



HAL
open science

**From functional genes to ecosystem functioning:
towards a new integrative vision of biodiversity-function
links in hydrosystems**

Laura Fargeot

► **To cite this version:**

Laura Fargeot. From functional genes to ecosystem functioning: towards a new integrative vision of biodiversity-function links in hydrosystems. Ecosystems. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2023. English. NNT: 2023TOU30279 . tel-04574592

HAL Id: tel-04574592

<https://theses.hal.science/tel-04574592>

Submitted on 14 May 2024

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

En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

Présentée et soutenue par

Laura FARGEOT

Le 21 novembre 2023

**Des gènes fonctionnels au fonctionnement des écosystèmes :
vers une nouvelle vision intégrative des liens biodiversité-
fonction dans les hydrosystèmes**

Ecole doctorale : **SEVAB - Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et
Bioingenieries**

Spécialité : **Ecologie, biodiversité et évolution**

Unité de recherche :

SETE - Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale

Thèse dirigée par

Simon BLANCHET et Delphine LEGRAND

Jury

M. Guillaume EVANNO, Rapporteur

M. Olivier DANGLES, Rapporteur

M. Thierry RIGAUD, Examinateur

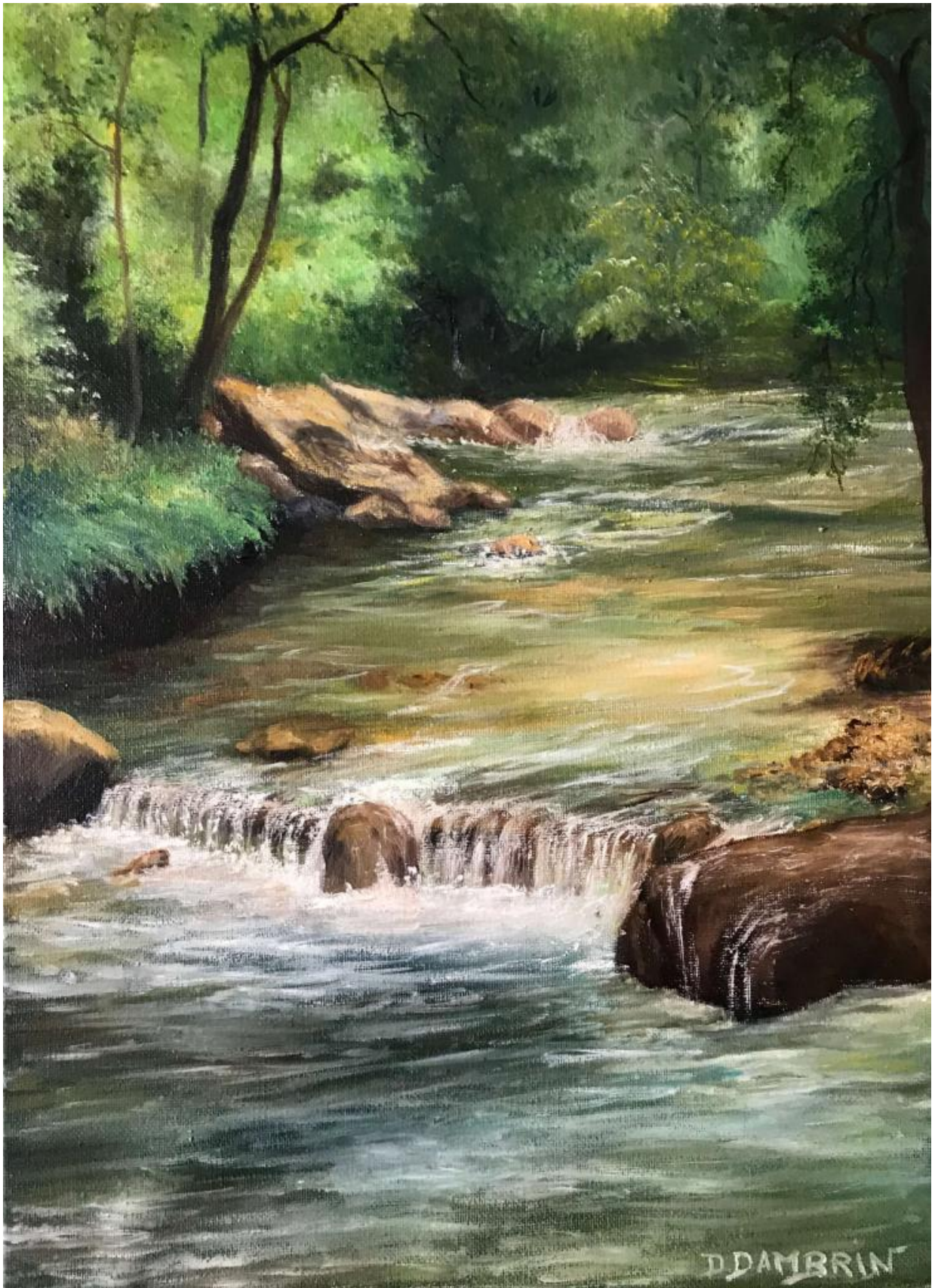
Mme Clémentine FRANÇOIS, Examinatrice

Mme Géraldine LOOT, Examinatrice

M. Simon BLANCHET, Directeur de thèse

Mme Delphine LEGRAND, Co-directrice de thèse

M. Nicolas MOUQUET, Président



Rivière sous bois, Danielle Dambrin

REMERCIEMENTS

Je voudrais d'abord remercier mes encadrant.e.s de thèse. Merci à Simon Blanchet de m'avoir permis de réaliser cette thèse, d'avoir été un soutien sur le plan scientifique pendant ces quatre années et pour son pragmatisme face aux imprévus. J'ai parfois eu l'impression d'être sur un bateau perdu au milieu des flots et tu as toujours su souffler dans la voile et me faire passer les caps. Merci pour ta confiance et tout ce que tu m'as appris. Je remercie également Delphine Legrand et Géraldine Loot pour leur accompagnement, plus distant mais toujours pertinent, pour leur prise de recul et pour leur bienveillance.

Je voudrais remercier très chaleureusement les membres du jury qui ont évalué ce travail. Je remercie Nicolas Mouquet et Thierry Rigaud d'avoir co-présidé ce jury, pour la fluidité avec laquelle vous avez géré les échanges et pour le regard perçant que vous avez porté sur mon travail de thèse, tant sur les aspects scientifiques qu'humains. Un grand merci à Olivier Dangles et Guillaume Evanno pour avoir accepté de lire dans le détail et de critiquer mon manuscrit malgré les délais serrés. J'ai beaucoup apprécié la diversité de vos retours et j'ai été très touchée par votre réceptivité à certains aspects de ma thèse, notamment la rigueur scientifique et les petits éléments artistiques que j'ai essayé d'y insérer. Je remercie enfin Clémentine François qui a accepté de faire partie de mon jury de soutenance. Merci beaucoup d'avoir apporté ton expertise d'écologue moléculaire et pour tes suggestions particulièrement pertinentes pour la suite du projet. A tous les cinq : merci du fond du cœur d'être des experts si brillants et si bienveillants, notre échange lors de la soutenance de thèse restera un excellent souvenir et je suis très heureuse de toutes les discussions que nous avons eues. Vous m'avez fait réaliser certaines de mes forces et prendre la mesure du travail accompli. Merci.

Je tiens également à remercier Richard Cordaux, Michael Danger et Thierry rigaux (à nouveau !) pour leur retour sur mon travail pendant les comités de suivi de la thèse. Ces réunions étaient l'occasion de me fixer des beaux objectifs et m'ont toujours permis de repartir du bon pied. Merci pour ces chouettes échanges.

Je remercie tous les gens qui ont rendu ce travail possible en m'aidant d'une manière ou d'une autre sur des aspects théoriques, la récolte des données et les manipulations de laboratoire. Je remercie Jérôme Prunier de m'avoir aidé dans toutes mes galères techniques et théoriques, et pour nos conversations statistiques et Rstudio (parfois un peu trop arrosées). Merci infini à Camille Poesy et Maxim Lefort pour avoir été mes collègues et bien plus. Merci pour les rires, le soutien pour traverser les rivières en plein hiver et d'avoir assumé la charge mentale organisationnelle du travail de terrain. Merci à Madoka Krick et Charlotte Veysière

pour le beau travail de paillasse, merci à Rik Verdonck pour les explorations bio-informatiques. Je remercie Murielle richard et Michèle Huet pour leur soutien technique et amical, et leur humour. Je remercie chaleureusement tous les stagiaires qui ont soutenu ce travail de thèse : Morgan Sautreuil, Thomas Picq, Nadia Langford, Natan Huberson, Chiara Mercier, Guillaume Verchère, Manon Carnevali et Océane Eychenne.

Je voudrais remercier mes collègues et ami.e.s de la SETE. Je voudrais remercier Raoul Huys, Gladys Barragan-Jason, Markus Bittlingmaier et Emmanuel De La Forest. Merci à Mario Desallais, Constant Perry et Léonard Dupont qui ont rejoint la SETE deux après moi et qui ont été une petite bouffée d'air après une année et demi de COVID: merci à tous les trois d'être vous et de m'avoir accompagné de si près. Merci également à Roman Dubreque et Rodrigue Friaud d'être des petits choux, bonne entrée en thèse, bonne thèse, régalez-vous ! Je voudrais remercier tous les gens avec qui j'ai partagé un bureau et/ou des rigolades : Eloïse Duval, Marius Barrault, Louane Matos, Emma Couranjou, Chiara Mercier (une deuxième fois <3), Hugo Bellavoir, Maxime Stanislawek, Simon Aziz et Jules paraskevopoulos. Merci d'avoir été dans mon bureau, merci pour les rires, merci de m'avoir distrait de mon objectif ! Vous êtes des petits monstres mais je vous adore.

Je voudrais remercier en vrac les stagiaires des autres équipes qui sont passées à la SETE pendant ces quatre dernières années et qui m'ont apporté du bonheur, de l'écoute et des rires. J'en oublie sans doute mais je remercie particulièrement Maxence, Sarah, Marion et Paul, Agathe, Martin, Amélie, Thomas et Simon, Océane, Basile, Annabelle et ma chère Alice. Je remercie aussi les copains d'EDB et de Toulouse pour les bouffées d'air, la danse et les rires : Laurine, Paul, Sean et Bénédicte.

Je remercie mes proches pour tout. Merci à ma famille nucléaire ! Notre petit noyau harmonique est précieux : quatre noires, deux rondes, une blanche. Merci aux ami.e.s et aux amour.e.s merveilleux.ses qui partagent ma vie ! Merci particulièrement à Julia Dayon, Rémi Portes Narrieu et Jules Paraskevopoulos de m'avoir soutenu pendant la rédaction de ce manuscrit, de m'accompagner et rendre ma vie plus chouette tous les jours.

Et maintenant ? Des écumes de fleurs pour bercer mes dérades, des lichens de soleil et des archipels sidéraux !

RÉSUMÉ

A l'heure où les activités humaines entraînent le déclin de la biodiversité et de ses multiples facettes, il est important de quantifier leurs rôles respectifs sur le fonctionnement des écosystèmes. L'objectif général de cette thèse est de quantifier l'importance de la diversité génétique pour prédire les fonctions écosystémiques, relativement à la diversité spécifique. Grâce à une approche observationnelle, nous quantifions la diversité spécifique et génétique à trois niveaux trophiques (plantes de la ripisylve, macro-invertébrés benthiques et poissons), ainsi que plusieurs fonctions de l'écosystème sur cinquante rivières du piémont Pyrénéens. En généralisant le cadre des « species-genetic diversity correlations » à des niveaux trophiques multiples, nous montrons que les patrons de distribution de la biodiversité sont uniques à chaque niveau trophique et chaque facette de la biodiversité (Fargeot *et al.*, *Oikos*, 2023). Cette tendance à l'idiosyncrasie se retrouve dans les liens biodiversité-écosystèmes. Pourtant, la diversité génétique à un niveau trophique impacte positivement les fonctions écosystémiques de même niveau trophique, tandis que la diversité spécifique les impacte négativement. Ce résultat, congruent à tous les niveaux trophiques, montre pour la première fois l'influence majeure de la diversité intraspécifique sur les écosystèmes naturels. Dans un second temps, nous développons une méthode pour quantifier la biodiversité génétique *inclusive* (c'est-à-dire simultanément à l'échelle intra- et interspécifique, Blanchet, Fargeot et Raffard, *Molecular Ecology*, 2023) pour sortir de cette dichotomie gènes/espèces. En utilisant des gènes conservés phylogénétiquement mais variables entre les individus, nous identifions du polymorphisme inter- et intra-espèces dans une communauté de crustacés décomposeurs. Cette preuve de concept ouvre la voie à la découverte de nouveaux patrons de biodiversité *inclusifs* dans les milieux naturels et à l'étude des liens biodiversité-fonctions de l'écosystème directement à l'échelle des communautés. Finalement, grâce à une approche expérimentale, nous comprenons quelques mécanismes sous-jacents aux liens gènes-écosystèmes. Nous montrons que la génétique locale mesurée chez des populations de gammarès (les fréquences alléliques de quelques loci), a un plus grand pouvoir de prédiction de leur capacité de dégradation de la matière organique que la diversité génétique globale. Ces quelques keystone SNPs suffisants à prédire le fonctionnement des écosystèmes, cela ouvre des portes sur l'étude des dynamiques éco-évolutives en milieu naturel. Cette étude mène également à une réflexion théorique sur l'effet positif des gènes sur les performances, des individus aux écosystèmes.

ABSTRACT

Since human activities are driving the current decline in biodiversity and its many facets, it is important to quantify their respective roles for ecosystem functioning. The overall aim of this thesis is to quantify the importance of genetic diversity in predicting ecosystem functions, relative to specific diversity. Using an observational approach, we quantify specific and genetic diversity at three trophic levels (riparian plants, benthic macroinvertebrates and fish), as well as several ecosystem functions on fifty rivers in the Pyrenean foothills. By generalizing the "species-genetic diversity correlations" framework to multiple trophic levels, we show that biodiversity distribution patterns are unique at each trophic level and each facet of biodiversity (Fargeot *et al.*, *Oikos*, 2023). This tendency towards idiosyncrasy is reflected in biodiversity-ecosystem links. Nevertheless, genetic diversity at one trophic level has a positive impact on ecosystem functions at the same trophic level, while specific diversity has a negative impact. This result, congruent at all trophic levels, demonstrates for the first time the major influence of intraspecific diversity on natural ecosystems. Secondly, we are developing a method for quantifying inclusive genetic biodiversity (i.e. simultaneously at the intra- and interspecific scale, Blanchet, Fargeot and Raffard, *Molecular Ecology*, 2023) to break out of this gene/species dichotomy. Using genes that are phylogenetically conserved but variable between individuals, we identify inter- and intra-species polymorphism in a community of decomposer crustaceans. This proof of concept paves the way for the discovery of new inclusive biodiversity patterns in natural environments, and for the study of biodiversity-ecosystem functioning links directly at the community level. Finally, thanks to an experimental approach, we understand some of the mechanisms underlying genes-ecosystem links. We show that local genetics measured in gammarid populations (the allele frequencies of a few loci) are more efficient in predicting their capacity to degrade organic matter than global genetic diversity. As these few keystone SNPs are enough to predict ecosystem functioning, this opens doors to the study of eco-evolutionary dynamics in natural environments. This study also leads to a theoretical reflection on the positive effect of genes on performance, from individuals to ecosystems.

AVANT-PROPOS

Cette thèse a été réalisée à la Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale de Moulis (CNRS – SETE – UPR 2001) avec la participation du laboratoire Ecologie et Diversité biologique de Toulouse (CNRS – EDB – UMR 5174). La thèse (et tout son fonctionnement) a été financée par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR – 18 – CE02 – 0006).

Cette thèse est composée d'une introduction générale rédigée en français suivie de cinq chapitres, dont quatre sont présentés sous la forme de publication scientifique en anglais et un plus préliminaire écrit français, puis d'une discussion générale en français. Le chapitre I a été publié dans *Oikos*. Le chapitre II est en préparation pour une soumission dans *Ecology Letters*, sa forme actuelle est une version quasiment finale. Le chapitre III a été publié dans *Molecular Ecology*. Le chapitre IV est purement méthodologique, donc plus court et rédigé en français. Nous ne savons pas encore donnera lieu à publication scientifique (peut-être sous un format court dans une revue méthodologique). Le chapitre V est en préparation pour soumission dans une revue avec comité de lecture.

La contribution de chaque auteur est présentée à la fin de chacun des chapitres en suivant la taxonomie CRediT (Contributor Roles Taxonomy).

TRAVAUX COMPLÉMENTAIRES

Au cours de cette thèse, j'ai eu l'occasion d'encadrer sept étudiants de différents niveaux, de la L1 au M1 pendant des stages de deux à six mois : Morgan Sautreuil – BTSA 1 (2 mois), Chiara Mercier - L3 (2mois), Natan Huberson – L3 (2 mois), Nadia Langford – L3 (6 mois), Thomas Picq – ingénieur M1 (6 mois), Guillaume Verchère – M1 (4 mois), Océane Eychenne – M1 (2 mois, encadrement plus distant).

J'ai aussi eu la chance de donner des cours pendant trois demi-années à l'Université Toulouse III – Paul Sabatier, majoritairement en biologie évolutive en tant que Doctorant Contractuel Chargé d'Enseignement (DCCE) mais aussi en tant que bénévole lors de ma quatrième année : DCCE 2020/2021 (32h) – Biologie évolutive L3 (90%) et Ecologie et biologie quantitative L3 (10%), DCCE 2021/2022 (32h) – Biologie évolutive L3 (100%), Bénévolat 2022/2023 (8h) – Devenir étudiant L1 (100%).

Deux publications issues de ce travail de thèse ont vu le jour avant la soutenance :

- (5) **Fargeot L.**, Poésy C., Lefort M., Prunier J., Veyssières C., Richard M., Mercier C., Sautreuil M., Huberson N., Langford N., Legrand D., Loot G. & Blanchet S. (2023) Genomic and species diversity patterns across multiple trophic levels in riverscapes. *Oikos*. 9: e10015.
- (4) Blanchet S., **Fargeot L.** and Raffard A. (2023). Phylogenetically-conserved candidate genes unify biodiversity-ecosystem function relationships and eco-evolutionary dynamics across biological scales. *Molecular Ecology*. 32: 4467-4481 (**co-first author**).

Trois articles supplémentaires ont été publiés pendant la thèse, sur différents travaux de master :

- (3) Langford N., **Fargeot L.** and Blanchet S. (2023) Spatial covariation between genetic and epigenetic diversity in wild plant and animal populations: a meta-analysis. *The Journal of Experimental Biology*. In press (**co-first author**).
- (2) Nöbel S., Monier M., **Fargeot L.**, Lespagnol G., Danchin E. & Isabel G. (2022). Female fruit flies copy the acceptance, but not the rejection, of a mate. *Behavioral Ecology*. 33, 1018–1024.
- (1) **Fargeot L.**, Loot G., Prunier J.G., Rey O., Veyssière C. and Blanchet S. (2021). Patterns of epigenetic diversity in two sympatric fish species: Genetic vs. environmental determinants. *Genes*. 12, 107.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	1
RÉSUMÉ	3
ABSTRACT	4
AVANT-PROPOS	5
TRAVAUX COMPLÉMENTAIRES	6
TABLE DES MATIÈRES	7
INTRODUCTION GÉNÉRALE	9
1. Biodiversité spécifique et fonctionnement des écosystèmes	11
2. Biodiversité intraspécifique	15
3. Biodiversité multi-échelles : comparaison inter- et intraspécifique	19
4. Etude multi-espèces in natura	24
5. Les objectifs de la thèse	28
CHAPITRE I – GENOMIC AND SPECIES DIVERSITY PATTERNS ACROSS MULTIPLE TROPHIC LEVELS IN RIVERSCAPES	30
RÉSUMÉ	31
ABSTRACT	32
1. Introduction	33
2. Materials and methods	36
3. Results	44
4. Discussion	48
AUTHOR CONTRIBUTION	53
REFERENCES	53
SUPPLEMENTARY MATERIALS	59
CHAPITRE II – GENETIC DIVERSITY AFFECTS ECOSYSTEM FUNCTIONS ACROSS TROPHIC LEVELS AS MUCH AS SPECIES DIVERSITY, BUT IN AN OPPOSITE DIRECTION	68
RÉSUMÉ	69
ABSTRACT	70
1. Introduction	71
2. Materials and methods	73
3. Results	81
4. Discussion	84
AUTHOR CONTRIBUTION	88
REFERENCES	88
SUPPLEMENTARY MATERIALS	93

CHAPITRE III – PHYLOGENETICALLY-CONSERVED CANDIDATE GENES UNIFY BIODIVERSITY–ECOSYSTEM FUNCTION RELATIONSHIPS AND ECO-EVOLUTIONARY DYNAMICS ACROSS BIOLOGICAL SCALES.....	96
RÉSUMÉ.....	97
ABSTRACT	98
1. Introduction	99
2. Phylogenetically-conserved candidate genes as a common unit of biodiversity ..	101
3. Implications for befs: befs across biodiversity and spatial scales.....	112
4. PCCGs implications for ecoevolutionary dynamics: toward focal-community eco-evolutionary dynamics.....	115
5. Concluding remarks	117
AUTHOR CONTRIBUTION.....	119
REFERENCES.....	119
CHAPITRE IV – PHYLOGENETICALLY-CONSERVED CANDIDATE GENES ALLOW THE DETECTION OF INTRA ET INTERSPECIFIC DIVERSITY: A TEST USING FRESHWATER CRUSTACEANS.....	127
QUELQUES MOTS.....	128
1. Introduction	129
2. Matériels et méthodes.....	131
3. Résultats.....	139
4. Synthèse.....	144
CONTRIBUTION DES AUTEURS.....	145
RÉFÉRENCES.....	146
MATÉRIEL COMPLÉMENTAIRE	149
CHAPITRE V – POLYMORPHISM AT A FEW KEYSTONE GENES EXPLAINS ECOSYSTEM FUNCTIONING AS MUCH AS TRAIT AND GENOMIC DIVERSITY.....	155
RÉSUMÉ.....	156
ABSTRACT	157
1. Introduction	158
2. Materials and methods.....	160
3. Results.....	166
4. Discussion.....	175
AUTHOR CONTRIBUTION.....	178
REFERENCES.....	178
SUPPLEMENTARY MATERIALS.....	183
DISCUSSION GÉNÉRALE	185
1. BEFs en milieux naturels.....	187
2. Biodiversité génétique inclusive	193
3. Relation gènes-écosystèmes	198
4. Conclusion	202
RÉFÉRENCES.....	203

INTRODUCTION GÉNÉRALE

En en-tête des vingt objectifs d'Aichi, adoptés en 2010 par 196 pays membres de la convention sur la diversité biologique (CBD¹), on pouvait lire la « vision » suivante : « D'ici à 2050, la diversité biologique est valorisée, conservée, restaurée et utilisée avec sagesse, en assurant le maintien des services fournis par les écosystèmes, en maintenant la planète en bonne santé et en procurant des avantages essentiels à tous les peuples ».

La *diversité biologique* est définie dans le dictionnaire comme la diversité des espèces vivantes et de leurs caractères génétiques (Larousse en ligne, juillet 2023). De nombreuses définitions ont été formulées par les biologistes dans lesquelles on retrouve les notions de gène, d'espèce, d'assemblage, de processus écologique, d'écosystème et d'interactions (voir DeLong 1996 qui faisait le point sur les 85 définitions existantes à l'époque). La plus importante (en tout cas celle qui se veut avoir des implications pratiques importantes) est probablement celle-ci : la variabilité des organismes vivants de toute origine, y compris, entre autres, les écosystèmes terrestres, marins et autres écosystèmes aquatiques et les complexes écologiques dont ils font partie ; cela comprend la diversité au sein des espèces, entre les espèces et entre les écosystèmes (convention sur la diversité biologique, 1993). Cette définition se veut la plus inclusive possible et met en évidence les multiples facettes de la diversité que les avancées scientifiques ont permis de percevoir au fil des années. La biodiversité englobe donc trois niveaux traditionnellement décrits (Gaston & Spicer 2004) : la diversité des écosystèmes (c'est-à-dire la variété des écosystèmes à l'échelle d'un paysage), la diversité spécifique (la variété des espèces dans un écosystème) et la diversité génétique (la variété des allèles dans une espèce).

