniles and parr in a large temperate river. We focused on the development of juveniles Atlantic salmon released at fry stage into the wild and we integrated them in the context of the food chain. Our work had several objectives: (i) conduct a detailed analysis of diet, growth and nutritional status of parr raised in a salmon farm, released and recaptured along the *continuum* of the River Allier, (ii) assess whether, due to different fatty acid composition (FA), macroinvertebrates could affect parr growth and their overwintering survival, (iii) determine, through an approach based on FA biomarkers, the origins of lipid compounds found in macroinvertebrates and specify the sources of carbon assimilated by them along the river *continuum*. Sampling took place from June 2006 to October 2006 at monthly intervals. Samples of salmon, macroinvertebrates and different sources of organic matter were collected in five riffles along the river *continuum* (rhithron-epipotamon). Significant variations in growth, condition factor and lipid accumulation have been observed in restocked parr along the upstream-downstream gradient. The transition zone of rhithron-epipotamon appeared to be of great interest for salmon growth because of favourable environmental (temperature and flow) and trophic (preys composition and abundance) parameters. The values recorded in these areas were close to those achieved by the hatchery-reared salmon. In addition, growth performances seemed to result from dietary inputs of polar lipids (PL) from Baetids and Simuliids preferentially consumed by salmon in these downstream riffles. In contrast, the rhithron areas mainly located in trout zone, can be considered as the extreme upstream limit for 0+ salmon restocking. The low growth and lipid storage observed in this area appeared to result from lower dietary inputs in PL compared to the other riffles, not compensated by a significant input of neutral lipids from Chironomids. Thus, Simuliids and Baetids, preferentially consumed in downstream riffles, constituted an interesting type of food compared to Chironomids for parr overwintering survival and smoltification. The FA biomarkers approach showed that despite different feeding modes and whatever the localization of sites along the river *continuum*, macroinvertebrates consumed by parr receive their carbon from autochthonous production, more specifically on diatoms. A complementary approach by isotopic analysis of FA could confirm these origins of essential FAs in salmon and the relevance in the studied ecosystem of some FAs considered as biomarkers.

Key-words: *Salmo salar* L. ; Growth ; Diet ; Stream continuum ; Macroinvertebrates ; Organic matter ; Fatty acids ; Aquatic food web.