



**HAL**  
open science

# Changement climatique et perturbations locales dans trois grands lacs alpins au cours du dernier siècle : ce qu'enseignent les diatomées et les rotifères

Vincent Berthon

## ► To cite this version:

Vincent Berthon. Changement climatique et perturbations locales dans trois grands lacs alpins au cours du dernier siècle : ce qu'enseignent les diatomées et les rotifères. *Ecologie, Environnement*. Université de Grenoble, 2014. Français. NNT : 2014GRENA030 . tel-01401954

**HAL Id: tel-01401954**

**<https://theses.hal.science/tel-01401954v1>**

Submitted on 24 Nov 2016

**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.

## THÈSE

Pour obtenir le grade de

## DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE GRENOBLE

Spécialité : **Biodiversité, Ecologie, Environnement**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

**Vincent Berthon,**

Dirigée par **Jean-Marcel Dorioz**, et encadrée par **Frédéric Rimet, Marie-Elodie Perga**

Préparée au sein du **Centre Alpin de Recherche sur les Réseaux Trophiques des Ecosystèmes limniques (UMR0042 CARRETEL)**,

Dans l'École Doctorale **Sciences et Ingénierie des systèmes, de l'environnement et des organisations.**

**Changement climatique et perturbations locales dans trois grands lacs alpins au cours du dernier siècle : ce qu'enseignent les diatomées et les rotifères.**

Thèse soutenue publiquement le 12 décembre 2014, devant le jury composé de :

**Dr Bernard Montuelle**

Directeur d'Unité, UMR-CARRETEL, Président du jury

**Dr Karen Serieyssol,**

Professeur, Rapportrice

**Dr Aldo Marchetto,**

Permanent researcher, CNR-ISE, Rapporteur,

**Dr Delphine Latour,**

Maître de Conférences HDR, UMR CNRS 6023, Examinatrice

**Dr Marina Manca**

Permanent researcher, Director of the CNR-ISE, Examinatrice

**Dr Jean-Marcel Dorioz,**

Directeur de Recherche, UMR-CARRETEL, Directeur de thèse

**Dr Frederic Rimet,**

Ingénieur d'étude, UMR-CARRETEL, Membre





*La lutte contre l'eutrophisation des grands lacs péri-alpins a permis une réduction des concentrations internes en phosphore, pour des réponses écologiques parfois mitigées. Dans le Léman, les concentrations en P ont été divisées par dix en trente ans pourtant la biomasse algale et la production primaire restent aussi élevées qu'au maximum de l'eutrophisation, malgré une augmentation de la transparence des eaux. Donc, bien que la concentration en phosphore soit une variable de forçage majeure des communautés planctoniques, il apparaît nécessaire de considérer le rôle d'autres variables de forçage qui interagissent avec la concentration interne en nutriments pour comprendre les réponses écologiques des lacs aux mesures de reoligotrophisation. Les communautés planctoniques peuvent être impactées par les pratiques de la gestion appliquées à d'autres compartiments du réseau trophique tels que les populations piscicoles. A l'effet de ces facteurs locaux s'ajoute l'impact du réchauffement climatique, un phénomène planétaire participant au changement global qui se manifeste à partir du début des années 1980, et qui est de mieux en mieux mis en évidence dans les lacs.*

*Peu de lacs ayant fait ou faisant l'objet de suivis de routine, l'observation des effets de ces divers forçages anthropiques et la compréhension de leurs interactions se heurtent au faible nombre de bases de données disponibles. En outre les données collectées ne permettent pas de remonter assez loin dans le temps pour couvrir entièrement la période au cours de laquelle les perturbations anthropiques se sont accrues. Elles ne permettent pas non plus d'étudier les conditions environnementales précédant cette période. La paléolimnologie à haute résolution (échelle annuelle et saisonnière) appliquée aux périodes récentes (dernier siècle) est une démarche alternative proposée pour pallier cette absence de données instrumentales.*

*Ce travail de thèse vise à comprendre comment les modifications des concentrations en nutriments, la gestion piscicole d'une espèce zooplantonophage, le corégone, et le changement climatique contribuent à modifier la structure et la diversité des communautés planctoniques de diatomées et de rotifères des grands lacs péri-alpins français depuis la fin du XIX<sup>e</sup> siècle. Les communautés planctoniques choisies ont chacune un fort potentiel bio-indicateur et une très grande importance dans la structure et le fonctionnement des écosystèmes lacustres. Les trois perturbations majeures et simultanées survenant lors de la période d'étude se présentent avec des intensités différentes dans les trois lacs. L'évolution temporelle de certains paramètres physico-chimiques au sein de ces lacs est déjà en partie connue grâce à un suivi de limnologie mis en place depuis plusieurs dizaines d'années.*

*Les acquis de la thèse sont de diverses natures. (i) développement méthodologique concernant la reconstruction paléolimnologique des communautés de rotifères à partir des banques d'œufs archivées dans les sédiments, (ii) reconstruction des réponses écologiques des compartiments diatomiques et rotifériens au cours du dernier siècle, (iii) de comparer ces trajectoires entre lacs afin de discriminer les réponses à des perturbations locales de celles à des perturbations plus globales et (iv) d'améliorer notre compréhension des interactions entre toutes ces perturbations.*



## Sommaire

Introduction .....	1
Chapitre 1 : Etat des connaissances sur les perturbations étudiées et justifications du choix des proxys.....	7
1. La paléolimnologie : des informations pour la restauration des lacs dégradés .....	7
2. Les perturbations anthropiques étudiées impactant les systèmes lacustres.....	8
2.1. Eutrophisation .....	8
2.2. Gestion des communautés piscicoles.....	10
2.3. Réchauffement climatique.....	11
3. Choix des modèles biologiques utilisés.....	12
3.1. Les diatomées.....	12
3.1.1. Définitions .....	12
3.1.2. Les diatomées vs perturbations .....	12
3.1.3. Les diatomées en paléolimnologie .....	13
3.2. Les rotifères.....	14
3.2.1. Définitions .....	14
3.2.2. Les rotifères lacustres vs perturbations .....	15
3.2.3. Les rotifères en paléolimnologie .....	16
Chapitre 2 : Démarche et hypothèses.....	19
Chapitre 3 : Matériel et méthodes .....	23
1. Le site d'étude .....	23
2. Carottage et datation.....	24
3. Traitement des échantillons et dénombrement des restes .....	25
4. Analyses statistiques des données .....	27
4.1. Stratigraphies : abondances relatives des taxons et périodes .....	27
4.2. Comparaison des données de paléolimnologie et de limnologie .....	27
4.3. Reconstruction de données phosphore historiques à partir des diatomées archivées dans les sédiments par fonction de transfert.....	27
4.4. Le Modèle Additif Généralisé.....	28
4.4.1. Choix des estimateurs .....	28
4.4.2. Mise en œuvre du Modèle Additif Généralisé.....	30
4.5. Analyse Canonique des Correspondances (ACC) .....	31
Chapitre 4 : Histoire de la trophie dans les lacs d'Annecy, du Bourget et Léman depuis ~ 150 ans : reconstruction des concentrations en phosphore total et évaluation des biais taphonomiques. ....	33
Introduction.....	37
1. Results .....	38
1.1. Comparison of limnological and paleolimnological data in Lake Geneva .....	38
1.2. Changes in the subfossil diatom assemblages .....	40
1.3. Transfer functions .....	42
2. Discussion.....	44
2.1. Fidelity of subfossil records .....	44
2.2. Lake trophic histories.....	46

2.3. Total phosphorus reconstructions .....	46
2.4. Reference conditions and present state.....	48
Conclusions .....	48
 Chapitre 5 : Réponses des communautés de diatomées au réchauffement climatique, comparaison inter-lacs.....	51
Introduction.....	55
1. Results .....	56
1.1. Principal component analysis .....	56
1.2. Additive models .....	56
2. Discussion.....	61
2.1. Lake nutrient concentration has been the main factor structuring diatom communities over the last century.....	62
2.2. Changes in top-down control as a result of fisheries management practices can significantly cascade down to the diatom communities.....	63
2.3. Climate change as a significant structuring factor over the 30 last years.....	64
Synthesis .....	67
Supporting information 1 .....	69
Supporting information 2.....	71
 Chapitre 6 : Les œufs de rotifères, nouveaux outils en paléolimnologie et potentiels indicateurs de l'impact des activités anthropiques sur les communautés lacustres.....	73
Introduction.....	75
1. Résultats .....	76
1.1. Vue d'ensemble.....	76
1.2. Analyse canonique des correspondances .....	79
2. Discussion.....	81
2.1. Conservation des œufs de rotifères dans les archives sédimentaires et détermination sur critères physiques .....	81
2.2. Pourquoi travailler sur des morphotypes .....	81
2.3. Trajectoire des morphotypes d'œufs de durée de rotifères vs conditions environnementales .....	82
3. Perspectives .....	84
Annexe.....	85
 Chapitre 7 : Discussion.....	89
1. Apports méthodologiques Les restes emprisonnés dans les sédiments nous permettent-ils de reconstruire fidèlement les changements opérés au sein des communautés étudiées ?.....	89
2. Quels sont les apports de ce travail quant à la connaissance de l'histoire récente des grands lacs péri-alpins?.....	91
2.1. Comment la composition des communautés de diatomées planctoniques a-t-elle évolué lors du dernier siècle ? .....	91
2.2. Description de l'évolution du statut trophique de nos lacs ?.....	91
2.3. Quelles sont les causes environnementales des profonds changements observés dans l'histoire de ces communautés ?.....	93

2.4. Les œufs de durées de rotifères pourraient-ils devenir de bons outils en paléolimnologie ?.....	95
3. Perspectives .....	96
3.1. Améliorer et étoffer la paléolimnologie .....	96
3.2. Restaurer et surveiller les écosystèmes lacustres.....	97



## Listes des Figures

Figure 1 : Les communautés de diatomées lacustres .....	12
Figure 2 : Les différentes étapes nécessaires à la reconstruction de l'évolution d'un paramètre physico-chimique par fonction de transfert. ....	14
Figure 3: Localisation géographique et caractéristiques morphologiques des trois lacs étudiés. ....	23
Figure 4 : Trajectoires des trois forçages environnementaux considérés : concentration en phosphore total ( $\mu\text{g L}^{-1}$ – données reconstruites à partir des abondances en daphnies), longueur des griffes post-abdominales ( $\mu\text{m}$ ) (les courbes en pointillés correspondent à l'erreur standard), températures de l'air ( $10^{-1}$ °C, valeur annuelle ou estivale de l'anomalie par rapport à la moyenne observée entre 1901 et 2000 représentée par la ligne en pointillés.....	30
Figure 5 : Comparison of the major planktonic diatom species in the subfossil diatom record and in the phytoplankton samples (relative abundances in the diatom community %) of Lake Geneva 1977-2007 (black line: paleolimnological data; grey silhouette phytoplankton data).....	40
Figure 6 : Summary diatom stratigraphies of the most common taxa (relative abundances) in the three studied lakes.....	41
Figure 7 : Diatom-inferred total epilimnetic phosphorus ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (black line; bars indicate bootstrap estimated SEP) compared with long-term measured epilimnetic P concentrations in the study lakes (circle; annual values) and abundance of subfossil Daphnia per g of dry sediment. ....	44
Figure 8 : Diatom species loadings on the two PC in the principal component analyses summarizing temporal changes in the diatom community structure of the three studied lakes.....	59
Figure 9 : Temporal contribution of covariates selected in final GAMs (Daphnia inferred TP, the length of Daphnia post-abdominal claws and annual air temperature for Lakes Annecy and Bourget or summer air temperature for Lake Geneva) fitted to diatom PC1 and PC2 for the three studied lakes. The grey lines are approximate 95% pointwise confidence interval on the contribution. Where the dashed lines include the zero lines, the contribution of the covariate is not statistically significantly different from the intercept. The order of covariates for each lake corresponds to the importance of their contribution to explain the fitted diatom PCs scores.....	60
Figure 10 : Seasonal dynamics of the studied species in Lake Geneva between 1974 and 2011 using monitoring dataset (Database SOERE- INRA of Thonon-les-Bains – France). Average abundances were calculated for each month and each species over this period . ....	66
Figure 11 : Linear correlation between abundances of Daphnia remains and measured total phosphorus concentrations in the three studied lakes.....	70
Figure 12 : Variations of Daphnia inferred and diatom inferred total phosphorus concentrations in the three studied lakes since 1850.....	70
Figure 13 : Residuals vs. fitted values plots, residuals vs. time plots and observed values vs. fitted values plots for the two first axes of the PCA for the three studied lakes. ....	71
Figure 14 : Top panel: Observed and GAM fitted values for the first two PCA axis scores from the three lakes. The dotted lines are an approximate 95 % pointwise confidence interval on the fitted values. Bottom panel: Time series of the first two PCA axis scores from the three lakes. The gray lines are LOWESS smoothers fitted through the observations to highlight trends in an exploratory manner. ....	71
Figure 15 : Stratigraphie résumée aux principaux morphotypes retrouvés des œufs de durée de rotifères (abondance relative - %) dans les trois lacs étudiés depuis 1850 (âge AD).....	78
Figure 16 : Analyses canoniques des correspondances entre les abondances relatives des principaux morphotypes d'œufs de durée de rotifères et les estimateurs choisis pour représenter l'évolution des perturbations anthropiques étudiées (TP : concentrations en phosphore total reconstruite à partir des abondances en fossiles de daphnies dans les sédiments ; DL : taille des griffes postabdominales de daphnies fossiles ; T : moyennes annuelles de température de l'air) dans les trois lacs.....	80



## Listes des Tableaux

Tableau 1 : Les 7 classes trophiques de l'OCDE. ....	9
Tableau 2 : Nom de chacune des carottes de sédiments récoltées dans les trois lacs et des opérateurs ayant compté et déterminé les restes fossiles et périodes étudiées dans chaque volet.....	25
Table 3 : Indval method results. Only the species with a significant p-value (<0,05) are presented. These species are characteristics of one of the two compared datasets. The species of the group 1 (last column) are only present in the paleolimnological dataset, the species of the group 2 are present in the two datasets but are characteristics of the paleolimnological dataset, the species of the group 3 are only present in the limnological dataset and the species of the group 4 are present in the two datasets but are characteristics of the limnological dataset. ....	39
Table 4 : Performance of the different tested transfer function models (r <sup>2</sup> : Bootstrapped Squared correlation between inferred and observed values, Model RMSEP: Root mean squared error of prediction evaluated through bootstrap, Deeper slices SEP: standard error of the prediction in the deepest slices of each core) Unit: log <sub>10</sub> TP concentration.....	43
Table 5 :Summary for the final GAMs fitted to diatom PCs scores for each lake. Only covariates explaining variance in the response were presented in the table and they were arranged in ascending order of their contribution to the final GAMs. LABEL OF COLUMNS: proportion of variance (%), deviance explained (%; deviance is a measure of residual variation around the final GAM models analogous to the sum of square in linear regression), edf (effective degrees of freedom for the regression spline), res. df (reference degrees of freedom used to compute the P), F (F-statistic), P (associated probabilities). COVARIATES: DaTP (Daphnia inferred Total Phosphorus Concentration), DL (the length of Daphnia post-abdominal claws), AT (annual air temperature), ST (summer air temperature). ....	57
Table 6: Summary for relationships linking the abundance of Daphnia sub-fossil remains retrieved from the sediment archives (Alric <i>et al.</i> , 2013) and TP concentration monitored in the water column (SOERE-INRA database). ....	69
Tableau 7 : Présence ( + ) / Absence ( - ) des différents morphotypes (MT) d'œufs de durée de rotifères dans les trois lacs étudiés.....	77
Tableau 8 : Eigenvalues, proportion de variance expliquée (%) et coefficient de corrélation de Pearson (corrélation entre un axe résumant les scores des espèces et un axe résumant les scores des paramètres environnementaux testés).....	79



## Introduction

---

L'eutrophisation des milieux aquatiques, et en particulier des milieux lenticques, est reconnue comme un phénomène « universel » depuis Vollenweider (1968) jusqu'au rapport de synthèse du Millenium Ecosystem Assessment (MEA, 2005). Les expériences en vraies grandeurs sur des plans d'eau entiers ont, de longue date, démontré le rôle clé du phosphore dans « l'apparition », le développement de l'eutrophisation des eaux douces (Hecky and Kilham, 1988; Schindler, 1977). La lutte contre cette dégradation de la qualité des écosystèmes des eaux de surface s'est organisée en fonction des connaissances sur les causes de son déclenchement et la hiérarchie des facteurs pilotant les flux telles qu'elles apparaissent dans les années 1970, avec comme cible principale les apports externes en phosphore, d'où la mise en place de tout un ensemble de mesures de maîtrise du P sur les bassins versants (Barroin 2003). Un fort accent est mis sur le traitement des eaux usées domestiques qui constituent alors souvent la plus forte contribution aux flux de phosphore. Les produits d'entretien ménagers contenant des tripolyphosphates sont mis en cause et parfois interdits ou soumis à des restrictions. Parallèlement, se développe l'installation de stations d'épuration équipées de traitement de déphosphatation (Barroin 2003). Il en résulte une baisse de la charge externe, puis des concentrations des plans d'eau en phosphore. Les lacs suisses (lacs de Brienz, de Walenstadt ou des Quatre-Cantons) sont de bons exemples de cette réoligotrophisation avec un retour à des concentrations en phosphore (sous forme d'ions phosphates notés dans ce texte  $\text{PO}_4^{3-}$ ) à nouveau inférieures à  $5 \mu\text{gP. L}^{-1}$  depuis la fin des années 1990 (Spaak, 2012). Même succès pour le lac d'Annecy : l'installation, dès les années 1980, de collecteurs d'eaux usées circulaires rejetant les eaux usées à l'aval du lac, permet le maintien de l'état oligotrophe.

D'autres perturbations anthropiques locales influencent l'état des lacs. Ainsi, la gestion des populations piscicoles (pratiques de pêche, soutien aux populations, introduction de nouvelles espèces (Champigneulle *et al.*, 2001; Gerdeaux *et al.*, 2006) impacte tous les compartiments de l'écosystème lacustre et, finalement, par une suite d'effets en chaîne, agit sur la qualité de ses eaux. C'est le contrôle top-down (Carpenter and Kitchell, 1996).

Les causes des changements observés au sein des écosystèmes lacustres ne sont cependant pas uniquement locales (Battarbee *et al.*, 2005) : à mesure que les études sur les activités anthropiques et leurs effets se succèdent, les preuves de l'impact d'une perturbation globale, le réchauffement climatique, s'accumulent (Winder *et al.*, 2009). Quand la température s'accroît, elle peut influencer directement sur la productivité et la composition des communautés algales : les diatomées tendent à être les plus abondantes dans le phytoplancton ou sont souvent remplacées par des cyanobactéries. Le réchauffement climatique peut aussi agir de façon indirecte sur les communautés algales : (i) il participe au relargage accru de nutriments phosphorés emprisonnés dans les sédiments, du fait d'une température plus élevée (ce relargage favorise la productivité intense de ces communautés malgré des apports externes limités en

nutriments (Tadonlélé, 2010) ce qui réduit l'efficacité des mesures de restauration déjà prises, (ii) il semble favoriser la stabilité de l'hypoxie benthique (Jenny, 2013) des lacs préalablement eutrophes et en cours de réoligotrophisation. Tout ceci souligne des interactions entre les différentes perturbations.

La composition des communautés de diatomées dans les lacs en cours de restauration indique qu'elle reste assez différente de celle qui était observable avant l'intensification des activités anthropiques. C'est une des observations faites par Rühland *et al.* (2008), suite à l'analyse de l'évolution des compositions spécifiques des communautés de diatomées dans 200 lacs de l'hémisphère nord, qui met en évidence l'apparition en forte abondance des espèces de *Cyclotella* au détriment des espèces d'*Anulacoseira*. Le retour aux compositions spécifiques de référence n'étant pas observable, il est possible de se demander si ce ne serait pas qu'un simple retard. L'abondance de *Cyclotella comensis*, par exemple, apparaît aujourd'hui redevenue semblable aux abondances observables avant le début de l'eutrophisation dans le lac Majeur, en Italie (Marchetto *et al.*, 2004), même s'il a fallu du temps après la chute du niveau trophique, ce retour est bel et bien effectif. Mais l'apparition, de nouvelles espèces en forte abondance comme *Fragilaria crotonensis*, suggère un second cas de figure caractérisé par un nouvel équilibre et une nouvelle diversité au sein des communautés, reflétant le poids accru de l'intervention d'autres forçages environnementaux. En effet, bien que la concentration en phosphore soit apparue comme une variable de forçage majeure du fonctionnement des communautés planctoniques dans les années 1970, certains travaux montrent qu'il est nécessaire de considérer le rôle et le poids d'autres variables de forçage pour comprendre les réponses écologiques des lacs aux mesures de restauration (Bennion *et al.*, 2011).

Aujourd'hui, dans des lacs en cours de réoligotrophisation, l'effet du réchauffement climatique s'ajoute donc aux effets variés de 150 ans d'activités anthropiques locales affectant les lacs. Il en résulte des changements écologiques, hydrodynamiques et biogéochimiques déterminant de nouvelles trajectoires des écosystèmes lacustres.

Ces constats amènent différentes questions complémentaires :

- **Quel est l'impact du réchauffement climatique sur les communautés lacustres ?**
- **Comment le réchauffement climatique interagit-il avec les pressions locales ?**
- **L'impact du réchauffement climatique et les interactions entre perturbations sont-ils toujours les mêmes quels que soient les lacs ?**

Répondre à ces questions permettra de savoir comment mieux prendre en compte la nouvelle situation environnementale et son impact sur l'effort de restauration des milieux lacustres. Ces questions sont posées dans le cadre du projet IPER-RETRO (ANR VMCS 2009-2013 - [http://www6.inra.fr/iper\\_retro](http://www6.inra.fr/iper_retro)), regroupant sédimentologues, géologues et écologues et s'intéressant aux lacs péri-alpins. Son objectif est d'étudier l'impact de perturbations anthropiques locales (empoisonnement et phosphore) et globales (température) sur les compartiments biologiques et biogéochimiques des écosystèmes lacustres, par le biais d'études menées à partir d'archives sédimentaires et visant la discrimination des effets des perturbations

locales et globales. Il s'agit d'apporter de nouveaux éléments sur la variabilité des réponses au réchauffement climatique selon les lacs et selon la nature, l'intensité et la durée de perturbations locales. La difficulté à laquelle s'est confrontée ce programme consiste en la discrimination et la hiérarchisation des différents changements au sein des écosystèmes lacustres et d'en connaître la ou les causes (Battarbee and Bennion, 2011). Un défi complexe à relever, tout d'abord, parce qu'un même effet direct peut être imputable à plusieurs causes, voire à un cumul, ensuite, parce que chaque changement peut avoir également des effets indirects (en cascade) ou en modulant les effets des autres causes.

Parallèlement au travail présenté ici, trois autres thèses de doctorat ont été menées au sein du projet IPER-RETRO. Elles rendent compte, d'une part, des modifications dans les compartiments biologiques pélagiques (étude sur les communautés de chironomes (Frossard, 2013) et benthiques (étude sur les communautés de cladocères (Alric, 2012), et d'autre part, des évolutions des caractéristiques biogéochimiques (Jenny, 2013). Elles mettent en évidence également une diversité d'interactions entre les forçages anthropiques dans ces trois lacs.

Ma contribution à IPER-RETRO est d'étudier les trajectoires des communautés de diatomées et de rotifères dans ces trois grands lacs périalpins, dans le contexte de l'évolution des perturbations anthropiques auxquelles elles ont été soumises ces ~150 dernières années. **Il s'agit de comprendre comment les modifications des concentrations en nutriments, la gestion piscicole d'une espèce zooplanctonophage et le changement climatique ont contribué à modifier la structure des communautés planctoniques de diatomées et de rotifères dans ces 3 lacs.** Les deux communautés étudiées sont importantes dans la structure des écosystèmes lacustres. Elles répondent à trois perturbations majeures, observables simultanément mais à des intensités différentes dans trois lacs.

Mon travail est organisé en sept chapitres :

- le chapitre 1 montre l'intérêt de travailler sur les écosystèmes lacustres, et d'employer la paléolimnologie, en s'appuyant sur les diatomées et les rotifères comme bio-indicateurs,
- le chapitre 2 (Matériel et méthodes) présente ensuite le site d'étude, les techniques de carottage, de datation et d'extraction des restes biologiques sédimentaires ainsi que les méthodes de dénombrement et de détermination de ces restes. Les analyses statistiques utilisées y sont également introduites (elles sont décrites plus précisément dans les chapitres spécifiques présentant les résultats obtenus),
- le chapitre 3 expose les différentes hypothèses de travail qui seront détaillées et explorées dans les trois chapitres suivants,

- le chapitre 4 correspondant à la première partie de l'étude des communautés de diatomées répond à plusieurs objectifs :
  - **reconstruire l'évolution de la composition de ces communautés sur toute la période étudiée par des méthodes de paléolimnologie.**
  - **vérifier que l'image obtenue de cette évolution est réellement représentative.**
  - **reconstruire numériquement l'évolution de la concentration en phosphore total dans les trois lacs par des fonctions de transfert afin d'améliorer les connaissances sur les conditions régnant avant l'eutrophisation.**

L'évolution récente de l'abondance de certaines espèces pose alors de nouvelles questions. En effet, les niveaux trophiques sont aujourd'hui proches de ceux de la période pré-eutrophisation mais les compositions des communautés actuelles et celles des communautés de la période précédant l'eutrophisation sont différentes.

- le chapitre 5, la seconde partie de l'étude des communautés de diatomées, a donc pour objectif principal **de mettre en évidence les impacts d'autres perturbations survenues plus récemment et les interactions entre ces perturbations,**
- le chapitre 6 présente l'étude sur les communautés de rotifères dont les objectifs sont :
  - **de retrouver, différencier et quantifier, dans les archives sédimentaires, les œufs de durée**
  - **de mettre en évidence les changements observables au sein des communautés.**
  - **de mettre en évidence les impacts des perturbations anthropiques et l'évolution de l'intensité de chacune sur ces communautés,**
- le chapitre 7 reprend de façon plus globale l'ensemble des résultats afin d'apporter des éléments de synthèse à la question de l'importance de la prise en compte du réchauffement climatique dans la mise en place de mesures de restauration des écosystèmes lacustres et propose également des idées de futurs travaux de recherches.





## Chapitre 1 : Etat des connaissances sur les perturbations étudiées et justifications du choix des proxys

---

### 1. La paléolimnologie : des informations pour la restauration des lacs dégradés

Les milieux aquatiques continentaux (rivières, lacs, nappes phréatiques accessibles) renferment 1/300 du volume total d'eau terrestre (Frontier *et al.*, 2008). De part le besoin en eau, et *a fortiori* douce, indispensable à toute activité anthropique (pêche, agriculture, industrie, etc.), les lacs constituent une opportunité très intéressante pour les populations humaines. Mais les conditions pristines passées de ces milieux se sont peu à peu détériorées (Bennion *et al.*, 2004). Avec l'intensification de ses activités, l'Homme a, autour des milieux aquatiques continentaux et dans ces derniers, profondément modifié les écosystèmes en les acidifiant, en augmentant la salinité, les concentrations en métaux lourds, en polluants divers, en nutriments (Smol, 2009) et ce jusque dans les lacs d'altitude les plus reculés (Battarbee *et al.*, 2009).

D'une manière générale, face aux effets indésirables des perturbations anthropiques, il faut maintenant exploiter les écosystèmes naturels d'une façon plus raisonnée et chercher leurs limites d'adaptabilité aux modifications qui leur sont imposées. Aujourd'hui, la « santé » d'un écosystème n'est plus reliée à sa complexité, à sa stabilité ou son immuabilité en composition et en structure mais bien à sa « faculté de reconstruction après perturbation » (Frontier *et al.*, 2008). Certaines mesures sont prises dans les lacs fortement anthropisés afin de réduire les concentrations en nutriments, un objectif devenu majeur (Søndergaard *et al.*, 2007). La « restauration » est le retour des conditions environnementales à ce qu'elles étaient avant que les activités anthropiques n'aient provoqué la détérioration de la qualité des milieux, c'est à dire, le retour à l'« état de référence » (Battarbee *et al.*, 2005). Mais pour restaurer un milieu et en définir son domaine de résistance aux activités anthropiques, autrement dit pour qu'un milieu recouvre la « santé » et ce de façon « durable », il est nécessaire d'en connaître les réponses potentielles aux perturbations auxquelles il est soumis. Dès lors la reconstruction d'états passés devient un outil précieux de réflexion qui permet de connaître quelles étaient les conditions environnementales et les caractéristiques des populations constituant ces écosystèmes avant que les perturbations anthropiques ne s'intensifient et de bien comprendre quelles perturbations ont impacté ce milieu et de quelle manière.

Les suivis de limnologie apportent un nombre appréciable de connaissances utiles. Malheureusement, les bases de données disponibles aujourd'hui présentent certains points négatifs qui rendent difficile, voire impossible, leur utilisation pour établir l'état de référence : irrégularité temporelle dans le recueil des données, changement dans les protocoles d'échantillonnage ; mais surtout peu de données ont été récoltées avant l'intensification des perturbations anthropiques. Or, il faudrait pouvoir remonter le temps sur soixante, quatre-vingts voire cent ans selon les lacs (Battarbee *et al.*, 2005). Le développement et

L'utilisation des méthodes de paléolimnologie permettent une rétrospective rétro-observation susceptible de fournir des bases pour une gestion site-spécifique et plus éclairée des milieux lacustres (Smeltzer and Swain, 1985).

John P Smol (1992) définit la paléolimnologie : « *Paleolimnology is a multidisciplinary science that uses physical, chemical, and biological information preserved in sedimentary profiles to reconstruct past environmental conditions in aquatic systems.* ». C'est donc l'étude de l'Histoire des lacs par l'utilisation des archives sédimentaires. Il est possible de remonter le temps sur quelques décennies, siècles, millénaires. La résolution temporelle peut être de l'ordre de l'année voire de la saison (Jacques *et al.*, 2008). Cette précision est cruciale car, il est possible de comparer les observations annuelles, apportées par l'étude des archives sédimentaires avec celles disponibles dans les bases de données de limnologie (Smol, 1992). Ce type de comparaison permet de valider la possibilité d'utiliser les méthodes de paléolimnologie et d'en connaître les limites.

Les méthodes de paléolimnologie sont également adaptables à différents types de lacs, aux différentes conditions physico-chimiques. La paléolimnologie permet donc d'améliorer les connaissances sur chaque lac de façon très spécifique. Or il apparaît qu'il est possible de comprendre comment fonctionne un écosystème lacustre, mais qu'il est impossible de généraliser cette connaissance à tous les autres, compte tenu des spécificités intrinsèques de chaque lac et seules de solides connaissances sur le fonctionnement propre d'un lac permettent de mettre en place les mesures de restauration qui lui sont adaptées (Bennion *et al.*, 2011).

## 2. Les perturbations anthropiques étudiées impactant les systèmes lacustres

Trois forçages semblent majeurs dans les lacs d'Annecy, du Bourget et Léman : deux perturbations locales, les variations de la concentration en phosphore total et la gestion des communautés piscicoles et une perturbation globale, le réchauffement climatique. L'intérêt d'étudier ces trois perturbations ensemble est fort puisqu'elles affectent de nombreux lacs tempérés.

### 2.1. Eutrophisation

L'eutrophisation est d'abord un phénomène naturel : c'est l'enrichissement progressif d'un écosystème aquatique, stagnant ou lentique, en matière organique par sa production primaire (Ricklefs et Miller 2005). Elle conduit au stade ultime de l'évolution d'un lac, avant qu'il ne soit remplacé par un écosystème « étang » ou « marais » par comblement de sa cuvette par les sédiments. Cette évolution naturelle est très lente (en millier d'années échelle des temps géologiques). Cependant le phénomène d'enrichissement en matière organique peut être très fortement accéléré du fait de pollutions provoquant un enrichissement excessif et non contrôlé en phosphore : excessif parce qu'il entraîne une production primaire trop importante qui, à terme, ne peut être recyclée, non contrôlé parce que les apports ne sont pas voulus,

contrairement aux étangs de pisciculture par exemple, mais résultent de rejets urbains ou industriels, ou encore du transfert à partir des sols. L'eutrophisation accélérée est bien une pollution qui touche (ou a touché) de grands lacs, comme le lac du Bourget et le Léman, mais aussi la plupart des lacs de retenue (Lac de Villerest). Dès la fin des années 1960 (Vollenweider 1968), l'OCDE met l'accent sur le caractère défavorable de l'eutrophisation accélérée et sur le rôle du phosphore.

Le phosphore est le principal facteur responsable du déclenchement et du développement de l'eutrophisation (agence de l'eau RMC 1996, Barroin 2004). Les lacs sont en conséquence classés en 7 classes de niveaux trophiques selon leur concentration en phosphore total, en chlorophylle a et selon la transparence des eaux (Tableau 1).

**Tableau 1 : Les 7 classes trophiques de l'OCDE.**

	phosphore total ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	chlorophylle a ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	transparence (m)
ultra-oligotrophe	< 4	< 1	> 12
oligotrophe	4 - 10	1 - 3	12 - 5
oligo-mésotrophe	7 - 13	2,5 - 3,5	6 - 4
mésotrophe	10 - 30	3 - 8	5 - 2,5
méso-eutrophe	20 - 35	6,5 - 10	3 - 2
eutrophe	30 - 100	8 - 25	2,5 - 1
hyper-eutrophe	> 100	> 25	< 1

Cependant, il est impossible d'expliquer le processus complet et le niveau d'eutrophisation atteint par un lac en ne considérant que les teneurs en  $\text{PO}_4^{3-}$ . D'autres facteurs interviennent, notamment ceux qui contrôlent la dégradation de la matière organique et de la nécromasse et le développement de la biomasse. Il en est ainsi de la température par le biais de la phase de stratification thermique.

L'eutrophisation accélérée se manifeste par l'accumulation de matière organique dans l'écosystème. Quatre causes à cela : la surproduction de biomasse, la limitation, voire l'arrêt, de la dégradation *in situ* de la nécromasse, la faible consommation de la production primaire, enfin la non exportation de cette biomasse hors de l'écosystème. En phase de stratification thermique, l'oxygène produit par la photosynthèse dans la zone euphotique y reste. De plus la solubilité de l'oxygène est limitée et varie avec la température. Ainsi la zone profonde, où se déroule une bonne partie de la dégradation de la matière organique, devient anoxique. Lorsque l'oxygène est rare, d'autres oxydants entrent en jeu ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{CO}_2$ ,...) ce qui conduit à la production de  $\text{NH}_4^+$  et de  $\text{CH}_4$ , mais aussi au développement de populations de bactéries anaérobies, qui dégradent la nécromasse par fermentation. La dégradation est alors partielle et les résidus s'accumulent dans les sédiments. La raréfaction de l'oxygène et l'accumulation de matière organique ainsi que de produits toxiques, expliquent la diminution de la richesse spécifique dans les lacs eutrophisés, accompagnée de l'hyperdéveloppement de populations spécialisées, dans chacun des niveaux trophiques. Ces conséquences peuvent être encore aggravées lorsque des cyanobactéries se développent.

En effet en cas de compétition entre différentes espèces d'algues dans des conditions eutrophes, les cyanobactéries sont souvent les plus compétitives. L'une des caractéristiques des cyanobactéries est la croissance très rapide de leurs populations, plus rapide que celles des algues, qui sont, elles, souvent limitées par un rapport N/P faible (Redfield *et al.* 1963). Les cyanobactéries ne sont utilisées comme nourriture que par un petit nombre de consommateurs (toxicité, populations coloniales,...). N'étant que peu consommées, faiblement exportée, leur biomasse s'accumule, conduisant à des « fleurs d'eau » ou *blooms*. Le lac est alors dystrophe (Barroin, 1995) : l'anoxie est sévère et s'aggrave, les *blooms* se transforment en nécromasse dans la masse d'eau et sur les sédiments, les processus anaérobies se généralisent, des toxiques s'accumulent, la richesse spécifique diminue encore (les cyprinidés remplacent les salmonidés,...) et les sédiments peuvent également relarguer du phosphore (charge interne). L'eutrophisation peut ainsi s'auto-entretenir.

## 2.2. Gestion des communautés piscicoles

Les communautés piscicoles ont un rôle écologique essentiel dans la structuration du réseau trophique lacustre ; elles ont également un fort intérêt économique. L'exploitation de ces communautés peut avoir des conséquences désastreuses tant sur celles-ci (surexploitation) que sur les écosystèmes lacustres dans leur intégralité (Schindler, 2001).