Il existe un lien entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes : le déclin de l'un entraîne le déclin de l'autre. Le *fonctionnement écosystémique* désigne les flux de matière et d'énergie dans le temps et dans l'espace, permis par l'activité biologique (Christensen *et al.* 1996; Reiss *et al.* 2009). Cela englobe tous les processus naturels qui soutiennent un écosystème comme par exemple la photosynthèse, la production de biomasse, le recyclage de la matière organique... D'autres définitions du fonctionnement écosystémique placent l'humain au centre et font référence à la notion de service écosystémique (et c'est ce qu'on retrouve dans la « vision » d'Aichi). Une fonction écosystémique désigne dans ce cas la

¹ La convention sur la diversité biologique est un traité international créé en 1993 et qui a pour but de mettre au point un plan d'action stratégique pour la planète afin (a) de préserver la biodiversité, (b) de l'utiliser durablement et (c) de partager justement et équitablement les avantages découlant de l'utilisation des ressources génétiques (voir site web de la CBD).

capacité d'un écosystème à faire quelque chose de potentiellement utile aux humains (Kremen 2005). On parle alors de biens et services écosystémiques (Brown *et al.* 2007). Certains sont indispensables à la survie humaine, comme la régulation du climat, la purification de l'air ou la pollinisation, et d'autres rendent la vie sur Terre plus agréable, comme la beauté de la nature ou la distraction qu'elle peut nous apporter (Kremen 2005; Brown *et al.* 2007). Quoi qu'il en soit, les fonctions écosystémiques sont toutes influencées par des facteurs biotiques et abiotiques, et ont donc besoin d'être soutenues par des êtres vivants (Reiss *et al.* 2009).

A l'heure où les activités humaines entraînent le déclin de la biodiversité et de ses multiples facettes, il est important de quantifier le rôle de la biodiversité sur le fonctionnement des écosystèmes (Naeem *et al.* 1995; Kremen & Ostfeld 2005). Nous vivons actuellement ce qui a été qualifié comme la 6^e extinction de masse (Barnosky *et al.* 2011), avec des centaines d'extinction d'espèces ces derniers siècles et 1 million d'espèces menacées d'extinction (Rockström *et al.* 2009a; IPBES 2019). On sait aujourd'hui sans ambiguïté que cette disparition massive est la conséquence des pressions humaines sur la biosphère (Steffen *et al.* 2007; Rockström *et al.* 2009a, b; Díaz *et al.* 2019; Ellis *et al.* 2021). La disparition des terres naturelles, la surexploitation des ressources, le changement climatique, la pollution, la fragmentation des paysages et le déplacement d'espèces sont autant de stress auxquels les plantes et les animaux doivent s'adapter (Rockström *et al.* 2009a; Díaz *et al.* 2019; Ellis *et al.* 2021). Ainsi, l'activité humaine altère les pressions de sélection naturelle et en crée de nouvelles qui façonnent la diversité biologique. Par exemple, les individus qui évitent la chasse, qui ne migrent pas (et qui évitent donc les collisions avec des constructions humaines) ou qui peuvent s'adapter rapidement (avec des cycles de vie rapides ou de bonnes capacités d'apprentissage par exemple) ont plus de chance de survie que les autres (Brown & Bomberger Brown 2013; Otto 2018). Ces changements de biodiversité ont souvent été quantifiés à l'échelle des espèces (quelles espèces survivent et meurent) alors qu'elles se produisent d'abord au sein des espèces puisque ce sont les individus qui répondent au stress. Ainsi, les taux actuels de disparition de diversité au sein des espèces sont probablement au moins de trois ordres de grandeur plus élevés que les taux d'extinction des espèces (Hughes *et al.* 1997). Ces pertes précèdent généralement la perte d'espèces et l'accélèrent parfois (Spielman *et al.* 2004; Frankham 2005). Ces changements de biodiversité à de multiples échelles menacent le fonctionnement écosystémique et par extension, le bien être humain (Naeem *et al.* 1995; Naeem 2009; Rockström *et al.* 2009a; Cardinale *et al.* 2012; Hooper *et al.* 2012; Kahilainen *et al.* 2014; Stange *et al.* 2021). Afin de mettre en place des actions de gestion et de conservation efficaces, il est donc essentiel de mieux appréhender l'impact relatif de chacune de ces facettes sur le fonctionnement des écosystèmes (Kahilainen *et al.* 2014).

1. Biodiversité spécifique et fonctionnement des écosystèmes

Depuis les années 90, de nombreuses expériences en milieux contrôlés et travaux théoriques ont montré l'existence d'un lien entre la biodiversité, mesurée à partir des espèces présentes dans un écosystème, et le fonctionnement écosystémique (BEF², Hooper *et al.* 2005; Cardinale *et al.* 2011; van der Plas 2019). Par exemple, en milieu terrestre, la diversité spécifique des plantes affecte généralement positivement la biomasse de plantes et l'utilisation des ressources dans le sol (Tilman 2001; Cardinale *et al.* 2006; Reich *et al.* 2012). La biodiversité impacte donc positivement la productivité d'un écosystème et stimule les échanges de nutriments entre niveaux trophiques. En plus d'augmenter la valeur moyenne des fonctions écosystémiques, la biodiversité permet aussi aux écosystèmes et aux communautés³ de rester stables dans le temps malgré les perturbations climatiques, et de résister à l'invasion d'espèces exotiques (Thébault & Loreau 2005; Tilman *et al.* 2006, 2014; Isbell *et al.* 2015). Ainsi, l'hypothèse de l'assurance de la biodiversité prédit que les écosystèmes diversifiés sont plus résilients aux changements car ils offrent la garantie que certaines espèces maintiendront la fonction écosystémique même si d'autres échouent (Yachi & Loreau 1999; Baumgärtner 2008; Hector *et al.* 2010; Loreau *et al.* 2021). Des méta-analyses menées à partir de centaines d'expériences ont révélé que les liens BEFs existent dans de nombreux écosystèmes différents et pour de nombreuses fonctions écosystémiques (Balvanera *et al.* 2006; Cardinale *et al.* 2011; O'Connor *et al.* 2017; van der Plas 2019).

La relation souvent observée entre la biodiversité spécifique et le fonctionnement écosystémique est positive et saturante (**Figure 1**, Hooper *et al.* 2005; Balvanera *et al.* 2006; Cardinale *et al.* 2006; Hector & Bagchi 2007 mais voir Schmid *et al.* 2009; Strong *et al.* 2015; van der Plas 2019 pour d'autres formes de courbes). En effet, à des faibles niveaux de diversité, une augmentation de diversité va de pair avec une hausse du fonctionnement écosystémique (**Figure 1a**) : l'ajout d'une espèce a de grandes chances d'apporter des individus avec des nouvelles capacités (capables par exemple de consommer un type de ressource non consommé jusqu'ici), ce qui entraîne une hausse significative de la fonction considérée (par exemple, la consommation de ressources). Cette relation positive s'explique donc par une complémentarité des niches écologiques⁴ occupées par les différentes espèces

² L'acronyme réfère au terme anglophone « biodiversity-ecosystem functioning » que l'on retrouve dans la littérature scientifique.

³ Ce terme est réservé à l'échelle interspécifique (entre les espèces). Il désigne un ensemble d'individus de différentes espèces qui vivent au même endroit.

⁴ Une niche écologique désigne un ensemble de conditions biotiques et abiotiques dans lesquelles une population peut se développer. La théorie des niches prédit par exemple que deux espèces en compétition pour la

(chacune sa ressource, Cardinale *et al.* 2007; Turnbull *et al.* 2016; Godoy *et al.* 2020). Des effets de facilitation existent aussi, c'est-à-dire que la présence d'une espèce va permettre à ses congénères (et aux autres espèces) de mieux exploiter la ressource (comme des plantes qui échangeraient des nutriments, Cardinale *et al.* 2002; Bruno *et al.* 2003). A des hauts niveaux de diversité en revanche, une augmentation de la diversité aura de moins en moins d'impact sur le fonctionnement de l'écosystème (**Figure 1b**) : plus la diversité présente est grande, moins une nouvelle espèce a de chance d'apporter des individus avec des nouvelles capacités, ce qui entraîne une stagnation de la fonction considérée (on atteint le plateau de la relation saturante). Cette saturation s'explique donc par une redondance fonctionnelle entre les espèces (les espèces exploitent la même ressource/niche et remplissent donc le même rôle dans l'écosystème, Lawton 1994; Petchey *et al.* 2007; Biggs *et al.* 2020). Les interactions entre les espèces modulent donc les effets individuels de chaque espèce sur le fonctionnement des écosystèmes (Kirwan *et al.* 2009). En dehors de cet effet de complémentarité, l'effet de sélection (couplé à un effet d'échantillonnage) peut aussi être le moteur des liens biodiversité-fonctions. Certaines espèces *écologiquement importantes* sont particulièrement efficaces et leur seule présence suffit donc à soutenir une fonction écosystémique toute entière (Tilman *et al.* 1997; Dangles & Malmqvist 2004; Hillebrand *et al.* 2008; Hale & Koprowski 2018) : c'est l'effet de sélection (ou d'identité de l'espèce). Le fait que la biodiversité soit forte dans un écosystème augmente la probabilité qu'une de ces espèces soit présente dans le pool d'espèces (Loreau *et al.* 2001). Ainsi, dans des écosystèmes forestiers, la perte de quelques espèces d'arbres entraîne des changements environnementaux délétères qui impactent de nombreuses fonctions écosystémiques (terrestres et aquatiques puisque les rivières et les forêts sont impactées) comme les taux de décomposition ou de capture du carbone (Ellison *et al.* 2005). Les effets de complémentarité et d'échantillonnage sont donc le moteur du lien entre la diversité mesurée à l'échelle des espèces et le fonctionnement des écosystèmes (Loreau *et al.* 2001; Cardinale *et al.* 2007).

même ressource vont diverger pour réduire le chevauchement de leurs niches et pouvoir ainsi coexister (Polechova et Storch, 2008).

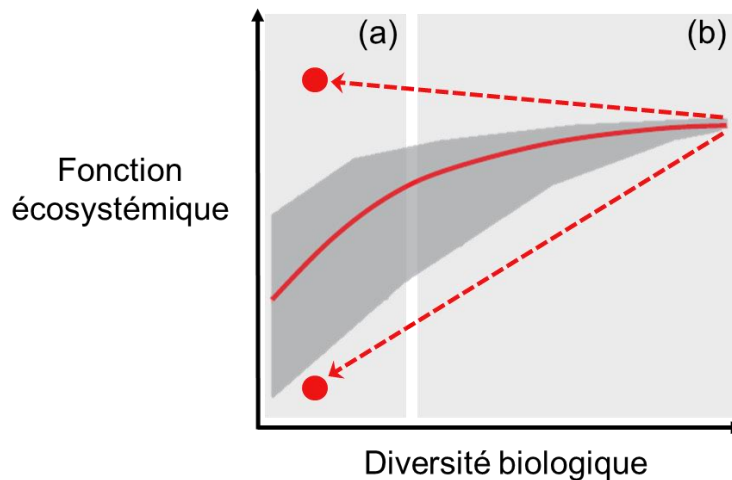


Figure 1. La forme typique d'une relation biodiversité-fonction. La ligne rouge montre la valeur moyenne du fonctionnement écosystémique pour un niveau de diversité donné. (a) A des faibles niveaux de diversité, une augmentation de diversité va de pair avec une hausse du fonctionnement écosystémique, c'est un effet de complémentarité (b) A des hauts niveaux de diversité, une augmentation de la diversité aura de moins en moins d'impact sur le fonctionnement de l'écosystème, c'est un effet de redondance. La diversité biologique a été traditionnellement quantifiée à l'échelle des espèces, mais on pourrait aussi s'intéresser à la diversité des traits ou des gènes. La zone grisée montre les intervalles de confiance à 95%. Les points rouges donnent les valeurs maximales et minimales de fonctionnement écosystémique d'un seul variant (une seule espèce / gène / trait...) et illustre l'effet d'identité (certains variants sont plus efficaces que d'autres pour assurer une fonction écosystémique). Ce schéma est inspiré de la figure proposée par Cardinale *et al.* 2012.

Dans la majorité des exemples que j'ai donnés jusqu'à présent, la diversité spécifique a été quantifiée comme la richesse spécifique (soit le nombre d'espèces présentes dans l'écosystème) mais il existe de nombreuses autres façons de la quantifier. La diversité taxonomique (le nombre d'espèces présentes pondérées par leur abondance) et la diversité phylogénétique (le nombre de lignées évolutives, Peet 1974; Webb *et al.* 2002; Maurer & McGill 2011) sont, elles aussi, bien corrélées au fonctionnement des écosystèmes. Les auteurs qui utilisent ces mesures font l'hypothèse qu'un grand nombre d'espèces (ou de lignées évolutives) dans un écosystème témoignent d'une grande diversité des traits portés par les individus, la diversité des traits étant la cause directe du lien observé entre la biodiversité spécifique et le fonctionnement des écosystèmes (Díaz & Cabido 2001; Naeem & Wright 2003; Srivastava *et al.* 2012; Tilman *et al.* 2014). La diversité phylogénétique est donc censée mieux prédire le fonctionnement de l'écosystème que la richesse spécifique ou la diversité taxonomique puisque les lignées évolutives ont en général des traits communs, et donc devraient avoir des impacts écologiques proches (Webb *et al.* 2002; Flynn *et al.* 2011; Srivastava *et al.* 2012; Thompson *et al.* 2015). Pourtant, il a été montré que des communautés de plantes composées de nombreuses lignées présentaient une diversité de traits plus faibles

que des communautés assemblées à partir de quelques lignées (Prinzing *et al.* 2008). Puisque la diversité des traits semble le moteur majeur des liens biodiversité-fonctions, il apparaît pertinent d'étudier directement les traits dans les communautés pour prédire le fonctionnement des écosystèmes (Díaz & Cabido 2001; Hooper *et al.* 2005; Sobral 2021).

Dans les communautés, certains traits phénotypiques⁵ ont un fort impact sur le fonctionnement écosystémique (ils ont souvent été appelés « traits fonctionnels » ou « traits d'effets » dans la littérature mais je ne les appellerai pas ainsi puisque ces termes font débat, voir Naeem & Wright 2003; Violle *et al.* 2007; Volaire *et al.* 2020; Sobral 2021) et sont de meilleurs prédicteurs du fonctionnement écosystémique que les autres mesures de diversité spécifique (comme la richesse, l'abondance ou la phylogénie, voir Tilman *et al.* 1997; Hooper *et al.* 2005; Gagic *et al.* 2015). Premièrement, il peut s'agir de traits morphologiques tels que la taille de certains organes ou la masse des individus. Chez de nombreuses espèces de plantes, la taille des feuilles influence par exemple positivement la productivité primaire⁶ (puisqu'elle augmente la capacité à capter la lumière, Garnier *et al.* 2004; Li *et al.* 2020). Deuxièmement, il peut s'agir de traits comportementaux tels que l'activité ou la mobilité. Des vers de terres et termites plus actifs auront ainsi tendance à stimuler le fonctionnement des sols (Lavelle & Spain 2001; Jouquet *et al.* 2014) et les espèces qui se déplacent activement dans le paysage participent à la résilience de nombreux écosystèmes terrestres et aquatiques (Lundberg & Moberg 2003; Bauer & Hoyer 2014). Toute la littérature sur des espèces *écologiquement importantes* (dites « ingénieurs », « clefs de voute », « centrales », « structurelles », « dominantes » et « fondatrices »⁷) regorge d'autres exemples (Badano & Marquet 2008; Rilov *et al.* 2012; Byers 2022). Enfin, il peut s'agir de traits physiologiques tels que les contenus en nutriments ou les taux métaboliques. En effet, la composition en carbone, azote et phosphate chez les plantes est bien corrélée à la productivité primaire (Fernández-Martínez 2022) et les taux d'excrétion et de respiration chez les communautés zooplanctoniques permettent de prédire des fonctions écosystémiques comme le recyclage des nutriments ou la productivité primaire (Hébert *et al.* 2016, 2017). La diversité sur des traits

⁵ L'ensemble des traits « observables » portés par un organisme constitue son phénotype.

⁶ La productivité primaire d'un écosystème est le taux auquel l'énergie est convertie en matière organique par les organismes photosynthétiques (aussi appelés producteurs primaires ou organismes autotrophes). Plus simplement, la production primaire désigne le taux auquel de la nouvelle biomasse végétale est créée grâce à la photosynthèse.

⁷ Toutes les définitions sont dans Ellison *et al.* 2005. Pour citer un exemple : les organismes ingénieurs sont appelés ainsi parce qu'ils modifient significativement leur environnement par leur activité. Le castor est l'exemple classique, ses barrages modifient la dynamique de l'eau (et la filtre !) et inondent des régions, créant ainsi de nouveaux habitats pour de nombreux invertébrés, grenouilles et poissons. Les pics, les algues envahissantes et les vers de terre sont d'autres exemples d'organismes ingénieurs.

écologiquement importants permet donc, comme la diversité spécifique, une meilleure productivité et stabilité de nombreux écosystèmes, et ce, par les mêmes effets de sélection et de complémentarité (Cardinale *et al.* 2011; Li *et al.* 2016; Craven *et al.* 2018). Les traits ont donc été historiquement associés aux espèces plutôt qu'aux individus dans le cadre de l'étude des liens biodiversité-fonctions, alors que la diversité à l'intérieur des espèces peut aussi avoir un rôle considérable sur les écosystèmes.

2. Biodiversité intraspécifique

2.1. Définition et importance évolutive

La biodiversité dans un écosystème peut être quantifiée à partir des espèces présentes (la richesse spécifique, la diversité taxonomique, phylogénétique ou phénotypique) mais peut aussi être quantifiée à l'intérieur des espèces, à partir de la diversité observée dans une population⁸. La *diversité intraspécifique* -définie comme la diversité entre individus d'une même espèce- est souvent considérée comme la facette la plus fondamentale de la biodiversité puisqu'elle joue un rôle central dans l'évolution des espèces. Elle englobe la diversité génétique (c'est-à-dire la variété des allèles portés) et la diversité phénotypique (c'est-à-dire la variété des traits morphologiques, comportementaux et physiologiques) parmi des individus d'une espèce au sein et entre les populations chez des organismes sauvages et domestiques (Bolnick *et al.* 2011). Les deux peuvent être liés puisque le phénotype dépend de l'interaction entre le génotype⁹ d'un individu et l'environnement dans lequel il vit. La part de la variation intraspécifique dans la variation phénotypique totale n'est pas négligeable : elle peut atteindre jusqu'à 25% dans de nombreuses communautés de plantes (Siefert *et al.* 2015). Il est donc pertinent de considérer la diversité à l'intérieur des espèces et de comprendre le rôle qu'elle peut jouer dans le fonctionnement des écosystèmes.

La diversité intraspécifique est le substrat sur lequel agit la sélection naturelle et joue donc un rôle clef dans les sciences de l'évolution (Bolnick *et al.* 2003; Markovic *et al.* 2014). En effet, c'est parce qu'il existe de la variation entre les individus que certains survivent et d'autres non : c'est le principe de variation, l'un des trois piliers fondamentaux¹⁰ sur lequel

⁸ Ce terme est vraiment réservé à l'échelle intraspécifique (à l'intérieur des espèces). Il désigne un groupe d'individus d'une même espèce qui vivent au même endroit.

⁹ Le génotype désigne l'ensemble ou une partie de l'information génétique d'un individu. Cette information est encodée dans chaque cellule sous la forme d'ADN (acide désoxyribonucléique, une grosse molécule).

¹⁰ Les deux autres étant (i) l'avantage sélectif, certaines variations permettent une meilleure reproduction que celle des congénères ; et (ii) l'hérédité, les variations avantageuses sont héréditaires et peuvent donc être transmises à la descendance.

repose la théorie de la sélection naturelle (Darwin 1859). La diversité intraspécifique permet ainsi aux espèces de faire face aux changements environnementaux (biotiques ou abiotiques, (Tagg *et al.* 2005; Jump *et al.* 2009) et de diminuer le risque d'extinction (en évitant la consanguinité, Frankel & Soulé 1981; Spielman *et al.* 2004; Frankham 2005; Kyriazis *et al.* 2021). Au fil du temps, la sélection peut aboutir à des populations d'une seule espèce mais génétiquement distinctes qui sont adaptées à des conditions environnementales spécifiques (Barrett & Schluter 2008; Godbout *et al.* 2020). Une grande variation intraspécifique entre deux populations peut indiquer que deux espèces sont en train de se former à partir d'une seule (Martin & MCKay 2004; Marchiori *et al.* 2014) : la diversité intraspécifique soutient donc l'apparition de nouvelles espèces et peut refléter l'adaptation à l'environnement. Bien que la biodiversité à l'échelle intraspécifique ait beaucoup été étudiée d'un point de vue évolutif, elle a aussi un intérêt écologique (Bolnick *et al.* 2003), puisqu'elle impacte les écosystèmes comme en témoignent, au début des années 2000, les travaux en génétique des écosystèmes (ou des communautés) ou les travaux portant sur la diversité génotypique ; ainsi que plus récemment, les études récentes sur l'impact clef de certains gènes¹¹ ou loci¹² (Whitham *et al.* 2006; Hughes *et al.* 2008; Skovmand *et al.* 2018).

2.2. Biodiversité intraspécifique et fonctionnement des écosystèmes

La génétique des écosystèmes (ou la génétique des communautés) propose au début des années 2000 que le phénotype, n'est pas seulement visible chez l'individu lui-même mais aussi au niveau de la population, de la communauté et de l'écosystème (Whitham *et al.* 2006). Beaucoup d'études en génétique des populations et génétique fonctionnelle ont cherché à comprendre les interactions génotype-environnement qui conduisent à l'expression d'un certain phénotype (Via & Lande 1985; Howe *et al.* 2003; Meaney 2010). Cependant, les génotypes individuels peuvent avoir des impacts au-delà de l'individu lui-même : c'est le concept du phénotype étendu (Mitton 2003; Whitham *et al.* 2003). Le génotype s'exprime donc en un phénotype individuel mais aussi populationnel, communautaires et écosystémique. En effet, certains génotypes individuels impactent la structure des communautés et le fonctionnement des écosystèmes ; ces impacts sont leur phénotype communautaire et écosystémique et sont souvent le résultat des interactions entre espèces (Moore *et al.* 1997; Fridley 2001; Neuhauser *et al.* 2003; Wade 2003; Whitham *et al.* 2003; Des Roches *et al.*

¹¹ Un gène est une portion de l'information génétique qui code pour une protéine (une molécule qui aura une activité dans la cellule).

¹² Pluriel de locus. Un locus désigne une position précise sur un chromosome.