Les lacs d'Annecy, du Bourget et Léman sont peuplés par des corégones. Ces poissons zooplanctonophages exercent une pression de prédation sur le zooplancton qui se traduit par une diminution de l'abondance en individus de grande taille (sélectionnés préférentiellement par le prédateur) et donc une augmentation de l'abondance en individus de petite taille. Cette modification de la structure de la communauté zooplanctonique se répercute par la suite sur la communauté phytoplanctonique et donc les diatomées : la pression de broutage par le zooplancton herbivore est diminuée, entraînant une augmentation de la biomasse algale.

A côté de cet effet *top-down*, cette même population piscicole peut avoir également un effet *bottom-up*. Selon St.-Jacques et ses collaborateurs (2005), différents paramètres trophiques varient en effet simultanément :

- la quantité de nutriments disponibles,
- la nature des nutriments (le taux de nutriments inorganiques dissous augmente avec la densité de poisson : c'est sous cette forme que les poissons les excrètent et sous cette forme, ils sont plus exploitables par le phytoplancton)
- le transport des nutriments : le transport des nutriments par les organismes zooplanctoniques devient moins important et le transport par les poissons augmente alimentant donc plus l'épilimnion pélagique.

Encore une fois une augmentation de la biomasse algale peut en résulter. Harman *et al.* (2002) mettent en évidence des modifications en taxons dans les communautés zooplanctoniques et phytoplanctoniques

preuves d'une évolution vers un état plus eutrophe suite à l'introduction du gaspareau (*Alosa pseudoharengus*) dans le lac Ostego (USA, NY).

### 2.3. Réchauffement climatique

Température, précipitations, vent, rayonnement solaire sont autant de paramètres par lesquels le climat et son évolution influent sur les écosystèmes lacustres (Hughes, 2000). Leurs évolutions récentes causent des changements importants des caractéristiques physico-chimiques des milieux et des communautés.

La température contrôle les interactions physiques, chimiques et biologiques, et par leur biais, l'activité enzymatique des organismes et le développement des communautés (Falkowski and Raven, 1997). Une température qui baisse entraîne (i) une assimilation des nutriments moins efficace, (ii) une photosynthèse diminuée, (iii) un taux d'accroissement réduit des communautés phytoplanctoniques (Falkowski and Raven, 1997). Une température en hausse permet à l'inverse l'accroissement de la productivité de ces communautés algales planctoniques ou benthiques (Wade *et al.*, 2002).

De plus, la température contrôle la stratification dans la colonne d'eau en termes de durée et d'intensité influant sur la répartition des nutriments et leur abondance dans les couches les plus superficielles et influant donc sur l'intensité potentielle du développement algal.

Enfin, la température est l'un des paramètres qui contrôlent la rétention et le relargage des nutriments dans ou hors des dépôts sédimentaires (Gomez *et al.*, 1998; Søndergaard *et al.*, 1999).

Les effets du réchauffement climatique dépendent des lacs en eux-mêmes, notamment de leur taille et de leur profondeur. Ainsi les lacs peu profonds se montrent très sensibles aux variations climatiques ; la température de la colonne d'eau entière, par exemple, est modifiée en fonction de la température de l'air de façon très rapide et directe. Les communautés planctoniques de ces lacs sont profondément modifiées (Gerten and Adrian, 2000). Les grands lacs profonds, comme les lacs d'Annecy, du Bourget et le Léman, n'apparaissent pourtant pas insensibles aux variations climatiques. Dans le lac Zurich, par exemple, le réchauffement des eaux, même limité à l'épilimnion et dû aux températures estivales de l'air plus élevées depuis les années 1980, a tout de même avancé la date de stratification de la colonne d'eau (Livingstone, 2003). Or les caractéristiques temporelles de cette stratification et son intensité régulent la dynamique saisonnière du phytoplancton (Smol *et al.*, 2005; Rühland *et al.*, 2008) ; le réchauffement climatique influence ainsi cette dynamique.

### 3. Choix des modèles biologiques utilisés

#### 3.1. Les diatomées

##### 3.1.1. Définitions

Les diatomées (*Bacillariophyta*) sont des algues brunes unicellulaires. Le nombre d'espèces est estimé de 20 000 à 100 000 (Mann and Vanormelingen, 2013). La cellule est enveloppée dans une paroi de silice hydratée, le frustule, dont les caractéristiques morphologiques, observables en microscopie (formes et ornements, stries, pores, ponctuations) servent à la détermination des différentes espèces. Leur cycle de vie est court, de quelques heures à quelques jours (Baars, 1983) et leur reproduction principalement végétative (la reproduction sexuée n'apparaissant que lors de changements défavorables des conditions environnementales). Du bémier aux océans, elles colonisent tous les milieux aquatiques et adoptent des modes de vie spécifiques, planctoniques ou benthiques et dans les lacs, différentes communautés sont observables (Figure 1).

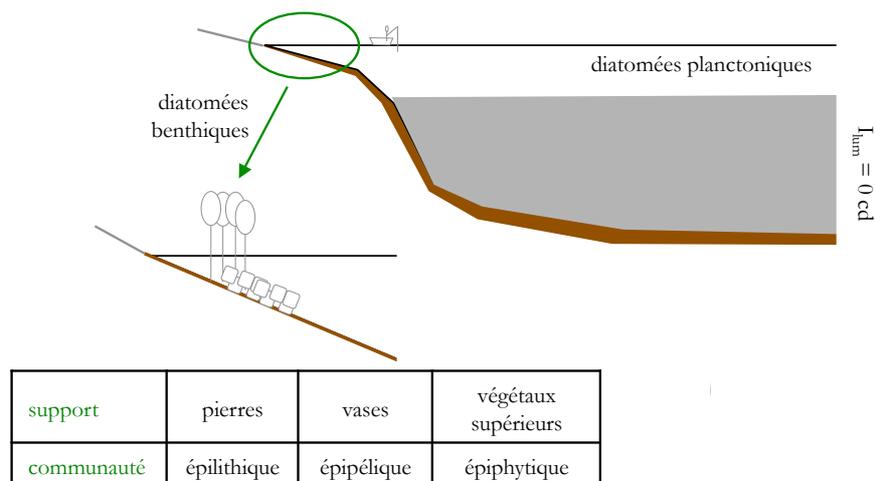


Figure 1 : Les communautés de diatomées lacustres

##### 3.1.2. Les diatomées vs perturbations

Les diatomées constituent une part importante de la biomasse algale lacustre, leur abondance plus forte pendant certaines saisons de l'année (Sommer *et al.*, 1986; Sommer *et al.*, 2012) joue un rôle clé dans le développement des communautés zooplanctoniques (Winder and Schindler, 2004a) puis de tous les niveaux trophiques supérieurs (Julius and Theriot, 2010).

Elles apparaissent également comme un excellent bioindicateur (Rimet, 2012). En effet, ces algues sont sensibles à de nombreux paramètres : la lumière, la température, le pH, la salinité, la teneur en silice, les teneurs en nutriments et en matières organiques, la pression de prédation (Round *et al.*, 1990; Van Dam *et*

*al.*, 1994; Patrick, 1977). Les préférences écologiques pour ces différents paramètres des espèces les plus rencontrées sont aujourd'hui très connues. Les diatomées constituent donc un outil très complet pour mettre en évidence la nature des changements dans un écosystème aquatique. L'utilisation des diatomées permet de caractériser un milieu en apportant des connaissances sur ses propriétés physico-chimiques (Lavoie *et al.*, 2006). De plus, leur cycle de vie court permet la mise en évidence de changements ponctuels et très localisés (Pérez *et al.*, 2013).

### 3.1.3. Les diatomées en paléolimnologie

Il est possible de retrouver les frustules siliceux de diatomées (Battarbee *et al.*, 2001) et donc d'utiliser le pouvoir bioindicateur de ces dernières en paléolimnologie.

Au cours des dernières années, de nombreuses études consistent en la reconstruction de l'évolution de propriétés physico-chimiques des lacs par l'élaboration de fonctions de transfert. Ainsi l'évolution des concentrations en nutriments (Marchetto *et al.*, 2004; Bennion *et al.*, 2001), du pH (Gasse and Tekaiia, 1983), de la température (Roseacute *et al.*, 2000) a pu être reconstruite dans de nombreux lacs. Ces reconstructions se fondent sur l'évolution des abondances relatives de chaque espèce constituant les communautés et sur leurs préférences écologiques. Plus le nombre d'espèces prises en compte est important et plus les reconstructions obtenues sont robustes. La reconstruction se déroule en deux étapes principales (Figure 2). Une première étape consiste en l'étude, en un nombre de sites d'échantillonnage important, de la composition taxonomique actuelle en diatomées sur une même écorégion (Bennion *et al.*, 1995). Les valves de diatomées dites « actuelles » sont recueillies dans les sédiments les plus superficiels. Cette composition doit ensuite être mise en relation statistiquement avec les relevés physico-chimiques (données obtenues par des méthodes de limnologie) par une analyse canonique des correspondances, par exemple. Le nombre d'échantillons doit être assez important pour obtenir une bonne calibration de la méthode pour l'écorégion considérée. Cette première étape permet d'attribuer aux espèces présentes un optimum et une tolérance pour le paramètre environnemental à reconstruire.

La deuxième étape, consistant à calculer des valeurs du paramètre, est basée sur des comptages de restes de diatomées correspondant à la période temporelle étudiée et les informations sur les préférences écologiques des taxons observés (première étape), permet de reconstruire l'historique de ce paramètre (Battarbee *et al.*, 2002).

L'historique de la concentration en phosphore total ou encore du pH, peut donc être reconstruit dans différentes régions du monde et les conditions environnementales lors de la période qui précède l'intensification des activités anthropiques sont ainsi connues (Bennion *et al.*, 2001; Marchetto and Bettinetti, 1995). Se fondant sur ces conditions dites de « référence », la gestion de ces écosystèmes peut donc consister en la mise en place de mesures visant leur restauration et certaines ont déjà permis de recouvrir une meilleure qualité environnementale (Bennion *et al.*, 2011).

L'historique des niveaux trophiques des trois lacs sera reconstruit par fonction de transfert à partir des restes de diatomées. Mais, ces restes serviront également à mettre en évidence les effets des deux autres perturbations étudiées ici en les distinguant des effets des variations de la concentration en nutriments.

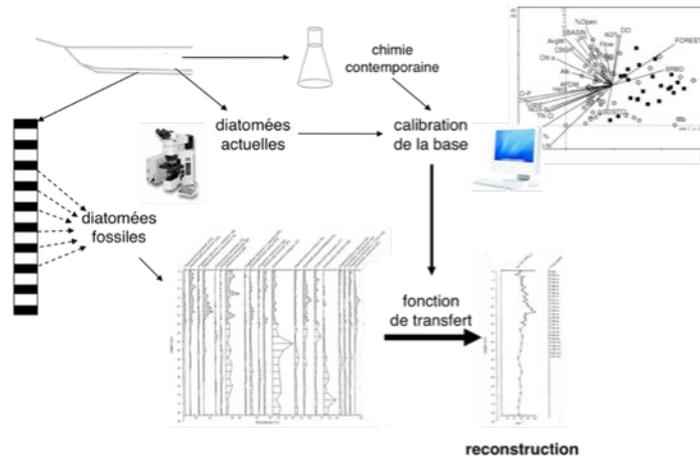


Figure 2 : Les différentes étapes nécessaires à la reconstruction de l'évolution d'un paramètre physico-chimique par fonction de transfert.

### 3.2. Les rotifères

#### 3.2.1. Définitions

Ces organismes de petite taille (2 x 0.5 mm), découverts par Leenwenhoek au 18<sup>e</sup> siècle, ont d'abord été considérés comme des ciliés, puis longtemps classés parmi les vers (appareil excréteur protonéphridien proche de celui des némathelminthes). Enfin ils ont constitué un embranchement, celui des *Rotatoria* ou *Rotifera*. Dans la systématique actuelle cet embranchement est regroupé avec celui des Acanthocéphales (rotifères parasites) dans l'embranchement des *Syndermata* (cuticule produite par des cellules épidermiques syncytiales) (Lecointre et Le Guyader 2006).

Les rotifères vivent dans les milieux aquatiques, ou au moins aqueux (des sols humides aux milieux marins, en passant par les mousses et toutes les eaux douces stagnantes). Beaucoup d'espèces sont libres, d'autres vivent fixées, comme *Conochilus sp* (avec les modifications anatomiques nécessaires). Les espèces pélagiques ont des caractères adaptatifs favorisant la flottabilité : cuticule mince, forme arrondie (*Asplanchna*), réduction du pied, lorica épineuse (*Keratella*, *Polyarthra*). Certaines espèces sont capables de survivre en conditions extrêmes de gel ou de dessèchement (Pourriot 1965). Du fait des adaptations variées présentées par les espèces, des rotifères se rencontrent un peu partout et ils sont considérés comme cosmopolites. Cependant cette répartition mondiale paraît surtout due à l'extrême résistance aux conditions défavorables de leurs œufs de durée, par ailleurs facilement transportés par les animaux migrants (Hymans 1951). S'agissant enfin de la dynamique des populations, les œufs de rotifères se développent rapidement, en quelques heures et la durée de vie d'un individu varie de huit jours à quelques

mois. Les populations croissent donc rapidement. Les densités numériques dépendent évidemment du niveau trophique du milieu : de quelques dizaines d'individus par litre d'eau si le milieu est oligotrophe à quelques dizaines de milliers s'il est eutrophe.

La parthénogénèse thélytoque est le mode de reproduction habituel. L'ovocyte est soit rejeté dans le milieu (*Conochilus sp.*), soit porté par la femelle jusqu'à l'éclosion (*Keratella sp.*), ou encore est développé dans l'oviducte (*Asplanchna sp.*). Une reproduction sexuée, précédant la dégradation des conditions environnementales, se met en place sous l'action de stimuli définis (température, photopériode,...). Les femelles méiotiques sont fécondées par des mâles haploïdes. Elles produisent des œufs de durée, diploïdes, dont le développement est différé en attendant les retours de conditions environnementales favorables (Pourriot et Francez 1986).

### 3.2.2. Les rotifères lacustres vs perturbations

Beaucoup d'études portent sur le compartiment zooplanctonique, au centre du réseau trophique et témoin de toute modification au sein du compartiment phytoplanctonique par un effet *bottom-up* mais également au sein des communautés piscicoles par un effet *top-down* (Jeppesen *et al.*, 2007; Jeppesen *et al.*, 2009). Les communautés de cladocères comme les daphnies et de copépodes sont très utilisées et permettent effectivement la mise en évidence de variations des conditions environnementales, mais les communautés de rotifères semblent quelque peu oubliées.

Les rotifères font le lien entre la chaîne microbienne et le reste du réseau trophique. Ces organismes relient également les producteurs primaires et secondaires (Porter *et al.*, 1988; Shao *et al.*, 2001). Ils se montrent également très sensibles aux variations du niveau trophique des lacs (Balvay and Laurent, 1990) et plusieurs travaux montrent également leur sensibilité importante aux changements climatiques dans les lacs des régions alpines de l'hémisphère Nord (Straile, 2000; Winder and Schindler, 2004b).

Des changements dans les communautés sont observés dans le lac Léman à partir de la fin des années 1980 comme des changements de la structure en taille, avec la dominance de taxons de petites taille (Balvay and Laurent, 1990; Molinero *et al.*, 2006). Les auteurs expliquent ce phénomène par les effets cumulés de la hausse des températures, des différentes relations *bottom-up* et *top-down* et des relations de compétitions entre les grandes et les petites espèces de rotifères et entre les communautés de rotifères et les communautés de cladocères. C'est ce que montrent Molinero *et al.* (2006) en se basant sur les données de limnologie du Léman (1969-1998). Les rotifères apparaissent donc comme des bio-indicateurs susceptibles d'aider à la déconvolution des perturbations anthropiques locales et du réchauffement climatique, dans des approches de rétro-observation.

### 3.2.3. Les rotifères en paléolimnologie

Il est possible de retrouver, dans les archives sédimentaires, des restes issus des communautés zooplanctoniques. Ces restes demeurent encore aujourd'hui peu utilisés bien que leur utilisation regroupe de sérieux avantages présentés dans le paragraphe précédent.

Si les restes de certaines espèces zooplanctoniques (i.e., leur exosquelette chitineux), peuvent être rapidement décomposés, surtout ceux issus des communautés de copépodes et de rotifères, les restes issus des communautés de cladocères semblent être les plus résistants et sont donc tout à fait utilisables en paléolimnologie (Alric, 2012). Les exosquelettes de rotifères ne sont pas toujours bien conservés même s'il y a eu des tentatives d'utilisation (Warner and Chengalath, 1988).

En plus des restes d'exosquelettes, il est également possible de retrouver dans les sédiments les œufs de durée des communautés zooplanctoniques, de rotifères notamment. Leur utilisation en paléolimnologie devrait permettre d'obtenir une image qualitative des changements opérés dans les communautés de rotifères qui pourrait mettre en évidence les variations passées des conditions environnementales, en complément d'autres indicateurs plus souvent utilisés en paléolimnologie, mais ne donnant pas entière satisfaction (Epp *et al.*, 2010).





## Chapitre 2 : Démarche et hypothèses

---

**Les diatomées et les rotifères permettent** d'établir des relations entre la composition de leurs communautés et le niveau trophique du lac, mais également avec la température de la masse d'eau (effet indirect) et les populations piscicoles. Compte- tenu du fort potentiel bio-indicateur de ces organismes, de leur sensibilité à différentes variables de forçage et de leur utilisation possible en paléolimnologie, leur étude est intégrée au sein du programme IPER-RETRO.

La démarche employée repose ensuite sur trois hypothèses principales :

- **(HP1) Les restes contenus dans les sédiments (frustules et œufs de durée) peuvent reconstituer des images représentatives des évolutions passées respectives des communautés de diatomées et de rotifères.**
- **(HP2) L'évolution des abondances relatives des espèces de diatomées permet de connaître l'évolution de la concentration en phosphore total au cours des 150 dernières années.**
- **(HP3) Trois forçages ont un rôle majeur dans les lacs d'Annecy, du Bourget et Léman :**
  - o l'effet *bottom-up* dû aux variations de la concentration en phosphore total,
  - o l'effet *top-down* dû à la gestion des communautés piscicoles, surtout celles de corégones,
  - o le réchauffement climatique.

Afin de valider l'hypothèse **HP1** et donc de vérifier si les restes sédimentaires des communautés de diatomées et de rotifères apportent bel et bien des images représentatives des trajectoires passées de ces communautés, les comptages de ces restes sont comparés aux données du suivi de limnologie SOERE (Battarbee *et al.*, 2012).

La reconstruction, *via* une fonction de transfert, de données numériques historiques à partir de restes sédimentaires (**HP2**) est l'un des principaux apports des méthodes de paléolimnologie (Battarbee *et al.*, 2002). Mais ces données reconstruites doivent être validées en les comparant avec les données de limnologie existantes (Marchetto *et al.*, 2004). Nous avons donc comparé les valeurs reconstruites de phosphore total à celles des données des suivis limnologiques.

Le niveau trophique et le *bottom-up*, le *top-down* et les conditions climatiques sont considérés comme les forçages principaux régissant les changements opérés dans les deux communautés étudiées dans le lac Léman depuis la fin des années 1970 jusqu'à aujourd'hui (Anneville, 2002; Molinero *et al.*, 2006; Rimet *et al.*, 2009). Un modèle additif généralisé adapté aux données de paléolimnologie (Simpson and Anderson,

2009) et une analyse canonique des correspondances (Dufrene, 2003) sont utilisés respectivement pour révéler le rôle de ces forçages (et leur intensité) au sein des communautés de diatomées et ceux apparus au sein des communautés de rotifères au cours des 150 dernières années.

La validation de l'hypothèse **HP3** et l'utilisation de ces méthodes demande d'utiliser des estimateurs pour les trois forçages. Dans cette étude, sont utilisés :

- les abondances en restes de cladocères (Alric *et al.*, 2013) comme base d'un estimateur du niveau trophique,
- l'évolution de la taille moyenne des daphnies (Alric *et al.*, 2013) comme estimateur de la pression *top-down* due à la gestion de la population de corégones,
- les relevés de température de la base HISTALP pour estimer le réchauffement climatique.





### Chapitre 3 : Matériel et méthodes

#### 1. Le site d'étude

Les lacs d'Annecy, du Bourget et Léman sont choisis comme site d'étude. Ces lacs sont assez proches les uns des autres, pas plus de 70 km entre les lacs du Bourget et Léman, les plus distants. Ce sont trois grands lacs profonds situés à des altitudes similaires (Figure 3) qui partagent la même écorégion, la même origine géomorphologique et le même cadre géologique régional.

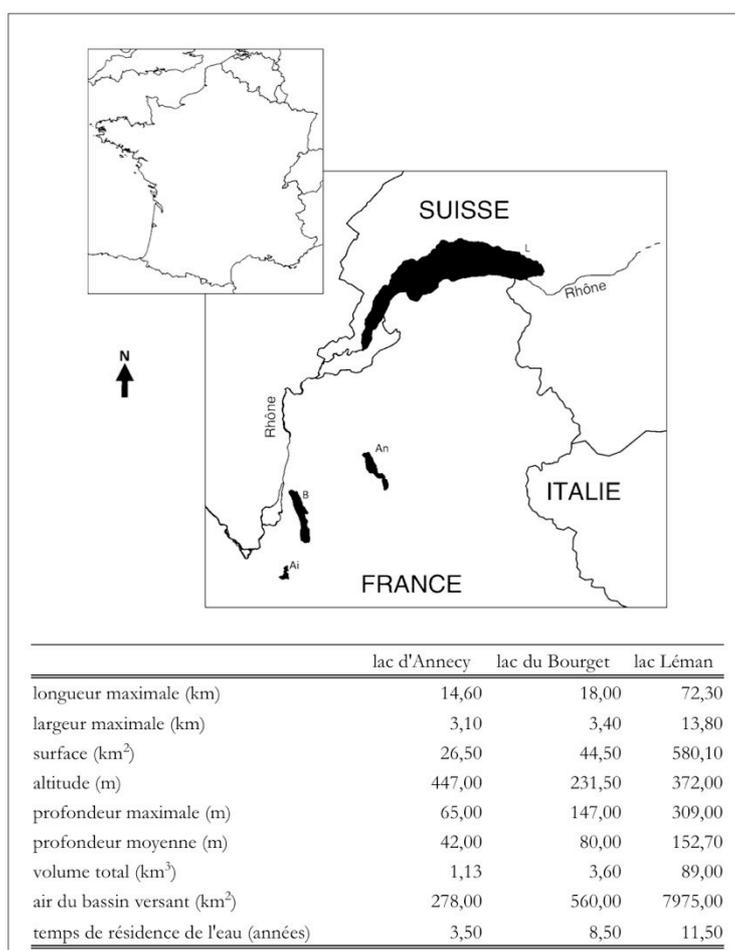


Figure 3: Localisation géographique et caractéristiques morphologiques des trois lacs étudiés.

Certaines caractéristiques géographiques et morphologiques de ces lacs justifient notre choix pour le site d'étude. Tout d'abord, ces trois lacs, se situant dans une zone géographique peu étendue, sont soumis de ce fait à un climat identique de type sub-montagnard (Joly *et al.*, 2010). Le changement climatique peut donc réellement être considéré comme une perturbation partagée par les trois lacs. Dans la région, la température de l'air a augmenté de plus d'1,5°C depuis le début des années 1980 (Auer *et al.*, 2007). Cependant, bien que tous trois soient considérés comme *grands et profonds*, la différence relative de taille

entre eux est importante. La surface du lac Léman est près de 22 fois plus grande que la surface du lac d'Annecy et 13 fois plus grande que celle du lac du Bourget et en termes de volume, la capacité du lac Léman est près de 80 fois plus grande que la capacité du lac d'Annecy et 25 fois plus grande que celle du lac du Bourget. Le lac Léman est également beaucoup plus profond. Leurs périphéries sont fortement urbanisées. L'historique des perturbations anthropiques « locales », déjà en partie connu, montre des différences entre ces trois lacs en termes d'intensité et de durée d'exposition au flux de phosphore. En effet, à partir des années 1930, l'afflux des populations humaines vers les centres industriels de la Savoie s'étant fortement intensifié, les lacs du Bourget et Léman montrent dès les années 1940, 1970 pour le lac d'Annecy, les premiers signes d'eutrophisation (Anneville, 2002; Giguët-Covex *et al.*, 2010; Perga *et al.*, 2010).

Le lac d'Annecy est préservé de l'eutrophisation grâce à l'installation, dès les années 1960, de collecteurs d'eaux usées qui limitent l'apport en nutriments (Balvay). D'ultra-oligotrophe, il ne devient alors qu'oligo-mésotrophe et sa concentration en phosphore total n'excède pas  $7 \mu\text{g L}^{-1}$  depuis la fin des années 1990. Autour des lacs du Bourget et Léman, la mise en place de mesures visant leur préservation se fait attendre au moins dix à vingt ans de plus alors que ces lacs atteignent déjà le statut de lacs eutrophes. Aujourd'hui, ils sont considérés comme mésotrophes avec des concentrations en phosphore total autour de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  (Jacquet *et al.*, 2014).

Les communautés piscicoles comprennent de nombreuses espèces naturelles typiques des grands lacs péri-alpins (Gerdeaux *et al.*, 2006) : corégone (*Coregonus lavaretus*), omble chevalier (*Salvelinus alpinus*), truite (*Salmo trutta lacustris*), brochet (*Esox lucius*), perche (*Perca fluviatilis*), lotte (*Lota lota*) et gardon (*Rutilus rutilus*). Le corégone est introduit à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle dans le lac d'Annecy alors qu'il était présent naturellement dans les lacs du Bourget et Léman. A la suite de sa disparition à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle dans ce dernier, il est réintroduit à partir des années 1920. Dans les trois lacs, le soutien de la population de corégones est mis en place au cours du XX<sup>e</sup> siècle afin de garder des populations exploitables (Champigneulle *et al.*, 2001).

## 2. Carottage et datation

Les carottages de sédiments sont réalisés entre 2004 et 2010 à l'aide d'un carottier gravitaire. Ce type de carottier est bien adapté aux sédiments superficiels, très riches en eau (Nomade, 2005). Ces carottes, d'environ un mètre chacune, sont prélevées dans la zone la plus profonde de chacun des lacs et ceci afin de limiter la présence de restes provenant de communautés benthiques. Le Tableau 2 présente les neuf carottes utilisées dans notre étude ainsi que la longueur des périodes temporelles étudiées et le nombre d'échantillons comptés pour chaque lac.

Dans le cadre du projet IPER-RETRO, une carotte de référence par lac est datée sur toute sa longueur. Différentes méthodes de datation sont utilisées et décrites, plus précisément qu'ici, par Jenny (2013). Dans la zone la plus superficielle, les sédiments sont laminés annuellement. L'apparition dans le temps de ce

type de faciès sédimentaire, dans les lacs péri-alpins français, est en lien avec le début de leur période d'eutrophisation respective (Giguet-Covex *et al.*, 2010). En comptant les lamines successives, il est possible de les dater une à une. Cette méthode simple demande des conditions strictes : il faut, par exemple, connaître la constitution de chaque dépôt, être sûr qu'il n'y a pas eu de perturbations et de remise en suspension de ces sédiments et connaître avec exactitude l'âge du premier dépôt compté (Zolitschka, 2003).

La radiochronologie est également employée, sur les zones laminées et non laminées, avec la mesure par spectrométrie gamma de l'activité des radionucléides  $^{241}\text{Am}$ ,  $^{137}\text{Cs}$  et  $^{210}\text{Pb}$ . Les modèles d'âge obtenus ainsi permettent une datation très fine, puisque quasi-annuelle, des échantillons coupés successivement dans les autres carottes prélevées. Il faut évidemment passer par une étape de corrélation entre les carottes de référence et celles dans lesquelles les restes vont être comptés. Pour ces corrélations, des marqueurs historiques sont utilisés (tels que les dépôts provoqués par des séismes ou des crues) en plus du comptage de lamines, des profils géochimiques continus et des profils de radioélément.

**Tableau 2 : Nom de chacune des carottes de sédiments récoltées dans les trois lacs et des opérateurs ayant compté et déterminé les restes fossiles et périodes étudiées dans chaque volet.**

volet	lac	nom de carotte	Opérateur / compteur	période étudiée	Nombre d'échantillons comptés
« diatomées »	lac d'Annecy	LDA09P3 02 D2	V. Berthon	1937 - 2007	32
	lac du Bourget	LDB04P1	J.C. Druart / V. Berthon	1861 - 2007	48
		LDB09P3 02 D1	V. Berthon		
lac Léman		LEM10P6 1	E. Dormia / V. Berthon	1880 - 2009	65
		LEM11P14A	V. Berthon		
« rotifères »	lac d'Annecy	LDA09P1 03	B. Ponti	1850 -2007	35
	lac du Bourget	LDB09P1 03 O2	B. Ponti	1850 -2007	39
		LEM10P3 04 b1	V. Berthon		
	lac Léman	LEM10P10 01	V. Berthon	1840 - 2008	40

Le découpage des carottes sédimentaires en échantillons est réalisé suivant les lamines annuelles dans les zones laminées et tous les 5 mm dans les zones non-laminées. La finesse du découpage permet d'étudier les trajectoires spécifiques au sein des communautés de diatomées et de rotifères avec une haute résolution. Chaque échantillon ne peut représenter que de un à trois ans.

### 3. Traitement des échantillons et dénombrement des restes

La méthode utilisée pour traiter les échantillons sédimentaires, en vue de l'étude des trajectoires spécifiques au sein des communautés de diatomées, est une adaptation des protocoles trouvés dans la littérature (Battarbee *et al.*, 2001). Cette adaptation est faite en fonction de la qualité des échantillons de

sédiment et du matériel à disposition au laboratoire. Pour chaque échantillon sédimentaire homogénéisé, un sous-échantillon de 2 à 3 g est séché à l'étuve (BINDER APT Line Serie BD), à 60°C pendant 48 h avant d'être digéré à l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 30 %) puis à l'acide chlorhydrique (HCl, 10 %) afin de détruire matière organique et carbonates (Renberg, 1990). Ces réactions sont réalisées à froid puis à 70°C dans un four à sable (Gestigkeit ST 72.2200 W. 230 V. Température 50-300°C. 360x360 mm. réglage : 100 % watt et 230°C) jusqu'à ce qu'aucune ébullition ne soit plus observable. Après cinq rinçages à l'eau déminéralisée, les frustules de diatomées sont montés entre lame et lamelle dans une résine (Naphrax). Pour chaque échantillon, trois lames sont montées à des concentrations différentes afin de pouvoir choisir la concentration la plus adaptée pour un comptage facilité et rapide.

Sur chaque lame, 400 valves sont comptées et déterminées à l'aide d'un microscope optique (Zeiss Ax10) équipé d'un objectif 100 à immersion et en utilisant le contraste interférentiel, pour une meilleure observation des différents critères morphologiques. Afin de conserver une détermination homogène entre les échantillons, des clichés de chacun des *taxa* sont pris (Zeiss AxioCamHRc). Les déterminations suivent une bibliographie adaptée : les ouvrages ou articles utilisés concernent des écorégions dont les caractéristiques sont proches de notre zone d'étude et où les conditions physico-chimiques sont similaires ou proches (Hook *et al.*, 2010; Krammer and Lange-Bertalot, 1986, 1988, 1991a, b; Krammer, 2000, 2001, 2002, 2003; Lange-Bertalot and Krammer, 1989; Leskov, 2007).

Pour extraire les œufs de durée de rotifères des échantillons sédimentaires, en vue de l'étude des trajectoires spécifiques au sein des communautés de rotifères, la méthode de flottaison dans une solution d'eau sucrée homogénéisée est choisie (mélange 1/1 : poids en sucre / volume d'eau distillée (Onbè 1978)). Cette méthode est déjà utilisée avec succès pour extraire des œufs de durée de rotifères (Duggan *et al.* 2002, Snell *et al.* 1983, Garcia-Roger *et al.* 2005)). Un sous-échantillon humide est placé et mélangé dans la suspension. Une fois le mélange homogène, il est centrifugé (5 min à 3000 rpm). Le surnageant est ensuite filtré sur un filtre en nylon (25 µm). Les œufs, retenus dans le filtre, sont ensuite remis en suspension dans de l'eau distillée (volume maximum 10 ml) puis transférés en entier (étape par étape) sur la lame de microscopie pour observation et comptage.

Tous les œufs observables (au microscope optique Olympus BX41 objectifs 10 et 40) sont comptés et déterminés. Dans la littérature, les connaissances sur les caractéristiques morphologiques des œufs de durée de rotifères des différents *taxa* sont encore peu abondantes (Bailey *et al.* 2003, Maia-Barbosa *et al.* 2003). De plus, des études menées en laboratoire montrent qu'une même espèce peut produire différents morphotypes d'œufs (Suzduki, 1964) et la production d'un type d'œuf à un moment précis semble être due aux conditions environnementales (Gilbert and Schroder, 2004, Bailey *et al.* 2003). La détermination consiste donc à distinguer différents morphotypes sans que ces derniers ne soient imputés à des espèces précises (les différents morphotypes d'œufs retrouvés dans les trois lacs sont présentés en annexe du chapitre 6). Une fois le dénombrement pour un échantillon terminé, le culot de centrifugation et le filtrat

(premières étapes de la méthode d'extraction) sont également inspectés afin de vérifier que tous les œufs ont bien été pris en compte pendant le dénombrement.

#### 4. Analyses statistiques des données

*Note : la présentation des analyses statistiques faite ici est une traduction des paragraphes qui leur sont consacrés dans les articles constituant les chapitres suivants.*

##### 4.1. Stratigraphies : abondances relatives des taxons et périodes

Pour dater les principaux changements dans les communautés, un cluster chronologique est réalisé à partir de matrice de distance de Bray-Curtis (obtenues avec CONISS in R package rioja, (Juggins, 2009)). L'approche « broken-stick » (Bennett, 2006) est utilisée pour connaître le nombre de périodes au cours desquelles la composition en espèces différait significativement.

L'évolution de l'abondance relative des taxons majoritaires au sein des communautés et les périodes ainsi définies sont représentées dans des stratigraphies à l'aide du logiciel c2 (Juggins, 2007).

##### 4.2. Comparaison des données de paléolimnologie et de limnologie

Afin de savoir si les données paléolimnologiques représentent fidèlement les évolutions passées des communautés de diatomées, elles sont comparées, dans le lac Léman, aux abondances relatives (en moyennes annuelles) des différents taxons présents dans les bases de données de paléolimnologie et dans les chroniques récentes de limnologie. Parmi les trois lacs, le lac Léman est le seul dans lequel cette comparaison est possible sur une période suffisamment longue (ici : sur 30 ans, de 1977 à 2007).

Les corrélations entre les deux bases de données sont détectées à l'aide du test de Mantel (Mantel, 1967) à partir de matrice de distance de Bray-Curtis (obtenues avec Ginkgo software (De Caceres *et al.*, 2007)). Le test de Mantel est réalisé sur xlstat (<http://www.xlstat.com>, Addinsoft).

Pour comprendre plus en détail les différences entre les deux bases de données, la méthode d'Indval (Dufrene and Legendre, 1997) est utilisée avec le logiciel PC-Ord 5 (McCune and Mefford, 2006). Cette méthode permet de définir les espèces plus caractéristiques d'une des deux bases.

##### 4.3. Reconstruction de données phosphore historiques à partir des diatomées archivées dans les sédiments par fonction de transfert

Les concentrations moyennes annuelles en phosphore total sont reconstruites à partir d'une calibration basée sur 86 échantillons de sédiments de surface collectés dans différents lacs péri-alpins (Wunsam and Schmidt, 1995). Les lacs italiens, allemands et autrichiens de la base constituent de larges gradients en altitude (198-1763 m a.s.l.), en profondeur maximale (2-270 m) et en concentrations moyennes annuelles

en phosphore total (2-266  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Le modèle est calibré en utilisant des données de concentrations moyennes annuelles en phosphore total transformées en unité logarithmique. La calibration originale présentée par Wunsam et Schmidt montre un RMSEP (*bootstrapped root mean square error of the prediction*) de 0.346 unité log. La moyenne *bootstrapped* et le biais maximum sont respectivement de 0.86 and 0.009 unités log.

Cette calibration est appliquée aux données dans le logiciel c2 version 1.7.2 (Juggins, 2007) et différents modèles de reconstruction sont testés :

- Le *weighted averaging with classical deshrinking* (WAcla regression),
- Le *weighted averaging with inverse deshrinking* (WAinv regression) (Ter Braak and van Dame, 1989),
- Le *modern analogue technique* (MAT - *squared chord distance* et 5 analogues (Overpeck *et al.*, 1985)).

Les modèles *weighted averagings* sont basés sur un postulat selon lequel la distribution d'une espèce est unimodale c'est à dire que son abondance est maximale lorsque le paramètre reconstruit est au plus proche de l'optimum de cette espèce. L'optimum spécifique et l'abondance maximale correspondante sont évalués et la correspondance entre ces deux paramètres est calibrée. Ensuite la relation est décrite par régression classique (WAcla) ou par régression inverse (WAinv). La régression inverse permet de réduire l'erreur moyenne sur le jeu de données de calibration mais introduit un biais aux points extrêmes de ce dernier. Le modèle MAT recherche, dans notre cas, les 5 échantillons du jeu de données de calibration les plus proches, en terme d'abondance spécifique, d'un échantillon pour lequel le paramètre d'intérêt est reconstruit. La reconstruction de ce dernier est ainsi faite indépendamment pour chaque échantillon.

Leurs performances respectives sont estimées à l'aide de leur coefficient de détermination  $r^2$  et leur RMSEP calculée par validation croisée (*bootstrapping*, 500 permutations) sur la base de donnée de calibration. La même procédure de validation est utilisée pour calculer l'erreur standard de prédiction pour chaque échantillon sédimentaire.

Enfin, les valeurs reconstruites (*diatom-inferred TP reconstructions* - DI-TP) sont comparées aux données de monitoring mais également aux abondances reconstruites en Daphnie (Alric *et al.*, 2013), un très bon indicateur de changement du niveau trophique (DeMott and Gulati, 1999), afin de choisir le modèle qui permet d'obtenir la reconstruction la plus vraisemblable.

#### 4.4. Le Modèle Additif Généralisé

L'objectif ici est de pouvoir identifier le poids relatif des forçages (évolution du niveau trophique, gestion piscicole et changement climatique) qui expliquent les changements observés. Pour cela, il faut donc des données ou des estimateurs qui permettent de mieux connaître ces forçages et leur histoire dans les lacs.

##### 4.4.1. Choix des estimateurs

Les données de température de l'air annuelle, estivale (de juin à septembre) et hivernale (de décembre à février) ainsi que les données de précipitation de la base de données HISTALP (Auer *et al.*, 2007) en des stations proches des lacs d'intérêt sont utilisées. Cette base contient des séries de données mensuelles homogénéisées (températures, précipitations,...) pour toute la « Grande Région Alpine » (4-19°E, 43-49°N, 0-3500 m asl). Ces séries commencent avant 1800 et permettent donc de couvrir l'intégralité de la période d'intérêt. Les températures de l'air mesurées autour des trois lacs présentent une tendance croissante (+2.5°C sur tout le XXe siècle dont +1.5°C entre 1980 et 2009). Les données de précipitations ne seront finalement pas utilisées dans les analyses puisqu'aucune tendance significative n'est observée (Mann Kendall's tau test,  $P > 0.05$ , Alric *et al.*, 2013).

Bien sûr, nous ne pouvons pas utiliser des données en phosphore reconstruites à partir des communautés des diatomées comme estimateur du niveau trophique et ce afin d'éviter tout problème de circularité entre nos analyses. Nous utiliserons donc les abondances en daphnies qui sont très sensibles aux changements de la concentration en phosphore total (DeMott and Gulati, 1999). Ceci a été démontré par Alric, dans son travail de thèse, dans les 3 grands lacs (Annecy, Bourget, Léman), après avoir étudié l'évolution de l'abondance des restes sédimentaires de daphnies. Il observe également que, dans ces trois lacs, les variations de l'abondance en daphnies ne sont pas reliées aux variations climatiques et à la gestion piscicole au cours de la période que nous étudions (Alric *et al.*, 2013). Enfin, Alric utilise également une résolution temporelle très fine rendant possible l'établissement de liens avec nos données et des comparaisons avec les données de monitoring. Dans l'annexe du chapitre 5, où cette fonction de transfert est utilisée, nous présentons les corrélations entre les abondances en restes sédimentaires de daphnies et les concentrations en phosphore total issues du monitoring (Léman:  $r^2=58\%$ ,  $p\text{-value}=2.10^{-7}$ ; lac du Bourget:  $r^2=69\%$ ,  $p\text{-value}=2.10^{-4}$ ; lac d'Annecy:  $r^2=22\%$ ,  $p\text{-value}=0.04$ ). Une fonction de transfert est donc utilisée pour reconstruire des données en phosphore à partir des abondances en restes sédimentaires de daphnies. Les données ainsi reconstruites et celle reconstruites à partir des communautés de diatomées apparaissent corrélées très significativement (Wilcoxon test, Monte-Carlo cross-validation ( $n=99999$ ,  $p=0.00001$  pour les trois lacs en utilisant 30, 41 and 50 échantillons issus respectivement des lacs d'Annecy, du Bourget et Léman). Nous verrons également que cette fonction de transfert à partir des abondances en daphnies se montre très précise.

Enfin, nous utiliserons la longueur moyenne des griffes post-abdominales de daphnies comme estimateur de la pression de prédation, comme montré par Alric (2013). La longueur moyenne de ces griffes est estimée après avoir mesuré 100 griffes dans les restes sédimentaires de chaque échantillon. Alric valide l'hypothèse de Brooks et Dodson (1965), qui est que la prédation par les poissons entraîne une réduction de tailles au sein des communautés de leur proies (Kerfoot, 1981; Gliwicz and Wrzosek, 2008), donc une réduction de la longueur des griffes. Les changements de taille des Daphnies sont fortement inversement corrélés avec les taux de capture de poissons zooplanctonophages dans nos trois lacs (Alric *et al.*, 2013). Les variations de la taille des daphnies ne sont cependant pas utilisées pour estimer les pratiques de pêche mais bien la pression de prédation. La diminution de la taille moyenne des daphnies après le début de l'eutrophisation indique que la pression de prédation a augmenté et c'est une conséquence typique de

l'enrichissement du milieu en nutriments (Carpenter *et al.*, 2001; Jeppesen *et al.*, 2003). Au cours de la réoligotrophisation, cette taille augmente en retour dans le lac du Bourget, ce qui montre, dans ce lac, la libération des daphnies de la pression de prédation avec la diminution de la concentration en nutriments. Cependant, cette taille moyenne des daphnies continue de chuter dans le lacs d'Annecy et reste stable mais basse dans le Léman ; ces deux paramètres ne sont donc plus liés dans ces deux lacs depuis les années 1980. La présence et l'absence de cette relation entre *bottom-up* et *top-down* sont en lien avec les pratiques de pêches différentes dans nos trois lacs (Alric *et al.*, 2013).

Les évolutions temporelles des différents estimateurs utilisés dans nos trois lacs sont présentées dans la figure 4.

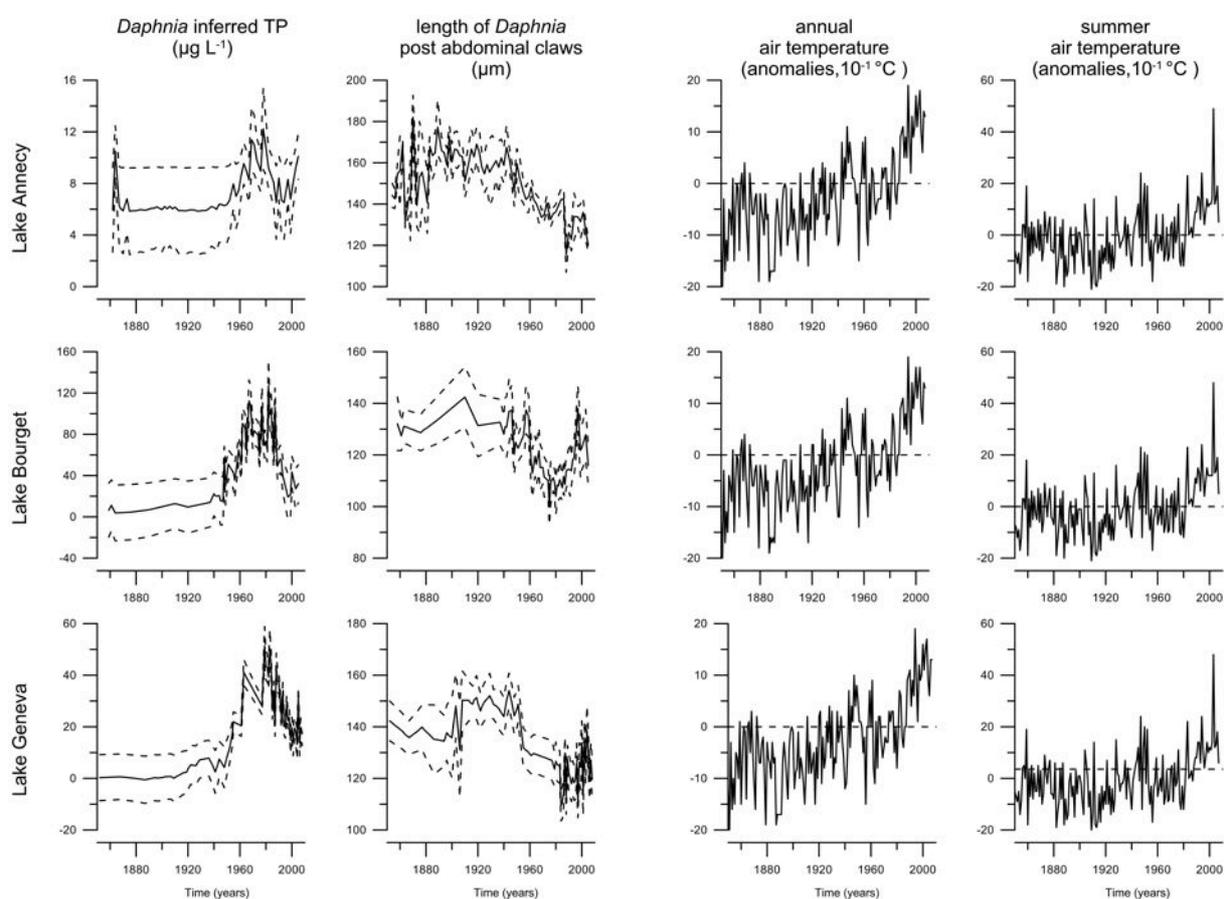


Figure 4 : Trajectoires des trois forçages environnementaux considérés : concentration en phosphore total ( $\mu\text{g L}^{-1}$  – données reconstruites à partir des abondances en daphnies), longueur des griffes post-abdominales ( $\mu\text{m}$ ) (les courbes en pointillés correspondent à l'erreur standard), températures de l'air ( $10^{-1} \text{ }^\circ\text{C}$ , valeur annuelle ou estivale de l'anomalie par rapport à la moyenne observée entre 1901 et 2000 représentée par la ligne en pointillés).

#### 4.4.2. Mise en œuvre du Modèle Additif Généralisé

En amont du GAM, une Analyse en Composantes Principales (PCA) est réalisée sur les données des abondances après une transformation de Hellinger (Legendre and Gallagher, 2001), afin de résumer les

changements au sein de la communauté de diatomées. Certaines espèces seulement sont sélectionnées pour annuler l'effet d'espèces présentes trop sporadiquement dans les différents échantillons. Les espèces utilisées sont représentées par au moins 1 % du nombre total de valves comptées sur l'ensemble des échantillons traités et, au final ; représentent ensemble plus de 80 % des valves dénombrées dans chaque échantillon (i.e. *Asterionella formosa*, *Anuloseira islandica subsp. helvetica*, *Anuloseira islandica*, *Cyclotella costei*, *Cyclotella comensis*, *Cyclotella distinguenda var. distinguenda*, *Diatoma tenuis*, *Fragilaria crotonensis*, *Puncticulata bodanica*, *Stephanodiscus alpinus*, *Stephanodiscus binderanus*, *Stephanodiscus parvus*, *Stephanodiscus minutulus* et *Tabellaria flocculosa*). Les deux premières composantes principales (PC) sont identifiées comme expliquant des proportions significatives de la variance dans le jeu de donnée (*broken-stick* distribution (Jackson, 1993)).

Le GAM (Hastie and Tibshirani, 1990) différencie et quantifie les impacts des trois perturbations sur les communautés de diatomées. Cette méthode est maintenant adaptée aux données de paléolimnologie grâce au travail de Simpson et Anderson (2009). Les scores des différentes espèces majoritaires de diatomées sur les deux premiers axes de PCA alimentent le GAM et sont considérés comme les variables réponses (les estimateurs des perturbations sont considérés comme variables prédictrices).

Les PCA et GAM sont réalisés sur Rv2.11.0 (R Development Core Team, 2009) en utilisant respectivement les packages *vegan* v2.0-8 (Oksanen *et al.*, 2011) and *mgcv* v1.7-24 (Wood, 2008, 2011).

#### 4.5. Analyse Canonique des Correspondances (ACC)

La base des données issues de l'étude des œufs de durée de rotifères ne permet pas d'utiliser le GAM. En effet, la présence des différents morphotypes est trop sporadique pour que le modèle ne soit pas corrompu, selon les recommandations techniques de Simpson et Anderson (2009). Dans ce cas, l'utilisation de l'ACC permet de révéler les relations entre des paramètres écologiques et la répartition de taxons : elle maximise les distances entre les *optima* écologiques des espèces et permet l'optimisation de l'ordination des sites avec les paramètres écologiques disponibles (Dufrene, 2003). Les combinaisons de perturbations qui expliquent le mieux la répartition des morphotypes dans les échantillons sédimentaires peuvent être ainsi mises en évidence. Les ACC sont réalisées avec le logiciel PC-ORD v5 (McCune and Mefford, 2006).



## Chapitre 4 : Histoire de la trophie dans les lacs d'Annecy, du Bourget et Léman depuis ~ 150 ans : reconstruction des concentrations en phosphore total et évaluation des biais taphonomiques.

---

Ce qu'il faut retenir des résultats

Dans les lacs d'Annecy, du Bourget et Léman, les effets de la hausse du niveau trophique sont observables à partir des années 1940 mais à des intensités différentes : les concentrations en phosphore total atteignent respectivement 17  $\mu\text{g L}^{-1}$  en 1971, 85 $\mu\text{g L}^{-1}$  et 80 $\mu\text{g L}^{-1}$  en 1970. Le lac d'Annecy n'a donc pas subi une réelle eutrophisation. Les mesures de restauration mises en place autour de ces lacs ont permis de réduire ces concentrations et aujourd'hui les concentrations en phosphore total sont inférieures à 20  $\mu\text{g L}^{-1}$  dans les lacs Bourget et Léman et avoisinent 6  $\mu\text{g L}^{-1}$  dans le lac d'Annecy. Trop peu de données sont disponibles pour étudier la période précédant l'eutrophisation, et, en tout cas, ne permettent pas de connaître les concentrations en phosphore total au cours de la période précédant la hausse du niveau trophique pour ces trois lacs. Les établir est donc l'objectif principal de cette première étude.

A partir des restes sédimentaires des frustules, il est possible d'étudier la trajectoire des communautés de diatomées et, en utilisant leur potentiel bio indicateur, de reconstruire l'évolution des concentrations en phosphore total sur une plus longue période que les suivis directs de limnologie.

Dans un premier temps, l'historique des communautés de diatomées est retracé dans les trois lacs et les conditions de conservation des frustules dans les sédiments sont étudiées. L'utilisation ensuite d'une fonction de transfert adaptée aux grands lacs péri alpins permet de reconstruire l'historique du statut trophique de ces trois lacs.

La comparaison entre les comptages des restes et les données de la base de limnologie est réalisée sur la période 1977-2007 dans le lac Léman). Les tests statistiques montrent que les données contenues dans les deux bases sont fortement corrélées et démontrent que les conditions de conservation dans les sédiments ont permis la bonne préservation des restes sédimentaires. Les seules différences entre ces deux bases résultent (i) de déterminations différentes pour certaines espèces des genres *Fragilaria* et *Aulacoseira*, (ii), de la présence de restes de diatomées benthiques dans les archives sédimentaires et (iii) de la sous estimation dans les restes sédimentaires de l'abondance relative en *Asterionella formosa* et *Diatoma tenuis*. Les frustules originaires des communautés benthiques de diatomées doivent être transportés jusqu'au fond de la zone la plus profonde du lac où les sédiments sont prélevés par une « contamination par les bords » liée au déplacement de sédiments de la zone littorale vers le centre du lac et non pas par transport vertical (à noter par ailleurs, que l'abondance relative des diatomées benthiques dans les archives sédimentaires étudiées n'excède jamais 10 % au sein de la communauté.). Concernant *Asterionella formosa* et *Diatoma tenuis*, ces deux espèces présentent des frustules très fins et sont probablement plus sensibles aux processus

taphonomiques lors de la sédimentation. Ceci expliquerait que la majorité des frustules contenus dans les archives sédimentaires étaient cassés, rendant difficile leur dénombrement et possible leur sous-estimation. Dans les lacs étudiés, depuis la deuxième moitié du XIXe siècle, beaucoup de changements ont lieu, avec des successions écologiques similaires à celles observées dans des lacs aux propriétés proches tels que le lac Majeur. Avant 1940, dans les trois lacs, les espèces du genre *Cyclotella* sont majoritaires mais sont alors remplacées (en partie seulement dans le lac d'Annecy) par des espèces plus eutrophes du genre *Stephanodiscus*. La tendance s'inverse au début de l'effort de restauration avec un retour des *Cyclotella* comme espèces majoritaires. Il est possible de penser que la transition entre période oligotrophe et période eutrophe est moins abrupte dans le lac Léman que dans le lac du Bourget. En effet, dans le Léman, il est possible d'observer des périodes où se développent des espèces plutôt mésotrophes comme *Tabellaria flocculosa* et *Diatoma tenuis*. Ces observations montrent bien que (i) la hausse de niveau trophique est moins forte dans le lac d'Annecy, avec la présence continue de *Cyclotella costei* comme espèce majoritaire, (ii) que l'effort de restauration doit continuer puisque la composition des communautés de diatomées actuelles reste encore différente de celle observable avant l'apparition de l'eutrophisation (aujourd'hui encore, des espèces nettement mésotrophes sont encore présentes dans le lac Léman).

Les fonctions de transfert réalisables à partir des abondances relatives des espèces peuvent se faire suivant plusieurs modèles. Les concentrations en phosphore total, reconstruites *via* l'utilisation des différents modèles possibles, sont comparées aux concentrations mesurées (disponibles dans la base de données limnologique) ainsi qu'aux abondances en restes fossiles de cladocères. Pour les lacs d'Annecy et Léman, le modèle WAcl semble apporter les concentrations en phosphore total les plus probables. Pour le lac du Bourget, le modèle WAINV lui est efficace. Bien que les valeurs reconstruites semblent s'approcher de la réalité, il apparaît que certains biais déjà connus des fonctions de transfert apportent quelques imprécisions. En effet, dans les lacs du Bourget et Léman, les très fortes abondances en *Stephanodiscus minutulus* engendrent des concentrations reconstruites en P anormalement élevées à certaines périodes. En comparant la valeur reconstruite avec les abondances en cladocères, il apparaît également que le début de la période d'eutrophisation dans les lacs du Bourget et Léman doit être plus précoce qu'estimée précédemment et que l'augmentation de la concentration en phosphore total doit être plus progressive (dans ce cas, les espèces plus mésotrophes semblent être insuffisamment prises en compte par les différents modèles).

Certes, les concentrations en phosphore total des conditions de référence ne peuvent donc être connues de façon précise mais il semblerait que ces concentrations soient proches de 10 µg L<sup>-1</sup> dans les trois lacs et donc encore plus faibles que les concentrations actuelles.

## Trophic history of French sub-alpine lakes over the last ~150 years: phosphorus reconstruction and assessment of taphonomic biases.

Ce travail est accepté pour publication, le 26 mars 2013, dans la revue *Journal of Limnology*.

Auteurs : Vincent Berthon, Aldo Marchetto, Frédéric Rimet, Emmanuelle Dormia, Jean-Philippe Jenny, Cécile Pignol, Marie-Elodie Perga

*Like many lakes worldwide, French sub-alpine lakes (Lakes Annecy, Bourget and Geneva) have suffered from eutrophication in the mid-XX<sup>th</sup> century. Although restoration measures have been undertaken and resulted in significant reductions in nutrient inputs and concentrations over the last 30 years in all three lakes, the limnological monitoring does not extend back far enough to establish the reference conditions, as defined by the European Water Framework Directive. The over-arching aim of this work was to reconstruct, using a paleolimnological approach, the pre-eutrophication levels and subsequent temporal changes in the lakes trophic status over the last century.*

*The objectives were three-fold: (i) to test whether subfossil diatoms archived in deep sediment cores adequately reflect past changes in the planktonic diatom communities for these deep sub-alpine lakes based on data from Lake Geneva, (ii) to investigate changes in the diatom communities over the last 150 years in the three lakes, and (iii) to infer the past TP concentrations of the lakes from a diatom based transfer function.*

*Annual paleolimnological and limnological diatom countings for Lake Geneva were strongly correlated over the last 30 years. Most notable differences essentially resulted from both taphonomic and depositional biases, as evidenced by the underestimation of thin skeleton species such as *Asterionella formosa* and *Diatoma tennis* in the paleolimnological dataset and the presence of many benthic taxa.*

*The subfossil diatom records revealed shifts in the communities in the three lakes over time, most of which were changes typically associated with nutrient enrichment. Indeed, in all three lakes, the proportion of *Cyclotella* spp. was very high before the 1950's, but these species were then replaced by more eutrophic taxa, such as *Stephanodiscus* spp, by the mid-XX<sup>th</sup> century. From the 1980's, some but not all diatom species typical of re-oligotrophicated conditions (i.e. *Cyclotella* sp.) re-appeared in all three lakes. Yet, not all changes that occurred in the diatom communities since then may be attributed to decreasing TP.*

*TP concentrations inferred from weighted averaging with classical deshrinking in Lake Annecy and Lake Geneva and weighted averaging with inverse deshrinking in Lake Bourget were very close to the monitored values. Comparisons of diatom-inferred TP concentrations to other paleo-proxies for trophic status revealed though that the transfer functions were rather insensitive to changes occurring below 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ , which limits the study ability to set accurate TP reference conditions below this threshold. However, current diatom community compositions are still rather different from the pre-eutrophication ones, suggesting that reference conditions are still not achieved.*



## Introduction

The European Water Framework Directive (WFD) (European Union, 2000) has highlighted a crucial need for the ecological assessment of lakes. One of the key issues faced by managers concerns the establishment of reference conditions, defined by the WFD as those associated with no, or only very minor, anthropogenic impact (Anonymous, 2003). These baselines are required to evaluate how much the lake under consideration has been impacted by human activities and to set the restoration objectives. The combination of spatial surveys, modelling, expert judgement and temporally based methods using historical data or paleo-reconstruction has successfully resulted into the establishment of reference conditions that are specific to some lake typologies (Wolfram *et al.*, 2009). There are however some lakes that lack typologic analogs or for which the type-specific definition of reference conditions may not be accurate enough to assess ecological status. This is particularly true for the very large, deep European lakes, which have unique system dynamics due to their size (Loga *et al.*, 2004). For these lakes, reference conditions need to be site-specific, and, in the absence of sufficiently long-term monitoring data, ecological and chemical reference conditions and deviation from the reference state may be defined through paleoecological approaches (Bennion and Battarbee, 2007).

This study focused on three French deep sub-alpine lakes (Lakes Geneva, Annecy and Bourget) that are essential elements of social and economic activities in this region. All three lakes exhibited some symptoms of eutrophication in the mid-1970s (Anneville, 2002; Millet *et al.*, 2010; Perga *et al.*, 2010). Total phosphorus (TP) concentrations measured during water mixing, either routinely such as for Lake Geneva or sporadically as for the two other lakes in the 1970s, confirmed that Lakes Geneva and Bourget had reached a eutrophic status (with respectively 90 and 120  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) while Lake Annecy got, at most, oligo-mesotrophic (17  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (INRA long-term observatory database). P abatement measures were subsequently successfully undertaken, leading to substantial decrease in P concentrations in the water column over the last 30 years. Lake Geneva and Bourget are currently mesotrophic with winter TP < 20  $\mu\text{g L}^{-1}$  while Lake Annecy is oligotrophic (TP=6  $\mu\text{g L}^{-1}$ , INRA long-term observatory database). Although all lakes are now under routine monitoring (started in 1957 for Lake Geneva, 2004 for Lake Bourget and 1996 for Lake Annecy), these datasets do not extend back far enough to establish lake reference conditions.

Previous paleolimnological studies investigated the ecological changes these lakes have undergone over the last century (Alric *et al.*, 2013; Druart and Pelletier, 1998; Giguët-Covex *et al.*, 2010; Jenny *et al.*, 2013; Perga *et al.*, 2010) and triggered by changes in nutrient concentrations. None of them though was specifically focussed on reconstructing past TP concentrations. This study aimed to use an existing diatom based transfer function to estimate the past TP concentration of the three French sub-alpine lakes, in an approach similar to that of Marchetto *et al.* (2004) on Lake Maggiore. Some transfer functions are now subjected to some strong criticism. In Telford and Birks (2009), different issues are raised: a good replication can be difficult to achieve, the statistical significance must be well adapted to the potential variation of the reconstruct parameter in the studied time period. Juggins *et al.* (2013) mentioned also

different bias of epilimnetic total phosphorus reconstruction using diatoms, (i) the impact of secondary variables such as alkalinity and depth, (ii) the not significant relationship between TP concentration and many taxa in models, (iii) the poor or no spatial replicability. Nevertheless, transfer functions remain a good tool to estimate TP concentration using diatom communities, and Diatom Inferred TP concentration can be compared to currently monitored TP concentration in order to evaluate reference conditions. In a prior step, we tested if the diatom subfossil communities archived in the sediment mirrored adequately the changes in the pelagic diatom communities of the lakes over time. There have been, so far, only a handful of such attempts on sub-alpine lakes. Bennion *et al.*(1995) and Wessels *et al.*(1999) performed comparisons based on long-term datasets for Lake Mondsee and Constance, respectively, and Marchetto and Musazzi (2001) conducted a comparative study on Lake Maggiore using the relative abundance of six selected planktonic species. Lake Geneva provided a unique opportunity to conduct such a calibration analysis since (i) long-term limnological data, covering the last 30 years, were available, and (ii) its annually laminated sediment could be dated at very high-resolution.

## 1. Results

### 1.1. Comparison of limnological and paleolimnological data in Lake Geneva

The temporal changes in the relative abundances of the most commonly occurring species over the 1977-2007 time-period in Lake Geneva are presented in Figure 5. Over the 1977-2007 time-period in Lake Geneva, a total of 80 taxa were present in the limnological dataset and 114 in the paleolimnological one. A comparison of the species relative abundances in the limnological data and paleolimnological data highlighted some differences: *Asterionella formosa*, *Cyclotella costei* and *Diatoma tenuis* relative abundances were higher in limnological data, and, in contrast, *Stephdianoscus binderanus* and *S. minutulus* had lower relative abundances than in the paleolimnological data (between 1989 and 1996).

The Mantel test showed that the two datasets were significantly correlated ( $p < 0.0001$ ) but the strength of the relationship was low ( $r = 0.498$ ). Here, only 52 taxa, which had a relative abundance  $>2\%$ , were kept for the Indval method. Among these taxa, 38 species were typical for only one of the two datasets (Table 1). These 38 species were separated following their life form (benthic or planktonic) according to Berthon *et al.*(2011) and Rimet and Bouchez (2012b). The proportion of benthic species is very low and did not exceed 9% in Lake Annecy and Lake Bourget and 6% in Lake Geneva.

This classification underlined that the majority of the species only present in the paleolimnological dataset were benthic species (Table 3 - group 1). Only one benthic species (*Achnanbidium minutissimum* (Kutzing) Czarnecki) was present in both datasets (group 2) but with a higher relative abundance in the paleolimnological data. Three benthic taxa were detected only in the limnological dataset (*Fragilaria capucina* var. *radians* which is principally recognizable in living samples using the star shape of the colonies, *Navicula Nitzschia* sp. and - group 3). Among the planktonic taxa, again, the majority belonged to group

1, seven belonged to group 3 and only two were present in the two datasets and in higher abundance in the limnological dataset (*Asterionella formosa* and *Diatoma tenuis* – group 4).

**Table 3: Individual method results. Only the species with a significant p-value (<0,05) are presented. These species are characteristics of one of the two compared datasets. The species of the group 1 (last column) are only present in the paleolimnological dataset, the species of the group 2 are present in the two datasets but are characteristics of the paleolimnological dataset, the species of the group 3 are only present in the limnological dataset and the species of the group 4 are present in the two datasets but are characteristics of the limnological dataset.**

	species	p-value		group
		limnological dataset	paleolimnological dataset	
Benthic species	<i>Achnanbidium minutissimum</i>		0,0284	2
	<i>Amphora pediculus</i>		0,0002	1
	<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>placentula</i>		0,0052	1
	<i>Cymatopleura solea</i> var. <i>solea</i>		0,0018	1
	<i>Diatoma moniliformis</i>		0,0016	1
	<i>Encyonema minutum</i>		0,0002	1
	<i>Fragilaria capucina</i> var. <i>capucina</i>		0,0002	1
	<i>Fragilaria capucina</i> var. <i>radians</i>	0,0002		3
	<i>Fragilaria capucina</i> var. <i>vaucheriae</i>		0,0234	1
	<i>Fragilaria mesolepta</i>		0,0022	1
	<i>Gomphonema pumilum</i>		0,049	1
	<i>Navicula cryptotenella</i>		0,011	1
	<i>Navicula reichardtiana</i> var. <i>reichardtiana</i>		0,0258	1
	<i>Navicula</i> sp.	0,0002		3
	<i>Navicula subrotundata</i>		0,004	1
	<i>Nitzschia dissipata</i> var. <i>dissipata</i>		0,002	1
	<i>Nitzschia fonticola</i>		0,0002	1
<i>Nitzschia</i> sp.	0,0002		3	
<i>Staurosira mutabilis</i>		0,0006	1	
Planktonic species	<i>Asterionella formosa</i>	0,0002		4
	<i>Aulacoseira ambigua</i>		0,0004	1
	<i>Aulacoseira granulata</i> var. <i>angustissima</i>	0,0002		3
	<i>Aulacoseira islandica</i>		0,0002	1
	<i>Aulacoseira islandica</i> subsp. <i>helvetica</i>	0,0002		3
	<i>Cyclotella comensis</i>		0,0002	1
	<i>Cyclotella delicatula</i>		0,0002	1
	<i>Cyclotella</i> sp.	0,0004		3
	<i>Diatoma tenuis</i>	0,0224		4
	<i>Discostella pseudostelligera</i>		0,0086	1
	<i>Discostella stelligera</i>		0,0002	1
	<i>Fragilaria ulna</i> var. <i>acus</i>	0,0002		3
	<i>Fragilaria (Ulnaria) ulna angustissima</i>	0,0002		3
	<i>Nitzschia acicularis</i>	0,0002		3
	<i>Stephanodiscus irregularis</i>		0,0014	1
<i>Stephanodiscus parvus</i>		0,0002	1	
<i>Stephanodiscus</i> sp.		0,0106	1	

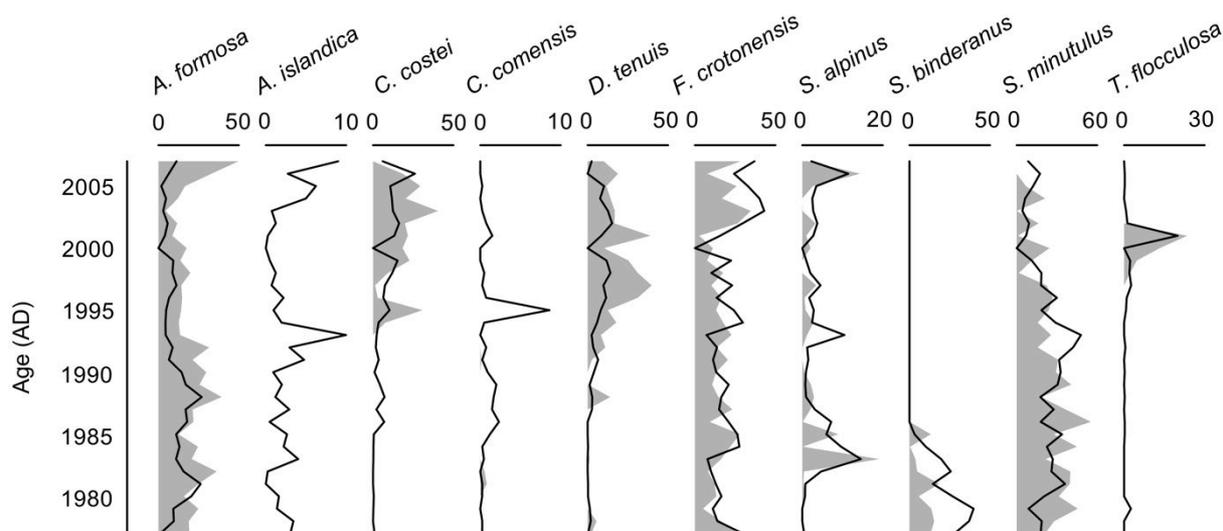


Figure 5: Comparison of the major planktonic diatom species in the subfossil diatom record and in the phytoplankton samples (relative abundances in the diatom community %) of Lake Geneva 1977-2007 (black line: paleolimnological data; grey silhouette phytoplankton data)

## 1.2. Changes in the subfossil diatom assemblages

Fossils from 145, 239 and 203 diatom species for, respectively, Lakes Annecy, Bourget and Geneva, were recovered from the cores. Six species represented more than 80% of the total planktonic frustules in Lake Annecy, and ten species for Lake Bourget and Lake Geneva (Figure 2). The oldest core samples in the three lakes were rich in *Cyclotella* species. The relative abundance and the diversity of *Cyclotella* valves decreased over the time. This trend was partly reversed in the most recent samples. Another common feature was a generally increasing contribution of *Fragilaria crotonensis* (Kitton) over time.

No diatom valves could be detected in the lowermost part of the core of Lake Annecy, corresponding to time periods prior to the early 1930s. *Cyclotella costei* (Druart & Straub) (synonym of *Cyclotella cyclopuncta* Håkansson & Carter (Hook *et al.*, 2010)) and *Fragilaria crotonensis* were the dominant species, making, on average, up to 70% of the subfossil remains. Between 1937 and 2007, chronological clustering identified six periods (a1-a6). Major shifts in the subfossil diatom communities were identified in 1941-1942, 1950-1951, 1963-1964, 1967-1968 and 1976-1977. Before the early 1950s (periods a1 and a2), the subfossil diatom community was the most diverse, with notable amounts of *Cyclotella distinguenda* var. *distinguenda* Hustedt, *Cyclotella comensis* Grunow in Van Heurck and *Stephanodiscus minutulus* (Kutzing) Cleve & Moller. *Cyclotella costei* and *Fragilaria crotonensis* were dominant in all counts from the 1950s (periods a3 to a6). In the 1950s-60s (period a3), the relative abundance of *Cyclotella costei* exceeded 60% but the relative abundance of *Fragilaria crotonensis* increased up to 45% from the 1960s, so that the relative abundance of these two species were comparable within the periods a4-a5. Increasing abundances of *Fragilaria crotonensis* in periods a4-a5 occurred with increased amounts of *Stephanodiscus parvus* Stoermer et Håkansson. The diatom composition in the most recent samples (period a6) strongly resembled that of period a3.