2018). Chez des arbustes (*Baccharis pilularis*) par exemple, les morphotypes architecturaux prostrés¹³ (et donc les génotypes correspondant) supportent plus d'individus et d'espèces d'arthropodes du feuillage, de microarthropodes de la litière et de bactéries du sol que les morphotypes dressés (Crutsinger *et al.* 2014). Par son feuillage dense et près du sol, ce génotype (et le morphotype qui lui est associé) soutient la présence d'autres espèces : il est donc *écologiquement important* puisqu'il a un impact significatif sur les écosystèmes. Par conséquent, les génotypes (et les phénotypes) de toutes les espèces *écologiquement importantes* (les espèces ingénieurs, entre autres¹⁴, Ellison *et al.* 2005) sont pertinents à étudier pour comprendre les liens entre la diversité intraspécifique et le fonctionnement des écosystèmes (Barbour *et al.* 2009; Des Roches *et al.* 2018; Hale & Koprowski 2018; Brun *et al.* 2022). Les traits phénotypiques communautaires et écosystémiques sont codés par des gènes, qui seront transmis d'une génération à l'autre, et sont donc héréditaires (Hochwender & Fritz 2004; Whitham *et al.* 2006; Bailey 2011). En effet, une part héréditaire du génotype des arbres hôtes (*Populus* sp.) influence la composition des communautés d'arthropodes qui vivent sur eux (Bailey *et al.* 2005). La génétique des écosystèmes a donc permis de mettre en évidence que, chez des espèces *écologiquement importantes*, certains génotypes sont *écologiquement importants* (et héréditaires) et sont donc moteurs des liens biodiversité-fonctions ; cet effet rappelant d'ailleurs l'effet d'identité décrit à l'échelle interspécifique.

En parallèle, certains auteurs ont testé l'impact de la diversité génotypique ou phénotypique sur le fonctionnement des écosystèmes, c'est-à-dire un « vrai effet » du nombre de génotypes (ou de phénotypes) et pas seulement un effet des différences entre deux génotypes particuliers (Hughes *et al.* 2008). De la même façon que de nombreuses espèces dans un écosystème stabilisent et assurent des fonctions écosystémiques, de nombreux génotypes et phénotypes peuvent impacter la structure des communautés et les fonctions de l'écosystème (Booth & Grime 2003; Kotowska *et al.* 2010; Raffard *et al.* 2019). Chez une plante marine (*Zostera marina*), l'assemblage de multiples génotypes présentait une productivité à court terme supérieure à celle des assemblages composés d'un génotype unique (Hughes & Stachowicz 2004; Reusch *et al.* 2005). De même, un plus grand nombre de génotypes chez une plante terrestre (*Solidago altissima*) entraîne une meilleure productivité primaire et des richesses en invertébrés plus élevées à deux niveaux trophiques (herbivores et prédateurs,

¹³ Un végétal prostré est une plante plaquée au sol et qui épouse la forme du substrat.

¹⁴ De nombreux termes ont été utilisés pour désigner des espèces écologiquement importantes : espèces « clefs de voute », « centrales », « structurelles », « dominantes », « fondatrices » etc. Pour voir toutes les définitions et les auteurs qui les ont proposées, voir Ellison *et al.* 2005.

Crutsinger 2006). Cependant, les effets de la diversité génotypique sur l'écosystème dépendent du fait qu'elle soit liée à la diversité phénotypique (qu'elle soit individuelle, populationnelle, communautaire ou écosystémique, Hughes *et al.* 2008). Pour cette raison, il n'est pas évident de considérer la diversité génétique globale (sur tout le génome) à l'échelle des populations pour prédire le fonctionnement des écosystèmes. En effet, puisqu'une grande part de la diversité génétique est neutre (Kimura 1979; Graur & Li 1991), la diversité génétique globale n'a pas toujours un bon pouvoir de prédiction de la variabilité génétique qui codent pour des traits *écologiquement importants* (Reed & Frankham 2001; Booth & Grime 2003). Pour mieux comprendre les forts effets de quelques génotypes et le lien entre la diversité génotypique (et/ou phénotypique) et le fonctionnement des écosystèmes, il apparaît judicieux d'étudier de plus près les gènes qui codent pour des traits *écologiquement importants*.

Peu d'études autour de la diversité génétique et du fonctionnement des écosystèmes ont vu le jour pendant les 10 années suivantes, jusqu'à ce que, très récemment, le concept d'espèce *écologiquement importante* soit élargi aux gènes. A la fin des années 2000, les apports de la génétique des écosystèmes ont été synthétisés (deux papiers récapitulatifs des concepts sont d'ailleurs sortis la même année : Hersch-Green *et al.* 2011; Wymore *et al.* 2011). Pour établir un lien entre les gènes et l'écosystème, il faut (i) qu'une espèce ait un fort impact sur l'écosystème par le biais d'un de ses traits, (ii) que le trait en question soit codé génétiquement et héritable, (iii) que différents génotypes aient des impacts différents et quantifiables sur l'écosystème et (iv) que la manipulation du gène d'intérêt ait un effet prévisible sur l'écosystème (Hersch-Green *et al.* 2011; Wymore *et al.* 2011). Ce n'est qu'en 2018 que le concept de gène *écologiquement important* a été formulé, en adaptant toutes les définitions existantes à l'échelle spécifique (on retrouve donc des gènes dits « ingénieurs », « clefs de voute », « centraux », « structurels », « dominants » et « fondateurs », Skovmand *et al.* 2018). Quelques (rares) études sur des populations expérimentales ou naturelles ont depuis validé le fait que les effets de ces seuls gènes suffisent pour expliquer les effets d'identité et les effets de diversité, précédemment décrits à l'échelle intraspécifique (Wuest & Niklaus 2018; Barker *et al.* 2019; Barbour *et al.* 2022). Ainsi, un seul allèle sur un seul gène augmente le taux de croissance des plantes (*Arabidopsis thaliana*), favorisant ainsi la coexistence des espèces d'insectes associées (Barbour *et al.* 2022). De même, l'effet positif de la diversité intraspécifique (toujours chez *Arabidopsis thaliana*) sur la productivité des communautés ne tient qu'à l'effet d'un seul locus (Wuest & Niklaus 2018). Les exemples de gènes pourraient être nombreux dans le futur puisque les études de génétique fonctionnelle

(dont les études sur les gènes pléiotropes¹⁵) ont identifié de nombreux gènes qui codent pour des traits *écologiquement importants*. Par exemple, chez les mouches de fruits (*Drosophila melanogaster*), le « foraging gene¹⁶ » est responsable de deux comportements très différents dans l'écosystème (type « rover » et « sitter » qui correspondent à des stratégies de recherche de nourriture respectivement exploratoires et locales). Un seul gène (ou un seul locus) pourrait donc être à l'origine des liens biodiversité-fonctions à l'échelle intraspécifique. Il existe donc des gènes et des espèces *écologiquement important(e)s*, c'est-à-dire qui ont un fort impact sur la structure des communautés et le fonctionnement des écosystèmes ; et il serait intéressant de connaître leurs rôles relatifs dans la nature et de tester si les mêmes processus sous-jacents sont à l'œuvre aux deux échelles. Évaluer comment la biodiversité aux échelles intra- et interspécifique influencent simultanément le fonctionnement écosystémique est crucial non seulement pour élargir les connaissances fondamentales des relations BEF, mais aussi pour hiérarchiser les facettes de biodiversité pertinentes dans les programmes de conservation et ainsi améliorer les actions de gestions qui préservent et restaurent les écosystèmes.

3. **Biodiversité multi-échelles : comparaison inter- et intraspécifique**

Les écologues des communautés et les généticiens des populations s'intéressent à décrire et comprendre la distribution des variants biologiques dans la nature à deux échelles différentes : les espèces et les gènes. L'étude des liens entre la distribution de la diversité spécifique et génétique dans la nature a permis de réunir les concepts nécessaires pour envisager et comprendre simultanément la biodiversité à plusieurs échelles (Vellend & Geber 2005). Historiquement, l'impact sur l'écosystème de la biodiversité aux échelles inter- et intraspécifique a été étudié séparément mais la génétique des écosystèmes a ouvert la voie pour comprendre ces liens aux deux échelles simultanément (Fridley & Grime 2010; Crawford & Rudgers 2013). Plus récemment, quelques études ont essayé, à partir des données expérimentales déjà disponibles, de comprendre les impacts relatifs de la diversité spécifique et génétique sur le fonctionnement des écosystèmes (**Figure 2**, Des Roches *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2019). Finalement, la distinction entre sciences de l'écologie (centrée sur les communautés, donc à l'échelle interspécifique) et de l'évolution (centrée sur la variation entre les individus, donc à l'échelle intraspécifique) est questionnée récemment (Nosil *et al.* 2021; Loreau *et al.* 2023). Il semble que certains concepts et processus (adaptation, stabilité,

¹⁵ Un gène pléiotrope est un gène responsable de plusieurs traits phénotypiques apparemment éloignés.

¹⁶ Gène qui code pour des comportements de fourragement (recherche de nourriture).

résilience) soient valables aux échelles inter- et intraspécifique (Nosil *et al.* 2021; Loreau *et al.* 2023). Ces études encouragent une vision holistique de la biodiversité, qui doit donc être appréhendée dans sa globalité plutôt que d'être considérée (et étudiée) de manière morcelée.

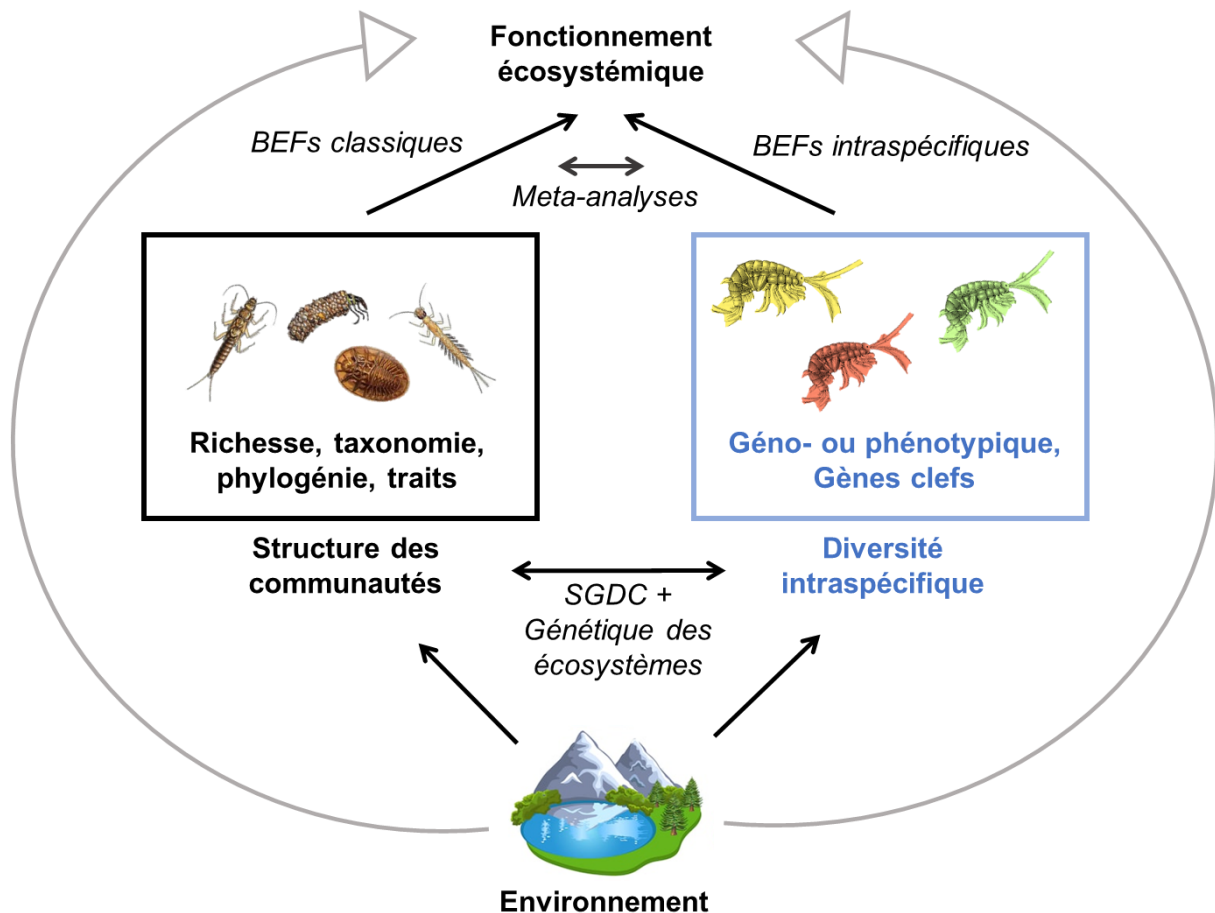


Figure 2. Les liens biodiversité-fonctions dans la littérature. L'étude de l'impact écosystémique de la diversité sur le fonctionnement écosystémique a été historiquement menée à l'échelle des espèces. Plus récemment, les liens entre la biodiversité à l'échelle intraspécifique et le fonctionnement des écosystèmes ont été étudiés. Les SGDC désignent les études qui s'intéressent à la corrélation entre la diversité spécifique et génétique. L'environnement module la biodiversité à toutes ses échelles et le fonctionnement de l'écosystème.

Les liens entre la diversité spécifique et génétique ont été établis par les études sur les « SGDC¹⁷ » (**Figure 2**, corrélations entre la diversité spécifique et génétique) dont le cadre conceptuel a été proposé par Mark Vellend (Vellend 2005; Vellend & Geber 2005). Des processus parallèles ont été reconnus depuis longtemps comme façonnant les deux facettes de la diversité. Respectivement aux échelles spécifique et génétique, on peut citer : (i) la

¹⁷ L'acronyme réfère au terme anglophone « species-genetic diversity correlations » que l'on retrouve dans la littérature scientifique.

spéciation / mutation pour l'apparition de nouveaux variants ; (ii) la dérive écologique / génétique pour leur divergence par le hasard ; (iii) la dispersion / le flux de gènes pour les migrations qui exportent ou importent des nouveaux variants ; et enfin (iv) le filtrage environnemental / la sélection naturelle pour la meilleure survie et reproduction d'un variant selon le contexte (Antonovics 1976; Vellend & Orrock 2009). De plus, la diversité génétique peut directement influencer positivement la diversité spécifique, puisque la variation génétique améliore le potentiel d'adaptation (fitness¹⁸) d'une population et donc diminue le risque d'extinction de l'espèce (Spielman *et al.* 2004). Les SGDC ont donc de solides fondements théoriques et ont été prouvées chez de nombreuses espèces végétales et animales (Vellend & Geber 2005; Papadopoulou *et al.* 2011; Fourtune *et al.* 2016; Xie *et al.* 2021). Par exemple, dans les rivières du sud de la France, il a été prouvé que les sites hébergeant des communautés de poissons riches en espèces sont aussi ceux où les populations de loches, de goujons, de vairons et de chevesnes sont riches en allèles (Fourtune *et al.* 2016). Plus récemment, la force de cette corrélation a été démontrée dépendante de l'identité de l'espèce (et de son règne : végétal ou animal), mais aussi du type d'écosystème ou de l'échelle spatiale considérée (Lamy *et al.* 2017; Xie *et al.* 2021). Ainsi, chez une fleur de haute montagne (*Dryas octopetala*), une corrélation négative (et significative) a été montrée dans les Alpes, tandis qu'une corrélation positive (et significative) a été montrée dans les Carpathes (Taberlet *et al.* 2012). Il a ainsi été montré que la corrélation positive théoriquement attendue n'est pas systématiquement observée empiriquement et les SGDC ont globalement été remis en question (Robinson *et al.* 2010; Kahilainen *et al.* 2014; Whitlock 2014; Lamy *et al.* 2017; Schmidt *et al.* 2022). Le cadre des SGDC, qui a donc largement été testé empiriquement depuis qu'il a été proposé, est aujourd'hui à nuancer mais a permis de poser quelques briques conceptuelles essentielles pour comprendre conjointement les processus qui façonnent la diversité biologique à différentes échelles.

Puisque les patrons de biodiversité aux échelles intra- et interspécifique ne corrèlent pas nécessairement mais qu'ils ont tous les deux la capacité d'influencer le fonctionnement de l'écosystème, il est important de comprendre leurs impacts relatifs sur les écosystèmes et les mécanismes sous-jacents à ces liens. La génétique des écosystèmes a montré que la diversité génotypique peut impacter le fonctionnement des écosystèmes mais aussi la structure des communautés (**Figure 2**) : une plante prostrée plutôt que dressée (*Baccharis*

¹⁸ Terme anglophone pour désigner la valeur sélective, ou valeur adaptative qui décrit la capacité d'un variant (historiquement un individu, on pourrait aussi s'intéresser à un génotype particulier ou à une espèce entière) à survivre et se reproduire par rapport aux autres, dans un contexte donné.

pilularis, exemple déjà développé dans la **section 2**) crée des conditions abiotiques favorables à l'établissement d'autres espèces (plus d'ombre et d'humidité qui profitent aux microarthropodes de la litière et aux bactéries du sol, Whitham *et al.* 2006; Crutsinger *et al.* 2014). Quelques études ont comparé la force des liens biodiversité-fonctions aux échelles intra- et interspécifique dans le cadre de la génétique des écosystèmes. Par exemple, la diversité génotypique dans une espèce de plante dominante (*Ammophila breviligulata*) influence les communautés d'arthropodes plus fortement que la richesse spécifique ou la diversité taxonomique (qui prend donc en compte les abondances) des communautés de plantes (Crawford & Rudgers 2013). Finalement, certains processus sous-jacents ont pu être comparés. Ainsi, la diversité génotypique chez l'orge (*Hordeum vulgare*) impacte la biomasse de plantes par des effets de complémentarité, tandis que la diversité spécifique des communautés l'impacte par des effets de sélection Schöb *et al.* 2015, pour un autre exemple dans lequel des mécanismes identiques ont été démontrés, voir Cook-Patton *et al.* 2011). Cette même étude montre que la diversité phénotypique module la direction et la force des effets de la diversité spécifique, renforçant l'importance de la diversité intraspécifique pour comprendre les liens biodiversité-fonctions. Ce type d'étude a systématiquement été mené sur des plantes, et en milieu contrôlé, confinant les connaissances sur les liens biodiversité-fonctions aux échelles inter- et intraspécifique à des études expérimentales, déconnectées les unes des autres.

Plus récemment, des méta-analyses ont fait le point sur les études existantes pour comparer les impacts de la biodiversité inter- et intraspécifique sur le fonctionnement écosystémique, et suggèrent que les deux facettes de diversité pourraient impacter la structure des communautés et le fonctionnement des écosystèmes avec la même force (**Figure 2**, Des Roches *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2019). Ces études explorent à la fois l'importance de la variation intraspécifique (à quel point deux génotypes et phénotypes différents impactent les écosystèmes) et de la diversité intraspécifique (le nombre de génotypes ou phénotypes) pour la structure des communautés et le fonctionnement des écosystèmes. Ces travaux mettent en évidence des tailles d'effets similaires pour les deux facettes de la biodiversité, et montrent que les liens biodiversité-fonction intraspécifique ont la même forme que celle précédemment décrite pour la diversité spécifique (relation positive et saturante, **section 1, Figure 1**, Des Roches *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2019). Cette dernière observation suggère que les mêmes processus pourraient être à l'œuvre aux deux échelles de biodiversité (complémentarité et sélection). La génétique des écosystèmes et les méta-analyses existantes ont donc permis de percevoir les similitudes entre les effets de la biodiversité spécifique et intraspécifique sur le fonctionnement des écosystèmes, mais il n'existe à ce jour aucune étude empirique (en milieu

naturel) qui compare simultanément la force des deux types de liens au sein d'un même écosystème. Pourtant, identifier les processus communs et/ou différents qui façonnent la diversité biologique à toutes les échelles (et éventuellement à plus d'un niveau trophique) pourrait nous permettre d'améliorer notre compréhension de la biodiversité (Raffard *et al.* 2019).

Finalement, la frontière entre les processus écologiques (quantifiés à l'échelle des communautés) et les processus évolutifs (quantifiés à l'échelle de l'individu) apparaît poreuse (Schoener 2011; Loreau *et al.* 2023) et tend à nous faire envisager la biodiversité comme un tout, éloigné de cette dichotomie gène/espèce. En effet l'étude des communautés microbiennes¹⁹ met en évidence l'existence de mécanismes qui s'appliquent à la fois aux populations et aux communautés. Les microbes n'ont pas que la reproduction sexuée pour recombinaison²⁰ leurs ADN mais peuvent acquérir et incorporer l'ADN d'autres individus grâce, respectivement, aux transferts horizontaux de gènes²¹ et aux recombinaisons homologues²². Le transfert de gènes peut avoir lieu entre lignées évolutives éloignées et donc autant entre individus de la même espèce qu'entre individus d'espèces différentes. Une fois l'ADN transféré, les recombinaisons homologues peuvent se produire : plus les séquences divergent, plus la probabilité est réduite. Ainsi, bien que ces recombinaisons soient moins probables entre lignées distantes, elles peuvent se produire à l'échelle intra- et interspécifique. La conséquence à l'échelle des communautés est que chaque individu contient du matériel génétique caractéristique d'une « espèce » proche, ce qui participe à une définition floue du niveau « espèce » chez les communautés microbiennes (Fraser *et al.* 2009; Loreau *et al.* 2023): les dynamiques évolutives sont perceptibles au niveau des génotypes et des phénotypes plus qu'au niveau des espèces.

De plus, il a été montré que certains concepts venus de l'écologie des communautés et de la biologie évolutive peuvent en fait s'appliquer à la fois aux populations et aux communautés. Les notions de stabilité et de résilience, venus de l'écologie des communautés peuvent ainsi être exportés à l'échelle des individus (Nosil *et al.* 2021). L'idée est que des

¹⁹ Les microbes sont les organismes invisibles à l'œil nu. Cela englobe les bactéries, les virus, les protozoaires (cellules animales mobiles microscopiques), ainsi que les champignons et les algues microscopiques.

²⁰ La recombinaison génétique désigne les processus qui permettent de ré-associer (mélanger) les gènes entre une cellule / un individu mère et une cellule / un individu fille.

²¹ Le transfert horizontal de gène est un processus de transmission de matériel génétique entre deux organismes qui ne sont pas forcément descendants l'un de l'autre (par opposition au transfert vertical, entre un ancêtre et son descendant).

²² Une recombinaison homologue implique le remplacement d'une petite portion d'ADN avec le segment homologue d'un autre brin d'ADN identique ou similaire (souvent, le chromosome de la même paire).

processus aux effets opposés (et éventuellement des boucles de régulation entre eux) génèrent une stabilité à l'échelle de la communauté ou de la population. Cela a classiquement été observé à l'échelle interspécifique : il existe un équilibre entre l'immigration et les taux d'extinction sur les îles qui maintiennent la diversité spécifique à un niveau stable (Walker & Valentine 1984). Ces équilibres existent de la même manière à l'échelle intraspécifique (Nosil *et al.* 2021) : il a été montré que le polymorphisme de couleurs chez les phasmes de Californie (*Timema cristinae*) est maintenu par un équilibre entre des pressions de sélection divergentes et des recombinaisons génétiques contraignantes (homogénéisantes, Comeault *et al.* 2015). De la même façon, le concept d'adaptation, venu de la biologie évolutive peut être exporté à l'échelle des communautés (Loreau *et al.* 2023). Les réponses adaptatives face à une pression environnementale se retrouvent en effet à tous les niveaux hiérarchiques, des molécules aux écosystèmes : l'expression préférentielle de certains gènes au niveau moléculaire, la plasticité phénotypique²³ au niveau individuel, la reproduction préférentielle de certains génotypes au niveau populationnel, et l'augmentation de l'abondance de certaines espèces dans l'écosystème (Lekevičius & Loreau 2013; Loreau *et al.* 2023). De nombreux processus façonnent donc la diversité biologique à toutes les échelles simultanément : ces réflexions tendent à faire évoluer notre conception de la biodiversité vers une vision *inclusive* qui embrasse toutes ses échelles.