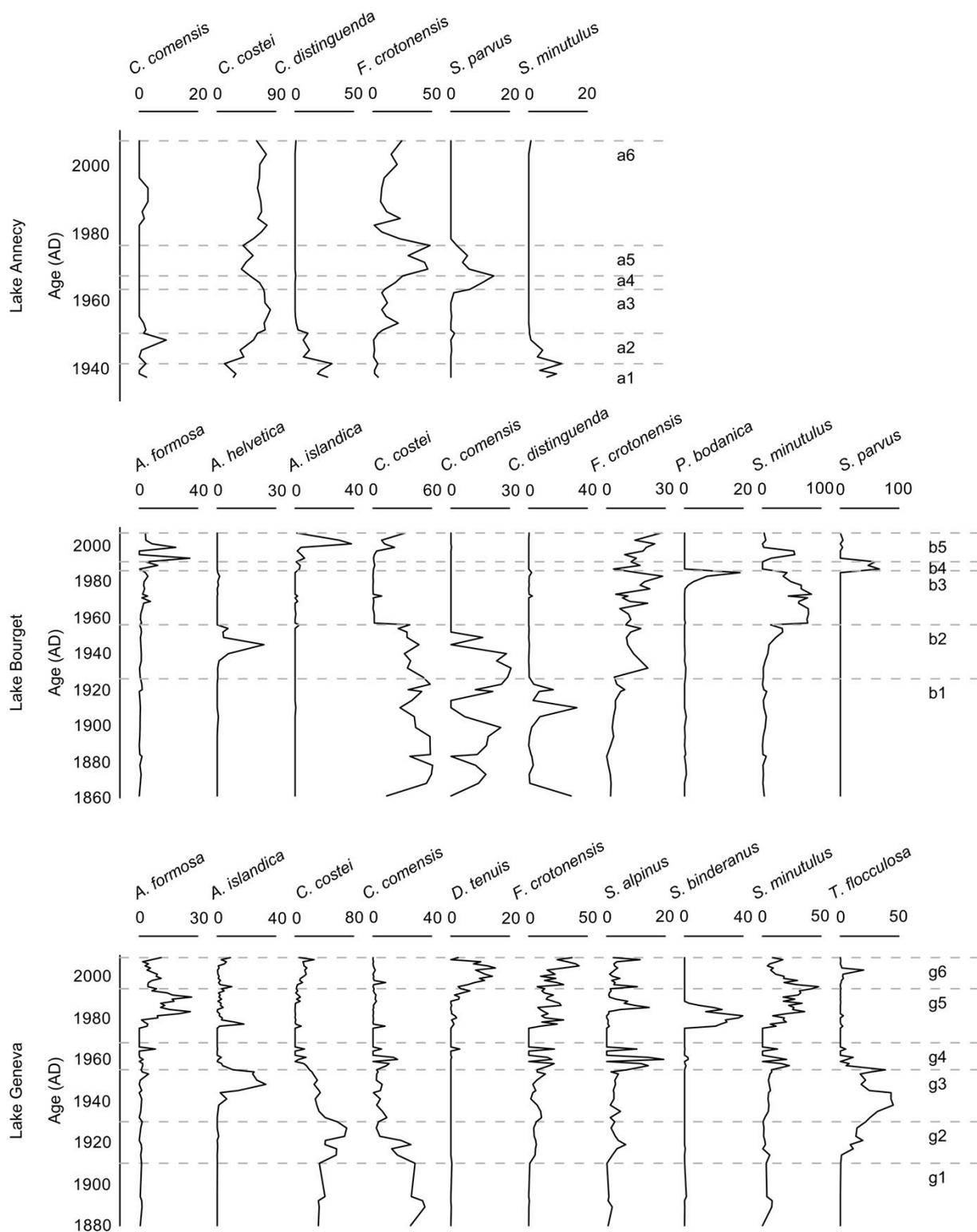


Figure 6: Summary diatom stratigraphies of the most common taxa (relative abundances) in the three studied lakes.

No diatom valves could be detected in the lowermost part of the core of Lake Annecy, corresponding to time periods prior to the early 1930s. *Cyclotella costei* (Druart & Straub) (synonym of *Cyclotella cyclopuncta* Håkansson & Carter (Hook *et al.*, 2010)) and *Fragilaria crotonensis* were the dominant species, making, on

average, up to 70% of the subfossil remains. Between 1937 and 2007, chronological clustering identified six periods (a1-a6). Major shifts in the subfossil diatom communities were identified in 1941-1942, 1950-1951, 1963-1964, 1967-1968 and 1976-1977. Before the early 1950s (periods a1 and a2), the subfossil diatom community was the most diverse, with notable amounts of *Cyclotella distinguenda* var. *distinguenda* Hustedt, *Cyclotella comensis* Grunow in Van Heurck and *Stephanodiscus minutulus* (Kützting) Cleve & Moller. *Cyclotella costei* and *Fragilaria crotonensis* were dominant in all counts from the 1950s (periods a3 to a6). In the 1950s-60s (period a3), the relative abundance of *Cyclotella costei* exceeded 60% but the relative abundance of *Fragilaria crotonensis* increased up to 45% from the 1960s, so that the relative abundance of these two species were comparable within the periods a4-a5. Increasing abundances of *Fragilaria crotonensis* in periods a4-a5 occurred with increased amounts of *Stephanodiscus parvus* Stoermer et Håkansson. The diatom composition in the most recent samples (period a6) strongly resembled that of period a3.

Changes in community structure were more striking in Lake Bourget. Five periods were identified (b1-b5), with transitions occurring in 1926, 1956, 1986, and 1991. In period b1, the community was dominated by *Cyclotella costei*, *C. comensis* and *C. distinguenda* var. *distinguenda*. In period b2 (1930s-1950s), *C. distinguenda* var. *distinguenda* disappeared while the contributions of *Stephanodiscus minutulus* and *Fragilaria crotonensis* increased. Period b3 (late 1950-late 1980s) was almost exclusively represented by these two species.

Periods b4-b5 saw the reappearance of some of the *Cyclotella* species that were previously detected in periods b1-b2 such as the decreasing abundances of *Stephanodiscus minutulus* (except for a peak in the 1990s). However, the contributions of species that were detected only at very low levels before, i.e. *Asterionella formosa* Hassall, *Aulacoseira islandica* (O.Muller) Simonsen ssp. *helvetica* (O.M.) Simonsen and *Stephanodiscus parvus*, substantially increased in periods b4-b5. Hence, the diatom composition in the most recent samples of b5 was not similar to any of those observed in the preceding periods.

In Lake Geneva, six periods were identified (g1-g6), with transitions in 1910, 1930, 1955, 1968 and 1994. *Cyclotella costei* and *Cyclotella comensis* were very abundant in the periods g1-g2. The main difference between the two periods was due to an increased contribution of *Tabellaria flocculosa* (Roth) Kützting, *F. crotonensis* and *S. alpinus* for the period g2. The community then shifted in the early 1930s to dominance by *Tabellaria flocculosa*, along with the appearance of *Fragilaria crotonensis*, *Aulacoseira islandica* ssp. *helvetica* and *Stephanodiscus minutulus* (g3). The period g4, between the mid 1950s and the early 1970s, was characterized by dominance of *S. minutulus*, *S. alpinus* and *F. crotonensis*. *Stephanodiscus* species were very abundant by the end of the 1980s (middle of the period g5) making up to 60% of the total community. In period g6, some *Cyclotella* species (*Cyclotella costei*), which had disappeared in the previous periods, became more abundant. The community was, however, dominated by *F. crotonensis* (40%) and *Diatoma tenuis* Kützting (20%), which had been rare so far. *Tabellaria flocculosa* represented 20% of the community in 2000. Because of their richness in the three latter species, the most recent samples of the period g6 were very different from the rest of the core.

### 1.3. Transfer functions

In comparison with the WA models, MAT models performed poorly. There were no relevant differences between WA model performances. The RMSEP of the models compared well with the standard error of the prediction (SEP) calculated on the core samples (Table 4).

**Table 4 : Performance of the different tested transfer function models ( $r^2$ : Bootstrapped Squared correlation between inferred and observed values, Model RMSEP: Root mean squared error of prediction evaluated through bootstrap, Deeper slices SEP: standard error of the prediction in the deepest slices of each core) Unit:  $\log_{10}$  TP concentration**

Reconstruction method	$r^2$	Lake Annecy		Lake Bourget		Lake Geneva	
		Model RMSEP	Deepest slices SEP	Model RMSEP	Deepest slices SEP	Model RMSEP	Deepest slices SEP
WA <sub>cla</sub>	0,6	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,35
WA <sub>inv</sub>	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
MAT	0,38	0,31	0,33	0,31	0,32	0,31	0,1

Results presented in Figure 7 are those obtained using the WA<sub>cla</sub> regression for Lake Annecy and Lake Geneva and using the WA<sub>inv</sub> regression for Lake Bourget. In the three lakes, for each sample, the proportion of taxa present in the calibration dataset was high: 90% in lake Annecy, 91% in lake Bourget, and lower in Lake Geneva: 83% (average value).

In Lake Annecy, before 1945, the DI-TP concentration varied between 10 and 15  $\mu\text{g L}^{-1}$ . DI-TP values were transiently lower (around 7  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) during the following 14 years but increased back to 11  $\mu\text{g L}^{-1}$  between 1963 and 1976. DI-TP values decreased back after this light mesotrophic episode up to the top of the core (around 8  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). DI-TP values were consistent with instrumental data and adequately tracked the decrease in P concentrations over the last 30 years. The temporal dynamics in Daphnia abundance generally matched that of DI-TP, with maxima reached between the mid 1960's and 1970s, except for the period before the 1940s for which very low Daphnia abundance did not support the relatively high DI-TP.

In Lake Bourget, before 1952, DI-TP concentrations were low (mean value = 12  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). DI-TP values dramatically increased from the early 1950s to reach 68  $\mu\text{g L}^{-1}$  in 1957. DI-TP transiently decreased and fluctuated between 36-73  $\mu\text{g L}^{-1}$  to reach a maximum of 80  $\mu\text{g L}^{-1}$  in 1973. Between 1973 and 2007, DI-TP dropped to 14  $\mu\text{g L}^{-1}$  in 2007, consistent with monitored data. Daphnia abundance was generally consistent with that of DI-TP. Daphnia maxima matched those in DI-TP. However, it seems that Daphnia abundance increased from the 1940s: i.e. a decade earlier than the first detected increase in DI-TP.

In Lake Geneva, DI-TP concentration was low and fluctuated between 6 and 14  $\mu\text{g L}^{-1}$  before 1955. In 1957, values started to increase, to reach 120  $\mu\text{g L}^{-1}$  in 1974. The general dynamics of DI-TP during eutrophication mirrored that of the monitored data, except that DI-TP tended to over-estimate the P maximum. As for Lake Bourget, the general dynamics of Daphnia abundances were consistent with DI-TP, except that they started to increase a decade earlier. DI-TP values in Lake Geneva decreased from this

peak, to reach  $19 \mu\text{g L}^{-1}$  in 2007, except for a period of very high DI-TP in the 1990s that was not corroborated by monitored TP data, nor by reconstructed changes in Daphnia abundance.

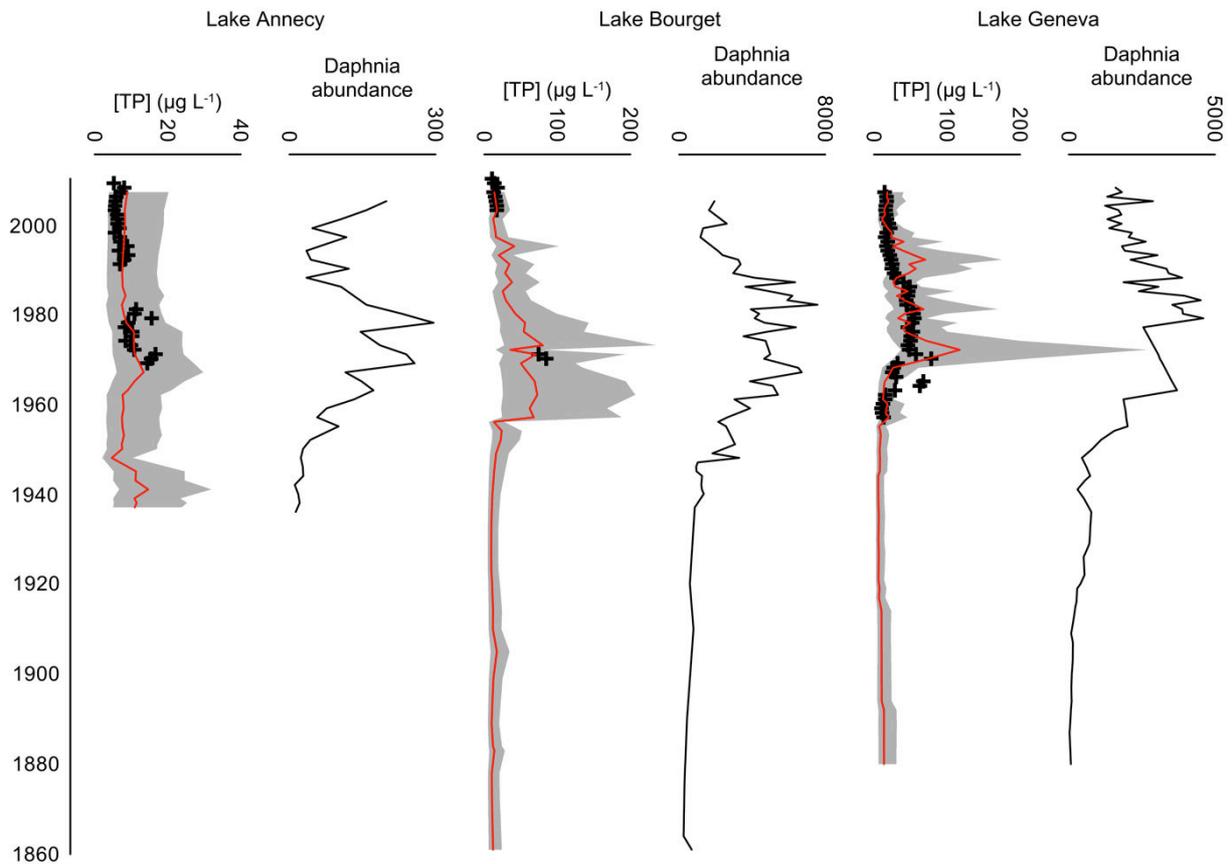


Figure 7 : Diatom-inferred total epilimnetic phosphorus ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (black line; bars indicate bootstrap estimated SEP) compared with long-term measured epilimnetic P concentrations in the study lakes (circle; annual values) and abundance of subfossil Daphnia per g of dry sediment.

## 2. Discussion

### 2.1. Fidelity of subfossil records

Comparisons of paleolimnological to limnological diatoms countings are important to evaluate the accuracy and relevancy of paleoenvironmental inferences (Marchetto and Musazzi, 2001). These comparisons allowed an assessment of the fidelity of subfossil records and the potential bias arising from taphonomic processes occurring before and after the remains are archived in the sediment. In deep and large sub-alpine lakes, representation of living diatom communities by deep-water sedimentary diatom assemblages has been already studied by Marchetto and Musazzi (2001), who compared relative abundance of six selected planktonic species in plankton counts and sediment samples in Lake Maggiore between 1981 and 1998. Besides, Wessels *et al.* (1999) used the few historical phytoplankton data present in the literature to check whether sediment data reflect planktonic diatom community in Lake Constance from 1955, but the comparison performed was based on few species and on sporadic sampled years. A

more powerful approach was possible herein because Lake Geneva has been carefully monitored for 30 years, and also because the lake's annually-laminated sediment can be dated with very high accuracy. These kinds of diachronic comparison performed on long time periods for a single lake are rare because limnological monitoring often contains temporal gaps.

Different potential errors inherent to the used paleolimnological and limnological methods can be observed. Sediment records can suffer from taphonomic biases and errors in the cores samples dating (Battarbee *et al.*, 2005). But, first, the temperature and pH conditions, which are considered as the most important parameters for good valves conservation in sediments (Battarbee *et al.*, 2002; Flower, 1993), allowed a good preservation of diatoms valves, in the three studied lakes. Yet, in Lake Annecy, before 1937, no diatoms valves could be detected in the sediment samples. Druart and Pelletier (1998) encountered that same limits while conducting on a long-term paleolimnological study on Lake Annecy and gave two hypothesis: (i) the very low trophic level could restrict the algal production; (ii) the sediment are rich in detrital particles that could dilute the organism rests. Second, radiometric methods and counting of annual laminations provided accurate chronologies (radiometric methods:  $\pm 5$  years; counting of annual laminations:  $\pm 1$  year). Furthermore, cores were meticulously studied to show irregularities in sediment deposit (e.g. flood events have been spotted) and we chose to work at the deepest part of the three lakes to limit the effect of phenomenon as bioturbation within the sediment column, which can provide a worse representation of the diatom communities. In limnological methods, biases can appear when the protocol is not strictly respected or when the operators change: differences in result can be observed in inter-comparison exercises (Prygiel *et al.*, 2002) ; External Quality Assessment Trials Phytoplankton (EQAT, [www.planktonforum.eu](http://www.planktonforum.eu)). The participation of our limnological database operators to this kind of exercises allows a good use and respect of the standard.

The Mantel test showed that the paleolimnological and limnological datasets were highly correlated, hence highlighting a high compositional fidelity of the sediment archive in Lake Geneva. Good preservation has also been shown for Cladoceran subfossils in these deep subalpine lakes and is attributed to rapid and direct sedimentation processes in an environment relatively undisturbed by sediment resuspension and transportation (Alric and Perga, 2011). Nevertheless, differences between the two datasets may arise from three non-exclusive processes. First, diversity was greater in the paleolimnological dataset than in the limnological dataset of Lake Geneva. Ecological groups enabling discrimination between benthic and planktonic species, as designed by Berthon *et al.* (2011) and Rimet and Bouchez (2012b), were used to interpret the Indval Method results (even if these study were based on river assemblages, we believe that the principle of classification, based on genera life history traits, remains valid in lakes). Results showed that the higher diversity of the paleolimnological record could be attributed to the presence of rather numerous benthic species, that might arise from lateral transport of diatom remains from littoral areas (sediment focusing - (Blais and Kalff, 1995; Likens and Davis, 1975). Overall though, this bias was kept low since it represented <10% of the total community abundance and tend to be limited by geomorphology of these deep large lakes with restricted littoral areas, which are 7 km from the sampling site in Lake Geneva. Second, some species were found only in the limnological data, which could be

explained by the constant evolution of diatom taxonomy and the use of different taxonomic books over time (Rimet and Bouchez, 2012a). It could also be explained by operator determination skills in the case of *Fragilaria* and *Aulacoseira*, since both genera encompass several morphologically similar species that can be confused. Third, two dominant species (*Asterionella formosa* and *Diatoma tenuis*) were under-estimated in the paleolimnological dataset relative to the limnological dataset. These species have a very thin siliceous skeleton and might be more sensitive to taphonomic processes during sedimentation. Their preservation might be lower than for other species with thicker frustules, which might explain why valves detected on the slides were broken. Such underestimations of the abundance of *Asterionella formosa* and *Diatoma tenuis* in profundal core samples were also observed by Marchetto and Musazzi(2001).

## 2.2. Lake trophic histories

As mentioned above,subfossil diatoms in Lake Annecy cannot be used to reconstruct the trophic history before 1937, because they were not preserved in the sediments. Lake Annecy did not reach a high level of eutrophication (maximum TP concentration 15  $\mu\text{g L}^{-1}$  in 1966 and 1970 – winter mean, limnological data) but a slight decrease in *Cyclotella costei* and a replacement by more eutrophic species, namely *Stephanodiscus parvus* were yet observed. The increase in DI-TP concentration has been stronger in Lake Bourget and Lake Geneva according major shifts in thesubfossil diatom communities, most notably the replacement of *Cyclotella* species by mainly *Stephanodiscus minutulus*. These patterns were partially reversed following lake restoration. In Lake Geneva the transition between the oligotrophic and eutrophic phases seemed to be slower than in Lake Bourget, with period s during which mesotrophic species as *Tabellaria flocculosa* and *Diatoma tenuis* developed(Rimet *et al.*, 2009). Lakes Bourget and Geneva underwent a similar trophic history and diatom species succession to that reported for Lake Maggiore (Italy) and Lake Constance (Germany/Switzerland boundary) while that of Lake Annecy was more limited. Indeed, in the latter, the species successions has been less contrasted since the abundance of *Cyclotellacostei* decreased but the species could maintain in the diatom community, in contrast to Lake Bourget and Lake Geneva where they disappeared. Similarly to Lake Maggiore and Lake Constance (Marchetto *et al.*, 2004), the trophic status of Lake Bourget and Lake Geneva are still higher than before eutrophication. The composition of the diatom assemblages in these two lakes today is markedly different from that of the pre-eutrophication period with particularly lower abundance of *Cyclotella comensis* in the recent sediment and the presence of *Asterionella formosa* and *Diatoma tenuis* (mesotrophic species) in Lake Geneva. Re-oligotrophication is more advanced in Lake Maggiore where *Cyclotella comensis* is currently abundant (Marchetto *et al.*, 2004).

## 2.3. Total phosphorus reconstructions

In spite of the annual variability in TP concentration in lakes, the annual mean TP concentration measured in the three study lakes compares well with the DI-TP values. Apart some sporadic points, the difference between measured and inferred TP is markedly lower than the standard error of the prediction estimated using the bootstrapping techniques. This pattern was also found by, for example, Marchetto and

Bettinetti (1995) in other deep lakes, and it is probably due to the large morphometric heterogeneity of the lakes included in the calibration data set. In fact, in the bootstrapping procedure, the error component specific to each subfossil sample ( $v_1$  in Birks *et al.*(1990)) is markedly smaller than the component due to the imperfection in the calibration procedure ( $v_2$  in Birks *et al.*(1990)). Indeed, there are not enough large deep lakes in Europe to build a specific data set, so that Wunsam and Schmidt(1995) enlarged their calibration data set with shallower lakes. A consequence is an inflated noise in the transfer function. Nevertheless, DI-TP values were very close to the measured TP for samples which diatom composition was very similar to those used for the calibration. In contrast, in samples rich in small *Stephanodiscus*, which have no modern analog in the calibration data set, the DI-TP values were quite different from the measured values.

WA<sub>cla</sub> reconstruction models provided TP values closest to the limnological data and the most realistic in relation to the known history of Lake Annecy and Lake Geneva during the last century (limnological data + *Daphnia* abundance reconstruction). In contrast, the most adequate model was the WA<sub>inv</sub> for Lake Bourget. WAPLS did not provide satisfactory reconstructions: for instance, in Lake Bourget, between 1860 and 1940, the WAPLS reconstruction lead to marked fluctuations between 12 and 90  $\mu\text{g L}^{-1}$  which were not supported by others proxies such as cladocerans(Alric *et al.*, 2013). Furthermore, WAPLS, as an inverse approach, seems to perform best if the subfossil samples are similar in composition to samples in the central part of the calibration data(Birks, 1998), which was not the case here.

A high abundance of some species in the dataset used to calculate the DI-TP concentration caused some overestimations or underestimations compared with monitored TP (Wunsam and Schmidt, 1995). The overestimated values corresponded to the time periods when the relative abundance of *Stephanodiscus* species was very high although the WA<sub>cla</sub> model seemed to be less sensitive to this problem. DI-TP values were higher than expected between 1937 and 1945 in Lake Annecy, and in 1972 and between 1989 and 1996 in Lake Geneva. This over-estimation by the model has been observed in previous studies. *Stephanodiscus minutulus* was very abundant during the 1980s in the paleolimnological record of Lake Maggiore(Marchetto *et al.*, 2004)while *Stephanodiscus* spp. relative abundance was higher than 30% in the Esthwaite Water and the Windermere South Basin diatom community(Bennion *et al.*, 2005). Bennion (Bennion *et al.*, 1995), in Lake Mondsee, showed the same overestimation due to the same *Stephanodiscus* species and speculated it could be explained by the high abundances of these species in the most eutrophic lakes of the calibration dataset. It should also be noted that, between 1989 and 1996, in Lake Geneva, taphonomic bias might cause an over-estimation of *Stephanodiscus minutulus* (Figure 6). *Cyclotella costei*, which was very abundant in the three studied lakes, may have the opposite effect since high abundances in the sediment appear to be associated with TP underestimations. Then, assuming that mesotrophic species (*Tabellaria flocculosa* and *Diatoma tenuis*) increasing abundances do not cause any progressive increase in DI-TP concentration in Lake Bourget and Geneva, the model may not account sufficiently for these species. As a result, the reconstruction using this transfer function does not detect small fluctuations of TP concentrations at low TP levels ( $<10 \mu\text{g L}^{-1}$ ), as evidenced by the comparison with *Daphnia* biostratigraphies. The consequence is that the model cannot date accurately the early

beginning of eutrophication in Lakes Bourget and Geneva, hence partially limiting the accuracy of the TP reference conditions.

#### 2.4. Reference conditions and present state

Reference conditions are determined as the state observed before the industrialisation and agricultural intensification (but they do not equate to the pristine state because the anthropogenic impacts started before) (Bennion *et al.*, 2005). Using the transfer function result, as we said in the 4.3 section, we cannot define precisely the reference conditions for TP concentration in the three studied lakes. Furthermore, for Lake Annecy, the absence of diatoms in the lowermost section of the core (before 1937 AD) limited the extent of the record. Average DI-TP concentrations values calculated over the known pre-eutrophication period (Lake Annecy<sub>1938-1950</sub>: 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Lake Bourget<sub>1861-1950</sub>: 11  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Lake Geneva<sub>1880-1950</sub>: 8  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), are slightly higher than values observed in Lake Maggiore and Lake Constance (Marchetto *et al.*, 2004; Wessels *et al.*, 1999) and this might arise from the model limits as specified above.

The current diatom communities compositions in the three studied lakes are still different from those observed for the defined reference conditions, with, for instance, lower abundances of *Cyclotella*. However, TP concentration is not the only parameter that can drive changes in the diatom communities. For instance, increasing abundance of *Tabellaria flocculosa* (which is typically a thermophilic species in these lakes (Rimet *et al.*, 2009)) over the most recent years of the studied period may be attributed to the increasing temperature in the region (especially from the last 1980s - HISTALP data set (Auer *et al.*, 2007)). The potential effect of parameters as temperature should also explain the differences between eutrophication and re-oligotrophication trajectories.

#### Conclusions

Paleolimnological methods using diatoms can suffer from some bias due to, for example, valve preservation in the sediment, especially for thinly silicified species, or to the presence of benthic species in sediment in very deep part of lakes (Battarbee *et al.*, 2002). But the comparison of limnological and paleolimnological datasets for Lake Geneva confirmed the faithfulness of the paleolimnological records for these subalpine lakes. These subfossil diatom records are, therefore, appropriate for assessing environmental change in these systems. The comparison between DI-TP and limnological monitoring data showed good agreement, thus enabling the reconstruction trophic history of the three study lakes and the establishment of relatively accurate reference P concentrations. However, in spite of the bias inherent to the used transfer function models (like WA, which assume, for example, always an unimodal relationship between species and environmental variables even if some taxa may show a skewed unimodal or sigmoid (and not linear) response (Birks, 1998; Huisman *et al.*, 1993)), transfer functions have been used in the past to infer different limnological variables. One important point in the application of transfer functions is that the inferred variable should be an important factor controlling the development of the

specific community used for inference. In the case of diatoms, it is well known that species distribution is mainly dependent on salinity, pH, trophic status and habitat availability.

Part of the diatom responses observed during re-oligotrophication might also be driven by climate variability. Climate Change and the lakes responses to the combination of decreasing TP concentration and Climate Change are still difficult to understand (Battarbee *et al.*, 2005). Perspectives to this work would be to quantify the role of the different perturbations that potentially impacted the diatom communities in these three lakes changing their compositions (eutrophication, climate change and fisheries management practices). This kind of study has been already done for Esthwaite Water (Dong *et al.*, 2011). Such an approach is required to evaluate how much the diatom composition at the TP restoration objectives might differ from those observed at temporal reference conditions.



## Chapitre 5 : Réponses des communautés de diatomées au réchauffement climatique, comparaison inter-lacs.

---

### Ce qu'il faut retenir des résultats

Dans le précédent chapitre, nous avons constaté que malgré les efforts de restauration et le retour des trois lacs étudiés à un niveau trophique oligotrophe ou oligomésotrophe, les compositions des communautés de diatomées actuelles ne correspondent pas à celles de la période pré-eutrophisation. Les abondances de certaines espèces rares avant les années 1980, *Fragilaria crotonensis*, *Asterionella formosa*, *Aulacoseira islandica*, *Diatoma tenuis*, augmentent peu à peu. A l'inverse, l'abondance en *Cyclotella* spp. est moins forte qu'avant l'eutrophisation. Si l'évolution du statut trophique des trois lacs reste incontestablement une variable de forçage majeure des communautés de diatomées, son effet n'éclipse pas ceux d'autres paramètres, tels que le réchauffement climatique et l'effet *top-down*.

Deux questions se posent suite aux observations faites sur les trajectoires récentes au sein des communautés de diatomées des trois lacs : (1) s'ils existent, est-il possible de différencier les effets des différentes perturbations (P, température, poissons)? (2) Des interactions entre le réchauffement climatique et les perturbations locales sont-elles observables ?

Des modèles additifs généralisés sont employés pour améliorer les connaissances sur les impacts de ces trois perturbations et leurs interactions. L'analyse de leurs résultats montre que l'évolution du statut trophique des lacs d'Annecy, du Bourget et Léman est le forçage principal de l'évolution des communautés de diatomées, mais son influence diminue au cours des trente dernières années, avec une incidence grandissante du réchauffement climatique et de la gestion piscicole.

En effet, les espèces dont l'abondance augmente de façon inattendue lors des trente dernières années ne semblent pas être influencées par l'évolution du statut trophique. Elles ne montrent aucune préférence le long du gradient de concentration en phosphore total. En revanche, si l'abondance des mêmes espèces augmente sur les trois lacs, les causes peuvent différer selon les lacs et si le réchauffement climatique est en cause, son impact peut être direct ou indirect. Il apparaît également que le statut trophique influence la sensibilité des différentes espèces de diatomées aux conséquences du réchauffement climatique.

C'est dans le lac du Bourget que l'impact direct du changement climatique sur les communautés de diatomées est le mieux mis en évidence. Dans ce lac, les espèces de printemps sont favorisées. Elles sont susceptibles de pouvoir mieux résister à la stratification qui apparaît plus précocement au cours de l'année et de mieux profiter des nouvelles conditions où les concentrations en nutriments diminuent et la stabilité de la colonne d'eau augmente.

Dans le lac Léman, l'impact du réchauffement climatique est moindre et semble interagir avec l'effet de la gestion des populations piscicoles. Seul ce genre d'interaction peut expliquer que les espèces favorisées au

cours de ces trente dernières années dans le lac Léman sont des espèces de grande taille et/ou coloniales, donc non comestibles pour le zooplancton.

Dans le lac d'Annecy, le lac le plus oligotrophe, le réchauffement climatique semble favoriser *Cyclotella costei*.

Ainsi, dans les trois lacs soumis à un réchauffement climatique identique, les communautés de diatomées réagissent différemment. Les caractéristiques géomorphologiques et les perturbations locales telles que l'évolution du statut trophique et la gestion des communautés piscicoles modèlent les réponses des communautés de diatomées face au réchauffement climatique.

Cette étude met en évidence que la vulnérabilité d'un lac, face aux différentes perturbations anthropiques qu'il peut subir, dépend de ses caractéristiques propres. La réussite de la restauration des milieux aquatiques passe par la prise en compte des interactions entre les différentes variables de forçage qu'ils subissent.

## Magnitude and specific responses of diatoms to climate warming in anthropogenized lakes.

Vincent Berthon, Benjamin Alric, Frédéric Rimet, Jean-Philippe Jenny, Cécile Pignol, Marie-Elodie Perga.  
Soumis à FreshWater Biology.

- 1. While diatom communities were shown to strongly respond to current climate warming in remote lakes, evidences are still equivocal for lakes under strong local human pressures.*
- 2. The temporal dynamics of the planktonic diatom communities as reconstructed from palaeolimnological approaches were re-explored for three sub-alpine lakes (Lakes Geneva, Annecy and Bourget) that have been undergoing substantial changes in their phosphorus concentrations and fisheries management practices over the last century.*
- 3. A first objective was to assess whether climate warming had been a significant structuring factor of the diatom communities and to what extent. A second objective was to address diatom specific responses to climate change and whether they varied according to local lake pressures. To this end, generalized additive models were used to develop a hierarchical understanding of the respective roles of local stressors and climate warming in structuring diatom communities.*
- 4. Altogether, changes in total phosphorous concentration (TP), air temperature and fish predation pressure could explain the temporal dynamics of most diatom species in the sediment records of the three study lakes. TP was not only the major driver of the diatom trajectories but was also a strong modulator of diatom sensitivity and responses to climate warming.*
- 5. The diatom community of Lake Bourget displayed the highest vulnerability and direct responses to climate warming, by favoring spring species that can resist earlier stratification and summer species that can make the best trade-off between decreasing nutrient concentrations and increased water column stability. In Lake Geneva, climate warming also contributed in shaping diatom communities but through a rather indirect pathway. Indeed fisheries management practices and climate warming interacted and reinforced top-down control then favoring large, colonial unedible species (as *Asterionella formosa*, *Aulacoseira islandica*). For Lake Annecy, which is the most nutrient limited, no changes in diatom community structure could be tied to higher air temperatures over the last 25 years.*
- 6. Although all three lakes have been subjected to the same climate change, the magnitude and responses of their diatom communities were uneven. The contribution of lakes geomorphology to the differences in diatom vulnerability is likely, but the differences in lake trophic status but also fish management practices, definitely modulated the diatom responses to climate warming.*



## Introduction

Climate change is increasingly acknowledged as an important driver of lake ecosystems (George and Harris, 1985; Adrian *et al.*, 1995; IPCC, 2001; Williamson *et al.*, 2009). Yet, our understanding of the extent of climate change impacts on lakes remains patchy. Filling this gap is even more challenging for temperate lakes with populated catchment that have been facing, in addition to climate change, a variety of environmental pressures over the last decades (MEA, 2005). The consequences of local human activities such as nutrient enrichment or fisheries management practices have deeply affected lake ecological trajectories and status over the last fifty years (Jeppesen *et al.*, 2007). Forecasting the effects of climate warming in the context of multiple local human perturbations is therefore difficult (Jeppesen *et al.*, 2010), either because the climate effect is blurred by the relative strength of other impacts or because climate and other environmental pressures may interact, creating unexpected ecological responses (Schindler, 2001; Leavitt *et al.*, 2009; Smol, 2010; Battarbee *et al.*, 2012).

For these lakes surrounded by dense populations, evidence of phytoplankton responses to climate change are still equivocal. Commonly, Dong *et al.* (2012) identified, from palaeolimnological reconstructions, that the diatom dynamics in Esthwaite Water (England) were essentially driven by changes in nutrient concentration while climate had only a minor impact over the last 60 years. In contrast, in the re-oligotrophicated Lake Mjøsa (Norway), differences between the pre-eutrophication and current diatom communities compositions were attributed to a potential effect of increasing water temperature (Hobæk *et al.*, 2012). In addition, the appearance of new diatom species, i.e. *Asterionella formosa* and some *Cyclotella* species in the most recent time-period in Piburger See (Austria) were also related to climate change (Thies *et al.*, 2011). Analyses of long-term phytoplankton data-series of four re-oligotrophivating European large sub-alpine lakes showed that decreasing phosphorus concentrations acted as the main driver of changes in phytoplankton composition over the last 30 years, while climate change, through warmer winters since the late 1980s, exerted a more indirect influence (Anneville, Gammeter and Straile, 2005).

In the preliminary study (Berthon *et al.*, 2013) based on a palaeoecological approach, the changes in the diatom community composition were reconstructed in three French sub-alpine lakes (Lakes Annecy, Bourget and Geneva). The objective was to infer, from a diatom transfer function, past changes in the total phosphorus concentrations (TP) of these three temperate and heavily anthropogenized lakes over the last 150 years. Successive periods identified in the diatom stratigraphy highlighted that major changes in the diatom communities mirrored profound changes of the lakes trophic status, which is a *sine qua non* requirement for diatom-inferred TP (DI-TP) reconstruction. Nevertheless, despite TP in these lakes being quite close to their pre-eutrophication levels, the diatom compositions of the most recent sediment samples remained quite different from pre-eutrophication period ones (Figure 6). Relative proportions of *Cyclotella costei* were higher in the most recent sediment samples than was could be expected based on the current lake TP. In contrast, in the uppermost samples of Lakes Bourget and Geneva cores, *Cyclotella* spp. abundance was lower than expected based on current TP, while increased abundances of *Fragilaria crotonensis* and *Asterionella formosa* (both lakes), *Aulacoseira islandica* (Lake Bourget) and or *Diatoma tenuis*

(Lake Geneva) have been observed from 1990. The outcomes of this preliminary study suggested that environmental pressures other than nutrient concentrations might impact the planktonic diatom communities of these lakes. This new set of environmental pressures involves climate warming but also changes in fisheries management practices, although rarely integrated within these analyses. Consistently, a recent palaeolimnological study conducted on these three lakes showed that long-term changes in the cladoceran communities significantly responded to climate but also to changes in fisheries management practices (Alric *et al.*, 2013). Such changes in grazing zooplankton composition could cascade down to phytoplankton, and thus diatoms, through a top-down effect (Carpenter *et al.*, 1996).

Herein, the objective was to re-explore the temporal dynamics of the planktonic diatom communities as reconstructed from palaeolimnological approaches over these three lakes by assessing and ranking the respective roles of local (total phosphorus concentration and fish predation pressure) and climate forcings on the observed dynamics.

## 1. Results

### 1.1. Principal component analysis

For each lake, PCA was performed over the selected species relative abundance. The two first axes of PCA (PC1 and PC2) explained between 60 and 83% of the total variance in the diatom communities (Table 2). In all cases, PC1 accounted for half (40-50%) of the total diatom variability. Species correlations on PC1 showed trends that were common for all three lakes, with *Cyclotella* species making up the highest loading. Relative abundances of *Cyclotella* species were opposed to those of the small centric *Stephanodiscus minutulus* (Lakes Bourget and Geneva) and/or the larger colonial *Fragilaria crotonensis* (Lakes Annecy and Geneva) and *Asterionella formosa* (Lake Annecy). For all three lakes, PC2 accounted about a fifth to a quarter of total diatom variability (18-25%) but, in contrast to PC1, the species that had the highest loadings on PC2 differed between lakes. In Lake Annecy, PC2 accounted for the ratio of *Cyclotella costei* versus the larger species *Stephanodiscus parvus*/*Fragilaria crotonensis*. Rather similarly, PC2 in Lake Bourget represented changes in the ratio between small diatom species (*Cyclotella sp* and *Stephanodiscus minutulus*) versus the larger and colonial *Asterionella formosa* / *Aulacoseira islandica* / *Stephanodiscus parvus*. In Lake Geneva, PC2 was positively correlated to *Stephanodiscus binderanus* and *Asterionella formosa* and negatively correlated to the contribution of *Tabellaria flocculosa*, *Stephanodiscus alpinus* and *Aulacoseira islandica* (Figure 8).

### 1.2. Additive models

The final additive models explained between 30 and 93% of the deviance of PC1 and 2 scores (Table 5). For all three lakes, Da-TP was always the dominant (if not only) driver of the diatom trajectories on PC1. Deviance on PC1 explained only by Da-TP was, for all three cases, about 80%, confirming that changes in lake TP over time were the major factor structuring pelagic diatom communities. In all three lakes,

nutrient enrichment came along with a decreased contribution of *Cyclotella* species. In Lake Annecy, which eutrophication was rather limited, *Cyclotella* and *Stephanodiscus minutulus* got replaced by *Asterionella formosa* and *Fragillaria crotonensis*. Specific responses to changing TP were slightly different for the other two lakes. Although *Cyclotella* species were also typical for oligotrophic conditions in lakes Bourget and Geneva, higher trophic status came along with increased abundances of *Stephanodiscus minutulus* abundances.

**Table 5: Summary for the final GAMs fitted to diatom PCs scores for each lake. Only covariates explaining variance in the response were presented in the table and they were arranged in ascending order of their contribution to the final GAMs. LABEL OF COLUMNS: proportion of variance (%), deviance explained (%; deviance is a measure of residual variation around the final GAM models analogous to the sum of square in linear regression), edf (effective degrees of freedom for the regression spline), res. df (reference degrees of freedom used to compute the P), F (F-statistic), P (associated probabilities). COVARIATES: DaTP (Daphnia inferred Total Phosphorus Concentration), DL (the length of Daphnia post-abdominal claws), AT (annual air temperature), ST (summer air temperature).**

lake	PCA axe	proportion of variance	deviance explained	covariates	edf	Res. df	F	P
Lake Annecy	PC1	46,32	83,8	DaTP	4,68	5,73	5,9	4,76E-04
	PC2	24,58	30,1	AT	0,92	0,99	11,68	1,71E-03
Lake Bourget	PC1	50,45	82,4	DaTP	3,82	4,79	26,64	7,17E-15
	PC2	23,39	38,4	AT	2,36	2,99	8,11	1,01E-04
				DL	1,77	2,33	3,02	4,72E-02
Lake Geneva	PC1	42,87	93	DaTP	3,21	4,01	67,01	< 2,00E-16
				DL	0,95	0,99	19,95	2,73E-05
				ST	3,15	3,97	5,07	1,11E-03
	PC2	18,1	77,9	DL	7,33	7,86	10,38	1,34E-09
				DaTP	4,3	5,3	8,89	7,09E-07
				TS	0,8	0,95	4,11	4,79E-02

In Lake Geneva, the additive model for PC1 also retained length of Daphnia claws as a significant forcing. The contribution of Daphnia length for PC1 trajectories was hitherto strongly coupled to Da-TP, confirming the final model for PC1 accounted for changes in top-down control that resulted from nutrient enrichment. In contrast to Lakes Annecy and Bourget, air temperature was also selected in PC1 model for Lake Geneva, contributing to observed changes in the diatom community structure as summarized by PC1 only significantly for the last 25 years.

Models explaining diatom trajectories on PC2 were, in contrast, quite different between lakes. For Lake Annecy, annual air temperature was retained as the only forcing, but explaining a low proportion of deviance (18%, Table 2). Consequently, annual air temperature did not significantly ( $P > 0.05$ ) model the PCA axis 2 scores and did not adequately explained the recent dominance of *Cyclotella costei* within Lake

Annecy diatom assemblages (Supporting information 2). In Lake Bourget, mean annual air temperature drove and modeled adequately PC2 scores (approx. 35% of deviance explained, models performances in Supporting information 2). The contribution of the climate forcing was most significant over the last 25 years and came along with the increased contribution of *Asterionella formosa* / *Aulacoseira islandica* / *Stephanodiscus parvus* to the total diatom community. The length of *Daphnia* post-abdominal claws was also retained as a significant factor but its explaining power was low (total explained deviance on PC2 decreased only by 3% when the model was run without length of *Daphnia* post-abdominal claws). In Lake Geneva, all three considered forcings contributed to the final model on PC2 scores. Da-TP showed a significant contribution over the whole study period but got overpassed by the length of *Daphnia* post-abdominal claws from the early XXth century. Contrary to the results of the model on PC1, changes in *Daphnia* length were not correlated to Da-TP on PC2, showing that, in this case, the final model accounted for changes in top-down controlled that were rather triggered by changes in fish management practices. Increased contribution of length of *Daphnia* claws to the final model on PC2 coincided to the increased contribution of *Asterionella formosa* and *Stephanodiscus binderanus* to the total diatom community. As for model on PC1, mean summer air temperature significantly contributed for PC2 trajectories over the last 25 years, but its contribution was much lower than those of the two local forcings. Because climate effect was much more restricted than for Lake Bourget, deciphering which species were specifically favored by climate warming over the last two decades is less certain. Yet, increased contribution of summer air temperature over the last 25 years coincided to the appearance of *Diatoma tenuis* (Figure 9).

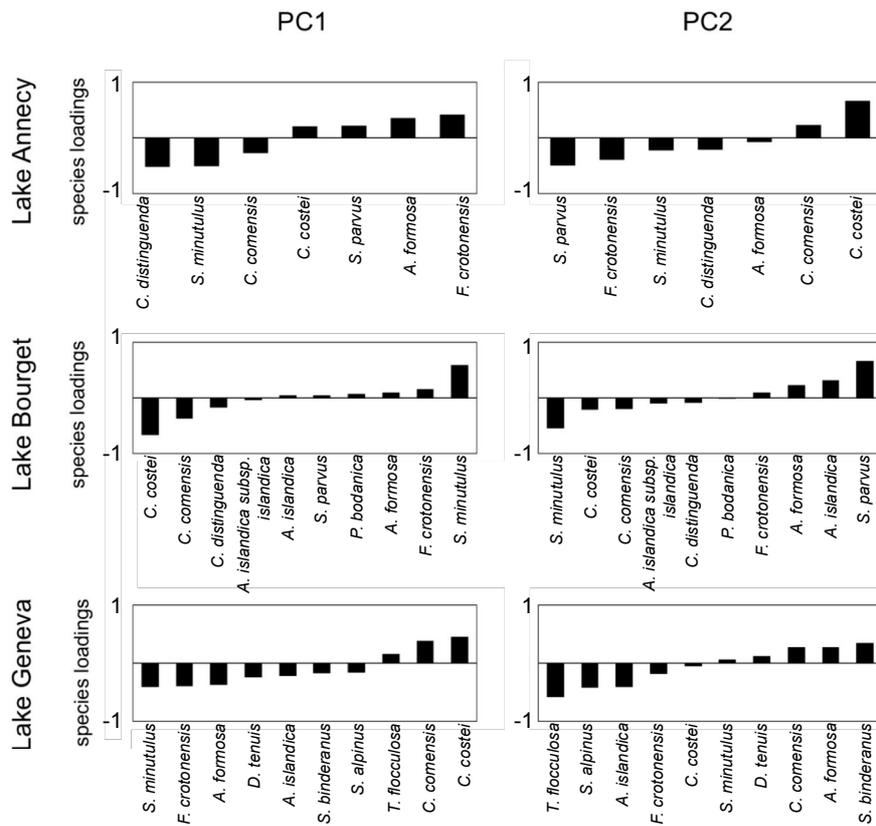


Figure 8: Diatom species loadings on the two PC in the principal component analyses summarizing temporal changes in the diatom community structure of the three studied lakes.

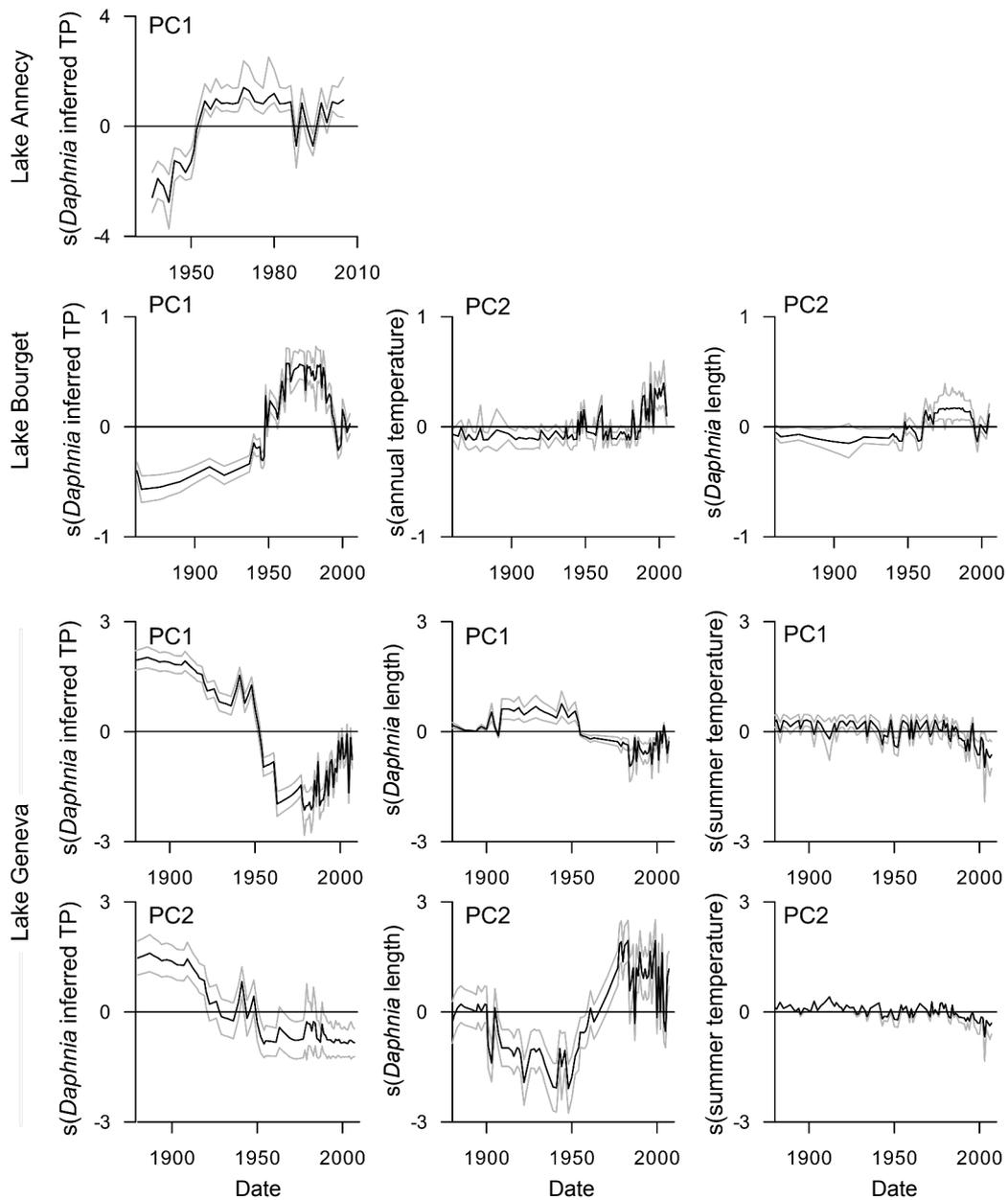


Figure 9 : Temporal contribution of covariates selected in final GAMs (*Daphnia* inferred TP, the length of *Daphnia* post-abdominal claws and annual air temperature for Lakes Annecy and Bourget or summer air temperature for Lake Geneva) fitted to diatom PC1 and PC2 for the three studied lakes. The grey lines are approximate 95% pointwise confidence interval on the contribution. Where the dashed lines include the zero lines, the contribution of the covariate is not statistically significantly different from the intercept. The order of covariates for each lake corresponds to the importance of their contribution to explain the fitted diatom PCs scores.

## 2. Discussion

The premise of this study was that the diatom community of the three study lakes has been modified over the XXth century under the primary influence of changes in lakes TP. However, not only the diatom compositions of the most recent sediment samples remained quite different from pre-eutrophication period ones but the species responsible for these differences were also not the same ones depending on the considered lake. Such a lack of recovery to the pre-eutrophication community structure has been observed in other European lakes for which the re-oligotrophication period coincided with a period of air warming as a result from positive phase of North Atlantic Oscillation. In such lakes, these trajectories have been attributed to climate change (Jeppesen *et al.*, 2007). Yet, disentangling and quantifying the relative contribution of local versus climate forcings on observed patterns are usually difficult from decennial data-series (Leavitt *et al.*, 2009) since it requires composing with a high number of degrees of freedom. In contrast, comparative, recent paleolimnological studies, by covering scales and periods encompassing different levels of considered forcings (warmer-colder, high-low nutrient, high-low fish predation), can scale up and hierarchize their influence, especially when combined to adequate statistical modeling. Indeed, changes in TP were, not surprisingly, the major driver of the diatom community structure over the last 100 years in these lakes, as previously observed from a similar approach on Eathwaite water (Dong *et al.*, 2012). Yet, the long-term approach used herein emphasizes that the diatom communities have been responding to a new set of environmental forcings over the latest 30 years while the comparative design highlights how local conditions modulate the diatom vulnerability to these forcings.

This study was based on palaeoecological approaches and a first limit to palaeoecological approaches lies in the representativeness of subfossil assemblages as compared to what was really observable in the water column. Potential differences in the diatom trajectories observed between lakes and/or changes along cores in the composition of the diatom remains could result from varying taphonomical bias or archiving processes between lakes over time, rather than from actual ecological changes in the source communities. In the preliminary study, annual palaeolimnological and limnological diatom counts for Lake Geneva were compared (the limnological samples and the cores were collected at the same point, at the deepest point of the lake) over the last 30 years. The palaeolimnological archives recorded temporal changes in the diatom community with high compositional fidelity (Berthon *et al.*, 2013). A sediment trap experiment conducted in a nearby deep sub-alpine lake underpinned that the morphology of these deep, concave lakes favors a rather direct and faster sedimentation, and thus archiving, of remains (Alric and Perga, 2011). The most notable differences between the limnological and palaeolimnological diatom records essentially resulted from both taphonomic and depositional biases, as evidenced by the underestimation of thin skeleton species such as *Asterionella formosa* and *Diatoma tenuis* in the palaeolimnological dataset and the presence of many benthic taxa although samples points were chosen to avoid their presences. Their abundances yet stayed very low in our samples and their presences were explained, in our preliminary study, by a possible lateral transport of diatom remains from littoral areas.

Except for climate for which direct data were available, our approach also required palaeolimnological reconstructions for the forcings considered in this study. An ad hoc proxy for TP has been developed within the study and proved to be as, if not more, accurate than DI-TP, with narrower confidence intervals. Proxy for fish predation pressure was provided by a previous study focusing on the changes in the cladoceran community structure on these same lakes at the same time scales (Alric *et al.*, 2013). The relevance and limits of proxy for top-down control have already been deeply discussed in that paper. In all three lakes, *Daphnia sp.* belong to the *Daphnia galeata–longispina–cucullata* species complex (here, *D. galeata*, *D. longispina* and their hybrids, (Alric, 2012)) and changes in the length of *Daphnia* claws over time are unrelated to estimated dominance of *D. galeata* or *D. longispina* species (as estimated from microsatellite analyses on resting eggs; (Alric, 2012)). Moreover, temporal changes in *Daphnia sp.* body size were strongly, inversely correlated with fisheries catches in the main zooplanktivorous species (Spearman's rank correlation test between *Daphnia sp.* claws size and catches, Lake Geneva:  $\rho = -0.511$ ,  $P = 1.58 \times 10^{-6}$ ; Lake Bourget:  $\rho = -0.340$ ,  $P = 0.009$ ; Lake Annecy:  $\rho = -0.426$ ,  $P = 0.008$  (Alric *et al.*, 2013)), confirming that even though other environmental conditions such as food quality/quantity or temperature (Hart and Bychek, 2011) and invertebrate predation (Branstrator, 2005), can affect *Daphnia sp.* body size, they may not be strong enough to compromise the relevancy of using *Daphnia sp.* body size as a proxy for fish predation pressure. Yet, contrary to Da-TP, this proxy does not provide any inference and is semi-quantitative. Setting a transfer function to reconstruct fish predation pressure from length of *Daphnia* claws would require a calibration dataset in which a measure of fish predation pressure is provided. In a set of 52 shallow lakes from Denmark, Greenland and New Zealand, Jeppesen *et al.* (2002) inferred past abundances of zooplanktivorous fish (Catches per Unit Effort) from the size of *Daphnia sp.* ephippia. Catches per unit effort data would make up a quantitative measurement of fish predation pressure, but these data are not collected within the lakes monitoring. As mentioned earlier, the intensity of fish predation pressure is not directly or quantitatively linked to the total catches of zooplanktivorous fish (although the significant negative correlation between zooplanktivorous fish catches and length of *Daphnia* claws is comforting). A quantitative transfer function could not then be derived and temporal changes in length of *Daphnia* claws were treated as relative indicators of changes in fish top-down control on zooplankton. These changes were considered to reveal the effects of stocking practices only when they were uncoupled from TP changes.

### 2.1. Lake nutrient concentration has been the main factor structuring diatom communities over the last century

The models used for each lake placed, as expected, nutrient concentrations as the main driver of the diatom trajectories which contribution was significant over the whole study period. In contrast, the impacts of fish predation pressure and climate change, when significant, were confined to shorter time periods. In Lake Annecy, that has always been the most nutrient-limited, changes in nutrient

concentrations is the only forcing, amongst those included within this study, that seems to matter. TP contribution to the structuration of diatom communities was dominant until the mid 1980's in Lake Annecy, and the late 1990's in Lakes Bourget and Geneva. Increased nutrient concentration caused complete alternation from *Cyclotella* species (*Cyclotella costei*, *Cyclotella comensis*) to *Stephanodiscus minutulus* as dominant taxa in Lakes Bourget and Geneva, consistent with their well-known nutrient specific preferences (Berthon *et al.*, 2013). In Lake Annecy, where eutrophication was of much lower intensity, *Cyclotella comensis* and *Cyclotella distiguenda* let place to *Stephanodiscus parvus* were observed during the most eutrophic period. In others nearby sub-alpine lakes (Lakes Como, Garda, Idro, and Iseo in Italy and Lake Constance in Germany), which host similar diatom communities as the present study lakes, changes in lake trophic status over the last century drove similar changes in the diatom communities, with the same species successions as observed here in the three lakes (Marchetto *et al.*, 2004).

However, species that have been dominating the diatom record over the last 30 years for Lakes Geneva and Bourget (average relative abundances since 1980: 15-25% of *Asterionella formosa*, 5-14% of *Diatoma tenuis*, 18-20% of *Fragilaria crotonensis*, 1-3% of *Tabellaria flocculosa* in Lake Geneva) are not those which dynamics is particularly tied to lake nutrient status (Rimet, Druart and Anneville, 2009). More generally, plotting *Asterionella formosa*, *Diatoma tenuis*, *Fragillaria crotonensis* and *Tabellaria flocculosa* relative abundances in the European Diatom Database samples (Combined TP Dataset: 347 European lakes, total phosphorus concentration minimum value = 2 µg L<sup>-1</sup>, maximum value = 1189 µg L<sup>-1</sup>, mean value = 98.6 µg L<sup>-1</sup>), these do not show any preferences in the offered gradient of total phosphorus concentration (Battarbee *et al.*, 2001). Similarly in Lakes Haliburton, Muskoka, Maple and St. Nora, the increase of *Asterionella formosa* and *Fragillaria crotonensis*, during the last 20 years, was not driven by trophic status (Hadley *et al.*, 2013). Indeed, the absolute contribution of nutrient concentration to shaping diatom communities tended to get minor as compared to the other considered forcings over the last 30 years, highlighting that TP was not anymore the only driver that matters, at least in the two lakes that are less nutrient-limited.

## 2.2. Changes in top-down control as a result of fisheries management practices can significantly cascade down to the diatom communities

A previous study highlighted and quantified the structuring impact of fish predation pressure on the cladoceran communities of these lakes, and showed that it was highly significant during the re-oligotrophication phase of Lakes Geneva and Annecy especially (Alric *et al.*, 2013). Herein, GAM results confirmed its effects could cascade down to the diatom community. The sensitivity of diatom communities to changes in fish predation pressure were however lower than for cladoceran communities, since effects of top-down controls are supposed to be strongest at the highest trophic levels and tend to fade out when going downward to lower trophic levels (McQueen, Post and Mills, 1986; McQueen *et al.*, 1989). Top-down effects can hardly be disentangled from bottom-up effects on the diatom community structure in eutrophication phase, since increased fish predation on zooplankton is a secondary consequence of increased lake productivity (Carpenter *et al.*, 2001; Jeppesen *et al.*, 2002). However,

changes in fish predation pressure as result of fisheries management practices (when desynchronized from bottom-up control) could be identified as a significant structuring factor of the diatom communities of Lake Geneva (PC2) over the whole XXth century. Time-periods of decreasing length of *Daphnia* post-abdominal claws coincided with increased abundances of large colonial (*Asterionella formosa*) or filamentous (*Stephanodiscus binderanus*) diatom species. Such a trend suggests that reinforced top-down impact resulted in favoring these large diatom species hardly edible for most zooplankton grazers (Knisley 1986; Perga, Bec and Anneville, 2009). Yet, if the high predation pressure on zooplankton observed in Lake Geneva has been attributed to fisheries management practices before the 1990s, Alric *et al.* (2013) underpinned that the maintenance of such a high predation pressure over the last 20 years was rather the product of an interaction between fish stocking and climate warming. In Lakes Geneva (in which whitefish is stocked every year as yolk-sac larvae), and in contrast to Lake Bourget, the intensity of fish predation pressure was maintained high because warming benefited whitefish recruitment from stocking (Gerdeaux *et al.*, 2006). In Lake Bourget, no such interaction between fish stocking and climate was detected since stocking occurs much later in the season, at juvenile stages (Champigneulle *et al.*, 2001) hence limiting the time window for strong top-down impact on zooplankton (Alric *et al.*, 2013). In that sense, the high contribution of *Asterionella formosa* to the recent diatom communities in Lake Geneva could also be considered as an indirect consequence and pathway of the climate forcing on this lake.

### 2.3. Climate change as a significant structuring factor over the 30 last years

An unprecedented, in the last millennium, increase of air temperature was observed after the 1950's (Jansen *et al.*, 2007) and, at the same time, greater changes of the diatom communities' compositions could be observed in temperate lakes of the Northern Hemisphere (Rühland, Paterson and Smol, 2008). Air temperature over the three study lakes has been increasing for the whole XXth century. However, although the three lakes have been undergoing the same climate variability, the warmer climate observed over the last century did not contribute to the same magnitude in shaping their diatom community.

In these lakes, warmer air temperature does not necessarily cause warmer water temperatures. For instance, not clear differences in water temperature could be detected for Lake Annecy between the 1970s (relatively cold time-period) and the latest years (SOERE-INRA database). In Lake Geneva, for which dataserries are long enough to directly evaluate the long-term impact of climate warming, only surface water temperatures in spring have significantly increased over the last decades (1972-2008 (Anneville *et al.*, 2010)) while summer water temperature rather vary according to the cyclical solar activity (Anneville *et al.*, 2010). Climate warming rather affects the water physics through stratification start and duration. In Lake Geneva, the clearwater phase occurs about one month earlier now than in the mid 70s and the stratification lasts a month longer (Anneville *et al.*, 2010). In Lake Annecy, the thermocline in late summer deepened between the 1970s and 2000-2010 (INRA-SOERE database) attesting of stronger water column stability in summer. Hence, the diatom vulnerability to climate warming in these lakes shall be first

controlled by geomorphological constraints, governing how strongly lake physical structure is depending on air water temperature (Malmaeus *et al.*, 2006).

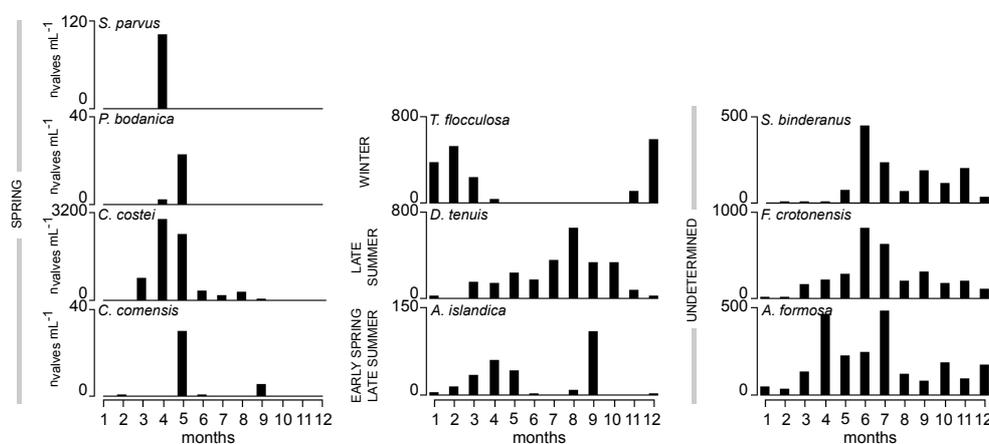
Indeed, Lake Bourget, for which the diatom response to climate warming was the most obvious, is about 20 times smaller than Lake Geneva. It is also rather sheltered from winds and less influenced by the tributaries hydrology (Jenny *et al.*, 2013). As a result, summer stratification is more stable in lake Bourget than in lake Geneva (Jacquet *et al.*, 2005) and lake water temperature is more directly tied to air temperature (Perga, unpublished data). The physical consequences of warmer climate are then expected to be stronger on Lake Bourget than on Lake Geneva and thus to explain why the climate warming effect is, in the former lake, stronger and more direct. Yet, Lake Annecy is even smaller than Lake Bourget and its stratification patterns were shown to respond to climate warming. However, recent diatom community changes could not be directly tied to warmer temperatures, underlining that factors other than geomorphology, i.e. local forcings, might modulate the diatom vulnerability and responses to climate warming.

Lake trophic status determines the strength of nutrient limitation on the primary producers (Tilman, 1982). Therefore, the differences in diatom vulnerability and responses to climate could also be modulated by nutrient conditions. For instance, Lake Annecy was already back to oligotrophy when the second time-period of significant warming occurred (late 1980's), in contrast to Lake Geneva and Bourget that were still mesotrophic. Consistently, simulations predicted that the ongoing decline in TP and further decreasing should outweigh climate effects on phytoplankton development in the foreseeable future (Stich and Brinker, 2010). Moreover, the analysis of long-term data-series for phytoplankton of five deep temperate peri-alpine lakes revealed that mesotrophic, as compared to oligotrophic, lakes are those for which phytoplankton response (in terms of abundance) to climate is the strongest (Anneville *et al.*, 2005). Similarly, warming effects on phytoplankton productivity rates were positive in Lake Geneva for TP > 22 µgP L<sup>-1</sup> but negative for nutrient-poor conditions (Tadonl  k  , 2010). The strong nutrient limitation on the primary producers in Lake Annecy at this time would then first restrict the potential structuring effect of other forcings, including climate warming, as compared to the other two lakes. Higher lake trophic status might therefore enhance diatom vulnerability to climate warming.

In Lake Annecy, recent diatom assemblages contain more *Cyclotella costei* than what could be expected considering current phosphorous concentrations, although this pattern could not be directly tied to higher air temperatures. Yet, recent *Cyclotella* expansion has been observed for other oligotrophic lakes, such as arctic lakes (Smol *et al.*, 2005), sub-alpine lakes such as Lake Tahoe, California-Nevada, USA (Winder, Reuter and Schladow, 2009) or non-acidified and non-enriched Canadian lakes (Rühland *et al.*, 2008) and has been attributed to climate warming. *Cyclotella* specific shape and small sized diatom species are indeed thought to increase their ability to better cope in more stratified and nutrient-poor water column as compared to larger ones (Winder *et al.*, 2009). Therefore, increased *Cyclotella* contribution to the total pelagic diatom community observed in Lake Annecy could be consequence of climate change, although not directly or solely due to warmer temperature, but including other components of climate change, i.e. increased solar radiation (Tadonleke *et al.*, 2009) or changes in wind regimes, that would also contribute in

strengthening the water column stability and increase epilimnion depth in summer. Then, the diatom community of lake Annecy might not have responded directly to higher air temperature because of nutrient limitation, but the current dominance of *Cyclotella costei* might be a consequence of climate change, although climate components, other than solely air temperature, might be involved. Species favored by climate warming in the most nutrient enriched lakes were much larger diatom species (*Diatoma tenuis* in Lake Geneva; *Asterionella formosa*, *Aulacoseira islandica* and *Stephanodiscus parvus* in Lake Bourget). Lake trophic status also drives phytoplankton dynamics and species succession over time (Sommer *et al.*, 1986; Sommer *et al.*, 2012). Then, in addition to its action on diatom sensitivity to warming, lake nutrient concentrations may also determine which seasonal species assemblages benefit from climate warming.

Using Lake Geneva long-term dataserie (INRA-SOERE database, 1974-2010), seasonal dynamics of the dominant diatom species were compiled (Figure 10). Amongst the species that were promoted by warmer climate in all three lakes, three are more typically for early stratification phase (*Cyclotella costei* in Lake Annecy and *Asterionella formosa*, *Stephanodiscus parvus* in more eutrophic lakes), one is a late summer species (*Diatoma tenuis* in Lake Geneva), while *Aulacoseira islandica* is more typical of transitional periods (early spring or late summer). Assuming that species seasonal dynamics are comparable between lakes, climate change might have promoted only spring species in Lake Annecy (*Cyclotella costei*) while species belonging to essentially spring and summer assemblages might benefit from warming in the most eutrophic lakes.



**Figure 10 :** Seasonal dynamics of the studied species in Lake Geneva between 1974 and 2011 using monitoring dataset (Database SOERE- INRA of Thonon-les-Bains – France). Average abundances were calculated for each month and each species over this period .

Species composition during the spring diatom bloom is first highly structured by local nutrient conditions (Reynolds, 1998). *Cyclotella* dominance during earlier stratification phase in oligotrophic lakes might be replaced by *Asterionella formosa*, *Stephanodiscus parvus* and *Aulacoseira islandica* in more nutrient enriched lakes. As for *Cyclotella*, *Asterionella formosa* morphology promotes its sinking resistance (Hadley *et al.*, 2013) but since it is a better competitor than *Cyclotella* for phosphorus (Tilman, 1982), it should outcompete *Cyclotella* in more mesotrophic lakes during earlier stratification phases. Ecology of *Stephanodiscus parvus* and

*Aulacoseira islandica* are less known but their optima lie for mesotrophic and eutrophic lakes (Stoermer and Hakansson, 1984; Reynolds *et al.*, 2002).

In contrast to oligotrophic lakes, a phytoplankton peak usually occurs in summer in eutrophic or mesotrophic lakes (Sommer *et al.*, 1986). The increase in spring phytoplankton in warmer years, together with the decrease in phosphorus loading, have led to an earlier and more pronounced depletion of TP in the productive layer (Anneville *et al.*, 2002; Nõges *et al.*, 2010). By mid-summer, the TP-depleted layer often extends below the depth where the availability of light is the limiting factor (15-25 m). Diatom species that can benefit from climate warming, in mesotrophic lakes, are then also those that can make the best trade-off between decreasing TP and increased water column stability. Consistently, *Diatoma tenuis* or *Aulacoseira islandica* are late summer species that outcompete other ones at low light levels and shorter day length once stratification weakens (Reynolds, 1997).

Direct or rather indirect (through increased top-down control in Lake Geneva) climate effects could explain the divergence between the pre- and post-eutrophication diatom composition on the three lakes for most species, except for the increase of *Fragillaria crotonensis* that was observed in both Lakes Geneva and Bourget. *Fragillaria crotonensis* dynamics was not specifically represented by any PCs. Consistently, *Fragillaria crotonensis* does not show any preferred range of TP and can be abundant as much in well-mixed or stratified water column (Rimet *et al.*, 2009). *Fragillaria crotonensis* temporal trajectories shall then be controlled by other forcings that were not included within this study. In Canadian oligotrophic lakes, increased contribution of this particular species could be related to increased nitrogen concentrations in the water (Saros *et al.*, 2005). Consistently, N-inputs to the lakes were controlled much later than TP and nitrate concentrations remain high (400-500  $\mu\text{gN L}^{-1}$ ) in both lakes (Tadonleke *et al.*, 2009; INRA-SOERE database). Nitrate concentrations, rather than TP or climate, might then explain observed patterns for *Fragillaria crotonensis*.

## Synthesis

Altogether, changes in phosphorous concentration, air temperature and fish predation pressure could explain the temporal dynamics of most diatom species in the sediment records of the three study lakes. TP was not only the major driver of the diatom trajectories but was also a strong modulator of diatom sensitivity and responses to climate warming. A direct impact of climate change on diatom communities was more obvious on Lake Bourget, by favoring spring species that can resist earlier stratification and summer species that can make the best trade-off between decreasing nutrient concentrations and increased water column stability. In Lake Geneva, the direct impact of climate warming was lower. Yet a rather indirect impact, through increased top-down control, was shown to favor large, colonial inedible species. This different pathway by which climate warming affected Lake Geneva diatom communities results from an interaction between fisheries management practices and climate warming (Alric *et al.*, 2013). For Lake Annecy, climate change might explain the highest abundance of *Cyclotella costei*, even

though the climate forcing might act through a combination of other climate components. Although all three lakes have been subjected to the same climate change, the magnitude and responses of their diatom communities were uneven. The contribution of lakes geomorphology to the differences in diatom vulnerability is likely, but the differences in lake trophic status but also fish management practices, definitely modulated the diatom responses to climate warming. This 'lake-specific' response is of major importance for lake managers and underlines the importance of gaining a better understanding of how local dynamics and processes inflect lakes vulnerability and responses to climate change.

## Supporting information 1

To establish a solid proxy of the past trajectory of total phosphorus concentration in the three studied lakes using abundances of *Daphnia* remains in sediments.

In Lakes Annecy, Bourget and Geneva, the abundance of *Daphnia* was strongly driven by trophic status (Alric *et al.*, 2013). This characteristic provided us an interesting alternative to the use of diatom inferred total phosphorus concentrations, which was impossible because of circularity problem. Indeed, the proxy must be independent from the diatom responses that were studied here.

A strong linear relationship between abundance of *Daphnia* remains and measured total phosphorus concentrations was observed and permitted then to build up solid *Daphnia* inferred total phosphorus concentrations (Table 6, Figure 11).

**Table 6: Summary for relationships linking the abundance of *Daphnia* sub-fossil remains retrieved from the sediment archives (Alric *et al.*, 2013) and TP concentration monitored in the water column (SOERE-INRA database).**

Lake		Coefficients				Residual standard error	Degrees of freedom	Adjusted R-squared	F-statistic	p-value
		Estimate	Std. Error	t value	Pr(>  t )					
Lake Annecy	(Intercept)	5,749691	1,75166	3,282	0,00655	2,99	12	0,2265	4,806	0,04881
	D	0,021904	0,009992	2,192	0,04881					
Lake Bourget	(Intercept)	-0,358104	14,504984	-0,025	0,980746	22,64	11	0,6934	28,14	0,0002507
	D	0,016805	0,003168	5,304	0,000251					
Lake Geneva	(Intercept)	-0,829969	4,701118	-0,177	0,861	9,559	30	0,5829	44,32	2,26E-07
	D	0,011335	0,001703	6,657	0,000000226					

Here, results of comparisons between *Daphnia* inferred and diatom inferred total phosphorus concentrations (Berthon *et al.*, 2013) were made and high correlation between these two dataset was observed in the three lakes (Wilcoxon test with Monte-Carlo cross-validation (n=99999,  $p=0.00001$  for the three lakes using 30, 41 and 50 samples of Lakes Annecy, Bourget and Geneva respectively). The reconstructed values of total phosphorus concentrations using these two methods were very consistent: they reached the same range of maximum values and estimated very close pre-eutrophication total phosphorus concentrations (Figure 12).