4. *Etude multi-espèces in natura*

La grande majorité des études qui ont visé à comprendre les liens entre la diversité intra- et interspécifique et le fonctionnement des écosystèmes ont été conduites expérimentalement, dans des écosystèmes simplifiés, laissant beaucoup d'aspects de la complexité des écosystèmes naturels de côté (Hillebrand & Matthiessen 2009). Dans les expériences BEF classiques, la biodiversité d'une seule espèce est manipulée (souvent, des plantes), et celle des autres niveaux trophiques reste constante (Balvanera *et al.* 2006). Paradoxalement, ce sont les espèces de niveaux trophiques supérieurs qui présentent les plus forts taux de perte de biodiversité intraspécifique et qui ont donc les risques d'extinction les plus élevés (Cardillo 2003; Brose & Hillebrand 2016). Ainsi, bien que les effets de la biodiversité sur le fonctionnement des écosystèmes aient été montrés indépendamment à tous les niveaux trophiques (Quijas *et al.* 2010; Woods *et al.* 2020), la structure complexe des réseaux trophiques dans les milieux naturels pourrait brouiller ces signaux (Brose & Hillebrand

²³ La plasticité phénotypique définit la capacité d'un génotype donné à produire des phénotypes différents en réponse à des conditions environnementales distinctes.

2016). Il est donc pertinent d'étudier conjointement plusieurs niveaux trophiques pour comprendre comment la biodiversité multi-espèce façonne le fonctionnement écosystémique.

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés aux liens biodiversité-fonctions dans des écosystèmes fluviaux, que nous avons quantifiés à travers deux facettes de la biodiversité (spécifique et génétique) et trois niveaux trophiques (**Figure 3**). Nous avons étudié un réseau trophique relativement commun que l'on peut qualifier de « réseau trophique brun », puisqu'il repose sur la décomposition de la matière organique comme source d'énergie (Doretto *et al.* 2020). Ce réseau implique les arbres de la ripisylve dont les feuilles tombent dans la rivière, les macro-invertébrés benthiques qui décomposent la matière organique issue de ces feuilles et les poissons qui consomment les macro-invertébrés. Pour chaque niveau trophique, nous avons choisi l'espèce la plus abondante pour quantifier la diversité génétique : l'aulne glutineux (*Alnus glutinosa*), le gammare ariégeois (*Gammarus* sp.) et le vairon commun (*Phoxinus phoxinus*). Ces espèces sont particulièrement importantes pour le fonctionnement de l'écosystème et interagissent intimement entre elles. Les feuilles d'aulnes, qui se décomposent rapidement, représentent un apport important de nutriments pour tout l'écosystème (Pérez *et al.* 2021) et ses racines, particulièrement imposantes, stabilisent les rives et offrent un habitat pour de nombreuses espèces aquatiques, dont le gammare (Milner & Gloyne-Phillips 2005; Andreoli *et al.* 2020; Khan *et al.* 2022) ; les gammares sont responsables d'une grande part de la décomposition de la matière organique dans les rivières (dont les feuilles d'aulnes), un processus fondamental pour le recyclage de la matière organique dans les rivières (Maltby *et al.* 2002; Dangles & Malmqvist 2004) ; et les vairons quant-a-eux sont des prédateurs importants dans ces écosystèmes (ils mangent les gammares) et ont un fort impact sur la structure des communautés et le fonctionnement des écosystèmes (Bertrand & Gido 2007; Miró *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2021). Ces trois communautés et espèces cibles ont été au cœur de mes travaux de thèse pour comprendre les liens BEFs, avec un intérêt particulier sur les macro-invertébrés décomposeurs (plus faciles à manipuler) pour mieux démêler les effets de la diversité intraspécifique sur le fonctionnement des écosystèmes.

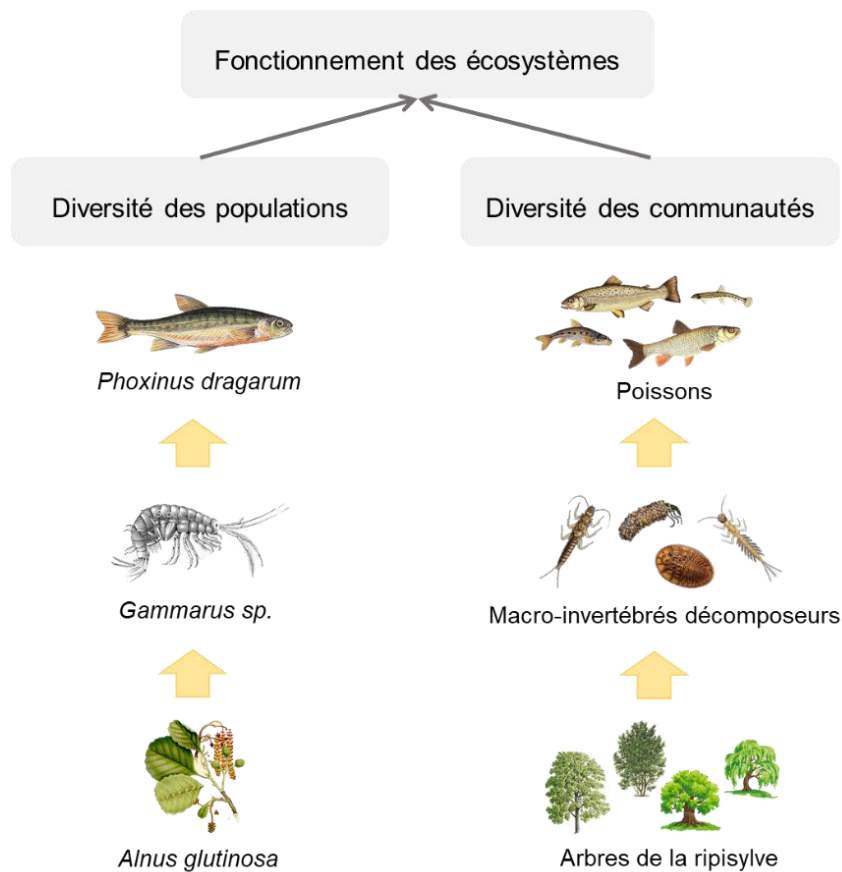


Figure 3. La chaîne trophique brune. Dans cette thèse sur les liens biodiversité-fonctions, nous avons étudié une chaîne trophique relativement commune des écosystèmes fluviaux du sud de la France impliquant des arbres de la ripisylve, des macro-invertébrés décomposeurs et des poissons. Nous avons quantifié la diversité sur les trois communautés cibles (à droite) et la diversité des populations sur trois espèces cibles (à gauche), respectivement l'aulne glutineux, le gammare ariégeois et le vairon commun.

Les écosystèmes fluviaux ont la particularité d'être très structurés spatialement, et cela contraint la biodiversité. La structure en réseau dendritique (structure ramifiée en forme d'arbre) implique des contraintes géométriques et physiques fortes et un certain nombre de gradients environnementaux (Vannote *et al.* 1980; Benda *et al.* 2004). Un réseau dendritique est composé de petits cours d'eau, en amont (proches de la source), qui se déversent dans des cours d'eau plus grands, qui se rejoignent tous en un fleuve principal en aval (proches de l'exutoire, **Figure 4**). Les cours d'eau en amont ont tendance à être plus étroits (avec une forte couverture végétale), à avoir des pentes plus fortes (les eaux sont donc plus turbulentes, plus oxygénées) et à se trouver en altitude (les eaux sont plus froides, **Figure 4a**, Vannote *et al.* 1980; Doretto *et al.* 2020). Les cours d'eau en aval, au contraire, ont tendance à être plus larges (avec une faible couverture végétale qui se cantonne au bord de la rivière), et les eaux sont généralement plus lentes et plus chaudes (**Figure 4b**, Vannote *et al.* 1980; Doretto *et al.* 2020). Ces gradients environnementaux ont des impacts sur la biodiversité puisqu'ils

contraignent fortement la dispersion des individus (Paz-Vinas & Blanchet 2015; Tornwall *et al.* 2015). Les sites en amont, qui se trouvent dans les « branches » de l'arbre sont plus isolés dans le réseau, donc plus difficile à coloniser et potentiellement moins diversifiés ; tandis que les sites en aval, qui constituent le « tronc » de l'arbre, jouent le rôle de carrefours de migration et abritent donc potentiellement plus de diversité (en gènes et en espèces, Carrara *et al.* 2012; Altermatt 2013; Paz-Vinas *et al.* 2015).

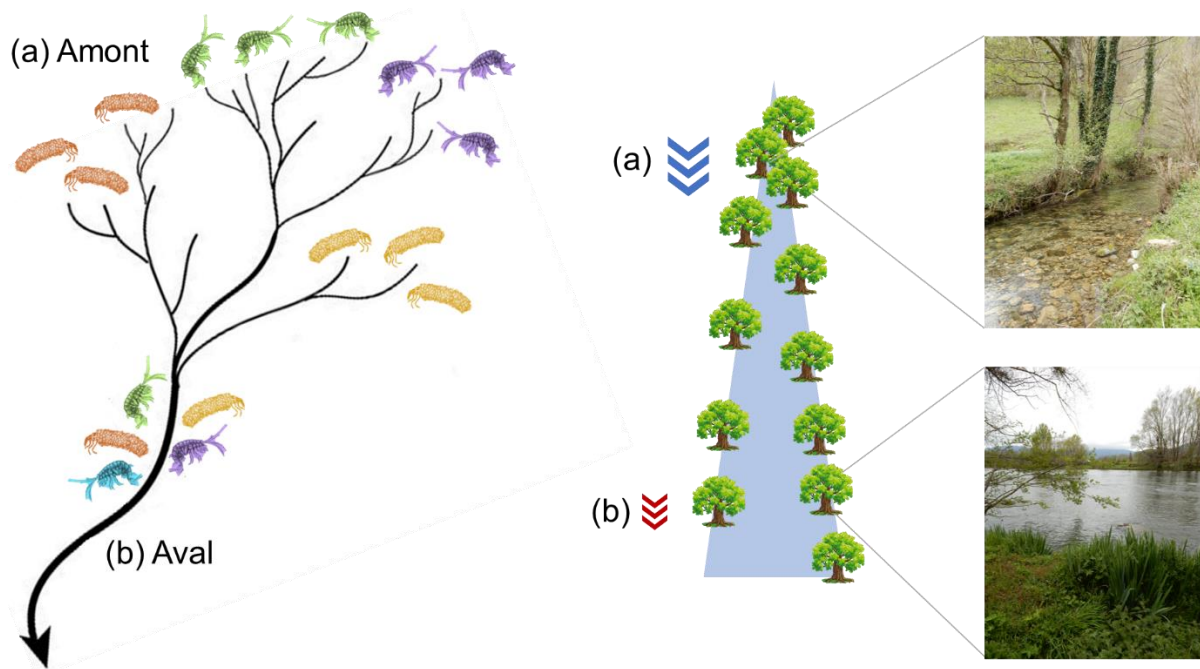


Figure 4. Le réseau dendritique. A gauche, la structure générale du réseau, avec (a) en amont des sites moins connectés, dans lesquels les populations et les communautés sont isolées les unes des autres et (b) en aval des zones de confluences, carrefours de migration, dans lesquels les populations et les communautés sont potentiellement plus diverses. Ici, j'ai pris l'exemple de deux populations de gammares (en violet et vert), et deux populations de trichoptères (en orange et jaune). A droite, un schéma accompagné de photos prises sur le terrain pour illustrer les contraintes imposées par la morphologie du réseau. (a) En amont, les cours d'eau sont plus étroits et les eaux plus turbulentes et plus froides. (b) En aval, les cours d'eau sont plus larges et les eaux plus calmes et plus chaudes. La taille des chevrons indique la turbulence de l'eau et leur couleur indique la température de l'eau.

5. Les objectifs de la thèse

L'objectif principal de cette thèse est de comprendre comment la diversité génétique des populations et des communautés est liée au fonctionnement des écosystèmes. Nous nous sommes appuyés sur des approches moléculaires, observationnelles et expérimentales pour quantifier le rôle écosystémique de la diversité intraspécifique relativement à celui de la diversité interspécifique dans des rivières. Pour les parties observationnelles (**Chapitre I et II**), nous nous sommes intéressés à trois niveaux trophiques sur une cinquantaine de sites du piémont Pyrénées. Pour les parties expérimentales, nous nous sommes concentrés sur des communautés de macro-invertébrés décomposeurs et plus particulièrement sur un petit crustacé d'eau douce, le gammare ariégeois (*Gammarus* sp.) échantillonné sur une quinzaine de sites (**Chapitre III, IV et V**).

Le premier objectif était de comprendre comment la diversité génétique influence le fonctionnement écosystémique relativement à la diversité spécifique dans des milieux naturels. Dans le **Chapitre I**, nous avons d'abord exploré les patrons de corrélation à travers les deux facettes de biodiversité (génomique et spécifique) et les trois niveaux trophiques (plantes de la ripisylve, macro-invertébrés benthiques décomposeurs et poissons). Ce chapitre prend appui sur les nombreuses études portant sur les corrélations entre la diversité génétique et spécifique (SGDC) et généralise ce cadre conceptuel à de multiples niveaux trophiques. Ce n'est que dans le **Chapitre II** que nous avons testé si les liens biodiversité-fonctions mesurés au niveau génétique étaient similaires en intensité et en direction (signe) aux liens biodiversité-fonctions mesurés au niveau spécifique. Ce chapitre avait aussi pour objectif de comparer la force et la direction des liens BEFs à travers les différents niveaux trophiques.

Le deuxième objectif était de développer une approche pour mesurer la biodiversité inclusive (simultanément à l'échelle intra- et interspécifique) et de quantifier son impact sur le fonctionnement des écosystèmes. Dans le **Chapitre III**, nous proposons l'idée que des gènes candidats conservés phylogénétiquement (*PCCGs*) à travers les communautés et qui soutiennent des traits *écologiquement importants* pourraient servir d'unité de mesure de biodiversité inclusive au-delà de la frontière intra- et interspécifique. Ce chapitre a pour objectif de passer en revue les raisons qui motivent notre idée, de fournir les grandes lignes directrices techniques pour appliquer la méthode que nous proposons et de discuter des implications de ce travail pour la compréhension des liens biodiversité-fonctions à de multiples échelles simultanément. Le **Chapitre IV** est purement méthodologique et technique, et a pour objectif de présenter de façon concrète l'outil que nous avons développé pour mesurer la biodiversité inclusive dans des communautés de crustacés d'eau douce. Dans ce chapitre, nous

présentons les 60 gènes (528 exons) écologiquement importants que nous avons ciblés et nous testons s'ils nous permettent de mesurer la biodiversité aux échelles intra- et interspécifique.

Le dernier objectif était de comprendre plus précisément quels sont les moteurs du lien entre la diversité intraspécifique et le fonctionnement des écosystèmes. Dans le **chapitre V**, nous avons donc quantifié plusieurs aspects de la diversité intraspécifique chez une quinzaine de populations de gammare ariégeois (*Gammarus sp.*) ; et nous avons utilisé l'outil que nous avons développé pour tester si le fonctionnement écosystémique en milieu contrôlé peut être prédit à partir des traits, de la diversité génétique globale et de la diversité génétique fonctionnelle (sur les PCCGs) ou si des approches de type gènes candidats sont plus efficaces.

CHAPITRE I – GENOMIC AND SPECIES DIVERSITY PATTERNS ACROSS MULTIPLE TROPHIC LEVELS IN RIVERSCAPES

Laura Fargeot*^{1,2}, Camille Poesy¹, Maxim Lefort¹, Jérôme G. Prunier¹, Madoka Krick¹, Charlotte Veysière², Murielle Richard¹, Chiara Mercier¹, Morgan Sautreuil¹, Natan Huberson¹, Nadia Langford¹, Delphine Legrand¹, Géraldine Loot² & Simon Blanchet*¹

¹ Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale, UAR 2029, 2 route du CNRS, F-09200 Moulis, France; laura.fargeot@live.fr (L.F.); camille.poesy@orange.fr (C.P.); maxim.lft@gmail.com (M.L.); jerome.prunier@gmail.com (J.G.P.); madokakrick@gmail.com (M.K.); murielle.richard@sete.cnrs.fr (M.R.); morgansautri@gmail.com (M.S.); nhuberson4@gmail.com (N.H.); nadia.langford@manchester.ac.uk (N.L.); delphine.legrand@sete.cnrs.fr (D.L.); simon.blanchet@sete.cnrs.fr (S.B.)

² Université Paul Sabatier (UPS) Toulouse III, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse CEDEX 4, France; veysiere.charlotte@gmail.com (C.V.); chiara.mercier1@univ-tlse3.fr (C.M.); geraldine.loot@univ-tlse3.fr (G.L.)

* Correspondence:

Laura Fargeot, laura.fargeot@live.fr

Simon Blanchet, simon.blanchet@sete.cnrs.fr

Manuscript published in **Oikos**.

Key words: Biodiversity patterns, community structure, population genomics, species-genetic diversity correlations, trophic chains, river ecosystems, fish, invertebrates, riparian trees, *Alnus*, *Gammarus*, *Phoxinus*

RÉSUMÉ

Afin de généraliser les processus à l'origine des patrons de distribution de la biodiversité dans les paysages naturels, il est essentiel de tester si les facettes intra- et interspécifique covarient dans l'espace et à travers de multiples niveaux trophiques. Si des processus similaires agissent simultanément aux deux échelles, cela devrait conduire à une covariation spatiale positive entre la diversité génétique et spécifique. Cette prédiction, qui a été vérifiée dans des niveaux trophiques isolés, n'a que rarement été testée à plusieurs niveaux simultanément. Dans cette étude, nous nous sommes donc focalisés sur un écosystème fluvial d'eau douce dans lequel nous avons acquis des données intra- et interspécifiques (diversité génomique et diversité des espèces, respectivement) à trois niveaux trophiques : arbres de la ripisylve, macro-invertébrés benthiques et poissons. Pour chaque niveau trophique, nous avons quantifié la diversité α et β à la fois au niveau intra- et interspécifique (diversité des SNPs au sein des populations d'*Alnus glutinosa*, *Gammarus* sp. et *Phoxinus phoxinus* et diversité des espèces dans les communautés). D'abord, nous avons testé l'existence d'une covariation spatiale globale de la biodiversité à travers les deux facettes (génétique et spécifique) et les trois niveaux trophiques. Ensuite, nous avons testé si des paramètres environnementaux pertinents affectaient de manière similaire les différentes estimations de la biodiversité et pouvait expliquer une covariation spatiale globale potentielle. Nous n'avons trouvé aucune trace de covariation spatiale globale de biodiversité à travers les facettes et les niveaux trophiques (que ce soit en α ou en β). Nous avons cependant constaté que les sites situés à l'ouest de la zone d'échantillonnage présentaient une diversité α significativement plus élevée ; que les sites les plus connectés dans le réseau hydrographique présentaient une diversité β significativement plus faible ; et que ces constats étaient vrais pour toutes les facettes de biodiversité et tous les niveaux trophiques. Les effets des autres prédicteurs environnementaux, en revanche, étaient spécifiques à chaque estimation de la biodiversité (et donc dépendants de la facette et du niveau trophique considéré), ce qui explique probablement l'absence de covariation spatiale globale. Notre étude démontre que les patrons globaux de biodiversité dans les rivières sont difficiles à généraliser et sont plutôt idiosyncrasiques, même si quelques processus peuvent avoir des impacts congruents sur la biodiversité à travers les facettes et les niveaux trophiques.

ABSTRACT

Testing whether intra- and interspecific biodiversity facets co-vary spatially across trophic levels is of utmost importance to generalize processes driving biodiversity patterns in natural landscapes. Similar processes are expected to act on intra- and interspecific diversity, which should lead to positive co-variation between genetic and species diversity. Although this prediction has been verified within trophic levels, it has rarely been tested across multiple trophic levels. To meet this challenge, we focused on a riverine freshwater ecosystem in which we sampled intra- (genomic diversity) and interspecific (species diversity) data across three trophic levels: riparian trees, benthic macroinvertebrates and fishes. For each trophic level, we quantified α - and β -diversity at both the intra- (single nucleotide polymorphisms [SNPs] diversity within populations of *Alnus glutinosa*, *Gammarus* sp. or *Phoxinus phoxinus*) and interspecific levels (species diversity within communities). We first tested for a global spatial co-variation of diversity across trophic levels and diversity facets. We then tested whether relevant environmental parameters similarly affected each biodiversity estimate and explained potential spatial co-variation among biodiversity components. We did not evidence any spatial co-variation of biodiversity across trophic levels and diversity facets, neither for α - nor for β -diversity. We found that sites situated in the Western part of the sampling area had higher α -diversities, and that highly connected sites had lower β -diversities, which holds true for all trophic levels and diversity facets. Nonetheless, the effects of other environmental predictors were specific to each biodiversity component, likely explaining the absence of spatial co-variation among biodiversity components. Our study demonstrates that global biodiversity patterns in rivers can be hard to generalize and are rather idiosyncratic, even though a few processes might have consistent impacts on biodiversity components across trophic levels.

1. Introduction

Describing and understanding biodiversity patterns is a major objective for many ecologists and evolutionary biologists. Biodiversity describes the diversity of living forms and is traditionally decomposed into an interspecific facet that encompasses diversity observed among species, and an intraspecific facet that encompasses diversity observed within species. Studies on biodiversity patterns have historically focused on one of these facets at a time (Gaston 2000; Turner 2005; Storfer *et al.* 2010), and our understandings of patterns and processes for inter- and intraspecific biodiversity have emerged independently, for instance from community ecology and population genetics (Hubbell 2001; Manel *et al.* 2003; Vellend 2010; Charlesworth & Charlesworth 2017; Okazaki *et al.* 2021). Yet, these two facets of biodiversity are actually forming a single entity, as variation observed within species eventually leads to speciation over the long-term. Developing approaches to jointly understand the processes shaping these biodiversity facets may significantly improve our perception of biodiversity (Vellend & Geber 2005; Coates *et al.* 2018; Blanchet *et al.* 2022).

Conceptual and theoretical frameworks have been proposed to jointly analyze and understand patterns of intra- and interspecific diversity. These frameworks lay on the idea that these two facets of biodiversity (in particular genetic and species diversity) are shaped by four similar processes acting in parallel over ecological and evolutionary timescales (Antonovics 1976; Vellend & Geber 2005; Vellend & Orrock 2009): i) *Selection*, which results in differential survival and reproductive output of some genotypes or species because of biotic or abiotic interactions (Linnen & Hoekstra 2009; McPeck 2017); ii) *Genetic and ecological drift*, that are respectively the random processes by which populations and communities will change over time in diversity or composition (Kimura 1979; Hubbell 2001; Hu *et al.* 2006; Vellend 2010); iii) *Mutation and speciation*, that generate novel sources of genetic variation within populations or species variation within communities, respectively (Williams 1992; Vellend & Geber 2005) ; and iv) *Gene flow and dispersal*, that are processes redistributing genotypes -and bringing new ones- within a population or species within a habitat (McPeck & Gomulkiewicz 2005; McPeck 2017). Many empirical studies have demonstrated that these processes can actually shape the two facets of biodiversity simultaneously, and may lead to positive Species Genetic Diversity Correlations (SGDCs), that are co-variations between genetic and species diversity: areas that are rich in species are also genetically rich, whereas areas that are poor in species are also genetically poor (Vellend 2005; Kahilainen *et al.* 2014; Lamy *et al.* 2017; Schmidt *et al.* 2022). Nonetheless, most of SGDC studies have considered a single trophic level (e.g., primary producers, Taberlet *et al.* 2012, Whitlock 2014, Xie *et al.* 2021; primary consumers,

Robinson *et al.* 2010, Papadopoulou *et al.* 2011, Seymour *et al.* 2016; secondary consumers, Fourtune *et al.* 2016), whereas biodiversity is by nature multi-trophic. Applying this framework to a multi-trophic perspective would be much more realistic, and would therefore provide insightful bases for the design of integrative conservation plans, *i.e.*, plans that simultaneously conserve all facets of biodiversity across all trophic levels. It would also reveal how the different facets of biodiversity interact across trophic levels to shape ecosystem functions.

There is a growing interest to consider biodiversity as inherently multitrophic because: (i) biodiversity patterns are too often considered trophic-level specific, (ii) multi-species studies are needed to understand species interactions and energy flows, and (iii) an integrated food-web perspective in biodiversity patterns studies may lead to a more holistic understanding of ecosystem functioning (Altermatt *et al.* 2020, Lau *et al.* 2020, Zhang *et al.* 2020). Biodiversity patterns have already been considered within a multitrophic perspective. For instance, distribution patterns of hosts and parasites are often considered jointly (Mazé-Guilmo *et al.* 2016; Colosimo *et al.* 2021), as well as prey and their predators (Yang *et al.* 2018; Passoni *et al.* 2022). Similarly, biodiversity hotspots at regional and global scales are often identified through distribution of rare and iconic species from multiple trophic levels (Myers *et al.* 2000; Grenouillet *et al.* 2007; Stork & Habel 2014; Schuldt *et al.* 2015; Zhang *et al.* 2020; Blackman *et al.* 2022). This multitrophic framework has also been applied to understand the complex links between biodiversity and ecosystem functions, as the efficiency of these functions directly depend on the flow of energy among trophic levels (Thébault & Loreau 2006; Yang *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2021; Timóteo *et al.* 2022). However, to our knowledge, very few studies have tested for patterns of spatial co-variation among multiple facets of diversity (*i.e.*, inter- and intraspecific diversity facets) and across multiple trophic levels. As a consequence, several major questions remain unresolved. For instance, we still do not know whether the intraspecific diversity of a predator species varies with the interspecific diversity of its prey. Given that more prey species should favor niche partitioning in the predator's population (Bolnick *et al.* 2007; Moya-Laraño 2011), we may expect a positive co-variation between intraspecific predator diversity and interspecific prey diversity. Conversely, a highly diversified predator population should use a wider range of resources and hence favor the co-existence of multiple prey species, compared to a predator population with a low intraspecific diversity (Raffard *et al.* 2021). Such positive co-variation would suggest a global spatial consistency across trophic levels and diversity facets. Alternatively, this spatial co-variation (or the absence thereof) may result from common neutral processes (dispersal, drift) acting similarly (or dissimilarly) at all levels of biodiversity, although this has rarely been tested.

In this study, our objectives were to test empirically whether inter- and intraspecific biodiversity facets spatially co-vary within and among multiple trophic levels in spatially-structured ecosystems, and, if any, to identify eco-evolutionary processes sustaining these general co-variation (or the lack of). To do so, we focused on a riverine freshwater ecosystem in which we measured species and genomic diversity, across three trophic levels, namely riparian trees, benthic macroinvertebrates and fishes (see **Figure I.1**). For each trophic level, we quantified species diversity (α) and uniqueness (β) based on the abundance of each taxa. We further selected a dominant and functionally relevant species within each trophic level (*Alnus glutinosa*, *Gammarus* sp. and *Phoxinus phoxinus*, see **Figure I.1**) to quantify genomic (SNPs) diversity (α) and uniqueness (β) within species. We relied on a meta-analytic approach to test our working hypothesis of a global (*i.e.*, within and between trophic levels) positive correlation between species and genomic diversity, which should be true if common processes similarly influence species and genomic diversity in trees, macroinvertebrates and fishes (Vellend 2010; Charlesworth & Charlesworth 2017). Finally, we aimed at testing the relationships between the different diversity components and a series of environmental predictors sustaining potential ecological and evolutionary processes at work in river ecosystems. To do so, we measured eight relevant environmental parameters (river width, connectivity, oxygen and temperature, eutrophication, pH, altitude, distance from outlet and east-west gradient), and tested whether they significantly affected each biodiversity facet and whether these effects were consistent across all facets.

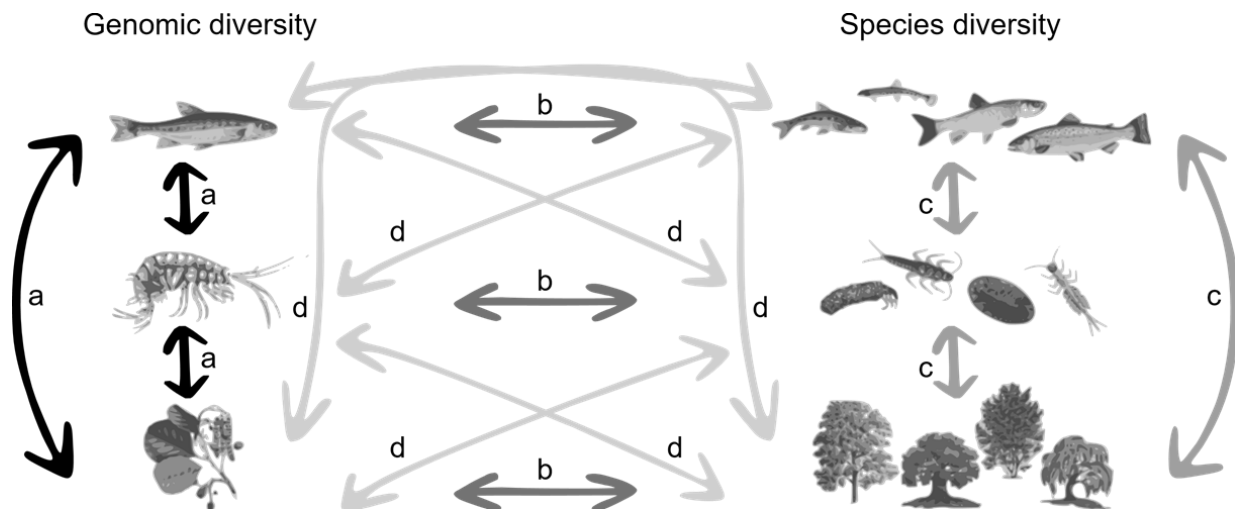


Figure I.1. The six biodiversity components covered by our study. We focused on a tri-trophic food chain common in mountain rivers, from bottom to top: riparian trees, benthic macroinvertebrates and fishes. In each trophic level, we quantified two facets of biodiversity: genomic diversity, in a single target species within each trophic level (left part, from the top to the bottom: *Phoxinus phoxinus*, *Gammarus* sp., *Alnus glutinosa*) and species diversity (right part). To compare biodiversity across trophic levels and diversity facets, we considered four groups of correlations (a) genomic-genomic diversity correlations (GGDCs, black arrows); (b) species-species diversity correlations (SSDCs, middle gray arrows); (c) species-genomic diversity correlations within trophic level (within-SGDCs, dark gray arrows); (d) species-genomic diversity correlation between trophic levels (between-SGDCs, light gray arrows).

2. Materials and methods

2.1. Study area and trophic chain

We sampled a total of 51 sites in the Pyrenees Mountains (Southern France, **Figure I.2**). The Pyrenees are oriented East-West, and the altitudinal gradient therefore follows a North-South gradient, with southern sites being -up to a certain limit- higher in *altitude*. To maximize environmental variation among sites while limiting the confounding altitudinal factor (Blanchet *et al.* 2020), we therefore focused on an *East-west gradient* at the foothill of Pyrenees Mountains (sites were within a 236m to 634m altitudinal range, see **Table I.S1**). We focused on a tri-trophic food chain that is common in river ecosystems. It implies riparian trees, a guild of benthic macroinvertebrates (*i.e.*, hereafter referred to as shredders) decomposing the leaves from these trees when they fall into the water, and fishes feeding on these invertebrates (**Figure I.1**). We sampled and described the species diversity of these three trophic levels on each site (see hereafter) and we characterized the genomic diversity of a single species within each trophic level (**Figure I.1**). They were selected on the basis of both functional importance for the transformation and transfer of energy in these ecosystems, and abundance in the area (which eased their sampling).

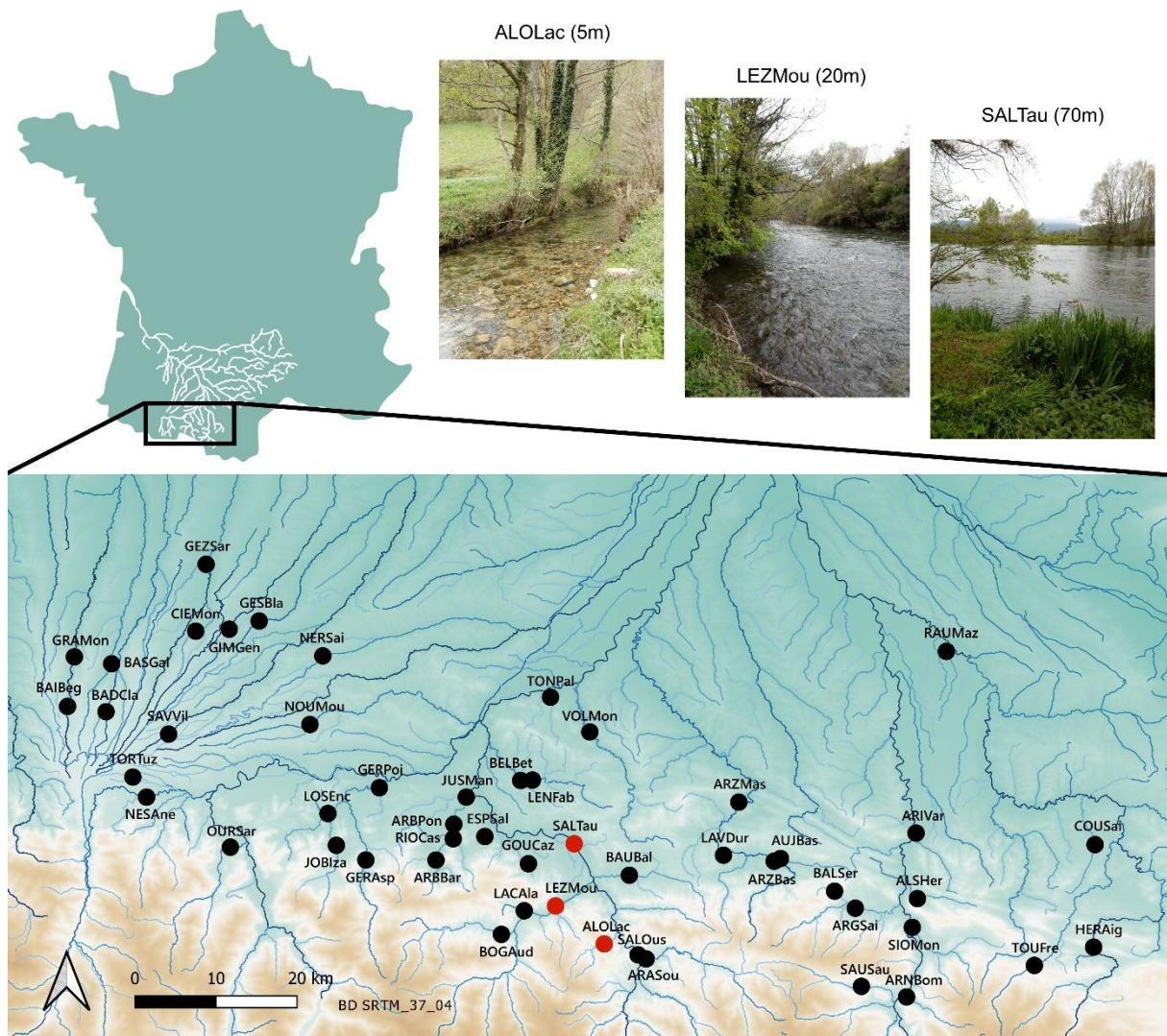


Figure I.2. Distribution of the 51 sampling sites (black dots) along the east–west gradient at the foothill of the Pyrenees Mountains. A six-letter code represents each site, the three first letters indicate the river name and the three last letters refer to the closest city (or village). The width of the river is indicated in brackets for three sites (red dots).

For the riparian trees, we selected the common alder (*Alnus glutinosa*, Betulaceae). This abundant tree species in European rivers is an important source of energy (through the organic matter delivered when leaves fall into the river in autumn), that provides shelter for many aquatic species with its bare roots, stabilizes river banks, and plays an important role for nitrogen fixation (Milner & Gloyne-Phillips 2005; Andreoli *et al.* 2020; Khan *et al.* 2022). For the shredders, we selected a crustacean species belonging to Gammarids (amphipods). Gammarids can be very abundant and are extremely efficient for decomposing the dead organic matter (including that of tree leaves, Wallace and Webster 1996, Maltby *et al.* 2002, Dangles and Malmqvist 2004), and hence to recycle nutrients and make them available to producers (Cummins 1974). Here, we focused on the most abundant Gammarid species in the

area that we named hereafter *Gammarus* sp. as this species has not yet been officially named, although it has been shown to be phylogenetically independent from its most closely related species, *Gammarus fossarum* (Carnevali 2022; C. Piscart, unpublished data). For the fish species, we focused on the Occitanean minnow (*Phoxinus phoxinus*), a Cyprinid species measuring ~50-90mm as an adult and abundant in cold rivers (Denys *et al.* 2020). It is a gregarious and omnivorous species feeding on algae, plant debris, invertebrates such as mollusks, crustaceans (including Gammarids), insects (including their larvae) and occasionally the eggs of other fishes (Raffard *et al.* 2020). It is an important predator in these ecosystems that strongly impacts invertebrate community structure and ecosystem functioning (Bertrand & Gido 2007; Miró *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2021).

2.2. Sampling

In each site, we collected data on the composition and abundance of species within each trophic level, and we sampled up to 32 individuals of each of the three target species. Riparian tree species diversity was characterized at a single occasion (July-August 2021) because of the sessile character of trees, whereas fish and invertebrate species diversity were characterized over two occasions (June and November 2020 for invertebrates and summers 2020 and 2021 for fishes) to allow a precise estimate of the occurrence and abundance of species despite the movement of individuals.

For fishes, we performed electrofishing using a single-pass approach (Bateman *et al.* 2005; Hanks *et al.* 2018) over a mean area of ~ 469.9 m² (\pm 174 m²) in summers 2020 and 2021 (from mid-July to mid-August, during the low-flow period) on each site. We collected all specimens using nets, and then we anesthetized, identified and counted each of them to the species level. Fish species richness varied from 1 to 11 (mean = 4.235 ± 1.472 [SD], **Table I.S2**). Abundances of each fish species were estimated as the number of individuals per m², and we averaged densities over the two sampling years to get a single estimate per species and per site. During the 2020 electric-fishing session, we further collected a small piece of pelvic fin for up to 32 individuals of *P. phoxinus* (range: 30 to 32, see **Table I.S2**) that we individually stored in a 1.5mL tube with 96% ethanol for later DNA extractions.

To quantify the invertebrate communities involved in leaf degradation, we used experimental and standardized devices. In each site, we placed one natural coconut brush and one litter bag in four micro-habitats (close to or within root system of *A. glutinosa*) along the river bank (the same as for the electrofishing) in July and November 2020. Senescent leaves were collected during fall 2019 in each site from five *Alnus* trees and dried. Four grams were placed in bags made from two 15cm x 11cm pieces of wire mesh (mesh size = 0.8cm) and

closed with staples and iron wire to allow invertebrates to colonize the litter bag and to consume the leaves from their site. Coco brushes were 15 cm long and 5.5 cm large, and the length of the bristles was 7.5 cm. After ~10 days and ~1.5 months of colonization for litter bags and coco-brushes respectively, we removed each device from the river and brought them back to the laboratory. Invertebrates were stored in alcohol until their taxonomic assignment to the family level using a determination key (Tachet *et al.* 2010). The number of families per site varied from 15 to 42 (mean = 27.275 ± 4.579 [SD], **Table I.S2**). We assumed that the family richness was a good proxy for the species richness. In November 2020, the sorting was done up to the genus level and we found a strong positive correlation between the number of families and the number of genus at the site level (Pearson's $r = 0.972$, $n=147$, $p<0.001$, see **Figure I.S1**). The abundance of each family was estimated as the cumulative number of individuals from the four coco brushes and the four litter bags, and we averaged the abundances over the two sampling months to get a single estimate per family and per site. In February 2020, we collected up to 32 specimens of *Gammarus* sp. in alder roots (range: 19 to 32 individuals. Notice that, in some sites, the *Gammarus* species found is different from our target, then reported as absent in our dataset, see **Table I.S2**) and we stored each of them into a 1.5mL tube containing 96% ethanol for later DNA extractions.

For trees, we identified riparian species on a transect of ~200m (the same transect as for fishes and invertebrates) along both river banks, using PlantNet (<https://identify.plantnet.org/>) and the "Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique" (Bonnier & de Layens 1913) in Summer 2021. Because our aim was to identify and count trees that contributed significantly to the leaf incomes in the river bed, we considered only those trees with trunks larger than 2 cm in diameter, less than a meter from the river bank, and/or with at least one branch overhanging the river. Tree species richness varied from 7 to 20 (mean = 14.412 ± 2.669 [SD], **Table I.S2**). Leaves from *Alnus glutinosa* were sampled in May 2020, when the young leaves have just emerged to limit phenolic and flavonoid compounds. We collected three leaves from up to 32 trees (range 3 to 32, **Table I.S2**) evenly spread along a 200m river stretch, and stored them in zipper storage bags with 300g of silica beads for later DNA extractions. As *Alnus glutinosa* usually produces multiple stems along a river stretch, it may be difficult on the field to determine whether two trunks belong or not to the same individual. When there were less than 32 stems in the site, we collected leaves from all stems composing the population, assuming that a low genomic diversity due to double sampling of the same individual is representative of the site diversity. When there were more than 32 stems, we collected leaves from one stem every two or three stems (depending on stem density) to obtain 32 samples evenly distributed along the 200m transect.

2.3. Environmental parameters

Eight environmental parameters were described on each site. They were chosen because they have previously been found (or are expected) to shape biodiversity patterns in rivers (Altermatt 2013; Fournelle *et al.* 2016).

- 1) *Width* of the river bed in each site was averaged from five measurements taken over each 200m river stretch. Narrower sites should be less diverse (Altermatt 2013; Fournelle *et al.* 2016).
- 2) *Connectivity* to all other sites was calculated as the “closeness centrality” (*i.e.*, the inverse of the sum of the distances of a node to all other nodes along the shortest paths possible (Newman 2010), using QGIS and the “RiverDist” R package (Tyers & Tyers 2017). The higher the centrality, the higher the connectivity of one site to all other sites. Less connected sites should be less diverse.
- 3) *Oxygen and temperature*, two major natural parameters in rivers, were measured in summers 2020 and 2021 on each site using a multi-parameter probe (Aqua TROLL 500, In-Situ Inc.), and values were averaged over periods to get a single estimate per parameter and per site. A Principal Component Analysis (PCA, **Figure I.S2**) combining three parameters of interest (oxygen concentration in mg.L⁻¹, percentage saturation and water temperature) was performed, and coordinates of each site on the first axis (55.55% of the total variance) were used as a synthetic variable. Positive coordinates represented colder sites with high concentrations in oxygen.
- 4) *Eutrophication*, a major anthropogenic parameter in rivers, was estimated at each site based on the concentration in NO₃⁻+NO₂⁻, NH₄⁺ and PO₄³⁻, as well as local specific conductivity values. Specific conductivity (μS/cm) was measured using the same multiparameter probe as above. NO₃⁻+NO₂⁻, NH₄⁺ and PO₄³⁻ concentrations were estimated during summers 2020 and 2021 from a filtered water volume (100mL) using the Alpkem Flow Solution Iv Autoanalyzer (OI Analytical). Chemical analyses were externalized to Laboratoire Ecologie Fonctionnelle et Environnement (University Paul Sabatier, Toulouse, France) and were performed according to standardized protocols. A PCA combining the four above-mentioned parameters was performed, and coordinates of each site on the first axis (37.82% of the total variance) were used as a synthetic variable. Positive coordinates represented sites with both high concentrations in NO₃⁻+NO₂⁻, and high specific conductivity (**Figure I.S2**).

- 5) *pH* of each site was measured using the same multiparameter probe and was estimated during summers 2020 and 2021. Values were averaged over periods to get a single estimate per parameter and per site. *pH* influences the availability of ions for living organisms; acidic waters are indicative of anthropized environments.
- 6) 7) 8) *Altitude*, *Distance from outlet* and *East-west gradient* were estimated for each site using QGIS. Sites in altitude and/or far from the outlet should be more isolated and consequently less diverse (Altermatt 2013; Fourtune *et al.* 2016). The *east-west gradient* potentially indicates the presence of multiple past glacial refugees along the Pyrenees chain (Delmas *et al.* 2008), and/or a more stable climate over geological time close to the Atlantic Ocean (*i.e.*, in the western part of our sampling area, see **Figure I.2**).

Multicollinearity among these eight environmental parameters was tested using the VIF function in R package “regclass” (see section 2.5.3. Diversity-environment correlations). We did not find strong collinearity among parameters as VIF values ranged from 1.389 to 2.915, below the typical threshold of 10 (Zuur *et al.* 2009). Moreover, Pearson’s correlations between parameters were weak, below the 0.7 threshold advised by Dormann *et al.* 2013 (**Figure I.S3**).

2.4. DNA extractions and SNP genotyping

DNA from *A. glutinosa* was extracted using the DNeasy® 96 Plant Kit (QIAGEN) from 12 dry chips (4 mm in diameter) sampled from each leaf. For *Gammarus* sp., DNA was extracted using the DNeasy® Blood and tissue kit (QIAGEN) from the head of each individual by slightly modifying the initial protocol (overnight lysis). For *P. dragarum*, DNA was extracted using a salt-extraction protocol directly from finclips (Aljanabi & Martinez 1997). For the three species, DNA concentrations were measured using Qubit 3.0 fluorometer, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA.

Sequencing was performed based on pools of DNA (“pool-seq” approach, (Schlötterer *et al.* 2014; Abrams *et al.* 2021) from each population and each species. Individual DNA samples were therefore combined to produce a single pool of DNA per population (and per species), with equimolar contributions from each individual. The number of individuals in each pool corresponds to the number of individuals sampled in each population (**Table I.S2**). It is noteworthy that 32 individuals were sampled for most species and most sites; when less than 32 individuals were sampled (despite important and standardized sampling efforts), we expected genomic α -diversity of these populations to be comparatively lower. Nonetheless, we did not correct for the number of individuals in pools, assuming that a small sample size actually represents the small size (low abundance) of the population. We externalized library

preparation and pool-sequencing to LGC Genomics, Biosearch Technologies (Berlin, Germany). To infer genomic diversity in our populational pool, we followed LGC recommendations for restriction enzyme choice and sequencing methods to maximize loci yield in each species. Normalized Genotyping-by-Sequencing (nGBS) was used for *P. dragarum* (single digest protocol with MspI) whereas double-digest restriction-site associated DNA (ddRAD-seq) was used for *A. glutinosa* and *Gammarus* sp. (respectively, PstI/MseI and PstI/HindIII enzymes). Our 128 pools (52 pools in *A. glutinosa*, 32 pools in *Gammarus* sp. and 44 pools in *P. dragarum*, **Table I.S2**) were then sequenced on an Illumina NovaSeq (2x150 pb). Resulted short reads were subsequently processed for SNP identification.

Data processing was performed according to De Kort *et al.* (2018), except that sequence alignment was performed on reference genomes. Genome of *A. glutinosa* was already available in NCBI (0.621 GB, Griesmann *et al.* 2018). For *Gammarus* sp. and *P. dragarum*, we built reference genomes from Illumina short-read sequencing and PacBio long read sequencing respectively. This resulted in two reference genomes (respectively 3.916 Gb and 0.968 Gb, see **Table I.S3** for details). SNP calling was performed following De Kort *et al.* (2018) methodology: (i) raw *fastq* files were filtered using *trimmomatic* function (Bolger *et al.* 2014) and *clone_filter* function (from *stacks*, Catchen *et al.* 2013) to remove low quality scores reads and PCR duplicates; (ii) reference genomes (in *fasta* format) were then indexed; (iii) filtered *fastq* files were then aligned to indexed reference genomes using the *mem* function in *bwa*; (iv) aligned *SAM* files were converted into *BAM* format and filtered for unpaired and badly/non-mapped reads; (v) all indexed and filtered *BAM* files were then assembled in a single *mpileup* file; and (vi) SNP allelic frequencies were finally obtained using Popoolation2 (Kofler *et al.* 2011, De Kort *et al.* 2018 for detailed functions of each step). We only conserved bi-allelic SNPs and removed low variability SNPs in allelic frequency ($\text{FreqMax} - \text{FreqMin} < 0.05$). In order to allow calculation of similar estimates for genomic and species diversity (see hereafter), we transformed the allelic frequency table into an allele count table by multiplying each allelic frequency by the number of individuals from each pool.