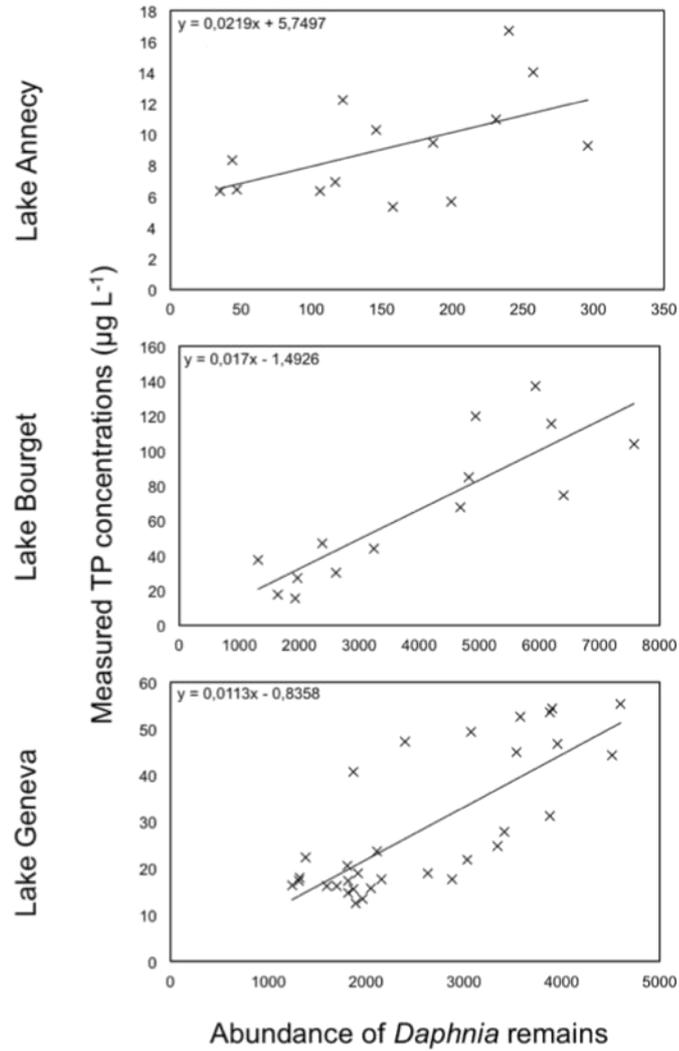


Figure 11: Linear correlation between abundances of *Daphnia* remains and measured total phosphorus concentrations in the three studied lakes.

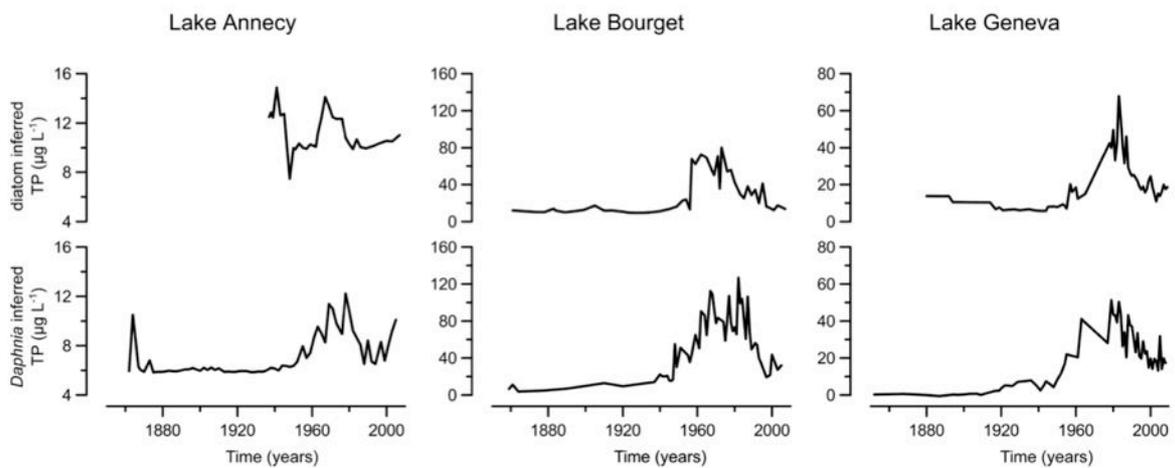


Figure 12: Variations of *Daphnia* inferred and diatom inferred total phosphorus concentrations in the three studied lakes since 1850.

## Supporting information 2

### Diagnostic plots of generalized additive model

Diagnostic plots of performed GAM are presented in the Figure 13 and Figure 14.

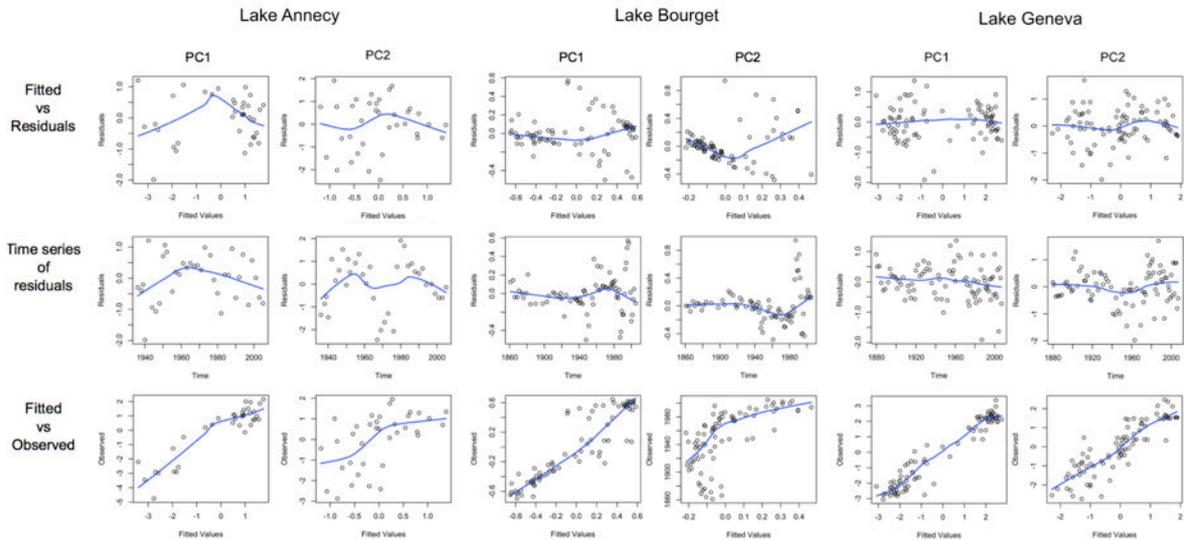


Figure 13 : Residuals vs. fitted values plots, residuals vs. time plots and observed values vs. fitted values plots for the two first axes of the PCA for the three studied lakes.

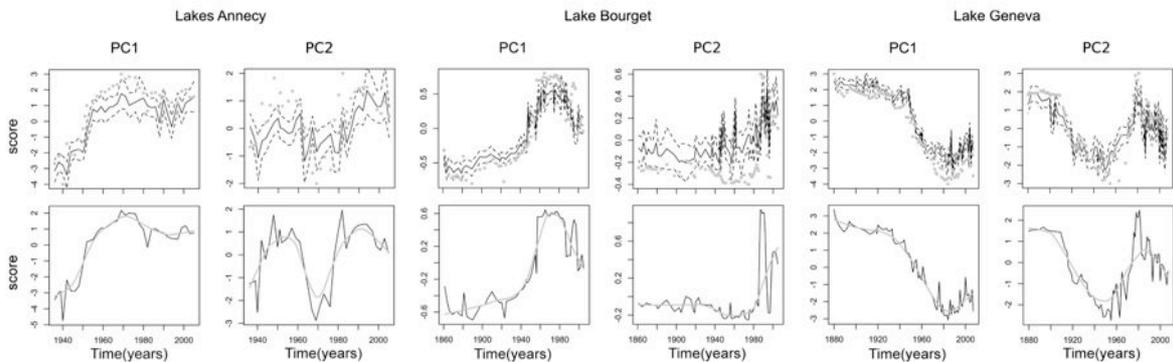


Figure 14 : Top panel: Observed and GAM fitted values for the first two PCA axis scores from the three lakes. The dotted lines are an approximate 95 % pointwise confidence interval on the fitted values. Bottom panel: Time series of the first two PCA axis scores from the three lakes. The gray lines are LOWESS smoothers fitted through the observations to highlight trends in an exploratory manner.



## Chapitre 6 : Les œufs de rotifères, nouveaux outils en paléolimnologie et potentiels indicateurs de l'impact des activités anthropiques sur les communautés lacustres.

---

### Ce qu'il faut retenir des résultats

Nous avons présenté jusqu'à maintenant un travail fondé sur l'utilisation d'un modèle biologique très classique en paléolimnologie. Mais dans le cadre du projet IPER-RETRO, nous nous sommes également intéressé à d'autres communautés comme celle des rotifères planctoniques.

Les rotifères sont sensibles aux changements de niveau trophique (Balvay and Laurent, 1990) mais nous savons maintenant qu'ils sont sensibles aux effets du changement de climatique dans le Léman (Molinero *et al.*, 2006). Compte tenu de ces sensibilités et afin d'apporter des éléments de réponse nouveaux à la question du fonctionnement des écosystèmes lacustres, nous envisageons leur utilisation en paléolimnologie. Nous pensons pouvoir nous servir des œufs de durée de rotifères pour mettre en évidence les périodes de changement des conditions physico-chimiques et les relations de causalité entre l'évolution des pressions anthropiques et les changements dans la production de ces œufs. Les œufs de durée sont les seuls marqueurs qui nous semblent avoir un bon pouvoir de conservation dans les sédiments.

Pouvons nous utiliser les œufs de rotifères en paléolimnologie afin d'avoir une idée de l'impact humain sur ces communautés ?

Nous avons retrouvé 36, 29 et 26 morphotypes d'œufs de durée de rotifères respectivement dans les lacs d'Annecy, du Bourget et le Léman. La détermination s'est arrêtée à la reconnaissance de morphotypes présentés à la fin de ce chapitre (en page 85 et suivante). En effet, sans l'éclosion des œufs et la détermination de l'individu adulte, il est impossible de rattacher un œuf à son espèce (Gilbert and Schroder, 2004). En revanche, nous pouvons bel et bien distinguer ces types sur des caractéristiques morphologiques puisqu'ils gardent un aspect « non altéré » même emprisonnés longtemps dans les sédiments (García-Roger *et al.*, 2005).

L'évolution de la production d'œufs de durée dans les communautés de rotifères planctoniques est marquée par des années charnières séparant des périodes aux cours desquelles cette production diffère. Nous mettons en évidence la concordance temporelle entre ces changements avec ceux opérés dans les communautés de diatomées. Les œufs de rotifères semblent donc être de bons candidats au développement de nouvelles méthodes de paléolimnologie pour suivre une communauté très sensible aux effets « bottom-up », « top-down » et à ceux du changement climatique. Bien sûr, sans une détermination à l'espèce, nous aurons encore des difficultés à comprendre les trajectoires empruntées par cette communauté et leurs causes mais c'est un travail à poursuivre.



## Introduction

Les rotifères se présentent comme des microorganismes très sensibles aux conditions environnementales. Le niveau trophique du milieu influence grandement les communautés planctoniques auxquelles ils contribuent et sont soumis (Balvay and Laurent, 1990; Hampton, 2005). Mais, il apparaît dans des études plus récentes que les caractéristiques des communautés résultent d'actions simultanées du climat, des effets *top-down* et *bottom-up* auxquels s'ajoutent les relations de compétitions (compétition entre classes de tailles de rotifères et compétition entre rotifères et cladocères). Dans le Léman, l'étude réalisée par Molinero *et al.*(2006) sur la communauté planctonique de rotifères met en évidence l'impact de la réologotrophisation entre 1969 et 1998 mais également le rôle du changement climatique Nord-Atlantique, caractérisé par des températures plus chaudes affectant la périodicité de la phase des eaux claires, qui apparaît de plus en plus tôt au cours de l'année (Straile, 2000). A partir de 1988, dans le Léman, la concentration en phosphore inorganique diminue en surface, et comme vu dans le chapitre précédent, la structure des communautés phytoplanctoniques s'en retrouve modifiée : les espèces adaptées aux faibles intensités lumineuses croissent en profondeur où il reste encore assez de nutriments. Par un effet *bottom-up*, ces changements affectent les niveaux supérieurs du réseau trophique. Dans le Léman comme dans de nombreux lacs de l'hémisphère nord, à partir de la fin des années 1980, les espèces de petite taille sont de plus en plus abondantes. Cette abondance croissante serait le résultat d'une synergie complexe mêlant l'inadaptation des espèces de grande taille aux températures plus chaudes, la prédation plus importante de ces espèces de grande taille par des copépodes plus abondants, le besoin en ressources moindre des espèces de petite taille, la raréfaction des daphnies de grande taille friandes également d'algues mesurant de 4 à 17  $\mu\text{m}$  (Molinero *et al.*, 2006).

Entre la chaîne microbienne et le reste du réseau trophique (Shao *et al.*, 2001; Porter *et al.*, 1988), cette position intermédiaire dans les réseaux trophiques lacustres les soumet à des pressions *bottom-up* et *top-down* et fait des rotifères un outil puissant pour révéler des changements environnementaux et en connaître les causes (Kirk, 1997). Mais, malgré des avantages certains, les rotifères ne sont, aujourd'hui, que peu utilisés comme indicateurs en limnologie par rapport aux autres communautés.

En paléolimnologie, la difficulté est de trouver des restes bien conservés dans les archives sédimentaires. Pour pouvoir utiliser une communauté comme un indicateur, il faut également que les restes sédimentaires représentent les changements potentiels opérés dans cette communauté. Les restes sédimentaires doivent donc jouir de caractéristiques physiques et chimiques leur permettant de ne pas être détruits dans les sédiments et doivent être issus de processus en lien avec les caractéristiques physico-chimiques du milieu. Les frustules de diatomées constituent par exemple des outils très robustes en paléolimnologie car très résistants aux conditions régnant dans les sédiments et ils représentent ainsi fidèlement les changements de compositions spécifiques opérés au sein des communautés de diatomées (Battarbee *et al.*, 2001). Pour les indicateurs zooplanctoniques, il est possible d'utiliser des restes d'exosquelette chitineux des cladocères par exemple (Alric, 2012) mais il semblerait que ces structures soient moins résistantes au temps pour les

copépodes et les rotifères. Dans le cas des rotifères, le cycle de vie comprend des structures qui pourraient être mieux conservées dans les sédiments : les œufs de durée. Ces œufs sont produits sous l'action de *stimuli* variables tels que la température ou la photopériode, par reproduction sexuée qui n'apparaît chez les rotifères qu'en amont de changements des conditions environnementales (Pourriot et Francez 1986). Ces œufs permettent aux espèces de rotifères de réapparaître dans le milieu une fois que les conditions environnementales sont redevenues favorables. Les œufs de durée de rotifères sont donc des œufs par définition résistant aux caractéristiques physicochimiques du milieu et sont représentatifs d'événements clés pour les communautés de rotifères comme le changement des conditions environnementales. Mais peu d'études envisagent leur utilisation en paléolimnologie pour décrire les changements environnementaux passés et généralement *via* des méthodes de paléogénétique (Epp *et al.*, 2010).

Dans le projet IPER-RETRO, le nombre d'indicateurs paléolimnologiques exploités est important et la combinaison des résultats déjà obtenus permet une description assez précise des principaux impacts anthropiques subis au sein des lacs d'Annecy, du Bourget et Léman. Profiter de ces connaissances pour tenter d'ajouter aux indicateurs couramment utilisés en paléolimnologie les communautés planctoniques de rotifères semble intéressant et pourrait nous permettre de compléter nos connaissances sur le fonctionnement des écosystèmes lacustres soumis à des pressions anthropiques variables.

Dans cette étude préliminaire, il s'agit de voir s'il est possible d'observer des changements dans la production d'œufs de durée dans les lacs étudiés ici et de les relier aux variations des conditions environnementales passées qui ont été mises en évidence par les analyses précédentes. La méthode envisagée se fonde sur la distinction de critères morphologiques des œufs au microscope optique. Les œufs sont donc dénombrés et classés en fonction de ces critères morphologiques en différents morphotypes.

Nos objectifs sont de savoir (i) s'il est possible de travailler sur les œufs de rotifères en paléolimnologie afin de pouvoir utiliser leur potentiel en bio-indication et (ii) de voir si des différences sont observables au niveau de la production d'œufs de durée dans des environnements soumis à des pressions anthropiques de même nature mais suivant des intensités différentes.

## 1. Résultats

### 1.1. Vue d'ensemble

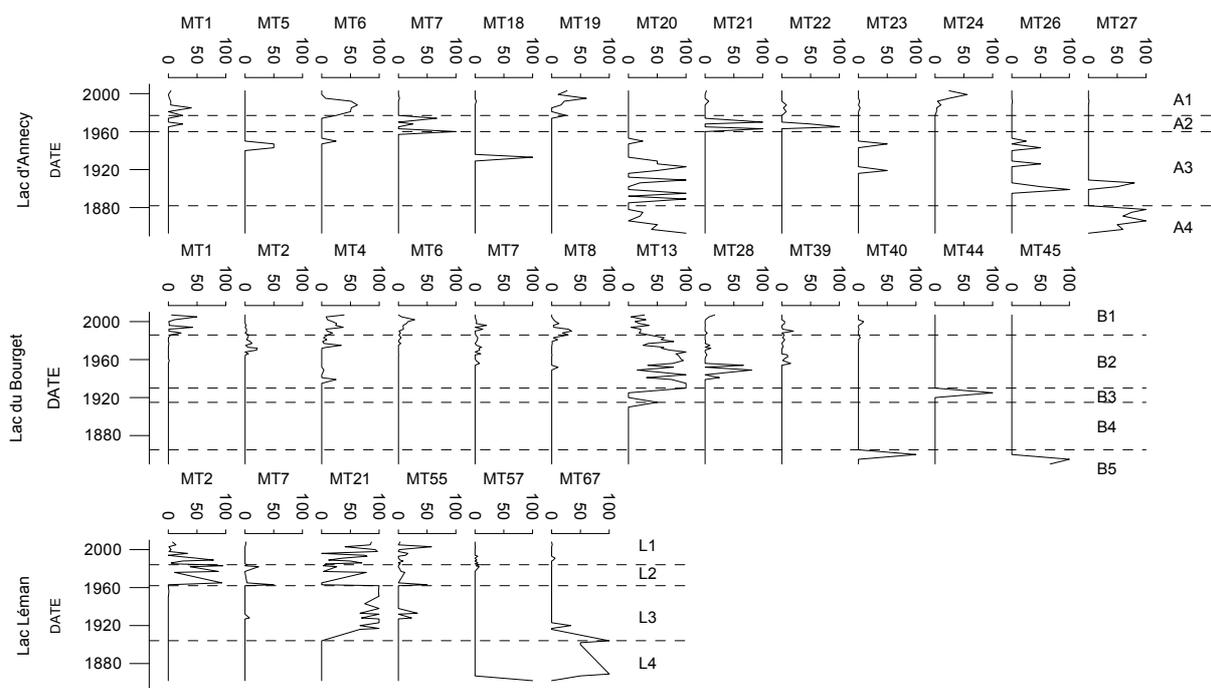
Dans le lac d'Annecy, 36 morphotypes sont répertoriés, 29 dans le lac du Bourget et 26 dans le lac Léman. Le

Tableau 7 présente la distribution des différents morphotypes retrouvés dans les archives sédimentaires des trois lacs. Une photographie de chacun de ces morphotypes est présentée dans les planches en annexe de ce chapitre (p. 85). Les abondances relatives de ces différents morphotypes sont très inégales et beaucoup n'apparaissent que dans un ou deux échantillons et ce, dans des proportions très faibles. Dans

les analyses statistiques, seuls les morphotypes représentant plus de 2 % du total d'œufs comptés dans chaque lac sont conservés (l'évolution depuis 1850 des abondances relatives des morphotypes utilisés pour les analyses statistiques est présentée dans la Figure 15).

**Tableau 7 : Présence ( + ) / Absence ( - ) des différents morphotypes (MT) d'œufs de durée de rotifères dans les trois lacs étudiés.**

MT	Lac d'Annecy	Lac du Bourget	Lac Léman	MT	Lac d'Annecy	Lac du Bourget	Lac Léman
MT1	+	+	+	MT33	+	-	-
MT2	+	+	+	MT34	+	+	-
MT3	+	-	-	MT35	+	+	-
MT4	+	+	-	MT36	-	-	-
MT5	+	-	-	MT38	-	+	-
MT6	+	+	-	MT39	-	+	-
MT7	+	+	+	MT40	-	+	-
MT8	+	+	-	MT41	-	+	-
MT9	+	-	-	MT42	-	+	-
MT10	+	-	-	MT43	-	+	-
MT11	+	-	-	MT44	-	+	-
MT12	+	-	-	MT45	-	+	-
MT13	+	+	-	MT46	-	+	-
MT14	+	-	-	MT47	-	+	-
MT15	+	-	-	MT50	-	-	+
MT16	+	+	+	MT51	-	-	+
MT17	+	-	+	MT52	-	-	+
MT18	+	+	-	MT53	-	-	+
MT19	+	-	-	MT54	-	-	+
MT20	+	-	-	MT55	-	-	+
MT21	+	+	+	MT56	-	-	+
MT22	+	-	+	MT57	-	-	+
MT23	+	-	-	MT58	-	-	+
MT24	+	+	-	MT59	-	-	+
MT25	+	-	-	MT60	-	-	+
MT26	+	+	-	MT61	-	-	+
MT27	+	+	-	MT62	-	-	+
MT28	+	+	+	MT63	-	-	+
MT29	+	-	-	MT64	-	-	+
MT30	+	+	-	MT65	-	-	+
MT31	+	+	-	MT66	-	-	+
MT32	+	-	-	MT67	-	-	+



**Figure 15 : Stratigraphie résumée aux principaux morphotypes retrouvés des œufs de durée de rotifères (abondance relative - %) dans les trois lacs étudiés depuis 1850 (âge AD).**

Les clusters chronologiques effectués à partir des tableaux de contingence permettent de mettre en évidence, dans les trois lacs, des années de transition au cours desquelles la production d'œufs de durée a qualitativement évolué de façon significative.

Dans le lac d'Annecy, la période étudiée est divisée en quatre périodes. Avant 1882 (A4), les œufs dénombrés sont très majoritairement des MT20 et des MT27. Ces deux morphotypes sont également produits entre 1882 et 1957 (uniquement entre 1902 et 1906 pour les MT27), au cours de cette période A3, la diversité d'œufs est plus importante. Jusqu'en 1920, les œufs produits sont surtout des MT20, MT26 et MT27. Ensuite, de nouveaux morphotypes apparaissent dans les comptages : MT5, MT6, MT18, MT23 alors que la production des trois précédents diminue. De 1960 à 1974, période A2, la production d'œufs est très différente puisque qu'aucun de ces morphotypes n'est retrouvé et seuls des œufs MT1, MT7, MT21 et MT22 sont produits. Les œufs produits à partir de 1974 (A1) sont encore très différents des œufs produits lors des périodes précédentes, de tous ces morphotypes seuls les MT1 se retrouvent et trois nouveaux morphotypes apparaissent : MT6, MT19 et MT24.

Dans le lac du Bourget, avant 1860 (B5), seuls des MT40 et MT45 sont retrouvés mais dans les échantillons de la période suivante, entre 1865 et 1910 (B4) aucun œuf de durée de rotifère n'est observé en quantité significative. Deux morphotypes, MT13 et MT44 apparaissent entre 1910 et 1930. La production d'œufs MT44 se cantonne à cette période B3 alors que les MT13 sont les œufs majoritairement produits entre 1930 et 1983 (B2). D'autres œufs sont produits, MT2, MT4, MT7, MT8, M39, mais très sporadiquement et en faible quantité (MT28 est l'œuf retrouvé en majorité dans les échantillons 1949 et 1954). A partir de la deuxième moitié des années 1980 (B1), des œufs MT4, MT7,

MT8, M39 sont retrouvés mais toujours en faible quantité. Les MT13 sont toujours produits mais ils ne représentent en moyenne que 20% des œufs dénombrés, contre plus de 60% lors de la période B2. En B1 ; il est également possible d'observer des œufs MT1, MT6 et MT40.

Dans le lac Léman, moins de morphotypes différents furent dénombrés et encore moins gardés pour les analyses. Avant 1904 (L4), seuls des œufs MT57 et MT67 sont retrouvés. De 1904 à 1962 (L3), des œufs MT21, MT55, MT7 (seulement dans l'échantillon 1928) et MT67 (seulement avant 1920) sont retrouvés. Entre 1963 et 1984 (L2), les œufs produits sont majoritairement des MT2, des MT21 sont également retrouvés mais en plus faible quantité, des MT7 dans les échantillons 1963, 1982, 1984 et MT55 dans les échantillons 1963, 1976 et 1977. Après 1984 (L1), la proportion des MT1 diminue, celle des MT21 augmente à nouveau ainsi que celles des MT55 mais dans une moindre mesure et les MT67 réapparaissent également (6% en 1991).

## 1.2. Analyse canonique des correspondances

Les axes 1 et 2 des ACC réalisées sont présentés dans le Tableau 8.

**Tableau 8 : Eigenvalues, proportion de variance expliquée (%) et coefficient de corrélation de Pearson (corrélation entre un axe résumant les scores des espèces et un axe résumant les scores des paramètres environnementaux testés).**

Lac	Axe	Eigenvalue	proportion de variance expliquée	coefficient de corrélation de Pearson
Annecy	Axe 1	0,77365	60,27	0,904
	Axe 2	0,51001	39,73	0,803
Bourget	Axe 1	0,44413	70,52	0,444
	Axe 2	0,18567	29,48	0,258
Léman	Axe 1	0,45732	92,82	0,546
	Axe 2	0,035372	7,179	0,094

Suivant les coordonnées des paramètres environnementaux sur les représentations graphiques, le phosphore total et la taille des daphnies composent l'axe 1, alors que la température compose plus l'axe 2 de l'ACC effectuée sur les échantillons du lac d'Annecy (Figure 16). L'axe 1 permet de distinguer les échantillons des périodes A3/A4 des échantillons des périodes A1/A2. L'axe 2 permet de distinguer les échantillons de la période A3 et ceux de la période A4.

La taille des daphnies et la température composent l'axe 1 alors que le phosphore total compose plus l'axe 2 de l'ACC effectuée sur les échantillons du lac du Bourget. Le gradient de phosphore permet de distinguer les échantillons les plus anciens (B3/B4/B5) des échantillons les plus récents (B1/B2). La distinction des échantillons des périodes B1 et B2 semble se faire selon un gradient de concentration en phosphore total et de température.

Le phosphore total et la taille des daphnies composent l'axe 1 alors que la température compose plus l'axe 2 de l'ACC effectuée sur les échantillons du lac Léman. Les proportions de variance expliquée dans la répartition des morphotypes retrouvés sont beaucoup plus inégales que pour les deux autres lacs. La température, qui compose l'axe 2, semble donc n'avoir qu'un faible rôle dans cette répartition. Les échantillons des différentes périodes définies par le cluster chronologique se placent le long d'un gradient de concentration en phosphore total. La température semble ne pouvoir expliquer qu'une très faible part des différences entre les échantillons mais il semble que les échantillons les plus récents (L1) soient liés à une température plus forte.

Les ACC pour les trois lacs permettent également de confirmer les préférences des morphotypes pour les périodes distinguées par le cluster chronologique telles que décrites à la lecture de la stratigraphie de la Figure 15.

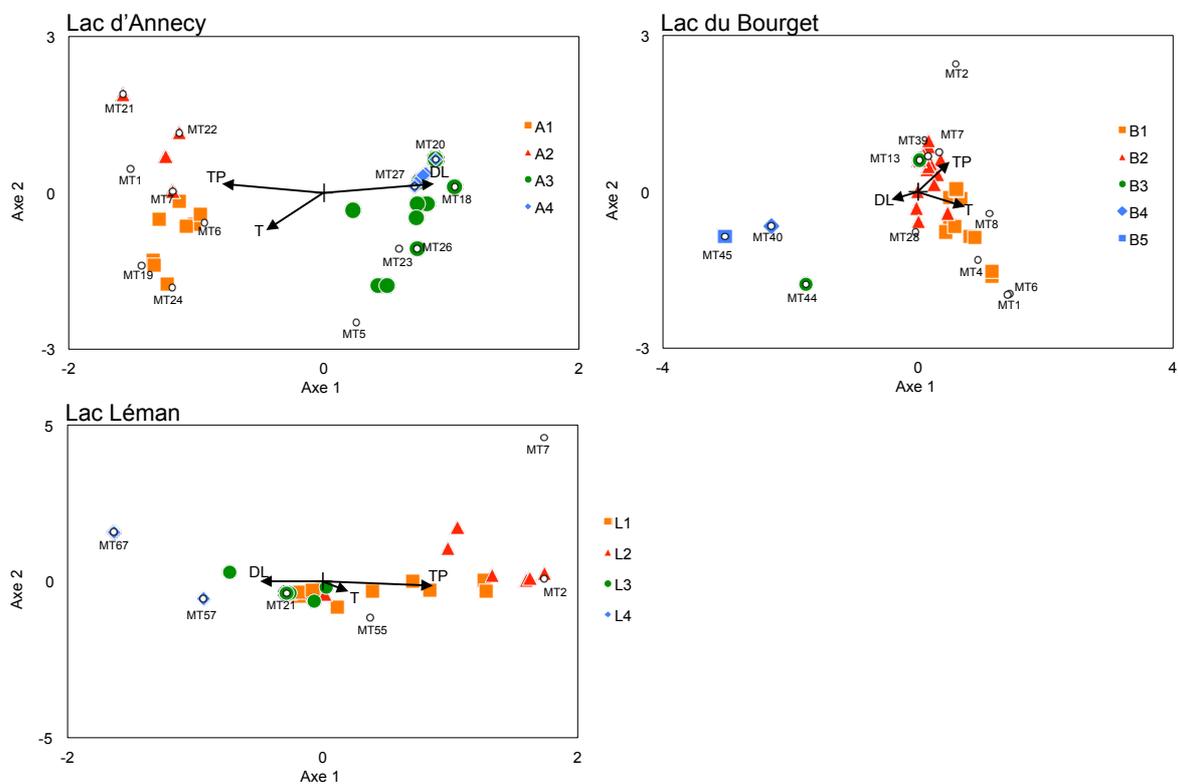


Figure 16 :Analyses canoniques des correspondances entre les abondances relatives des principaux morphotypes d'œufs de durée de rotifères et les estimateurs choisis pour représenter l'évolution des perturbations anthropiques étudiées (TP : concentrations en phosphore total reconstruite à partir des abondances en fossiles de daphnies dans les sédiments ; DL : taille des griffes post-abdominales de daphnies fossiles ; T : moyennes annuelles de température de l'air) dans les trois lacs.

## 2. Discussion

Nos objectifs sont de savoir (i) s'il est possible de travailler sur les œufs de rotifères en paléolimnologie afin de pouvoir utiliser leur potentiel en bio-indication et (ii) de voir si des différences sont observables au niveau de la production d'œufs de durée dans des environnements soumis à des pressions anthropiques de même nature mais suivant des intensités différentes.

### 2.1. Conservation des œufs de rotifères dans les archives sédimentaires et détermination sur critères physiques

Comme dans toute étude de paléolimnologie, la question de la conservation des restes dans les archives sédimentaire est cruciale. Sans une bonne conservation de ces restes, il est impossible de compter sur une bonne représentation des changements opérés dans les communautés étudiées par ces derniers. Les études sur les archives sédimentaires biologiques menées en parallèle sur ces mêmes lacs démontrent que les restes retrouvés sont en bon état sur l'ensemble des échantillons. La méthode d'extraction utilisée en laboratoire a déjà fait ses preuves : elle ne cause pas de dommage physique sur les œufs et en permet une extraction complète (Duggan *et al.* 2002; Snell *et al.* 1983; Garcia-Roger *et al.* 2005). Mais la question de la conservation des œufs de durée de rotifères s'est posée tout au long des comptages et aucune altération physique notable due au temps d'emprisonnement dans les sédiments n'est observée même dans les échantillons les plus anciens. Garcia-Roger *et al.* (2006) montrent certes qu'avec le temps d'emprisonnement dans les sédiments le pouvoir d'éclosion (en laboratoire) des œufs de durée de rotifère diminue mais, toujours selon eux, ces œufs peuvent garder une apparence « non-altérée » (« healthy looking ») ce qui rend possible leur dénombrement et surtout leur détermination sur des critères physiques.

Lors des comptages, la taille de ces œufs, leur forme ainsi que certaines caractéristiques de surface (ornementations, présence d'une collerette) sont prises en compte. Ces critères sont utilisés par Koste (1978) pour établir des planches de détermination. Ainsi, il est possible de distinguer 49 morphotypes différents dans l'ensemble des comptages sur les trois lacs.

### 2.2. Pourquoi travailler sur des morphotypes

L'écologie des espèces de rotifères est de mieux en mieux connue surtout pour ce qui concerne leur adaptation au niveau trophique (Molinerio *et al.*, 2006). Les rotifères, déterminés à l'espèce, ont donc un bon potentiel bio-indicateur. Il est également possible de distinguer des guildes écologiques dans les espèces de rotifères en les séparant selon leur régime alimentaire (Smith *et al.*, 2009). Ils sont prédateurs (« raptorial ») ou microphages (« microphagous ») selon Obertegger *et al.* (2011) et ces guildes présentent des préférences écologiques bien différentes permettant d'évaluer les stratégies d'adaptation des communautés de rotifères dans des milieux aux caractéristiques variables.

Mais plutôt que sur des espèces, le travail porte sur des morphotypes d'œufs dans un premier temps. Il n'est réellement possible de déterminer des rotifères qu'à l'âge adulte ; à partir des travaux réalisés sur les œufs de durée de rotifères, seule une petite partie des morphotypes rencontrés dans les comptages sont déterminables à l'espèce ou même au genre. De plus, une espèce de rotifère peut produire différents types d'œufs de durée en fonction des conditions environnementales (Gilbert and Schroder, 2004; Bailey *et al.* 2003). Le morphotype pourrait donc avoir un niveau supérieur dans l'indication de changements dans les conditions environnementales. S'il est ainsi possible de décrire ces changements à partir de la production de ces différents morphotypes, une nouvelle méthode très simple pourrait être utilisée en paléolimnologie.

### 2.3. Trajectoire des morphotypes d'œufs de durée de rotifères vs conditions environnementales

L'étude des tableaux de contingence par le cluster chronologique permet de distinguer des périodes entre lesquelles la qualité des œufs de durée produits au sein des communautés planctoniques de rotifères est très différente. Dans le lac d'Annecy et le Léman, 4 périodes peuvent être distinguées, 5 dans le lac du Bourget. Les études menées en parallèle sur les restes des communautés de diatomées et de cladocères permettent de décrire l'évolution des conditions environnementales depuis 1850 (Alric *et al.*, 2013; Berthon *et al.*, 2013). Ainsi, il est possible d'attribuer des caractéristiques du milieu aux périodes distinguées ici par le cluster.

Dans le lac d'Annecy, le niveau de trophie est resté très modéré. Selon les données reconstruites de concentration en phosphore total (à partir des diatomées et des cladocères), cette concentration n'a pas excédé  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  et le niveau trophique maximal a pu être observé au cours des années 1960-1970. Avant et après cette période, le lac d'Annecy reste oligotrophe. La distinction de cette période plus mésotrophe peut se faire également par l'étude de la stratigraphie des œufs de durée de rotifères, elle correspondrait à la période A2 (Figure 15). Il en est de même pour les périodes d'eutrophisation dans les lacs du Bourget et Léman. Les données reconstruites de concentrations en phosphore total à partir des cladocères montrent une évolution du statut trophique de ces lacs à partir des années 1930, avec un maximum d'eutrophisation également entre les années 1960-1990. Or, cette période correspond aux périodes B2 et L2 respectivement dans les lacs du Bourget et Léman. Il apparaît donc que la production d'œufs de durée dans les communautés de rotifère a varié selon le niveau trophique dans les trois lacs.