2.5. Statistical analysis

2.5.1. Estimation of α - and β -diversity estimates

The same α - and β - diversity estimates were calculated for both species and genomic diversity to ease comparisons (**Table I.S4**). Species and genomic α -diversity were measured using the Shannon entropy from the “hillR” R package (Chao *et al.* 2014). The Shannon entropy is a metric of evenness that takes into account the distribution of (allele or species) abundances in the site (Gaggiotti *et al.* 2018). Species and genomic β -diversity were quantified as the average of the pairwise (between sites) Bray-Curtis dissimilarity estimates using the “betapart” R package (Baselga *et al.* 2018). The pairwise Bray-Curtis dissimilarity metric quantifies the dissimilarity between the composition of two different sites based on abundance data. It ranges from 0 to 1, 0 indicates that the two sites share all the species and 1 indicates that the two sites have no common species. We averaged the pairwise estimates across sites to quantify the “uniqueness” of a site (*i.e.*, the extent to which a site is dissimilar from all other sites, Paz-Vinas *et al.* 2015).

2.5.2. Spatial co-variation among α - and β -diversity estimates across species

Pearson’s correlation coefficients (r) were used to assess the strength of pairwise associations between genomic diversity and species diversity, both within and between trophic levels, and for both α - and β -diversity estimates. We tested the global correlation (mean of the α - or β -correlation values) for four types of correlations: Genomic-Genomic Diversity Correlations (three estimates, GGDCs), Species-Species Diversity Correlations (three estimates, SSDCs), Species-Genomic Diversity Correlations within trophic levels (three estimates, within-SGDCs) and Species-Genomic Diversity Correlations between trophic levels (six estimates, between-SGDCs, **Figure I.1**). A standardized effect size (SES) of each correlation coefficient was calculated using the Fisher’s Z transformation (Z_r , Rosenberg 2000, Nakagawa and Cuthill 2007). We finally calculated the mean Z_r and associated 95% confidence intervals CI (for α - and β -diversity separately) for the global correlation and for the four types of correlations (**Figure I.1**).

2.5.3. Drivers of α - and β -diversity across biodiversity facets and trophic levels

To infer the links between biodiversity and environmental predictors, we ran a linear model for each diversity facet and each trophic level separately (*i.e.*, six models for each α - and β -diversity). In these models, the corresponding diversity facet was the dependent variable and the eight environmental parameters (width, connectivity, oxygen and temperature, eutrophication, pH, altitude, distance from outlet and east-west gradient) were the predictors.

From each model, we retrieved the t-values associated with each environmental predictor as an estimate of its effect size on the corresponding diversity facet. t-values were transformed into standardized effect sizes (SES, Fisher's Z, Z_r , Rosenberg 2000) and associated asymptotic variances (vZ) were calculated (Rosenberg 2000).

We then used these SES to test whether the effects of each environmental predictor were consistent among diversity facets and across trophic levels. To do so, we estimated, for each environmental predictor independently, the mean SES (and associated 95% CI) across all diversity facets and all trophic levels using intercept-only linear models, with SES (6 estimates for α - and β -diversity components, respectively) as the dependent variables and variance vZ as a weighting parameter. If effects of a predictor are consistent across diversity facets and across trophic levels, its mean SES (that is, the model intercept) should be significantly different from zero (either positively or negatively).

3. Results

3.1. Spatial co-variation among diversity estimates across species

3.1.1. Patterns of α -diversity

For α -diversity, the mean Z_r was not significantly different from zero ($Z_{rAll} = -0.024$, 95% CI [-0.123, 0.074], see **Figure I.3a** and **Figure I.S4** for details), suggesting no global spatial co-variation among biodiversity facets across trophic levels. When these co-variations were measured for each type of correlation independently (a, b, c or d, see **Figure I.1**), we found a trend toward a negative Z_r for genomic-genomic diversity correlations (GGDCs, mean $Z_{rGGDCs} = -0.238$, 95% CI [-0.626, 0.151] while other co-variations showed the opposite (positive) trend. However, none of the mean Z_r was significantly different from zero, confirming the general absence of global co-variation (**Figure I.3a**).

3.1.2. Patterns of β -diversity

For β -diversity, the mean Z_r was not significantly different from zero (mean $Z_{rAll} = 0.040$, 95% CI [-0.060, 0.137], **Figure I.3b**), indicating that there was no general spatial pattern of β -diversity among biodiversity facets and across trophic levels. When co-variation was estimated for each type of correlation independently (a, b, c or d, see **Figure I.1**), we found a negative and significant Z_r for the genomic-genomic diversity correlations (GGDCs, mean $Z_{rGGDCs} = -0.184$, 95% CI [-0.193, -0.176]), suggesting that genomic uniqueness was inversely related among trophic levels (**Figure I.3b**). co-variations for other types of correlations were not significant.

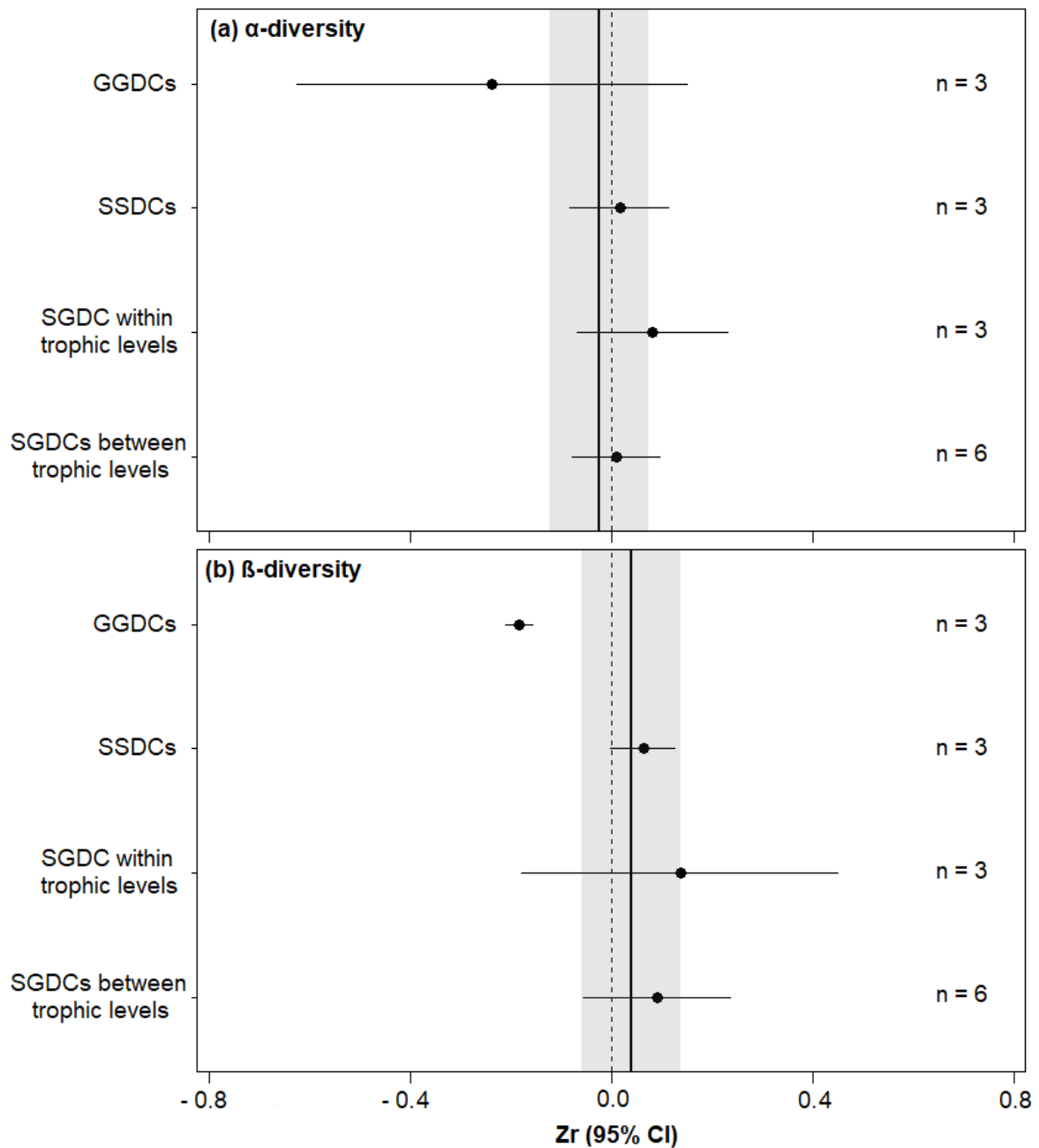


Figure I.3. Forest plot of correlation strength depending on the type of correlation considered. Z_r is a standardized correlation coefficient based on (a) Shannon entropy (α -diversity) and (b) Bray–Curtis dissimilarity uniqueness (β -diversity). The dashed vertical line stands for the absence of correlation ($Z_r = 0$). On each panel, the bold vertical line refers to the general arithmetic mean of all correlations confounded and the shaded area indicates 95% confidence interval. We considered four types of correlations: 1) genomic–genomic diversity correlations (GGDCs); 2) species–genomic diversity correlations within trophic level (SGDCs within trophic levels); 3) species–species diversity correlations (SSDCs); 4) species–genomic diversity correlation between trophic levels (SGDCs between trophic levels, cf. **Figure I.1** for visualization).

3.2. Drivers of biodiversity across diversity facets and trophic levels

3.2.1. Environmental predictors of α -diversity

The intercept-only model showed that none of the environmental parameters but *east-west gradient* was a significant and consistent predictor for species and genomic α -diversity (**Figure I.4a**). The *east-west gradient* had a global, significant and negative influence on α -diversity ($Zr_{East-west\ gradient} = -0.146$, 95% CI [-0.278, -0.013], **Figure I.4a**); the most eastern sites harbored lower genomic and species diversity than the most western sites, irrespectively of the trophic level. The general absence of correlation between environmental predictors and α -diversity suggests that each α -diversity estimate was differently explained by a unique set of predictors (**Table I.S5**), except for *east-west gradient*.

3.2.2. Environmental predictors of β -diversity

The intercept-only model showed that *connectivity* was a significant and consistent predictor for species and genomic β -diversity (**Figure I.4b**). The *Connectivity* of the sampling site had a global, significant and negative influence on β -diversity (mean $Zr_{Connectivity} = -0.073$, 95% CI [-0.140, -0.007], **Figure I.4b**), suggesting that genomic and species uniqueness were higher for poorly-connected sites, whatever the trophic level. As for α -diversity, each β -diversity estimate was thus differently explained by a unique set of predictors (**Table I.S5**), except for *connectivity*.

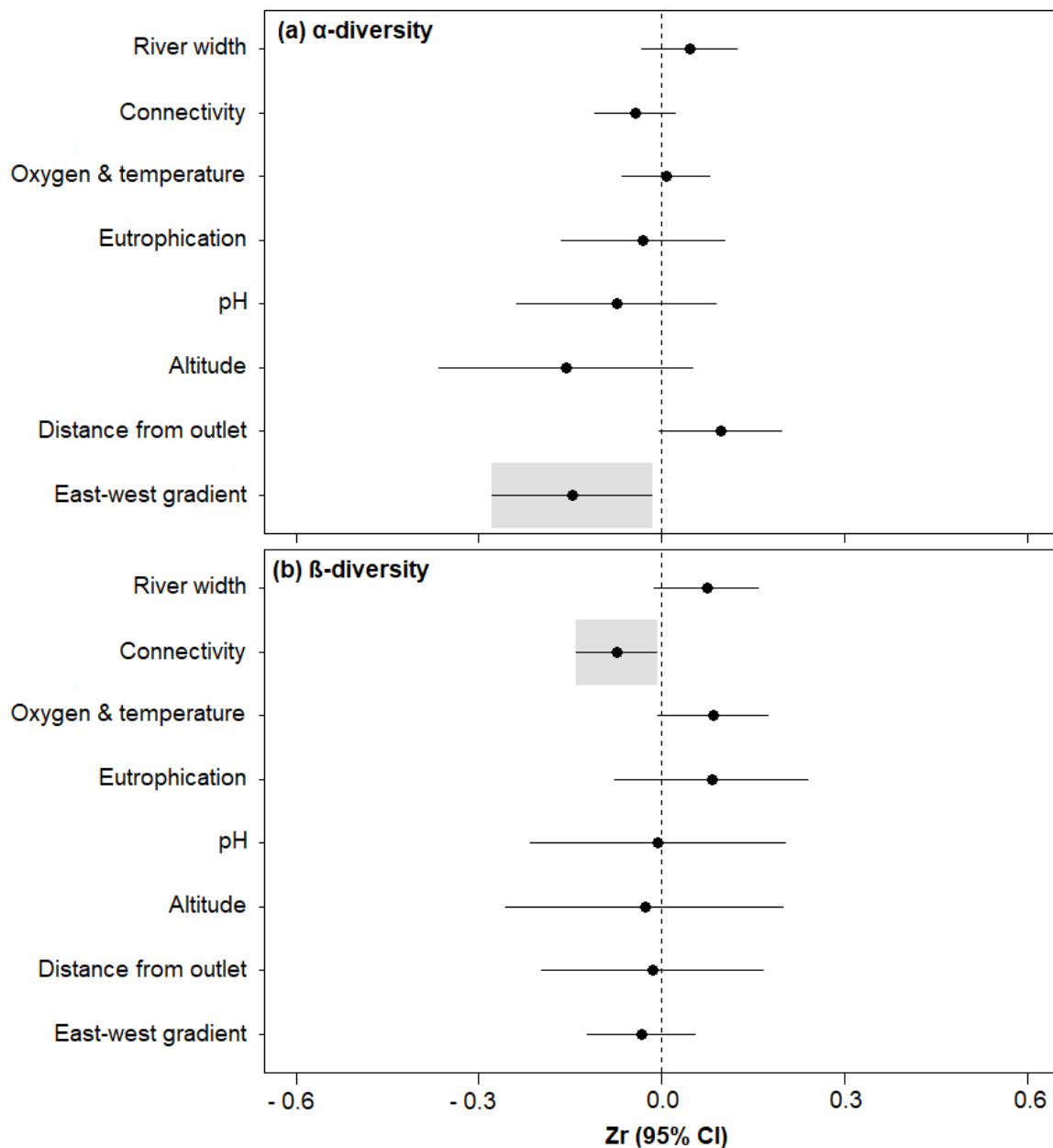


Figure I.4. Values of correlation strength between environmental parameters and biological diversities. Z_r are standardized correlation coefficients based on (a) Shannon entropy (α -diversity) and (b) Bray–Curtis dissimilarity uniqueness (β -diversity). The dashed vertical line stands for the absence of correlation ($Z_r = 0$). On each panel, the shaded area indicates 95% CI of the significant correlation.

4. Discussion

Contrary to theoretical expectations, we demonstrate that, in our system, there was no global spatial co-variation among biodiversity facets (species and genomic diversity facets) and across trophic levels (riparian trees, benthic macroinvertebrates and fishes), neither for α -diversity nor for β -diversity. We only found that genomic β -diversity estimates negatively covaried (although weakly) among the three target species, *i.e.*, when a species was genomically unique in a site, the other(s) species tended to be more ordinary genomically. This absence of spatial co-variation among biodiversity components was coherent with the observation that most of the environmental predictors we considered did not consistently impact all biodiversity components. Rather, most environmental parameters were associated with each biodiversity component idiosyncratically. However, two environmental parameters (*east-west gradient* for α -diversity and *connectivity* for β -diversity) altered all biodiversity components consistently, although the sizes of these common effects were not strong enough to generate global spatial co-variation among biodiversity components.

In general, there was no spatial co-variation between species and genomic diversity, neither within nor across trophic levels. Positive species-genetic diversity correlations have already been reported *within* trophic levels in several taxonomic groups (Vellend *et al.* 2014; Xie *et al.* 2021), which we did not find here. For instance, positive species-genetic diversity correlations have been found in mountain riparian forest (Wei & Jiang 2012), in freshwater invertebrates (Watanabe & Monaghan 2017) and in freshwater fishes (Fourtune *et al.* 2016). In particular, in the same river drainage as our study, Fourtune *et al.* (2016) found moderate (but significant) positive correlations between fish species richness and allelic richness measured in four freshwater fishes (including *P. dragarum*). This is surprising that, within the same river drainage and the same biological system (fish, **Figure I.S4**), our results differ from those of Fourtune *et al.* (2016). A likely explanation is that, contrary to most studies focusing on river systems, including that of Fourtune *et al.* (2016), we focused on the headwaters in a relatively narrow range of *altitudes*, rather than on the classical upstream-downstream gradient. On the one hand, we obviously missed the most downstream sites and therefore restrained the environmental and biological variation that naturally exist on this type of ecosystem (Blanchet *et al.* 2020). We would probably have obtained stronger overall spatial covariation if we had considered the entire upstream-downstream gradient (that is orientated north-west/south-east, see **Figure I.2**), at least in fishes as observed in Fourtune *et al.* (2016). However, we retained substantial variation in our dataset, with for instance mean summer temperatures ranging from 11.29 to 17.38 °C, river width ranging from 1.30 to 22 meters (**Table**

I.S1), and the number of species ranging from 7 to 20, 15 to 42 and 1 to 11 for riparian tree species, benthic macroinvertebrates and fishes respectively (**Table I.S2**). On the other hand, this design provides a powerful way to limit collinearity among spatial parameters (altitude, distance from outlet) and environmental/physical parameters (water temperature, river width, conductivity, etc...), which can be highly problematic to statistically tease apart causal relationships (Prunier *et al.* 2015; Blanchet *et al.* 2020). As an alternative -yet non-exclusive- explanation for the general lack of co-variation between species and genomic diversity, we can speculate that the choice of the target species for estimating genomic diversity modulates the strength of the co-variation (Taberlet *et al.* 2012; Laroche *et al.* 2015; Fourtune *et al.* 2016). For instance, species abundance or species characteristics such as the mutation-to-gene flow ratio modulate the strength of SGDCs (within trophic levels, Vellend 2005, Laroche *et al.* 2015). Hence, although here we focused on the most abundant species within each trophic level (SGDCs are expected to be the stronger when the target species is highly abundant, Vellend 2005), we cannot rule out the possibility that having focused on rarest species with different traits (notably in term of dispersal or competitive ability) would have altered our findings. The absence of species-genetic diversity correlations is nonetheless coherent with recent meta-analyses (Taberlet *et al.* 2012; Kahilainen *et al.* 2014; Vellend *et al.* 2014; Xie *et al.* 2021) highlighting that the strength of correlations between species and genetic diversity is actually heterogeneous, explaining why a non-negligible proportion of published correlations are non-significant. Overall, our results and those from Fourtune *et al.* (2016) in the same river drainage suggest that the spatial scale of observation may actually change conclusions regarding the strength and form of species-genetic diversity correlations.

Most of the eight environmental parameters did not consistently impact biodiversity components. This result is coherent with the absence of global spatial co-variation among biodiversity components, and suggests that idiosyncratic processes are shaping biodiversity patterns in this ecosystem. Indeed, each biodiversity component tends to show a unique response to each environmental parameter, even within the same biodiversity facet (**Table I.S5**). For instance, *eutrophication* exhibited contrasted effects on α - and β -diversity estimates. For α -diversity, we identified that *eutrophication* had (i) a negative relationship with *Gammarus* sp. genomic diversity, (ii) no relationship with *A. glutinosa* genomic diversity, riparian trees and macroinvertebrates species diversity and (iii) a positive relationship with *P. dragarum* genomic diversity and fish species diversity (**Table I.S5**). Similarly, the distance from the outlet had contrasted effects on α - and β -diversity estimates. For β -diversity, we identified that distance from the outlet had (i) a negative relationship with fish species uniqueness, (ii) no relationship with *A. glutinosa* genomic uniqueness and (iii) a positive relationship with macroinvertebrates

species uniqueness (**Table I.S5**). These inconsistent relationships between environmental predictors and biodiversity components unlikely results from a lack of environmental heterogeneity within our sampling area (see above and **Table I.S2**), and rather suggests that each facet within each trophic level reacts differently to local conditions. Processes associated with these environmental parameters (both neutral and non-neutral processes) therefore have different effects on the various biodiversity facets and trophic levels, which might limit the emergence of global spatial patterns of biodiversity.

Nonetheless, we found coherent relationships between two environmental predictors and all the biodiversity components, *i.e.*, the *east-west gradient* for α -diversity and *connectivity* for β -diversity. Indeed, all α -diversity estimates were significantly and negatively associated with the *east-west gradient*, which indicates that biological diversity was higher in the western part of the network, *i.e.*, closer to the Atlantic Ocean. This can suggest the presence of an ancient glacial refuge in the western part of the network from which individuals colonized to the east. This hypothesis is coherent with the traces of an ancient glacier at the east of the Pyrenees in the Quaternary period (Calvet *et al.* 2011). Alternatively, yet not exclusively, the oceanic influence in the west may stabilize climate over geological time, hence limiting population size variation in this area and favoring biological diversity (Sandel *et al.* 2011; De Kort *et al.* 2021). All β -diversity estimates were significantly and negatively associated with *connectivity*, which suggests that highly unique areas (both in terms of genomic and species composition) are found in poorly connected sites. This was expected given the dendritic structure of river networks (Altermatt 2013; Carrara *et al.* 2014; Vitorino Júnior *et al.* 2016). Upstream sites are supposed to be isolated from each other, hence favoring the effect of ecological and genetic drift and the differentiation of populations and communities (Carrara *et al.* 2014; Paz-Vinas & Blanchet 2015). Nonetheless, although coherent in their direction, the global effect sizes associated with these two environmental predictors were weak ($Zr < 0.20$) and were unlikely to be strong enough to generate significant patterns of co-variation across trophic levels and biodiversity facets. It is likely that the idiosyncratic effects discussed above (see also **Table I.S5**) are blurring the past imprints of the *east-west gradient* and *connectivity*.