L'étude de la composition des axes des ACC réalisées et mêlant les tableaux de contingence et les données physico-chimiques historiques confirme ce rôle important de la trophie dans la qualité de la production de ces œufs. Elle permet également de différencier les trois lacs dans le sens où la valeur explicative de la trophie diffère entre eux. Les trois paramètres testés ont un partage plus égal dans le lac d'Annecy et le lac du Bourget où, respectivement, la trophie occupe une part importante de l'axe 1 et compose pratiquement à elle seule l'axe 2. Mais la trophie se montre beaucoup plus explicative dans le lac Léman pour lequel l'axe 1 qu'elle compose explique à lui seul 92,82 % de la variance observée.

Le rôle de la pression *top-down* est également observable : toujours composant l'axe le plus explicatif de la variance observée. Cependant, il est difficile de pouvoir décrire les effets de cette pression sans connaître les espèces de rotifère en cause.

Enfin, la température explique une part importante des variations qualitatives dans la production d'œufs de durée dans les lacs d'Annecy et du Bourget. Les périodes A1, B1 et L1, correspondant aux périodes les plus récentes distinguées par le cluster chronologique, sont des périodes où se mêlent les effets de la réoligotrophisation et ceux de l'augmentation de la température selon les études menées sur les diatomées et cladocères. En étudiant la stratigraphie des œufs de durée de rotifère, même si la trophie retourne à des niveaux proches de ceux observables avant les périodes plus eutrophes, la production d'œufs est différente entre les périodes pré et post eutrophisation. Dans le cas du Léman, où la trophie a un impact beaucoup plus fort que la température, il est plus délicat de conclure sur les effets propres de cette dernière et l'alternance dans la production des morphotypes MT21/MT55 et MT2/MT7 semble vraiment liée au niveau trophique avec une production des premiers dans les phases plus mésotrophes et des seconds lors de la phase vraiment eutrophe.

Les résultats obtenus permettent de mettre en évidence des années charnières où les conditions environnementales affectent la qualité de la production en œufs de durée dans les communautés de rotifères des trois lacs depuis les années 1850. Cependant, et même si les ACC réalisées mettent en évidence l'impact des trois perturbations testées sur cette production fluctuante, il reste délicat de réellement décrire l'évolution de la trophie ou de la température sans se rattacher aux valeurs écologiques connues des espèces de rotifères.

En effet, il n'est possible ici que de distinguer des périodes où la production d'œufs différait et les espèces en jeu sont encore inconnues. Avoir une détermination au genre, ce qui permettrait de classer par exemple les œufs retrouvés dans les guildes écologiques « raptorial » et « microphagous » de Obertegger *et al.* (2011), ou même une détermination à l'espèce, permettrait de décrire les conditions environnementales du milieu, si elles ne sont pas connues comme ici en amont, en se fondant sur les préférences écologiques de ces guildes ou espèces. Pour l'impact du *top-down* et donc de la prédation ou des relations de compétition entre les espèces de rotifères (petites tailles vs grandes tailles) ou entre les rotifères et les cladocères (Molinero *et al.*, 2006), la connaissance exacte des espèces en jeu est primordiale. En effet, les caractéristiques morphologiques des individus adultes expliquent ces relations. De plus, dans les analyses, même si le *top-down*, les relations entre rotifères et niveaux supérieurs dans la chaîne trophique, est testé et semble avoir un impact sur la production d'œufs de durée, il est impossible de déterminer exactement la part de cet impact face aux autres perturbations (*bottom-up* et température) avec qui il partage les axes des ACC.

L'utilisation seule des morphotypes rend délicate également la comparaison entre les lacs. Finalement, peu de morphotypes sont communs dans les trois lacs. Les morphotypes communs entre deux lacs apparaissent dans des périodes présentant des caractéristiques communes. Le morphotype MT2 apparaît par exemple dans les lacs du Bourget et Léman pendant le maximum d'eutrophisation. Les morphotypes

MT1, MT6, MT21 semblent n'apparaître que lors des phases plus mésotrophes. Toutefois, les proportions atteintes par ces morphotypes diffèrent entre les lacs, même si le niveau trophique est comparable (MT2 lors des périodes B2 et L2) et de meilleures connaissances sur les origines de ces morphotypes permettraient également de comprendre ce phénomène.

Cependant les espèces de rotifères pouvant produire différents types d'œufs de durée en fonction des conditions environnementales (Gilbert and Schroder, 2004; Bailey *et al.* 2003), l'utilisation des morphotypes n'est pas à remplacer totalement par cette détermination. Ainsi, le changement de stratégie d'une espèce correspondant à la production d'un morphotype différent de celui habituellement produit pourrait permettre de mettre en évidence l'apparition d'une perturbation et d'en connaître de façon plus exhaustive sa teneur. C'est donc bien un couplage de ces deux méthodes qu'il faudrait envisager.

### 3. Perspectives

La paléolimnologie regroupe déjà un bon nombre d'outils et les connaissances apportées permettent d'en connaître davantage sur l'évolution des conditions environnementales dans les milieux lacustres. Ces connaissances permettent également de se projeter dans le temps et de mieux évaluer les caractéristiques qualitatives et quantitatives de l'impact des perturbations anthropiques futures. Il est donc important de continuer à développer de nouveaux outils dont l'action combinée aux outils plus classiques aujourd'hui permettra d'encore améliorer les connaissances sur le fonctionnement des écosystèmes lacustres.

Dans cette étude préliminaire, une partie du potentiel indicateur des œufs de durée de rotifères est mise en évidence. Les résultats obtenus concordent avec les connaissances apportées par d'autres outils (diatomées et cladocères) et mettent également en évidence une partie du rôle de perturbations anthropiques communes à bon nombre d'écosystèmes lacustres. Mais ce nouvel outil, en l'état, ne permet pas d'aller aussi loin que les outils plus classiques. Afin de le développer, il sera primordial de pouvoir ajouter à la notion de morphotype une détermination au genre ou même à l'espèce. Il faut donc passer par une étape en laboratoire où les œufs retrouvés dans les carottes sédimentaires sont mis systématiquement dans les conditions nécessaires à leur éclosion afin de pouvoir déterminer l'individu qu'il renfermait. Ce travail peut être finalement assez simple puisque les conditions favorisant l'éclosion des œufs de durée de rotifères et les paternes de détérioration rendant impossible leur éclosion sont très étudiés (García Roger *et al.*, 2005; García Roger *et al.*, 2006; Maia Barbosa *et al.*, 2003). Bien sûr, l'évolution des méthodes génétiques permettrait également de pallier la mauvaise conservation de l'intégrité de ces œufs rendant impossible leur éclosion même si leur morphotype est conservé. Dans le cadre du projet IPER-RETRO le travail sur les éphippies de daphnies, qui a permis de mettre en évidence les trajectoires des différentes espèces présentes dans les trois lacs au cours du dernier siècle, est un bon exemple de ce qui serait envisageable sur les œufs de rotifères (Alric, 2012).

Annexe

Planches de déterminations des morphotypes d'œufs de durée de rotifères retrouvés dans les archives sédimentaires des lacs d'Annecy, du Bourget et du Léman.

Planche 1

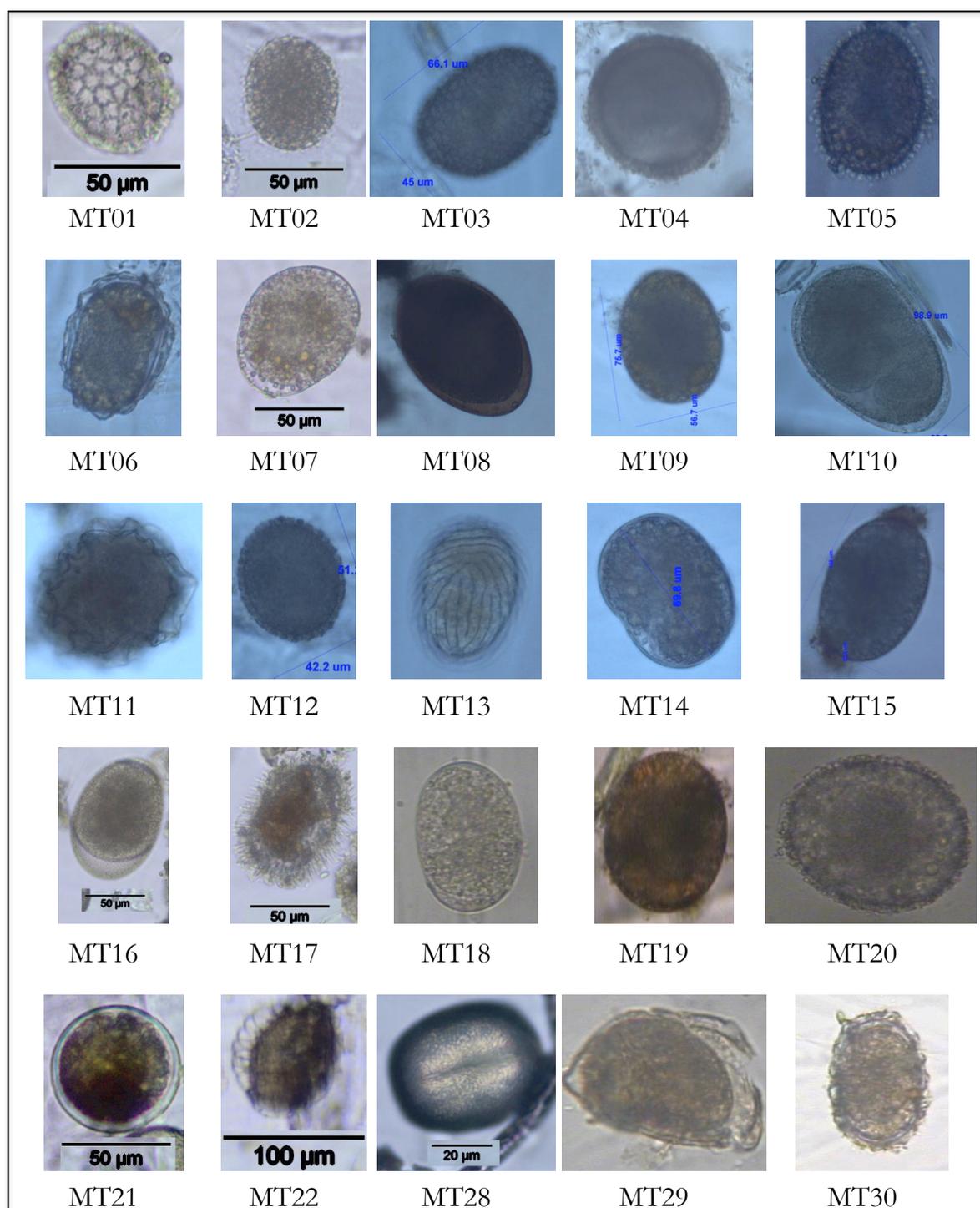
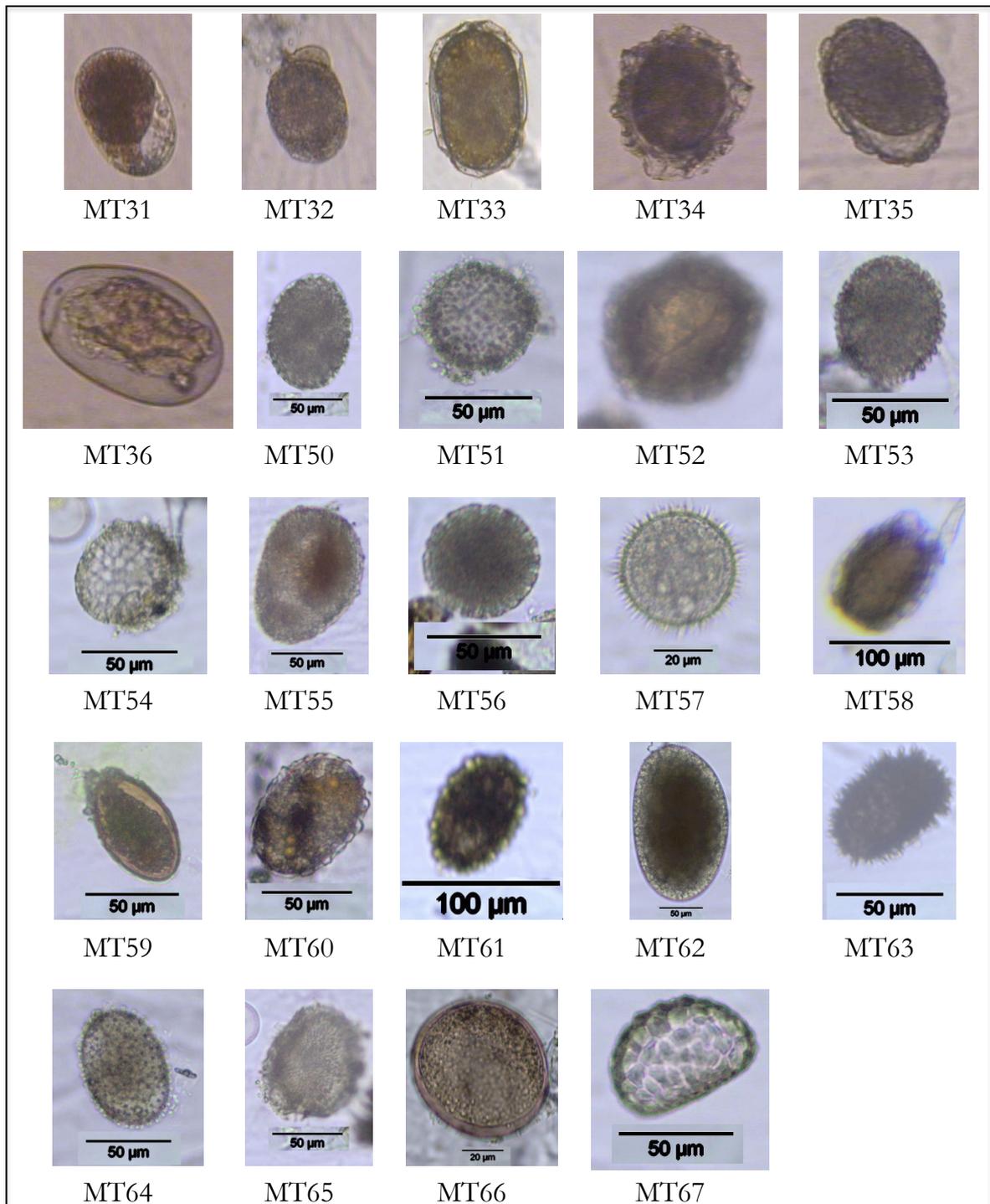


Planche 2







## Chapitre 7 : Discussion

---

Ce travail est une partie du projet IPER-RETRO dont l'objectif général est de mettre en évidence et de comprendre les impacts de perturbations anthropiques locales (empoisonnement et variation de la trophie) et du changement climatique récent sur les compartiments biologiques et biogéochimiques depuis le début de l'ère industrielle - soit depuis 1850 -, dans trois grands lacs péri-alpins français, les lacs d'Annecy, du Bourget et le Léman. Nous présentons ici les études des communautés de diatomées et de rotifères et les éléments de réponses obtenus sur les contributions propres de ces perturbations sur les trajectoires empruntées par ces communautés.

1. Apports Méthodologiques Les restes emprisonnés dans les sédiments nous permettent-ils de reconstruire fidèlement les changements opérés au sein des communautés étudiées ?

Les conditions de conservation des restes sédimentaires sont une question cruciale : une conservation satisfaisante autorise l'utilisation de ces restes pour décrire les communautés lacustres passées, leur évolution en fonction du temps et de celles des perturbations potentielles qui impactent le milieu. Les conditions de conservation dans les sédiments peuvent ne pas être optimales et contraindre fortement l'utilisation des méthodes de paléolimnologie : le pH et la température régissent la solubilité de la silice et donc la conservation des frustules de diatomées, la bioturbation et les vents forts entraînent de leur côté une remise en suspension des sédiments dans les lacs peu profonds et les zones littorales (Battarbee *et al.*, 2002; Flower, 1993; Battarbee *et al.*, 2005). Cette question est abordée dans le chapitre 4 où les données du suivi limnologique du Léman sont comparées aux comptages des restes sédimentaires. Les études de paléolimnologie déjà réalisées dans des lacs péri-alpins, le Lac Majeur en Italie et le lac de Constance en Allemagne justifient la possibilité de travailler avec des méthodes de paléolimnologie par ce genre de comparaison : elles mettent en évidence des constitutions semblables des communautés de diatomées et ainsi un bon enregistrement de cette information dans les archives sédimentaires (Marchetto and Musazzi, 2001; Wessels *et al.*, 1999). Le dénombrement et les déterminations à l'espèce des valves de diatomées présentes dans les échantillons prélevés dans la colonne d'eau du Léman et de celles retrouvées dans les échantillons sédimentaires sont réalisés suivant des méthodes proches (les comptages de limnologie sont réalisés suivant la méthode d'Utermohl (CIPEL, 1984)). Ainsi, la comparaison peut se faire directement. L'existence de données historiques de suivi constitue une réelle opportunité, d'autant plus que ces données ont été recueillies de façon homogène sur une période de plus de 30 ans. La comparaison a pu se faire entre 1977 et 2007 et c'est la première fois dans une étude de paléolimnologie qu'il est possible de réaliser un travail sur une période aussi longue, sans lacunes et avec une résolution annuelle (les comparaisons réalisées par le passé n'ayant pu être faites que sur des périodes plus courtes ou avec des données plus sporadiques et sur moins d'espèces prises en compte). Un autre point méthodologique

important est à souligner dans notre travail : les carottes de sédiments prélevées dans le lac Léman que nous utilisons ont été recueillies à l'aplomb du point SHL2, c'est-à-dire là où ont été réalisés les échantillonnages pour le suivi limnologique.

Les différences observées entre les deux jeux de données consistent principalement en la présence de valves provenant de milieux benthiques. Bien que ces valves ne représentent jamais plus de 10% des valves retrouvées dans les sédiments, elles témoignent de certains déplacements de sédiments depuis la zone littorale vers le centre du lac, une contamination par les bords (Blais and Kalff, 1995; Likens and Davis, 1975) dont nous ne pouvons ici connaître la cause réelle mais qui doit provenir d'un effondrement de sédiments de la zone littorale vers le centre du lac, remis en suspension par les effets du vent, par exemple, dans les zones peu profondes. Il est important de distinguer ces valves de celles provenant d'un déplacement purement vertical qui nous intéressaient ici et c'est la connaissance de l'écologie des différentes espèces de diatomées qui permet de faire cette distinction (Berthon *et al.*, 2011; Rimet and Bouchez, 2012b). La comparaison des deux jeux de données a permis de mettre en évidence également une certaine sous estimation du nombre de valves d'espèces de grande taille. Il s'agit d'espèces telles que *Asterionella formosa* et de *Diatoma tenuis*, très fines, qui soumises à une pression importante dans les sédiments tendent à se briser (Battarbee *et al.*, 2002), leur dénombrement n'a donc pas été aisé.

Finalement, cette comparaison met en évidence qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux jeux de données : il est donc possible d'utiliser les restes sédimentaires pour décrire fidèlement les trajectoires passées empruntées par les communautés de diatomées dans nos lacs. La validité des données de paléolimnologie est généralement vérifiée pour nos sites d'étude.

Une approche comparative équivalente n'a pas été réalisable en ce qui concerne les œufs de durée de rotifères, seuls restes sédimentaires réellement utilisables en paléolimnologie, puisqu'aucune structure tissulaire constitutive des individus adultes ne se conserve de façon satisfaisante (chapitre 6). En effet, nous ne disposons à ce jour d'aucune donnée issue du suivi de limnologie sur la formation de ces œufs, leurs types ou leur abondance dans les lacs étudiés. De plus, les morphotypes que nous avons décrits et utilisés ne sont pas déterminés à l'espèce. Par conséquent, nous ne pouvons nous baser que sur des observations relatives à leur état de conservation pour savoir si, avec le temps, ces œufs se dégradent dans les sédiments. Cette dégradation peut rendre impossible l'éclosion de ces œufs alors qu'ils conservent une apparence « non-altérée » (García Roger *et al.*, 2006) qui permet faire la détermination sur critères physiques de l'œuf lui-même, en prenant compte diverses caractéristiques et ornements (Koste, 1978). Sur la période étudiée, nous ne notons aucune tendance à la dégradation et sur l'ensemble des échantillons, l'aspect général des différents morphotypes semble être *parfaitement* conservé.

Sur cette base, les œufs de rotifères retrouvés dans les archives sédimentaires peuvent être utilisables pour décrire les évolutions au sein des communautés planctoniques de rotifères.

2. Quels sont les apports de ce travail quant à la connaissance de l'histoire récente des grands lacs péri-alpins?

2.1. Comment la composition des communautés de diatomées planctoniques a-t-elle évolué lors du dernier siècle ?

Les comptages des valves de diatomées et leur détermination mettent en évidence que les assemblages en espèces dans les communautés de diatomées planctoniques se sont profondément modifiés depuis la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle et que les périodes étudiées peuvent être divisées en plusieurs sous-périodes, six dans les lacs d'Annecy et Léman et cinq dans le lac du Bourget (chapitre 4). En effet, nous observons, dans les trois lacs, des assemblages d'espèces stabilisés par période de dix à trente ans. Les changements témoignent des modifications des conditions régnant dans la partie superficielle de la colonne d'eau depuis le XIX<sup>e</sup> siècle. La composition et la succession d'assemblages en espèces sont proches de celles observées dans d'autres grands lacs péri-alpins, le lac Majeur notamment ; ce sont les mêmes espèces majoritaires qui sont en jeu : *Stephanodiscus* spp., *Cyclotella* spp. respectivement pour les périodes les plus eutrophes et oligotrophes (Marchetto and Bettinetti, 1995; Bennion *et al.*, 1995).

Ces périodes se caractérisent par des dominances marquées. Dans le lac d'Annecy, avant 1950, différentes espèces de *Cyclotella* spp. sont très abondantes avant que l'une d'entre elles, *Cyclotella costei*, ne devienne prédominante et ce jusqu'à nos jours. Entre la fin des années 1960 et la fin des années 1970, cette dernière se partage la dominance de la communauté avec *Fragilaria crotonensis*. Nous observons également dans cette période, et seulement lors de cette dernière, l'apparition de *Stephanodiscus* spp. en quantité. Dans le lac du Bourget, nous observons une alternance entre *Cyclotella* et *Stephanodiscus* comme genres dominants avec des périodes charnières à la fin des années 1950 et au début des années 1990. En outre, l'abondance de *Fragilaria crotonensis* ne cesse de croître depuis 1860. Dans le Léman, ce même type d'alternance entre *Cyclotella* et *Stephanodiscus* est observable, ainsi que cette croissance de l'abondance en *Fragilaria crotonensis*. Mais nous notons que les périodes charnières sont plus diffuses dans le Léman et que pendant ces dernières on observe l'apparition en forte abondance d'autres espèces telles qu'*Asterionella formosa*, *Tabellaria flocculosa* et *Diatoma tenuis*, avant de disparaître en partie lorsque les conditions sont trop eutrophes (à la fin des années 1950) ou trop oligotrophes (depuis la fin des années 1990).

Ces trajectoires témoignent de changements importants des conditions environnementales, plus marqués dans les lacs du Bourget et le Léman, compte tenu des préférences écologiques très différentes de ces différents *taxa* dont nous parlerons par la suite.

2.2. Description de l'évolution du statut trophique de nos lacs ?

Dans le chapitre 4, nous proposons une reconstruction de l'évolution de la concentration en phosphore total au cours de la période étudiée dans les trois lacs (Léman, Annecy, Bourget). Cette reconstruction numérique est réalisée par une fonction de transfert à partir des abondances relatives des espèces de

diatomées présentes au fil du temps et de leurs préférences respectives connues en termes de concentration en phosphore total.

Les estimations que nous obtenons alors sont comparées à deux types de données : les concentrations en phosphore total issues du dosage des nutriments phosphatés dans le cadre du suivi de limnologie des trois lacs et l'abondance en daphnies (données issues du travail d'Alric (2013)) qui est un autre paramètre très lié à la concentration en phosphore total et qui croit avec cette dernière. Ces comparaisons permettent de confirmer la possibilité d'utiliser les valeurs reconstruites comme estimateur du statut trophique, ce qui a été fait dans les autres études menées en parallèle dans le cadre du projet IPER-RETRO. En effet, il n'apparaît que quelques faibles différences entre les valeurs reconstruites de concentration en Phosphore Total par notre fonction de transfert et celles mesurées dans le cadre des suivis de limnologie ou encore celles reconstruites à partir de l'évolution des abondances en daphnies. La reconstruction semble souffrir de limites dans la détection du début de l'eutrophisation à partir des années 1940 (une évolution faible est mise en évidence par l'estimateur daphnie) et dans l'estimation proprement dite lorsque l'échantillon considéré contient une espèce en trop forte abondance. Ces biais, ces erreurs sont dues au jeu de données utilisé pour la calibration réalisée en amont de la fonction de transfert proprement dite et à la similarité imparfaite entre ce jeu de donnée et les échantillons issus de nos sédiments. En effet, il faut, pour une reconstruction fiable, que (i) les espèces présentes soient les mêmes - plus le nombre d'espèces communes est grand et meilleure sera la reconstruction - et (2) que les abondances relatives de ces espèces soient comparables (Battarbee *et al.*, 2002). La limite de détection dépend du nombre d'espèces en jeu et dans certains cas, le message qui est porté par les espèces ultrasensibles au phosphore total peut être noyé dans la masse d'informations non spécifiques au P portée par les espèces plus tolérantes. Dans le lac du Bourget et le Léman, ces dernières pourraient expliquer une concentration en phosphore total reconstruite qui reste basse malgré le début de l'eutrophisation. Ensuite, une trop forte abondance d'une espèce eutrophe par rapport aux abondances présentes dans le jeu de données de calibration, telle que *Stephanodiscus minutulus* dans le lac du Bourget et le Léman, « emballe » le modèle et provoque une surestimation de la concentration en phosphore total, c'est ce qui est également observé dans l'étude sur le lac Majeur (Marchetto *et al.*, 2004).

Mais l'existence des autres estimateurs (daphnies) nous permet la mise en évidence de ces incertitudes et l'utilisation raisonnée des valeurs reconstruites, pour estimer le niveau trophique dans les analyses statistiques multivariées mises en œuvre dans les travaux parallèles sur les communautés de cladocères, chironomes et sur les processus géochimiques des lacs étudiés dans IPER-RETRO (Alric *et al.*, 2013; Frossard, 2013; Jenny, 2013).

### 2.3. Quelles sont les causes environnementales des profonds changements observés dans l'histoire de ces communautés ?

Dans le chapitre 5, nous mettons en relation les changements opérés dans les assemblages en espèces dans les communautés observés précédemment avec l'évolution des conditions environnementales lors de la période étudiée.

Le résultat majeur obtenu est la validation d'impacts que nous suspicions, celui du réchauffement climatique et celui de la gestion piscicole, en plus de celui du niveau trophique une nouvelle fois confirmé. En effet, bien que ce dernier ait un effet structurant prépondérant sur les communautés de diatomées, les deux autres perturbations étudiées expliquent bel et bien une part significative des assemblages en espèces comme nous allons le voir. Ce résultat concorde avec ceux d'autres études (Rühland *et al.*, 2010). La gestion d'une communauté piscicole peut paraître une perturbation moindre par rapport à l'eutrophisation et l'évolution des conditions climatiques mais les travaux menés, en parallèle dans la programme IPER-RETRO, ont déjà montré les impacts de cette pression supplémentaire sur les communautés de daphnies dans nos trois lacs, par la diminution de la taille moyenne des daphnies lorsque la pression de prédation par le corégone est plus forte (Alric *et al.*, 2013). C'est donc par l'intermédiaire des communautés zooplanctoniques, qu'existe l'impact potentiel de la gestion piscicole sur les communautés phytoplanctoniques (modification de la pression de broutage du zooplancton sur le phytoplancton, broutage qui apparaît également sélectif, comme nous le verrons).

La méthode d'analyse employée, le modèle additif généralisé, permet ensuite de quantifier et de hiérarchiser les impacts respectifs des trois perturbations considérées. Nous observons alors (i) que, dans un même lac, l'intensité relative des impacts des trois perturbations évolue en fonction du temps et (ii) que, d'un lac à l'autre, le poids respectif de ces perturbations diffère selon les propriétés intrinsèques de ces lacs. Là encore, d'une manière générale, si l'impact de la trophie est toujours important sur les communautés de diatomées lacustres depuis le début de l'ère industrielle et si cet impact explique des successions entre espèces majoritaires dans les phases d'eutrophisation puis de réoligotrophisation (Marchetto *et al.*, 2004; Rühland *et al.*, 2008), on observe généralement qu'il tend à s'amoinrir depuis les années 1980, au profit d'un impact plus marqué du réchauffement climatique (Desellas *et al.*, 2009; Jeppesen *et al.*, 2007; Rühland *et al.*, 2010).

Nous voyons en comparant les résultats dans nos trois lacs, que l'impact du réchauffement climatique bien qu'étant un forçage global, n'affecte pas les communautés avec la même intensité dans les trois lacs et n'engendre pas les mêmes trajectoires des espèces présentes.

Un impact direct du réchauffement climatique apparaît surtout dans le lac du Bourget avec la présence en fortes abondances d'espèces de printemps et d'été. Elles peuvent être favorisées par des températures plus chaudes s'établissant plus tôt dans l'année ainsi que par des concentrations en nutriments plus faibles à ces saisons et auxquelles ces espèces sont adaptées. Ce genre d'impact direct du climat apparaît également dans le lac Léman mais dans une moindre mesure. La différence entre ces deux lacs peut venir de leur

tailles (le Léman est 20 fois plus grand que le lac du Bourget) et de leurs sensibilités au vent notamment très différentes (Jenny, 2013). La stratification dans le lac du Bourget est plus stable (Jacquet *et al.*, 2005) et la température a un impact plus fort.

Le lac d'Annecy, pourtant plus proche morphologiquement du lac du Bourget, ne partagerait pas cette influence du réchauffement climatique. Les perturbations purement locales doivent cette fois-ci expliquer cette différence avec le lac du Bourget et nous pensons à la différence de trophie en premier lieu. Anneville *et al.* (2005) montrent, par l'analyse de longues séries de données de phytoplancton dans cinq lacs profonds péri-alpins, que les réponses aux variations climatiques sont plus importantes dans les lacs mésotrophes que dans les lacs oligotrophes où les conditions de trophie plus strictes sont plus limitantes. Or, en 1980, quand l'impact du réchauffement climatique, commence à être observé dans le lac du Bourget, ce dernier est mésotrophe alors que le lac d'Annecy a déjà ré-atteint l'oligotrophie. La faible concentration en nutriments dans le lac d'Annecy prendrait donc une importance considérable par rapport aux effets structurants du climat. Mais il est également possible que la forte abondance actuelle de *Cyclotella costei* dans le lac d'Annecy ne soit pas uniquement due à cette faible concentration en nutriments mais à la combinaison entre cette faible concentration en nutriments et d'autres paramètres relevant de la pression climatique (radiation solaire, régime des vents) comme cela semble être le cas dans certains lacs arctiques, tel le lac Tahoe, USA, et dans certains lacs du Canada (Rühland *et al.*, 2008; Smol *et al.*, 2005; Winder *et al.*, 2009). Par conséquent, il se pourrait que, caché par un effet de trophie allant dans le même sens, l'effet structurant du réchauffement climatique dans le lac d'Annecy soit sous-estimé par notre analyse.

La gestion piscicole, bien que peu étudiée dans la bibliographie, a également un impact structurant sur les communautés de diatomées par le biais des modifications profondes qu'elle entraîne sur les communautés de cladocères (Alric *et al.*, 2013). Avec l'abondance en daphnies, l'abondance relative en espèces de diatomées de grande taille et ou coloniales croît (c'est le cas d'*Asterionella formosa* et *Stephanodiscus binderanus* dans le Léman). Ce sont des espèces difficilement consommables de par ces traits biologiques (Knisley 1986; Perga, Bec and Anneville, 2009). Mais Alric *et al.* (2013) montrent également que cet effet *top-down* des populations piscicoles sur les communautés de daphnies semble être associé à celui du climat à partir des années 1990 dans le Léman et donc il serait possible que les fortes abondances relatives en *Asterionella formosa* dans le Léman ces vingt dernières années soit également, indirectement, une conséquence du réchauffement climatique, *via* cet impact sur la communauté de cladocères.

Il est possible de résumer les résultats obtenus à la suite de l'étude des trajectoires des communautés de diatomées dans nos trois lacs Figure 17.

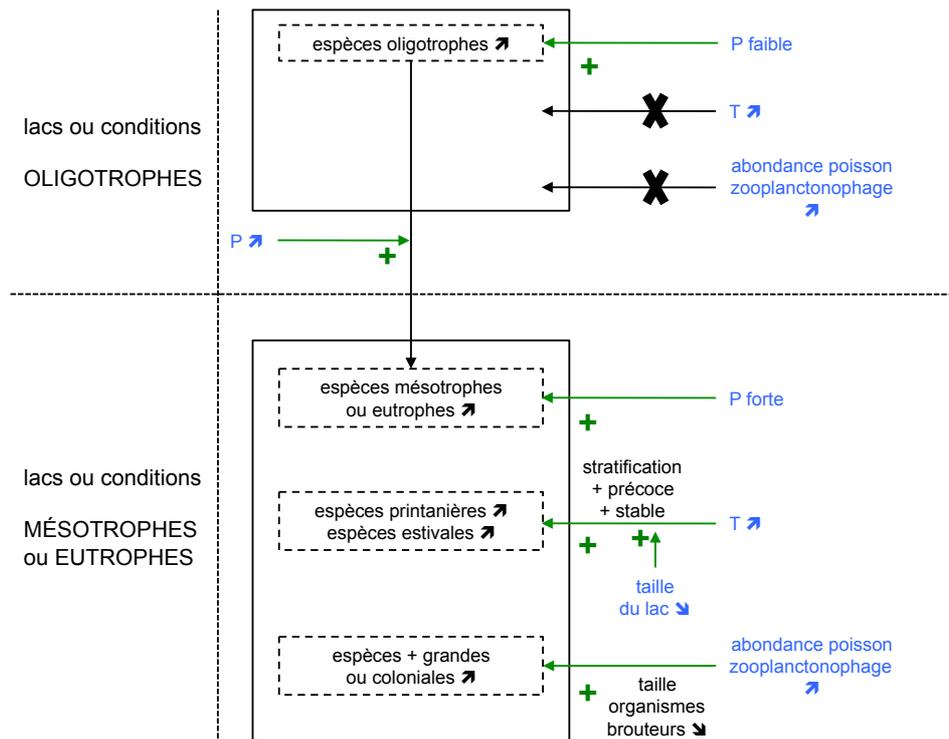


Figure 17 : Schéma de synthèse des différents résultats obtenus de l'étude des trajectoires des communautés de diatomées planctoniques soumis à l'évolution du niveau trophique, la gestion des communautés piscicoles et le changement climatique dans nos lacs (P : concentration en phosphore total, T : température, « + » indique un effet positif, « x » indique l'absence d'effet)

#### 2.4. Les œufs de durée de rotifères pourraient-ils devenir de bons outils en paléolimnologie ?

L'étude des restes d'œufs de durée de rotifères présentée ici reste la part la plus exploratoire de ce travail. En effet, c'est la première fois qu'un tel travail en paléolimnologie est présenté sur ces œufs. D'une manière générale, les études portant sur les œufs de durée de rotifères portent sur leur capacité d'éclosion (García Roger *et al.*, 2005; García Roger *et al.*, 2006) et tentent d'expliquer la place des rotifères dans les écosystèmes aquatiques. Ici, nous avons recueilli ces œufs afin de mettre en relation les aspects qualitatifs de la production d'œufs de durée par les rotifères planctoniques avec les perturbations environnementales principales auxquelles ils ont été soumis dans les trois lacs, Annecy, Bourget et Léman. Il nous semblait possible d'analyser cette production à la lumière des résultats déjà obtenus sur les relations entre les trajectoires empruntées par d'autres taxa (cladocères (Alric *et al.*, 2013) et diatomées (Berthon *et al.*, 2013)) et l'évolution des conditions environnementales.

L'étude des œufs de durée de rotifères retrouvés dans les sédiments des lacs d'Annecy, du Bourget et le Léman montre que leur production a évolué de façon importante dans les communautés. Il apparaît que ces changements sont en lien direct avec ceux des conditions environnementales et qu'ils apparaissent à des périodes également de grands changements dans les autres communautés étudiées, de diatomées et de cladocères, suivant l'évolution de la trophie et du changement climatique. Ainsi nous pensons que les œufs

de rotifères pourraient réellement être utilisés à l'avenir en paléolimnologie et apporter de nouvelles connaissances sur ces communautés primordiales des écosystèmes lacustres qui restent encore peu étudiées ou utilisées à ce jour.