Despite the fact that we did not detect any global spatial co-variation between species and genomic diversity across multiple trophic levels in a complex riverscape, our findings have both practical and theoretical implications. First, the absence of an overall link between all biodiversity components implies that biodiversity hotspots should not be generalized spatially *de facto* (Westgate *et al.* 2014). This suggests that, if we are to conserve all components of biodiversity in this area, trophic- and facet-specific conservation areas should be designed to

avoid conflicting strategies and undesirable effects of preserving only a few areas, targeted toward one of the facets or one of the trophic levels (Kahilainen *et al.* 2014). For instance, given the absence of SGDC both within and between trophic levels, genetic diversity of common species should not be used in this area as surrogate for species diversity -from the same or from different trophic levels- in conservation plans (Westgate *et al.* 2014). Potentially conflicting issues are even more prominent for genomic β -diversity as we found a negative co-variation among the three species we investigated. This indicates that biodiversity hotspots areas of uniqueness are inversely correlated in each species. Consequently, simple strategies such as environmental clustering strategies (for instance, prioritizing the conservation of highly heterogeneous sites) might not be appropriate to conserve all biodiversity components. Other strategies such as systematic conservation planning or the maximization of complementary richness are probably more relevant, in a multitrophic context, to take into account the low consistency in biodiversity patterns (Arponen *et al.* 2008; Paz-Vinas *et al.* 2018). Second, both inter- and intraspecific diversity facets are known to affect the structure of communities and the functioning of ecosystems (Hooper *et al.* 2005; Crutsinger *et al.* 2009; Cardinale *et al.* 2012; Des Roches *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2019), and multitrophic approaches are required to understand the context-dependency of biodiversity-ecosystem functioning relationships (Eisenhauer *et al.* 2019). Here, the absence of co-variation between the multiple facets of diversity and across trophic levels within a common landscape reinforces the idea of using integrative measures of diversity - *i.e.*, taking into account several facets of diversity and several trophic levels - to predict the global functioning of ecosystems (Eduardo 2016; Moi *et al.* 2021). However, it is still useful to keep simple estimates of diversity (to keep apart the different trophic levels and diversity facets in the analyses) to reveal the implications of current changes in biodiversity for ecosystem functioning. For instance, a better understanding of trophic complementarity (*i.e.*, the originality of a species for ecosystem functioning in a multispecies context, Poisot *et al.* 2013) requires separate analysis of each trophic level. Our study shows that hotspots of different components of biodiversity are scattered in river landscapes. This reinforces the idea that both multitrophic and multifaceted approaches are relevant, and complementary, to build integrated conservation plans and to better understand the link between all biodiversity components of an ecosystem and its functioning and dynamics.

To conclude, we provide an empirical test of the spatial co-variation between inter- and intraspecific biodiversity facets across multiple trophic levels, and our findings reinforce the idea that explicit multitrophic approaches are required to get a more holistic vision of biodiversity patterns. Our work suggests that spatial co-variation of biodiversity across diversity facets and across trophic levels is not a general rule, probably because most environmental

parameters do not consistently affect all biodiversity components. The *east-west* positioning of the sampling sites along the Pyrenean mountain chain influences consistently all estimates of α -diversity and site *connectivity* influences consistently all estimates β -diversity, but the common effects of these two drivers were not strong enough to generate coherent patterns of biodiversity.

This multitrophic perspective of biodiversity patterns raises many additional challenging questions that should be considered in the future. For instance, what is the role of inter- and intraspecific diversity in shaping the functioning of such complex ecosystems? Is it possible that different diversity facets have different impacts on ecosystem functioning within trophic levels? Moreover, we did not incorporate realized trophic interactions (among and within trophic levels), and more generally interactions between organisms in our multi-trophic analyses, which we believe would be an important step forward in future SGDCs studies. Trophic interactions can be quantified using stable isotope analyses and/or gut content analyses for instance, and we can expect that the strength and sign of SGDCs may vary according to the strength of the trophic interaction for instance. Moreover, trophic interactions change over space and time (Chesson 2000), which was not considered in our study. Future works should further explore the strength of inter- and intraspecific interactions to draw more precise conclusions about the role of biotic interactions in modulating biodiversity patterns across trophic levels. Finally, it is possible that spatial co-variation between genomic and species diversity might be revealed more precisely by shifting from a “single target species” approach (genomic diversity is inferred from a single species) to a “multiple target species” approach (genomic diversity is inferred from a several species). This could be done for instance by (i) estimating spatial covariation between species diversity and the average genomic diversity of several species within the community, and/or (ii) estimating genomic diversity jointly from all species within the focal community by sequencing genes that are phylogenetically conserved across species (Blanchet *et al.* 2022). To answer these questions (and others), we encourage scientists to integrate multiple trophic levels and multiple facets of biodiversity to future empirical and theoretical studies to better understand the spatial distribution of biodiversity, the underlying processes that shape biodiversity on Earth, and their consequences on ecosystem functioning.

AUTHOR CONTRIBUTION

Laura Fargeot: Conceptualization (supporting); Data curation (lead); Formal analysis (lead); Investigation (lead); Methodology (equal); Project administration (lead); Software (equal); Supervision (equal); Validation (equal); Visualization (lead); Writing – original draft (lead); Writing – review and editing (lead). **Camille Poesy:** Investigation (lead); Methodology (equal); Project administration (supporting); Supervision (equal); Validation (equal). **Maxim Lefort:** Data curation (supporting); Investigation (lead); Methodology (supporting); Project administration (supporting); Supervision (equal). **Jérôme G. Prunier:** Data curation (supporting); Formal analysis (supporting); Investigation (supporting); Methodology (supporting); Resources (equal); Software (equal); Writing – original draft (supporting); Writing – review and editing (equal). **Madoka Krick:** Investigation (equal); Methodology (supporting). **Charlotte Veyssière:** Investigation (equal); Methodology (supporting). **Murielle Richard:** Investigation (supporting); Methodology (supporting); Writing – review and editing (equal). **Chiara Mercier:** Investigation (equal). **Morgan Sautreuil:** Investigation (equal). **Natan Huberson:** Investigation (equal). **Nadia Langford:** Investigation (equal). **Delphine Legrand:** Validation (equal); Visualization (supporting); Writing – review and editing (equal). **Géraldine Loot:** Investigation (supporting); Validation (equal); Visualization (supporting); Writing – review and editing (supporting). **Simon Blanchet:** Conceptualization (lead); Data curation (supporting); Formal analysis (supporting); Funding acquisition (lead); Investigation (lead); Methodology (lead); Project administration (lead); Resources (equal); Software (supporting); Supervision (lead); Validation (equal); Visualization (lead); Writing – original draft (supporting); Writing – review and editing (lead).

REFERENCES

- Abrams, A.N., McDaneld, T.G., Keele, J.W., Chitko-McKown, C.G., Kuehn, L.A. & Gonda, M.G. (2021). Evaluating Accuracy of DNA Pool Construction Based on White Blood Cell Counts. *Front. Genet.*, 12, 635846.
- Aljanabi, S.M. & Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR- based techniques. *Nucleic Acids Research*, 25, 4692–4693.
- Altermatt, F. (2013). Diversity in riverine metacommunities: a network perspective. *Aquat Ecol*, 47, 365–377.
- Altermatt, F., Little, C.J., Mächler, E., Wang, S., Zhang, X. & Blackman, R.C. (2020). Uncovering the complete biodiversity structure in spatial networks: the example of riverine systems. *Oikos*, 129, 607–618.
- Andreoli, A., Chiaradia, E.A., Cislighi, A., Bischetti, G.B. & Comiti, F. (2020). Roots reinforcement by riparian trees in restored rivers. *Geomorphology*, 370, 107389.
- Antonovics, J. (1976). The Input from Population Genetics: “The New Ecological Genetics.” *Systematic Botany*, 1, 233.

- Arponen, A., Moilanen, A. & Ferrier, S. (2008). A successful community-level strategy for conservation prioritization. *Journal of Applied Ecology*, 45, 1436–1445.
- Baselga, A., Orme, D., Villeger, S., De Bortoli, J., Leprieur, F. & Lopez, M. (2018). Package 'betapart.' *Partitioning beta diversity into turnover and nestedness components, version 1.5.6*.
- Bateman, D.S., Gresswell, R.E. & Torgersen, C.E. (2005). Evaluating Single-Pass Catch as a Tool for Identifying Spatial Pattern in Fish Distribution. *Journal of Freshwater Ecology*, 20, 335–345.
- Bertrand, K.N. & Gido, K.B. (2007). Effects of the herbivorous minnow, southern redbelly dace (*Phoxinus erythrogaster*), on stream productivity and ecosystem structure. *Oecologia*, 151, 69–81.
- Blackman, R.C., Ho, H.-C., Walser, J.-C. & Altermatt, F. (2022). Spatio-temporal patterns of multi-trophic biodiversity and food-web characteristics uncovered across a river catchment using environmental DNA. *Commun Biol*, 5, 259.
- Blanchet, S., Fargeot, L. & Raffard, A. (2022). Phylogenetically-conserved candidate genes unify biodiversity-ecosystem function relationships and eco-evolutionary dynamics across biological scales (preprint). Preprints.
- Blanchet, S., Prunier, J.G., Paz-Vinas, I., Saint-Pé, K., Rey, O., Raffard, A., *et al.* (2020). A river runs through it: The causes, consequences, and management of intraspecific diversity in river networks. *Evol Appl*, 13, 1195–1213.
- Bolger, A.M., Lohse, M. & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30, 2114–2120.
- Bolnick, D.I., Svanbäck, R., Araújo, M.S. & Persson, L. (2007). Comparative support for the niche variation hypothesis that more generalized populations also are more heterogeneous. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 104, 10075–10079.
- Bonnier, G.E.M. & de Layens, G. (1913). Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique (comprenant la plupart des plantes d'Europe). *Nouvelles Flores de Bonnier*. Belin.
- Calvet, M., Delmas, M., Gunnell, Y., Braucher, R. & Bourlès, D. (2011). Recent Advances in Research on Quaternary Glaciations in the Pyrenees. In: *Developments in Quaternary Sciences*. Elsevier, pp. 127–139.
- Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., *et al.* (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486, 59–67.
- Carnevali, M. (2022). Etude phylogénétique des populations de *Gammarus* (*Gammarus* sp.) du piedmont Pyrénéen. *Master Thesis - Université Paul Sabatier*.
- Carrara, F., Rinaldo, A., Giometto, A. & Altermatt, F. (2014). Complex Interaction of Dendritic Connectivity and Hierarchical Patch Size on Biodiversity in River-Like Landscapes. *The American Naturalist*, 183, 13–25.
- Catchen, J., Hohenlohe, P.A., Bassham, S., Amores, A. & Cresko, W.A. (2013). Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Mol Ecol*, 22, 3124–3140.
- Chao, A., Chiu, C.-H. & Jost, L. (2014). Unifying Species Diversity, Phylogenetic Diversity, Functional Diversity, and Related Similarity and Differentiation Measures Through Hill Numbers. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 45, 297–324.
- Charlesworth, B. & Charlesworth, D. (2017). Population genetics from 1966 to 2016. *Heredity*, 118, 2–9.
- Chesson, P. (2000). Mechanisms of Maintenance of Species Diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 3, 343-358+C1+359-366.
- Coates, D.J., Byrne, M. & Moritz, C. (2018). Genetic Diversity and Conservation Units: Dealing With the Species-Population Continuum in the Age of Genomics. *Front. Ecol. Evol.*, 6, 165.
- Colosimo, G., Jackson, A.C., Benton, A., Varela-Stokes, A., Iverson, J., Knapp, C.R., *et al.* (2021). Correlated Population Genetic Structure in a Three-Tiered Host-Parasite

- System: The Potential for Coevolution and Adaptive Divergence. *Journal of Heredity*, 112, 590–601.
- Crutsinger, G.M., Sanders, N.J. & Classen, A.T. (2009). Comparing intra- and inter-specific effects on litter decomposition in an old-field ecosystem. *Basic and Applied Ecology*, 10, 535–543.
- Cummins, K.W. (1974). Structure and Function of Stream Ecosystems. *BioScience*, 24, 631–641.
- Dangles, O. & Malmqvist, B. (2004). Species richness-decomposition relationships depend on species dominance: Biodiversity and dominance in ecosystems. *Ecology Letters*, 7, 395–402.
- De Kort, H., Baguette, M., Prunier, J.G., Tessier, M., Monsimet, J., Turlure, C., *et al.* (2018). Genetic costructure in a meta-community under threat of habitat fragmentation. *Mol Ecol*, 27, 2193–2203.
- De Kort, H., Prunier, J.G., Ducatez, S., Honnay, O., Baguette, M., Stevens, V.M., *et al.* (2021). Life history, climate and biogeography interactively affect worldwide genetic diversity of plant and animal populations. *Nat Commun*, 12, 516.
- Delmas, M., Gunnell, Y., Braucher, R., Calvet, M. & Bourlès, D. (2008). Exposure age chronology of the last glaciation in the eastern Pyrenees. *Quat. res.*, 69, 231–241.
- Denys, G.P.J., Dettai, A., Persat, H., Daszkiewicz, P., Hauteœur, M. & Keith, P. (2020). Revision of Phoxinus in France with the description of two new species (Teleostei, Leuciscidae). *Cybius: international journal of ichthyology*, 44, 205–237.
- Des Roches, S., Post, D.M., Turley, N.E., Bailey, J.K., Hendry, A.P., Kinnison, M.T., *et al.* (2018). The ecological importance of intraspecific variation. *Nat Ecol Evol*, 2, 57–64.
- Dormann, C.F., Elith, J., Bacher, S., Buchmann, C., Carl, G., Carré, G., *et al.* (2013). Collinearity: a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography*, 36, 27–46.
- Eduardo, A.A. (2016). Multiple dimensions of biodiversity and ecosystem processes: Exploring the joint influence of intraspecific, specific and interspecific diversity. *Journal of Theoretical Biology*, 404, 215–221.
- Eisenhauer, N., Schielzeth, H., Barnes, A.D., Barry, K.E., Bonn, A., Brose, U., *et al.* (2019). A multitrophic perspective on biodiversity–ecosystem functioning research. In: *Advances in Ecological Research*. Elsevier, pp. 1–54.
- Fourtune, L., Paz-Vinas, I., Loot, G., Prunier, J.G. & Blanchet, S. (2016). Lessons from the fish: a multi-species analysis reveals common processes underlying similar species-genetic diversity correlations. *Freshwater Biology*, 61, 1830–1845.
- Gaggiotti, O.E., Chao, A., Peres-Neto, P., Chiu, C., Edwards, C., Fortin, M., *et al.* (2018). Diversity from genes to ecosystems: A unifying framework to study variation across biological metrics and scales. *Evol Appl*, 11, 1176–1193.
- Gaston, K.J. (2000). Global patterns in biodiversity. *Nature*, 405, 220–227.
- Grenouillet, G., Brosse, S., Tudesque, L., Lek, S., Baraillé, Y. & Loot, G. (2007). Concordance among stream assemblages and spatial autocorrelation along a fragmented gradient: Spatial patterns of stream assemblages. *Diversity and Distributions*, 14, 592–603.
- Hanks, R.D., Kanno, Y. & Rash, J.M. (2018). Can Single-Pass Electrofishing Replace Three-Pass Depletion for Population Trend Detection? *Trans Am Fish Soc*, 147, 729–739.
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., *et al.* (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75, 3–35.
- Hu, X.-S., He, F. & Hubbell, S.P. (2006). Neutral theory in macroecology and population genetics. *Oikos*, 113, 548–556.
- Hubbell, S.P. (2001). The unified neutral theory of biodiversity and biogeography. Princeton University Press.

- Kahilainen, A., Puurtinen, M. & Kotiaho, J.S. (2014). Conservation implications of species–genetic diversity correlations. *Global Ecology and Conservation*, 2, 315–323.
- Khan, N., Jhariya, M.K., Banerjee, A., Meena, R.S., Raj, A. & Yadav, S.K. (2022). Riparian conservation and restoration for ecological sustainability. In: *Natural Resources Conservation and Advances for Sustainability*. Elsevier, pp. 195–216.
- Kimura, M. (1979). The Neutral Theory of Molecular Evolution. *Scientific american*, 241, 98–129.
- Kofler, R., Orozco-terWengel, P., Maio, N.D., Pandey, R.V., Nolte, V. & Kosiol, C. (2011). PoPoolation: A Toolbox for Population Genetic Analysis of Next Generation Sequencing Data from Pooled Individuals. *PLoS ONE*, 6.
- Lamy, T., Laroche, F., David, P., Massol, F. & Jarne, P. (2017). The contribution of species-genetic diversity correlations to the understanding of community assembly rules. *Oikos*, 126, 759–771.
- Laroche, F., Jarne, P., Lamy, T., David, P. & Massol, F. (2015). A Neutral Theory for Interpreting Correlations between Species and Genetic Diversity in Communities. *The American Naturalist*, 185, 59–59.
- Lau, D.C.P., Christoffersen, K.S., Erkinaro, J., Hayden, B., Heino, J., Hellsten, S., et al. (2020). Multitrophic biodiversity patterns and environmental descriptors of sub-Arctic lakes in northern Europe. *Freshwater Biology*, 67, 30–48.
- Linnen, C.R. & Hoekstra, H.E. (2009). Measuring Natural Selection on Genotypes and Phenotypes in the Wild. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 74, 155–168.
- Maltby, L., Clayton, S.A., Wood, R.M. & McLoughlin, N. (2002). Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: Robustness, responsiveness, and relevance. *Environ Toxicol Chem*, 21, 361–368.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G. & Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 18, 189–197.
- Mazé-Guilmo, E., Blanchet, S., McCoy, K.D. & Loot, G. (2016). Host dispersal as the driver of parasite genetic structure: a paradigm lost? *Ecol Lett*, 19, 336–347.
- McPeck, M.A. (2017). The ecological dynamics of natural selection: traits and the coevolution of community structure. *The American Naturalist*, 189, E91–E117.
- McPeck, M.A. & Gomulkiewicz, R. (2005). Assembling and depleting species richness in metacommunities, insights from ecology, population genetics and macroevolution. In: *Metacommunities: spatial dynamics and ecological communities*. Chicago, pp. 355–373.
- Milner, A.M. & Gloyne-Phillips, I.T. (2005). The role of riparian vegetation and woody debris in the development of macroinvertebrate assemblages in streams. *River Res. Applic.*, 21, 403–420.
- Miró, A., Sabás, I. & Ventura, M. (2018). Large negative effect of non-native trout and minnows on Pyrenean lake amphibians. *Biological Conservation*, 218, 144–153.
- Moi, D.A., Romero, G.Q., Antiquiera, P.A.P., Mormul, R.P., Teixeira de Mello, F. & Bonecker, C.C. (2021). Multitrophic richness enhances ecosystem multifunctionality of tropical shallow lakes. *Funct Ecol*, 35, 942–954.
- Moya-Laraño, J. (2011). Genetic variation, predator–prey interactions and food web structure. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 366, 1425–1437.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B. & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853–858.
- Nakagawa, S. & Cuthill, I.C. (2007). Effect size, confidence interval and statistical significance: a practical guide for biologists. *Biological Reviews*, 82, 591–605.
- Newman, M. (2010). *Networks: an introduction*. Oxford University Press. Oxford.

- Okazaki, A., Yamazaki, S., Inoue, I. & Ott, J. (2021). Population genetics: past, present, and future. *Hum Genet*, 140, 231–240.
- Papadopoulou, A., Anastasiou, I., Spagopoulou, F., Stalimerou, M., Terzopoulou, S., Legakis, A., *et al.* (2011). Testing the Species–Genetic Diversity Correlation in the Aegean Archipelago: Toward a Haplotype-Based Macroecology? *The American Naturalist*, 178, 241–255.
- Passoni, G., Coulson, T., Cagnacci, F., Hudson, P., Stahler, D.R., Smith, D.W., *et al.* (2022). *Investigating tri-trophic interactions using bio-energetic demographic models* (preprint). Ecology.
- Paz-Vinas, I. & Blanchet, S. (2015). Dendritic connectivity shapes spatial patterns of genetic diversity: a simulation-based study. *J. Evol. Biol.*, 28, 986–994.
- Paz-Vinas, I., Loot, G., Hermoso, V., Veyssière, C., Poulet, N., Grenouillet, G., *et al.* (2018). Systematic conservation planning for intraspecific genetic diversity. *Proc. R. Soc. B.*, 285, 20172746.
- Paz-Vinas, I., Loot, G., Stevens, V.M. & Blanchet, S. (2015). Evolutionary processes driving spatial patterns of intraspecific genetic diversity in river ecosystems. *Molecular Ecology*, 24, 4586–4604.
- Poisot, T., Mouquet, N. & Gravel, D. (2013). Trophic complementarity drives the biodiversity-ecosystem functioning relationship in food webs. *Ecol Lett*, 16, 853–861.
- Prunier, J.G., Colyn, M., Legendre, X., Nimon, K.F. & Flamand, M.C. (2015). Multicollinearity in spatial genetics: separating the wheat from the chaff using commonality analyses. *Molecular Ecology*, 24, 263–283.
- Raffard, A., Cucherousset, J., Montoya, J.M., Richard, M., Acoca-Pidolle, S., Po sy, C., *et al.* (2021). Intraspecific diversity loss in a predator species alters prey community structure and ecosystem functions. *PLoS Biol*, 19, e3001145.
- Raffard, A., Santoul, F., Blanchet, S. & Cucherousset, J. (2020). Linking intraspecific variability in trophic and functional niches along an environmental gradient. *Freshw Biol*, 65, 1401–1411.
- Raffard, A., Santoul, F., Cucherousset, J. & Blanchet, S. (2019). The community and ecosystem consequences of intraspecific diversity: a meta-analysis: The ecological effects of intraspecific diversity. *Biological Reviews*, 94, 648–661.
- Robinson, J.D., Diaz-Ferguson, E., Poelchau, M.F., Pennings, S., Bishop, T.D. & Wares, J. (2010). Multiscale Diversity in the Marshes of the Georgia Coastal Ecosystems LTER. *Estuaries and Coasts*, 33, 865–877.
- Rosenberg, M.S. (2000). *MetaWin: statistical software for meta-analysis*. [Version] 2.0. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.
- Sandel, B., Arge, L., Dalsgaard, B., Davies, R.G., Gaston, K.J., Sutherland, W.J., *et al.* (2011). The Influence of Late Quaternary Climate-Change Velocity on Species Endemism. *Science*, 334, 660–664.
- Schlötterer, C., Tobler, R., Kofler, R. & Nolte, V. (2014). Sequencing pools of individuals — mining genome-wide polymorphism data without big funding. *Nat Rev Genet*, 15, 749–763.
- Schmidt, C., Dray, S. & Garroway, C.J. (2022). Genetic and species-level biodiversity patterns are linked by demography and ecological opportunity. *Evolution*, 76, 86–100.
- Schuldt, A., Wubet, T., Buscot, F., Staab, M., Assmann, T., B hnke-Kammerlander, M., *et al.* (2015). Multitrophic diversity in a biodiverse forest is highly nonlinear across spatial scales. *Nat Commun*, 6, 10169.
- Seymour, M., Sepp l , K., Mächler, E. & Altermatt, F. (2016). Lessons from the macroinvertebrates: species-genetic diversity correlations highlight important dissimilar relationships. *Freshw Biol*, 61, 1819–1829.
- Storfer, A., Murphy, M.A., Spear, S.F., Holderegger, R. & Waits, L.P. (2010). Landscape genetics: where are we now? *Molecular Ecology*, 19, 3496–3514.