Afin d'aboutir à une nouvelle méthode de paléolimnologie et l'avènement de cet outil potentiel, il reste encore beaucoup de travail. Comme nous l'avons vu, la détermination des morphotypes rencontrés reste encore à faire et c'est un point clé. En effet, nous ne pouvons dire à ce jour quelles sont les espèces rencontrées dans nos comptages or cette information apparaît comme centrale. Connaître les espèces permettrait d'expliquer, en fonction de leur préférence écologique, de leur régime alimentaire, de leur forme de vie, les relations entre les aspects qualitatifs de la production d'œufs de durée et les changements des conditions environnementales. Il nous sera possible d'utiliser les méthodes d'éclosion provoquée de ces œufs (García Roger *et al.*, 2006) ou potentiellement des marqueurs génétiques lorsque ces derniers sont endommagés comme il est possible de le faire sur les éphippies de daphnies retrouvées dans les sédiments (Alric, 2012). Une meilleure description de l'évolution des communautés de rotifères à partir d'archives sédimentaires ne sera possible qu'à ce moment-là.

### 3. Perspectives

La combinaison entre limnologie et paléolimnologie apparaît comme le moyen d'étudier l'évolution des conditions environnementales lacustres sur une plus longue période, remontant jusqu'aux conditions primitives, dites « de référence ». Elle permet de mettre en évidence l'impact de différentes perturbations non observables avec la limnologie seule. Battarbee *et al.* (2005) expliquent que la limnologie seule ne permet pas de mettre en évidence tous les forçages en cause : une perturbation dont l'effet reste invisible, parce que la période étudiée est trop courte, peut expliquer pourquoi l'équilibre atteint après restauration diffère de celui attendu.

La paléolimnologie permet d'améliorer notre compréhension des phénomènes qui régissent le fonctionnement des écosystèmes lacustres mais elle se doit d'évoluer également compte tenu de ces nouvelles connaissances.

#### 3.1. Améliorer et étoffer la paléolimnologie

Battarbee *et al.* (2002) concluent sur la fragilité des fonctions de transfert qui ne portent que sur un seul paramètre et ne tiennent pas compte des interactions entre les forçages. Ils proposent de mettre en œuvre des approches multiparamétriques afin de mieux comprendre les changements opérés au sein des communautés de diatomées et le rôle de ces communautés au sein des écosystèmes lacustres. Nous avons vu également ici l'importance des interactions entre les différents forçages auxquels ces dernières sont soumises et qui rendent les estimations issues de fonction de transfert très discutables. Malgré tout, devons-nous abandonner cet outil ? Finalement, pouvoir reconstruire un paramètre tel que la concentration en nutriments reste utile pour le travail en paléolimnologie sur d'autres communautés. Il

serait donc important de constituer de nouveaux outils contenant des mesures de paramètres différents ainsi qu'une idée de l'importance de chacun dans la favorisation des espèces dans les différents milieux échantillonnés. L'utilisation des connaissances apportées par des travaux comme le nôtre ou encore par les travaux d'écotoxicologie serait alors souhaitable afin de prendre en compte les relations spécifiques qu'une espèce en particulier entretient avec les caractéristiques de son milieu et ses éléments constitutifs.

La paléolimnologie peut également s'étoffer de nouveaux indicateurs, c'est ce que nous avons vu avec les œufs de durée de rotifères qui constituent selon nous de bons candidats. Dans un premier temps, travailler sur ces œufs permettrait de mieux comprendre le fonctionnement des communautés de rotifères puis dans un second, dans le cadre d'études basées sur l'utilisation de plusieurs indicateurs dans plusieurs milieux comme le projet IPER-RETRO, cela permettrait d'apporter des réponses encore plus complètes sur les relations qu'entretiennent les communautés entre elles et sur le fonctionnement des écosystèmes lacustres.

### 3.2. Restaurer et surveiller les écosystèmes lacustres

Aujourd'hui, nous avons une bonne idée de ce que pouvaient être les assemblages en espèces dans les communautés lacustres avant l'explosion de l'impact anthropique du XX<sup>e</sup> siècle. Il ne semble plus réellement possible de restaurer les lacs de façon à retrouver parfaitement ces assemblages. Nous avons en effet de plus en plus d'indices montrant l'importance de l'impact du réchauffement climatique dans les lacs en cours de réoligotrophisation ou encore eutrophes. Nous devons néanmoins continuer à réduire l'impact humain local et à vouloir préserver ces milieux.

Les impacts d'une même perturbation pouvant varier d'un lac à l'autre en fonction des contraintes et des caractéristiques locales, ce que nous avons vu ici pour le changement climatique, chaque lac devrait être étudié de façon indépendante mais il ne sera jamais possible de mettre en place un suivi de limnologie sur tous les lacs. Par contre, nous savons en partie maintenant repérer les perturbations qui influent sur la trajectoire d'une espèce de diatomée dans un lac donné. Ainsi, après une étude de paléolimnologie multiparamétrique du type de celle que nous avons réalisée ici, il serait possible de définir une espèce ou mieux un groupe d'espèces en particulier comme indicateur d'un paramètre à surveiller, une sonnette d'alarme.



## Références

- Alric, B. (2012) *La vulnérabilité des lacs face au couplage du climat et des perturbations anthropiques locales: Approche paléolimnologique basée sur les cladocères*, Université de Grenoble.
- Alric, B., Jenny, J.-P., Berthon, V., Arnaud, F., Pignol, C., Reyss, J.-L., Sabatier, P. & Perga, M.-E. (2013) Local forcings affect lake zooplankton vulnerability and response to climate warming. *Ecology*.
- Alric, B. & Perga, M.E. (2011) Effects of production, sedimentation and taphonomic processes on the composition and size structure of sedimenting cladoceran remains in a large deep subalpine lake: Paleo-ecological implications. *Hydrobiologia*, **676**, 101-116.
- Anneville, O. (2002) Long-term study (1974-1998) of seasonal changes in the phytoplankton in lake geneva: A multi-table approach. *J. Plankton. Res.*, **24**, 993-1008.
- Anneville, O., Gammeter, S. & Straile, D. (2005) Phosphorus decrease and climate variability: Mediators of synchrony in phytoplankton changes among european peri-alpine lakes. *Freshwater Biology*, **50**, 1731-1746.
- Anonymous (2003) *River and lakes — typology, reference conditions and classification systems. Guidance no 10*, European Communities, Luxembourg.
- Auer, I., Böhm, R., Jurkovic, A., Lipa, W., Orlik, A., Potzmann, R., Schöner, W., Ungersböck, M., Matulla, C., Briffa, K., Jones, P., Efthymiadis, D., Brunetti, M., Nanni, T., Maugeri, M., Mercalli, L., Mestre, O., Moisselin, J.-M., Begert, M., Müller-Westermeier, G., Kveton, V., Bochnicek, O., Stastny, P., Lapin, M., Szalai, S., Szentimrey, T., Cegnar, T., Dolinar, M., Gajic-Capka, M., Zaninovic, K., Majstorovic, Z. & Nieplova, E. (2007) Histalp—historical instrumental climatological surface time series of the greater alpine region. *International Journal of Climatology*, **27**, 17-46.
- Balvay, G. & Laurent, M. (1990) Long-term quantitative evolution of rotifers during eutrophication in lake geneva. *Aquat. Sci*, **52**.
- Battarbee, R., Anderson, N.J., Jeppesen, E. & Leavitt, P.R. (2005) Combining palaeolimnological and limnological approaches in assessing lake ecosystem response to nutrient reduction. *Freshwat Biol*, **50**, 1772-1780.
- Battarbee, R., Jones, V., Flower, R., Cameron, N., Bennion, H., Carvalho, L. & Juggins, S. (2002) Diatoms. *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments*, **3**, 155-202.
- Battarbee, R.W., Anderson, N.J., Bennion, H. & Simpson, G.L. (2012) Combining limnological and palaeolimnological data to disentangle the effects of nutrient pollution and climate change on lake ecosystems: Problems and potential. *Freshwater Biology*, **57**, 2091-2106.

- Battarbee, R.W. & Bennion, H. (2011) Palaeolimnology and its developing role in assessing the history and extent of human impact on lake ecosystems. *Journal of Paleolimnology*, **45**, 399-404.
- Battarbee, R.W., Jones, V.J., Flower, R.J., Cameron, N.G., Bennion, H., Carvalho, L., Juggins, S., Smol, J.P., Birks, H.J.B. & Last, W.M. (2001) *Tracking environmental change using lake sediments. Volume 3: Terrestrial, algal, and siliceous indicators*, (eds. Last, W.M. and Smol, J.P. ), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Battarbee, R.W., Kernan, M. & Rose, N. (2009) Threatened and stressed mountain lakes of Europe: Assessment and progress. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, **12**, 118-128.
- Bennett, K. (2006) Determination of the number of zones in a biostratigraphical sequence. *New Phytol.*, **132**, 155-170.
- Bennion, H., Appleby, P.G. & Phillips, G.L. (2001) Reconstructing nutrient histories in the Norfolk Broads, UK: Implications for the role of diatom-total phosphorus transfer functions in shallow lake management. *Journal of Paleolimnology*, **26**, 181-204.
- Bennion, H. & Battarbee, R.W. (2007) The European Union Water Framework Directive: Opportunities for palaeolimnology. *Journal of Paleolimnology*, **38**, 285-295.
- Bennion, H., Battarbee, R.W., Sayer, C.D., Simpson, G.L. & Davidson, T.A. (2011) Defining reference conditions and restoration targets for lake ecosystems using palaeolimnology: A synthesis. *J. Paleolimnol.*, **45**, 533-544.
- Bennion, H., Fluin, J. & Simpson, G.L. (2004) Assessing eutrophication and reference conditions for Scottish freshwater lochs using subfossil diatoms. *Journal of Applied Ecology*, **41**, 124-138.
- Bennion, H., Johnes, P., Ferrier, R., Phillips, G. & Haworth, E. (2005) A comparison of diatom phosphorus transfer functions and export coefficient models as tools for reconstructing lake nutrient histories. *Freshwater Biol.*, **50**, 1651-1670.
- Bennion, H., Wunsam, S. & Schmidt, R. (1995) The validation of diatom-phosphorus transfer functions: An example from Mondsee, Austria. *Freshwater Biol.*, **34**, 271-283.
- Berthon, V., Bouchez, A. & Rimet, F. (2011) Using diatom life-forms and ecological guilds to assess organic pollution and trophic level in rivers: A case study of rivers in south-eastern France. *Hydrobiologia*, **673**, 259-271.
- Berthon, V., Marchetto, A., Rimet, F., Dormia, E., Jenny, J.-P., Pignol, C. & Perga, M.-E. (2013) Trophic history of French sub-alpine lakes over the last ~150 years: Phosphorus reconstruction and assessment of taphonomic biases. *Journal of Limnology*, **72**.
- Birks, H. (1998) Numerical tools in palaeolimnology—progress, potentialities, and problems. *J. Paleolimnol.*, **20**, 307-332.

- Birks, H., Line, J., Juggins, S., Stevenson, A.C. & Ter Braak, C.J.F. (1990) Diatoms and pH reconstruction. *Phil Trans R Soc Lond B*, **327**, 263-278.
- Blais, J.M. & Kalff, J. (1995) The influence of lake morphometry on sediment focusing. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 582-588.
- Brooks, J. & Dodson, S. (1965) Predation, body size, and composition of plankton. *Science*, **150**, 28-35.
- Carpenter, S.R., Cole, J.J., Hodgson, J.R., Kitchell, J.F., Pace, M.L., Bade, D., Cottingham, K.L., Essington, T.E., Houser, J.N. & Schindler, D.E. (2001) Trophic cascades, nutrients, and lake productivity: Whole-lake experiments. *Ecological Monographs*, **71**, 163-186.
- Carpenter, S.R. & Kitchell, J.F. (1996) The trophic cascade in lakes.
- Champigneulle, A., Michoud, M. & Brun, J.C. (2001) Pacage lacustre de salmonidés (omble chevalier, corégone et truite) dans le lac léman et le lac du bourget. *Gestion piscicole des grands plans d'eau*.
- Cipel (1984) *Synthèse des travaux de la commission internationale pour la protection des eaux du léman contre la pollution, 1957-1982.*, Secrétariat de la Commission internationale pour la protection des eaux du Léman contre la pollution, Switzerland.
- De Caceres, M., Oliva, F., Font, X. & Vives, S. (2007) Ginkgo, a program for non-standard multivariate fuzzy analysis. *Adv. Fuzzy Sets Syst.*, **2**, 41-56.
- Demott, W. & Gulati, R. (1999) Phosphorus limitation in daphnia: Evidence from a long term study of three hypereutrophic dutch lakes. *Limnology and Oceanography*, **44**, 1557-1564.
- Desellas, A.M., Paterson, A.M., Clark, B.J., Baraton, N.G. & Sellers, T.J. (2009) State of the basin report for the lake of the woods and rainy river basin. Multi-agency technical report Available from <http://www.lowwsf.com/index.php/progress-we-are-making/state-of-the-basin-report.html>.
- Dong, X., Bennion, H., Maberly, S., Sayer, C., Simpson, G.L. & Battarbee, R.W. (2011) Nutrients exert a stronger control than climate on recent diatom communities in esthwaite water: Evidence from monitoring and palaeolimnological records. *Freshwater Biol.*, **57**, 2044-2056.
- Druart, J.-C. & Pelletier, J. (1998) Variation of the trophic status of lake annecy (haute-savoie, france) estimated from the diatoms and algal pigment composition in cores. *Arch. Sci.*, **51**, 325-333.
- Dufrene, M. (2003) <http://Www.Biodiversite.Wallonie.Be>.
- Dufrene, M. & Legendre, P. (1997) Species assemblages and indicator species: The need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.*, **67**, 345-366.

- Epp, L., Stoof, K., Trauth, M. & Tiedemann, R. (2010) Historical genetics on a sediment core from a kenyan lake: Intraspecific genotype turnover in a tropical rotifer is related to past environmental changes. *Journal of Paleolimnology*, **43**, 939-954.
- European Union (2000) Directive 2000/60/ec of the european parliament and of the council of 23 october 2000 establishing a framework for community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities* L327, 1-72.
- Falkowski, P. & Raven, J. (1997) *Aquatic photosynthesis*, Blackwell science, Massachusetts. US.
- Flower, R. (1993) Diatom preservation: Experiments and observations on dissolution and breakage in modern and fossil material. *Hydrobiologia*, **269/270**, 473-484.
- Frontier, S., Pichod-Viale, D., Lepêtre, A., Davoult, D. & Luczak, C. (2008) *Écosystèmes-4ème édition-structure, fonctionnement, évolution: Structure, fonctionnement, évolution*, Dunod.
- Frossard, V. (2013) *Trajectoires écologiques des lacs d'annecy et du bourget au cours des 150 dernières années : Approche paléolimnologique par analyse des assemblages de chironomidae (diptera) et de leurs signatures isotopiques en carbone*. Thèse de doctorat, Université de Besançon.
- García Roger, E.M., Carmona, M.J. & Serra, M. (2005) Deterioration patterns in diapausing egg banks of *Brachionus* (müller, 1786) rotifer species. *Journal of experimental marine biology and ecology*, **314**, 149-161.
- García Roger, E.M., Carmona, M.J. & Serra, M. (2006) Hatching and viability of rotifer diapausing eggs collected from pond sediments. *Freshwater Biology*, **51**, 1351-1358.
- Gasse, F. & Tekaia, F. (1983) Transfer functions for estimating paleoecological conditions (ph) from east african diatoms. *Hydrobiologia*, **103**, 85-90.
- Gerdeaux, D., Anneville, O. & Hefti, D. (2006) Fishery changes during reoligotrophication in 11 peri-alpine swiss and french lakes over the past 30 years. *Acta Oecologia*, **30**, 61-167.
- Gerten, D. & Adrian, R. (2000) Climate-driven changes in spring plankton dynamics and the sensitivity of shallow polymictic lakes to the north atlantic oscillation. *Limnology and Oceanography*, **45**, 1058-1066.
- Giguet-Covex, C., Arnaud, F., Poulenard, J., Enters, D., Reyss, J.L., Millet, L., Lazzarotto, J. & Vidal, O. (2010) Sedimentological and geochemical records of past trophic state and hypolimnetic anoxia in large, hard-water lake bourget, french alps. *J. Paleolimnol.*, **43**, 171-190.
- Gliwicz, Z.M. & Wrzosek, D. (2008) Predation - mediated coexistence of large - and small - bodied daphnia at different food levels. *The American Naturalist*, **172**, 358-374.

- Gomez, E., Fillit, M., Ximenes, M. & Picot, B. (1998) Phosphate mobility at the sediment—water interface of a mediterranean lagoon (etang du méjean), seasonal phosphate variation. In: *Oceans, rivers and lakes: Energy and substance transfers at interfaces*. (Ed<sup>^</sup>Eds, pp. 203-216. Springer.
- Hampton, S.E. (2005) Increased niche differentiation between two conochilus species over 33 years of climate change and food web alteration. *Limnology and Oceanography*, **50**, 421-426.
- Hastie, T.J. & Tibshirani, R.J. (1990) Generalized additive models.
- Hecky, R. & Kilham, P. (1988) Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: A review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnology and Oceanography*, **33**, 796-822.
- Hook, V., Klee, R. & Tanaka, H. (2010) *Atlas of freshwater centric diatoms with a brief key and descriptions. Part iii., stephanodiscaceae a, cyclotella, tertiaris, discotella*, Poulickova, A. (ed.): Fottea 10.
- Hughes, L. (2000) Biological consequences of global warming: Is the signal already apparent? *Trends in Ecology & Evolution*, **15**, 56-61.
- Huisman, J., Olf, H. & Fresco, L. (1993) A hierarchical set of models for species response analysis. *J. Vegetation Sci.*, **4**, 37-46.
- Jacques, J.-M.S., Cumming, B.F. & Smol, J.P. (2008) A statistical method for varve verification using seasonal pollen deposition. *Journal of Paleolimnology*, **40**, 733-744.
- Jacquet, S., Briand, J.F., Leboulanger, C., Avois-Jacquet, C., Oberhaus, L., Tassin, B., Vinçon - Leite, B., Paolini, G., Druart, J.C., Anneville, O. & Humbert, J.F. (2005) The proliferation of the toxic cyanobacterium planktothrix rubescens following restoration of the largest natural french lake (lac du bourget). *Harmful algae*, **4**, 651-672.
- Jacquet, S., Rimet, F. & Druart, J. (2014) Composition and dynamics of phytoplanktonic communities in 3 large and deep western european lakes: An outline of the evolution from 2004 to 2012. In: *Phytoplankton: Biology, classification and environmental impacts*. (Ed<sup>^</sup>Eds M. Sebastiá), p. 372 p. Nova Science Publishers Inc.
- Jenny, J.-P., Arnaud, F., Dorioz, J.-M., Giguet Covex, C., Frossard, V., Sabatier, P., Millet, L., Reyss, J.-L., Tachikawa, K., Bard, E., Pignol, C., Soufi, F., Romeyer, O. & Perga, M.-E. (2013) A spatiotemporal investigation of varved sediments highlights the dynamics of hypolimnetic hypoxia in a large hard-water lake over the last 150 years. *Limnol. Oceanogr.*
- Jenny, J.P. (2013) *Réponses des grands lacs périalpins aux pressions anthropiques et climatiques récentes. Reconstitutions spatio-temporelles à partir d'archives sédimentaires*, Université de Grenoble.
- Jeppesen, E., Jensen, J.P., Jensen, C., Faafeng, B., Hessen, D.O., Søndergaard, M., Lauridsen, T., Brettum, P. & Christoffersen, K. (2003) The impact of nutrient state and lake depth on top-down control in the pelagic zone of lakes: A study of 466 lakes from the temperate zone to the arctic. *Ecosystems*, **6**, 313-325.

- Jeppesen, E., Kronvang, B., Meerhoff, M., Søndergaard, M., Hansen, K.M., Andersen, H.E., Lauridsen, T.L., Liboriussen, L., Beklioglu, M. & Özen, A. (2009) Climate change effects on runoff, catchment phosphorus loading and lake ecological state, and potential adaptations. *Journal of Environmental Quality*, **38**, 1930-1941.
- Jeppesen, E., Meerhoff, M., Jacobsen, B., Hansen, R., Søndergaard, M., Jensen, J., Lauridsen, T., Mazzeo, N. & Branco, C. (2007) Restoration of shallow lakes by nutrient control and biomanipulation—the successful strategy varies with lake size and climate. *Hydrobiologia*, **581**, 269-285.
- Joly, D., Brossard, T., Cardot, H., Cavailhe, J., Hilal, M. & Wavresky, P. (2010) Les types de climats en France, une construction spatiale. *European Journal of Geography*.
- Juggins, S. (2007) C2 version 1.5 user guide. Software for ecological and palaeoecological data analysis and visualisation. *Newcastle University, Newcastle upon Tyne, UK*, 1-73.
- Juggins, S. (2009) Package 'rioja'. *w.download.idg.pl*, 1-55.
- Juggins, S., Anderson, N.J., Hobbs, J.R. & Heathcote, A. (2013) Reconstructing epilimnetic total phosphorus using diatoms: Statistical and ecological constraints. *J. Paleolimnol.*, 1-18.
- Julius, M.L. & Theriot, E.C. (2010) The diatoms: A primer. In: *The diatoms: Applications for the environmental and earth sciences*. (Eds J.P. Smol & E.F. Stoermer). Cambridge University Press. .
- Kerfoot, W.C. (1981) Long-term replacement cycles in cladoceran communities: A history of predation. *Ecology*, **62**, 216-233.
- Kirk, K.L. (1997) Life-history responses to variable environments: Starvation and reproduction in planktonic rotifers. *Ecology*, **78**, 434-441.
- Krammer, K. (2000) *Diatoms of the European inland waters and comparable habitats. Vol. 1. The genus pinnularia*, Gantner Verlag, Ruggell, Germany.
- Krammer, K. (2001) *Diatoms of the European inland waters and comparable habitats, vol. 2. Navicula sensu stricto, 10 genera separated from Navicula sensu stricto, frustulia*, Gantner Verlag, Ruggell, Germany.
- Krammer, K. (2002) *Diatoms of the European inland waters and comparable habitats, vol. 3. Cymbella*, Gantner Verlag, Ruggell, Germany.
- Krammer, K. (2003) *Diatoms of the European inland waters and comparable habitats, vol. 4. Cymbopleura, delicata, navicymbula, gomphocymbellopsis, afrocymbella*, Gantner Verlag, Ruggell, Germany.
- Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. (1986) Bacillariophyceae 1. Teil: Naviculaceae. 876.
- Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. (1988) Bacillariophyceae 2. Teil: Bacillariaceae, epithemiaceae, surirellaceae. 596.
- Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. (1991a) Bacillariophyceae 3. Teil: Centrales, fragilariaceae, eunotiaceae. 576.

- Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. (1991b) Bacillariophyceae 4. Teil: Achnanthaceae. Kritische ergänzungen zu navicula (lineolatae) und gomphonema. 437.
- Lange-Bertalot, H. & Krammer, K. (1989) *Ibliothecca diatomologica, band 18, achnanthes eine monographie der gattung*, Crammer J, Berlin-Stuttgart.
- Lavoie, I., Campeau, S., Fallu, M.-A. & Dillon, P.J. (2006) Diatoms and biomonitoring: Should cell size be accounted for? *Hydrobiologia*, **573**, 1-16.
- Leskov, Z. (2007) *Iconographia diatomologica, vol. 16, diatoms of lake prespa and obrid*, ARG Gantner Verlag KG.
- Likens, G.E. & Davis, M.B. (1975) Post-glacial history of mirror lake and its watershed in new hampshire, u.S.A: An initial report. *Mitteilungen / Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, **19**, 982-993.
- Livingstone, D.M. (2003) Impact of secular climate change on the thermal structure of a large temperate central european lake. *Climatic Change*, **57**, 205-225.
- Loga, M., Hollan, E., Lemmin, U., Baumert, H., Guilbaud, C., Frisk, T., Fontvieille, D., Wahl, B., GüDe, H., May, L., Carvalho, L. & Duwe, K. (2004) Key processes. Eurolakes d38. p. 91. Report to European Union, Brussels.
- Maia Barbosa, P.M., Eskinazi - Sant'anna, E.M., Valadares, C.F. & Pessoa, G.C.D. (2003) The resting eggs of zooplankton from a tropical, eutrophic reservoir (pampulha reservoir, south - east brazil). *Lakes & Reservoirs: Research & Management*, **8**, 269-275.
- Mann, D.G. & Vanormelingen, P. (2013) An inordinate fondness? The number, distributions and origins of diatom species. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 1-26.
- Mantel, N. (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.*, **27**, 209-220.
- Marchetto, A. & Bettinetti, R. (1995) Reconstruction of the phosphorus history of two deep, subalpine italian lakes from sedimentary diatoms, compared with long-term chemical measurements. *Mem Ist ital Idrobiol*, **53**, 27-38.
- Marchetto, A., Lami, A., Musazzi, S., Massaferrò, J., Langone, L. & Guilizzoni, P. (2004) Lake maggiore (n. Italy) trophic history: Fossil diatom, plant pigments, and chironomids, and comparison with long-term limnological data. *Quaternary International*, **113**, 97-110.
- Marchetto, A. & Musazzi, S. (2001) Comparison between sedimentary and living diatoms in lago maggiore (n. Italy): Implications of using transfer functions. *J. Limnol.*, **60**, 19-26.
- Mccune, B. & Mefford, M.J. (2006) *Pc-ord. Multivariate analysis of ecological data. Version 5.*, MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.
- Mea (2005) *Millennium ecosystem assessment synthesis report*, United Nations Environment Programme, New York.

- Millet, L., Giguet-Covex, C., Verneaux, V., Druart, J., Adatte, T. & Arnaud, F. (2010) Reconstruction of the recent history of a large deep prealpine lake (lake bourget, france) using subfossil chironomids, diatoms, and organic matter analysis: Towards the definition of a lake-specific reference state. *J. Paleolimnol.*, **44**, 963-978.
- Molinero, J.C., Anneville, O. & Souissi, S. (2006) Anthropogenic and climate forcing on the long-term changes of planktonic rotifers in lake .... *Journal of Plankton Research*.
- Nomade, J. (2005) *Chronologie et sédimentologie du remplissage du lac d'annecy depuis le tardiglaciaire: Implications paléoclimatologiques et paléohydrologiques.*, Université Joseph Fourier, Grenoble 1.
- Obertegger, U., Smith, H.A., Flaim, G. & Wallace, R.L. (2011) Using the guild ratio to characterize pelagic rotifer communities. *Hydrobiologia*, **662**, 157-162.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., O'hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H. & Wagner, H. (2011) Vegan: Community ecology package. R package version 1.17-6. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Overpeck, J.T., Webb Iii, T. & Prentice, I.C. (1985) Quantitative interpretation of fossil pollen spectra: Dissimilarity coefficients and the method of modern analogs. *Quaternary Res.*, **23**, 87-108.
- Patrick, R. (1977) Ecology of freshwater diatoms and diatom communities. *The biology of diatoms*, **13**, 284-332.
- Pérez, L., Lorenschat, J., Massaferró, J., Pailles, C., Sylvestre, F., Hollwedel, W., Brandorff, G.-O., Brenner, M., Gerald, I. & Lozano, M.D.S. (2013) Bioindicators of climate and trophic state in lowland and highland aquatic ecosystems of the northern neotropics. *Revista de Biología Tropical*, **61**, 603-644.
- Perga, M.E., Desmet, M., Enters, D. & Reyss, J. (2010) A century of bottom-up-and top-down-driven changes on a lake planktonic food web: A paleoecological and paleoisotopic study of lake annecy, france. *Limnology and Oceanography*, **55**, 803-816.
- Porter, K., Paerl, H., Hodson, R., Pace, M., Prisco, J., Riemann, B., Scavia, D. & Stockner, J. (1988) Microbial interactions in lake food webs. In: *Complex interactions in lake communities*. (Ed^Eds, pp. 209-227. Springer.
- Prygiel, J., Carpentier, P., Almeida, S., Coste, M., Druart, J.C., Ector, L., Guillard, D., Honoré, M.A., Iserentant, R., Ledeganck, P., Lalanne-Cassou, C., Lesniak, C., Mercier, I., Moncaut, P., Nazart, M., Nouchet, N., Peres, F., Peeters, V., Rimet, F., Rumeau, A., Sabater, S., Straub, F., Torrisi, M., Tudesque, L., Van De Vijver, B., Vidal, H., Vizinet, J. & Zydek, N. (2002) Determination of the biological diatom index (ibd nf t 90–354): Results of an intercomparison exercise. *J Appl Phycol*, **14**, 27-39.
- Renberg, I. (1990) A procedure for preparing large sets of diatom slides from sediment cores. *Journal of Paleolimnology*, **4**, 87-90.
- Rimet, F. (2012) Recent views on rivers pollution and diatoms. *Hydrobiologia*, **683**, 1-24.

- Rimet, F. & Bouchez, A. (2012a) Biomonitoring river diatoms: Implications of taxonomic resolution. *Ecol. Indic.*, **15**, 92-99.
- Rimet, F. & Bouchez, A. (2012b) Life-forms, cell-sizes and ecological guilds of diatoms in european rivers. *Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst.*, **406**, 01.
- Rimet, F., Druart, J. & Anneville, O. (2009) Exploring the dynamics of plankton diatom communities in lake geneva using emergent self-organizing maps (1974-2007). *Ecol. Inform.*, **4**, 99-110.
- Roseacute, P., Hall, R., Korsman, T. & Renberg, I. (2000) Diatom transfer-functions for quantifying past air temperature, ph and total organic carbon concentration from lakes in northern sweden. *Journal of Paleolimnology*, **24**, 109-123.
- Round, F.E., Crawford, R.M. & Mann, D.G. (1990) *The diatoms: The biology and morphology of the genera*, Cambridge University Press.
- Rühland, K., Paterson, A.M. & Smol, J.P. (2008) Hemispheric-scale patterns of climate-related shifts in planktonic diatoms from north american and european lakes. *Global Change Biology*, **14**, 2740-2754.
- Rühland, K.M., Paterson, A.M., Hargan, K., Jenkin, A., Clark, B.J. & Smol, J.P. (2010) Reorganization of algal communities in the lake of the woods (ontario, canada) in response to turn-of-the-century damming and recent warming. *Limnology and Oceanography*, **55**, 2433-2451.
- Schindler, D. (2001) The cumulative effects of climate warming and other human stresses on canadian freshwaters in the new millennium. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **58**, 18-29.
- Schindler, D.W. (1977) Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science*, **195**, 260-262.
- Shao, Z., Xie, P. & Zhuge, Y. (2001) Long - term changes of planktonic rotifers in a subtropical chinese lake dominated by filter - feeding fishes. *Freshwater Biology*, **46**, 973-986.
- Simpson, G.L. & Anderson, N. (2009) Deciphering the effect of climate change and separating the influence of confounding factors in sediment core records using additive models. *Limnology and Oceanography*, **54**, 2529-2541.
- Smeltzer, E. & Swain, E.B. (1985) Answering lake management questions with paleolimnology. In: *Lake reserv. Manage. - practical applications*. (Ed^Eds P.T.a.C.a.S. (Nalms)), p. 390.
- Smith, H.A., Ejsmont Karabin, J., Hess, T.M. & Wallace, R.L. (2009) Paradox of planktonic rotifers: Similar structure but unique trajectories in communities of the great masurian lakes (poland). *Verhandlungen Internationale Vereinigung Limnologie*, **30**, 951-956.
- Smol, J. (1992) Paleolimnology: An important tool for effective ecosystem management. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*, **1**, 49-58.

- Smol, J.P. (2009) *Pollution of lakes and rivers: A paleoenvironmental perspective*, John Wiley & Sons.
- Smol, J.P., Wolfe, A.P., Birks, H.J.B., Douglas, M.S., Jones, V.J., Korhola, A., Pienitz, R., Rühland, K., Sorvari, S., Antoniadou, D., Brooks, S.J., Fallu, M.A., Hughes, M., Keatley, B.E., Laing, T.E., Michelutti, N., Nazarova, L., Nyman, M., Paterson, A.M., Perren, B., Quinlan, R., Rautio, M., Saulnier-Talbot, É., Siitonen, S., Solovieva, N. & Weckström, J. (2005) Climate-driven regime shifts in the biological communities of arctic lakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 4397-4402.
- Sommer, U., Adrian, R., De Senerpont Domis, L., Elser, J.J., Gaedke, U., Ibelings, B., Jeppesen, E., Lüring, M., Molinero, J.C., Mooij, W.M., Van Donk, E. & Winder, M. (2012) Beyond the plankton ecology group (peg) model: Mechanisms driving plankton succession. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **43**, 429-448.
- Sommer, U., Gliwicz, Z.M., Lampert, W. & Duncan, A. (1986) The peg-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archiv für Hydrobiologie*, **106**, 433-471.
- Søndergaard, M., Jensen, J.P. & Jeppesen, E. (1999) Internal phosphorus loading in shallow danish lakes. *Hydrobiologia*, **408**, 145-152.
- Søndergaard, M., Jeppesen, E., Lauridsen, T.L., Skov, C., Van Nes, E.H., Roijackers, R., Lammens, E. & Portielje, R. (2007) Lake restoration: Successes, failures and long - term effects. *Journal of Applied Ecology*, **44**, 1095-1105.
- Spaak, P. (2012) How aquatic ecosystems are altered by nutrients. *Eaavag News*, **72**, 4-7.
- St Jacques, J.M., Douglas, M., Price, N., Drakulic, N. & Gubala, C.P. (2005) The effect of fish introductions on the diatom and cladoceran communities of lake opeongo, ontario, canada. *Hydrobiologia*, **549**, 99-113.
- Straile, D. (2000) Meteorological forcing of plankton dynamics in a large and deep continental european lake. *Oecologia*, **122**, 44-50.
- Tadonlécé, R.D. (2010) Evidence of warming effects on phytoplankton productivity rates and their dependence on eutrophication status. *Limnology and Oceanography*, **55**, 973.
- Telford, R. & Birks, H.J.B. (2009) Evaluation of transfer functions in spatially structured environments. *Quaternary Science Reviews*, **28**, 1309-1316.
- Ter Braak, C.J.F. & Van Dame, H. (1989) Inferring ph from diatoms: A comparison of old and new calibration methods. *Hydrobiologia*, **178**, 209-223.
- Van Dam, H., Mertens, A. & Sinkeldam, J. (1994) A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, **28**, 117-133.

- Vollenweider, R.A. (1968) *Scientific fundamentals of stream and lake eutrophication, with particular reference to nitrogen and phosphorus*, OECD Tech. Rep. DAP/DST/IS. Organization for Economic Co-operation and Development,, Paris.
- Wade, A., Whitehead, P., Hornberger, G. & Snook, D. (2002) On modelling the flow controls on macrophyte and epiphyte dynamics in a lowland permeable catchment: The river kennet, southern england. *Science of the Total Environment*, **282**, 375-393.
- Warner, B.G. & Chengalath, R. (1988) Holocene fossil habrotricha angusticollis (bdelloidea: Rotifera) in north america. *Journal of Paleolimnology*, **1**, 141-147.
- Wessels, M., Mohaupt, K., Kümmerlin, R. & Lenhard, A. (1999) Reconstructing past eutrophication trends from diatoms and biogenic silica in the sediment and the pelagic zone of lake constance, germany. *J. Paleolimnol.*, **21**, 171-192.
- Winder, M., Reuter, J.E. & Schladow, S.G. (2009) Lake warming favours small-sized planktonic diatom species. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **276**, 427-435.
- Winder, M. & Schindler, D.E. (2004a) Climate change uncouples trophic interactions in an aquatic ecosystem. *Ecology*, **85**, 2100-2106.
- Winder, M. & Schindler, D.E. (2004b) Climatic effects on the phenology of lake processes. *Global Change Biology*, **10**, 1844-1856.
- Wolfram, G., Argillier, C., Bortoli, J., Buzzi, F., Dalmiglio, A., Dokulil, M., Hoehn, E., Marchetto, A., Martinez, P.-J., Morabito, G., Reichmann, M., Remec-Rekar, Š., Riedmüller, U., Rioury, C., Schaumburg, J., Schulz, L. & Urbanič, G. (2009) Reference conditions and wfd compliant class boundaries for phytoplankton biomass and chlorophyll-a in alpine lakes. *Hydrobiologia*, **633**, 45-58.
- Wood, S.N. (2008) Fast stable direct fitting and smoothness selection for generalized additive models. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)*, **70**, 495–518.
- Wood, S.N. (2011) Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society (B)*, **73**, 3-36.
- Wunsam, S. & Schmidt, R. (1995) A diatom-phosphorus transfer function for alpine and pre-alpine lakes. *Mem. Ist. ital. Idrobiol.*, **53**, 85-99.
- Zolitschka, B. (2003) Dating based on freshwater- and marine-laminated sediments. *Global change in the Holocene*.