- Stork, N.E. & Habel, J.C. (2014). Can biodiversity hotspots protect more than tropical forest plants and vertebrates? *J. Biogeogr.*, 41, 421–428.
- Taberlet, P., Zimmermann, N.E., Englisch, T., Tribsch, A., Holderegger, R., Alvarez, N., *et al.* (2012). Genetic diversity in widespread species is not congruent with species richness in alpine plant communities. *Ecol Lett*, 15, 1439–1448.
- Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M. & Usseglio-Polatera, P. (2010). *Invertébrés d'eau douce: systématique, biologie, écologie*. Paris : CNRS éditions, 2010. Paris : CNRS éditions, 2010.
- Thébault, E. & Loreau, M. (2006). The relationship between biodiversity and ecosystem functioning in food webs. *Ecol Res*, 21, 17–25.
- Timóteo, S., Albrecht, J., Rumeu, B., Norte, A.C., Traveset, A., Frost, C.M., *et al.* (2022). Tripartite networks show that keystone species can multitask. *Functional Ecology*, 37, 274–286.
- Turner, M.G. (2005). Landscape Ecology: What Is the State of the Science? *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 36, 319–344.
- Tyers, M. & Tyers, M. (2017). Package 'riverdist'.
- Vellend, M. (2005). Species Diversity and Genetic Diversity: Parallel Processes and Correlated Patterns. *The American Naturalist*, 166, 199–215.
- Vellend, M. (2010). Conceptual Synthesis in Community Ecology. *The Quarterly Review of Biology*, 85, 183–206.
- Vellend, M. & Geber, M.A. (2005). Connections between species diversity and genetic diversity: Species diversity and genetic diversity. *Ecology Letters*, 8, 767–781.
- Vellend, M., Lajoie, G., Bourret, A., Múrria, C., Kembel, S.W. & Garant, D. (2014). Drawing ecological inferences from coincident patterns of population- and community-level biodiversity. *Mol Ecol*, 23, 2890–2901.
- Vellend, M. & Orrock, J.L. (2009). Ecological and genetic models of diversity: Lessons across disciplines. *The theory of island biogeography revisited*. Princeton University Press, Princeton, 439–461.
- Vitorino Júnior, O.B., Fernandes, R., Agostinho, C.S. & Pelicice, F.M. (2016). Riverine networks constrain β -diversity patterns among fish assemblages in a large Neotropical river. *Freshw Biol*, 61, 1733–1745.
- Wallace, J.B. & Webster, J.R. (1996). The Role of Macroinvertebrates in Stream Ecosystem Function. *Annu. Rev. Entomol.*, 41, 115–139.
- Watanabe, K. & Monaghan, M.T. (2017). Comparative tests of the species-genetic diversity correlation at neutral and nonneutral loci in four species of stream insect. *Evolution*, 71, 1755–1764.
- Wei, X. & Jiang, M. (2012). Contrasting relationships between species diversity and genetic diversity in natural and disturbed forest tree communities. *New Phytologist*, 193, 779–786.
- Westgate, M.J., Barton, P.S., Lane, P.W. & Lindenmayer, D.B. (2014). Global meta-analysis reveals low consistency of biodiversity congruence relationships. *Nat Commun*, 5, 3899.
- Whitlock, R. (2014). Relationships between adaptive and neutral genetic diversity and ecological structure and functioning: a meta-analysis. *J Ecol*, 102, 857–872.
- Williams, G.C. (1992). *Natural selection: domains, levels, and challenges*. Oxford University Press. Oxford University Press.
- Xie, L., Yang, Y., Li, Y., Chen, S., Feng, Y., Wang, N., *et al.* (2021). A Meta-Analysis Indicates Positive Correlation between Genetic Diversity and Species Diversity. *Biology*, 10, 1089.
- Yang, J.W., Wu, W., Chung, C.-C., Chiang, K.-P., Gong, G.-C. & Hsieh, C. (2018). Predator and prey biodiversity relationship and its consequences on marine ecosystem

functioning—interplay between nanoflagellates and bacterioplankton. *ISME J*, 12, 1532–1542.

Zhang, Y., Pavlovska, M., Stoica, E., Prekrasna, I., Yang, J., Slobodnik, J., *et al.* (2020). Holistic pelagic biodiversity monitoring of the Black Sea via eDNA metabarcoding approach: From bacteria to marine mammals. *Environment International*, 135, 105307.

Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N., Saveliev, A.A. & Smith, G.M. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Statistics for Biology and Health. Springer New York, New York, NY.

SUPPLEMENTARY MATERIALS

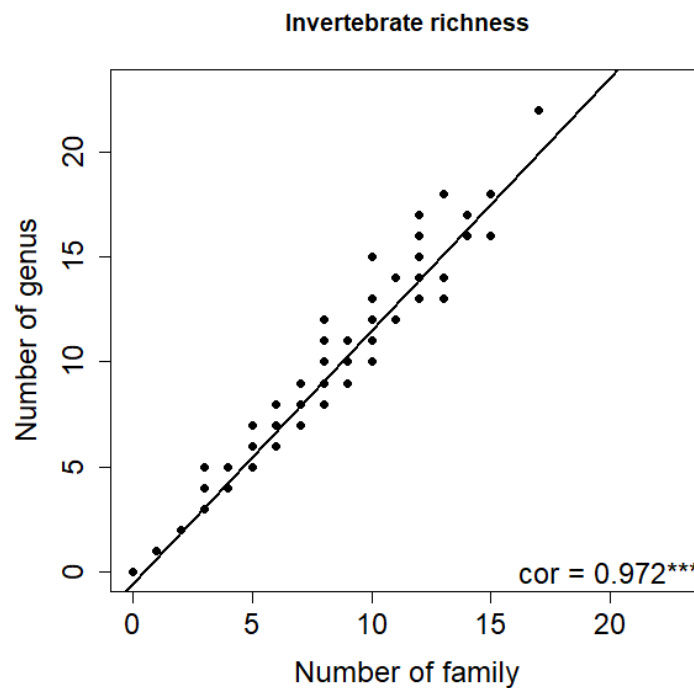


Figure I.S1. Relationship between the number of genus and the number of families in targeted communities of benthic macroinvertebrates (37 sites). Each point represents a litter bag (37 rivers, 4 litter bags per river and 1 was lost so here there are 147 points in total, many are superimposed). The black line indicates a significant relationship based on Pearson's correlation test. The correlation value is indicated at the bottom right. The stars (***) indicates a significant correlation with a p-value < 0.001

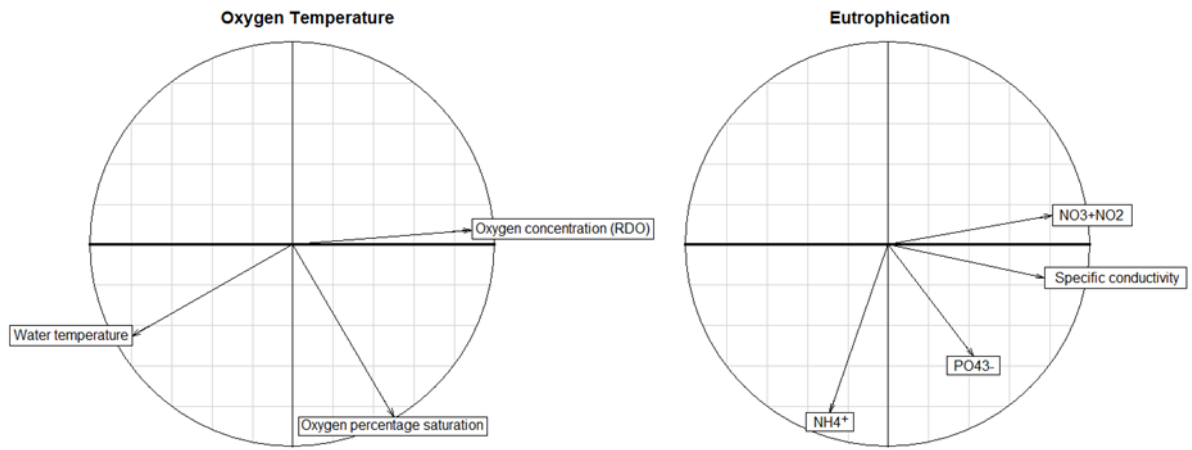


Figure I.S2. Circle plot illustrating the 2 PCA that we used to create our 2 synthetic environmental parameters. Each axis represents a Principal component, the bold axis is the CP1 that we kept as a synthetic variable.

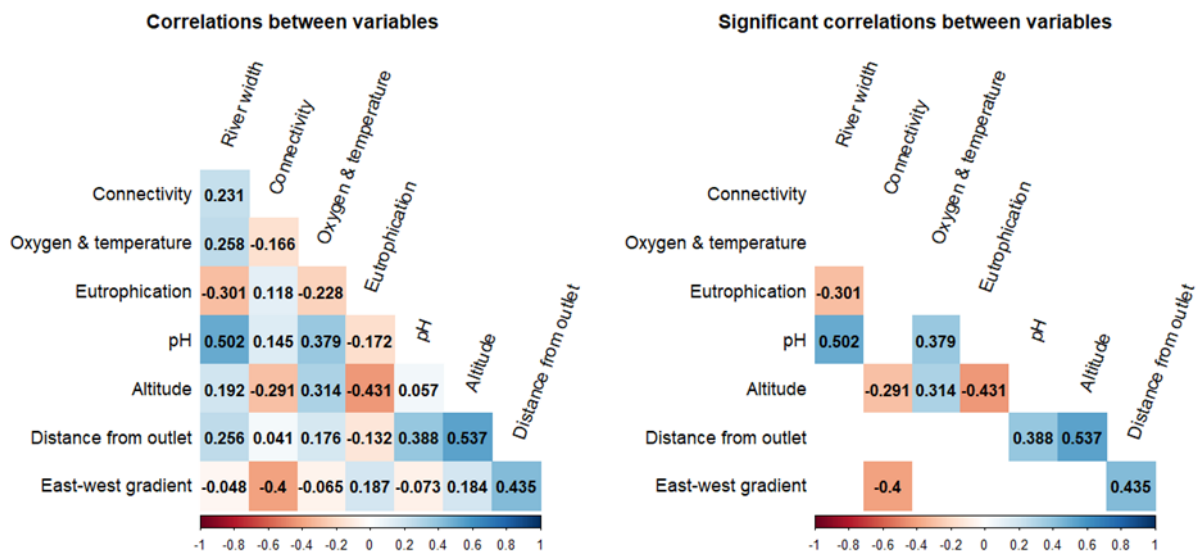


Figure I.S3. Pearson's correlograms aiming at testing collinearity between our eight environmental parameters. All values are under 0.5 which is under the 0.7 threshold in absolute value (Dormann *et al.* 2013) so we considered that it was not a problem to keep all parameters together in our models.

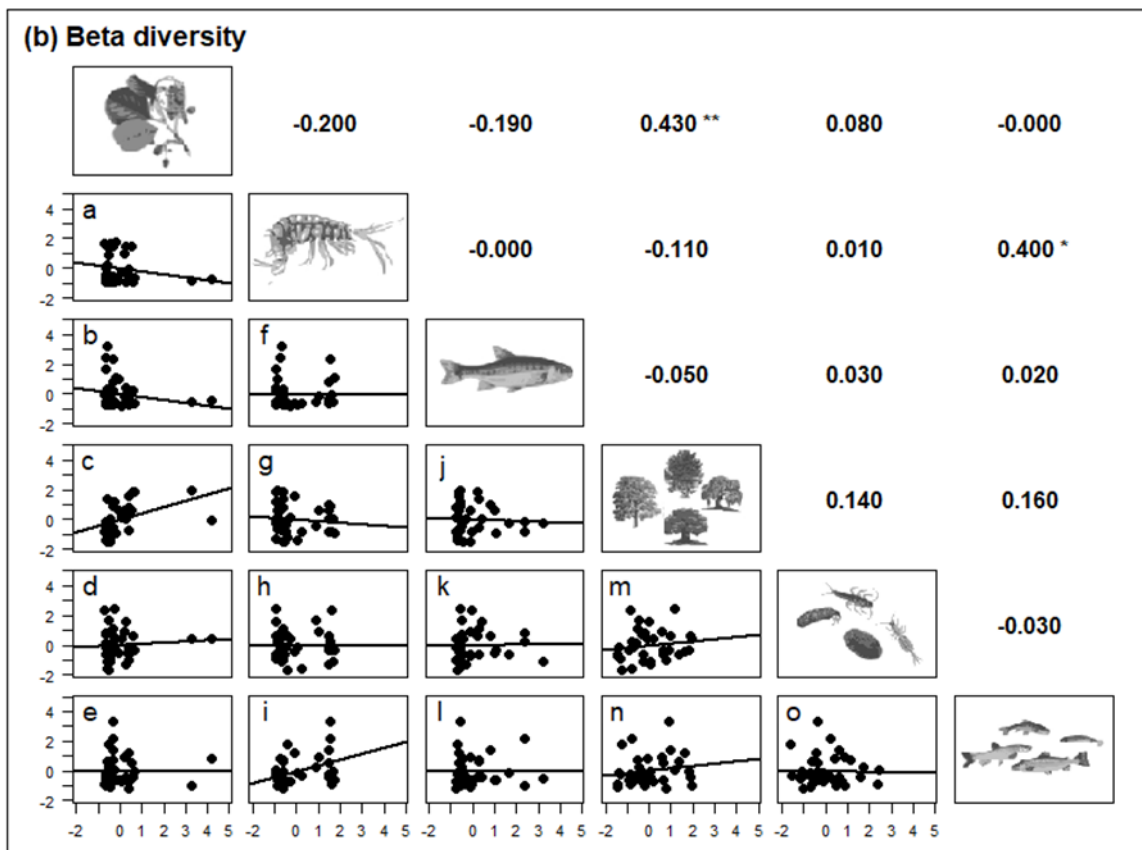
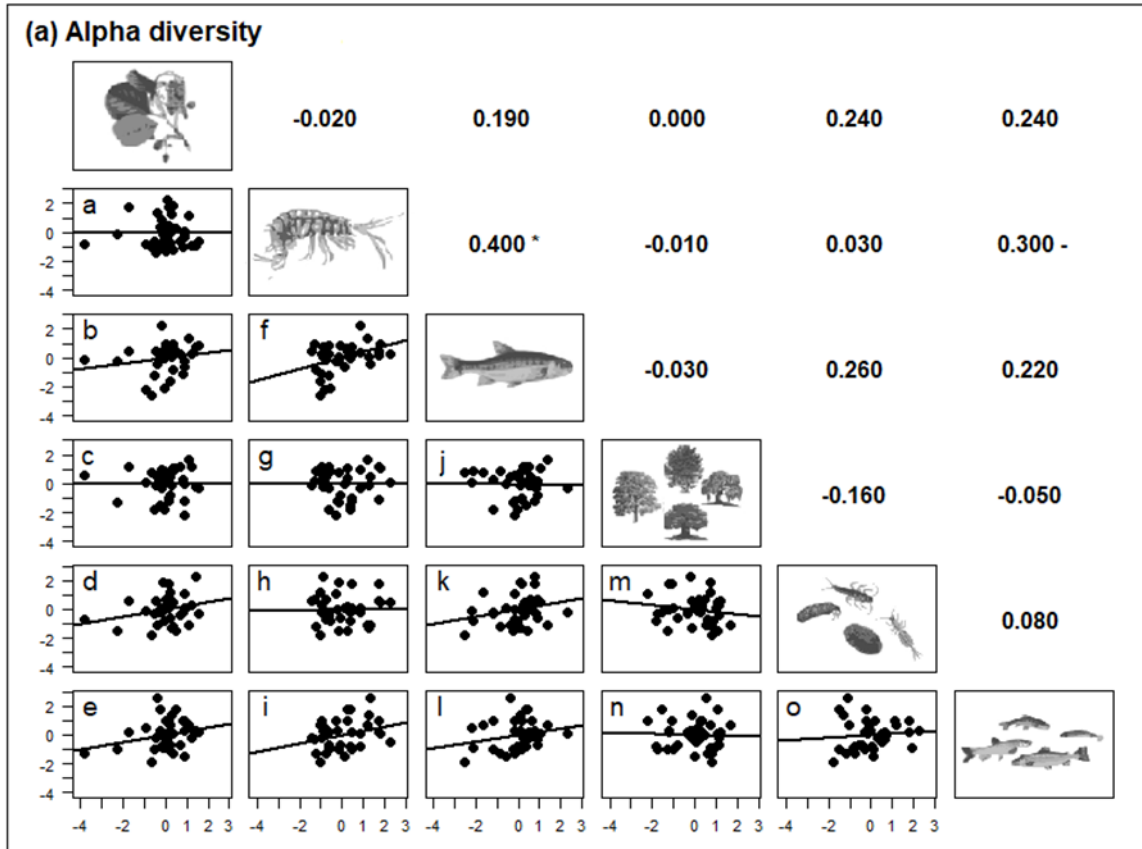


Figure I.S4. Figure S4. Pearson's correlogram based on (a) Shannon Entropy (α -diversity) and (b) Bray-Curtis dissimilarity uniqueness (β -diversity). In each panel, from top to bottom, the six considered variables are genomic diversity in *Alnus glutinosa*, *Gammarus sp.* and *Phoxinus phoxinus*, and species diversity in trees, invertebrates and fishes. The r value is indicated above the diagonal line. Two stars (**) indicates a strong significant correlation (p -value < 0.01). A star (*) indicates a significant correlation (p -value < 0.05). A dash (–) indicates an almost significant correlation ($0.05 < p$ -value < 0.10). Biplots are represented below the diagonal line. **(a, b, f)** genomic-genomic diversity correlations (GGDCs); **(m, n, o)** species-species diversity correlations (SSDCs); **(c, h, l)** species-genomic diversity correlations within trophic level (SGDCs within trophic levels); **(d, e, g, i, j, k)** species-genomic diversity correlation between trophic levels (SGDC between trophic levels). A line representing the linear relationship between the two variables was added in each plot to highlight the presence or absence of correlation.

Table I.S1. Sampling sites and environmental parameters. Site code is a unique six-letter code for each river, the three first letters indicated the river name and the three last letters last referred to the closest city (or village). The parameters we used in our linear models are displayed on a gray background.

Site code	Department	River	City	Longitude	Latitude	Altitude	River width	Fished area	Distance from outlet	Distance from source	Connectivity	Oxygen and temperature	Eutrophication	pH	PO ₄ ³⁻	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻ NO ₂ ⁻	Specific conductivity	Oxygen concentration	Oxygen saturation	Water temperature
ALOLac	Ariège (09)	Alors	Lacourt	1.1602310	42.9174486	595	5.00	439.05	558.12	8.14	1.73E-07	-0.08	-0.34	7.90	25.30	65.04	1043.68	279.21	9.34	117.15	14.20
ALSHer	Ariège (09)	Alses	Herm	1.6321128	42.9748515	407	5.50	431.00	528.13	10.89	1.16E-07	-2.57	0.85	7.95	26.66	64.62	770.19	475.20	8.22	108.95	15.85
ARASou	Ariège (09)	Arac	Soulan	1.2241560	42.9018239	509	16.50	631.00	562.08	25.40	1.69E-07	0.31	-0.98	8.42	16.84	97.54	568.00	175.13	9.78	123.16	14.77
ARBBar	Haute Garonne (31)	Arbas	Barat	0.9029600	43.0059013	395	6.00	575.40	531.36	6.34	2.01E-07	-0.14	-0.76	8.28	26.22	36.73	928.84	247.36	9.90	102.40	15.15
ARBPon	Haute Garonne (31)	Arbas	Castelbiague	0.9284836	43.0461854	339	11.00	574.50	523.52	14.30	2.15E-07	0.63	-0.71	8.31	28.60	34.97	1440.28	237.94	10.33	106.24	14.92
ARGSai	Ariège (09)	Arget	Bénac	1.5384692	42.9629323	472	7.50	351.12	536.57	18.79	1.11E-07	0.03	-1.67	8.18	20.97	50.34	846.32	103.30	9.64	121.20	14.90
ARIVar	Ariège (09)	Ariège	Vanhès	1.6283799	43.0475998	336	4.20	546.95	475.93	99.50	1.22E-07	-0.86	-1.27	8.14	24.72	67.22	379.00	141.13	9.52	124.13	16.40
ARNBom	Ariège (09)	Arnave	Bompas	1.6184253	42.8653479	492	5.00	620.99	543.82	13.02	1.07E-07	-1.12	-0.78	8.13	38.86	56.18	639.50	175.08	9.30	120.74	16.23
ARZBas	Ariège (09)	Arize	Durban-sur-Arize	1.4145000	43.0134010	397	7.50	510.23	546.97	22.30	1.31E-07	-0.90	0.38	8.00	43.76	38.09	1340.57	354.88	9.25	119.96	15.66
ARZMas	Ariège (09)	Arize	La Mas-d'Azil	1.3591782	43.0782544	293	5.00	278.98	526.59	42.69	1.46E-07	0.44	-0.83	8.06	22.32	38.92	1481.90	236.46	9.78	144.07	15.31
AUJBas	Ariège (09)	Ruisseau aujole	La bastide-de-Sérou	1.4239715	43.0165033	423	4.00	276.00	548.18	12.58	1.30E-07	-0.04	0.11	7.98	46.42	56.82	2227.29	255.21	9.51	140.33	15.43
BADCla	Hautes Pyrénées (65)	Baïse devant	Clarens	0.3967164	43.1598531	451	8.70	492.83	428.12	9.12	1.63E-07	0.54	0.36	7.89	80.31	90.25	1175.28	140.15	9.87	120.13	14.43
BAIBeg	Hautes Pyrénées (65)	Baïse	Bégole	0.3379942	43.1643145	432	6.00	404.80	428.90	12.38	1.57E-07	0.71	-1.69	7.83	12.39	55.25	646.25	131.76	10.02	122.08	14.58
BALSer	Ariège (09)	Ballouisière	Serres-sur-Arget	1.5067491	42.9813829	571	1.50	220.09	540.39	3.72	1.09E-07	-0.71	-1.38	7.73	14.80	72.35	1189.78	137.83	9.35	140.60	16.33
BASGal	Hautes Pyrénées (65)	Baïsole	Galan	0.4027352	43.2132718	361	5.50	386.50	418.60	14.66	9.81E-08	0.54	-0.01	7.84	82.14	56.36	974.38	125.30	9.94	121.01	14.65
BAUBau	Ariège (09)	Baup	Montjoie-en-Couserans	1.1958848	42.9943777	422	6.00	421.09	551.58	17.59	1.82E-07	-1.47	-0.80	8.18	7.08	69.06	1218.77	265.82	9.19	141.08	17.38
BELBet	Ariège (09)	Belloc	Betchat	1.0279916	43.0967561	315	3.00	254.70	522.58	9.68	2.16E-07	0.06	1.16	8.18	75.67	71.91	1874.65	301.52	9.56	116.62	14.45
BOGAud	Ariège (09)	Bouigane	Audressein	1.0046366	42.9252873	534	17.00	704.00	563.49	26.95	1.68E-07	1.41	-0.62	8.39	41.52	56.25	1055.00	181.52	10.17	121.26	13.58
CJEMon	Hautes Pyrénées (65)	Cier	Montléon-Magnoac	0.5288337	43.2524910	362	2.50	400.58	447.50	8.88	1.52E-07	-1.77	0.76	8.01	59.09	52.12	2086.76	321.84	9.04	113.37	16.54
COUSai	Ariège (09)	Countirou	Saint-Quentin-la-Tour	1.8995834	43.0378837	357	2.50	368.11	547.25	8.62	1.03E-07	0.00	2.81	8.19	36.82	44.43	16416.64	435.61	9.53	140.27	15.38
ESPSal	Haute Garonne (31)	Esponde	Saleich	0.9759638	43.0335075	383	4.00	265.00	525.64	0.05	2.15E-07	-0.79	2.08	7.68	49.38	61.44	5990.06	475.93	8.77	106.82	13.76
GERAsp	Haute Garonne (31)	Ger	Aspet	0.7988326	43.0038842	451	11.00	712.56	547.01	21.63	1.88E-07	2.70	-0.52	8.52	15.24	48.78	1403.27	302.66	10.71	125.70	12.64
GERPoi	Haute Garonne (31)	Ger	Pointis-Inard	0.8143001	43.0845985	356	20.50	631.38	527.97	40.45	2.21E-07	1.22	0.57	8.53	55.53	65.09	2071.18	287.33	10.49	127.60	14.97
GESBla	Haute Garonne (31)	Gesse	Blajan	0.6245895	43.2659501	321	5.50	448.85	545.15	24.64	1.43E-07	0.21	-0.01	8.27	54.23	49.97	1357.87	233.98	10.11	126.61	15.92
GEZSar	Hautes Pyrénées (65)	Geze	Saniac-Magnoac	0.5414226	43.3272043	256	3.00	389.55	433.97	13.18	1.39E-07	-0.48	1.08	8.30	82.36	53.30	2992.07	262.30	9.82	123.66	16.42
GIMGen	Haute Garonne (31)	Gimone	Gensac-de-Boulogne	0.5795278	43.2558387	347	3.00	421.29	490.26	4.15	6.35E-08	1.01	-0.39	8.32	46.76	43.48	729.00	223.93	10.11	121.91	14.23
GOUCas	Ariège (09)	Gouarege	Cazavet	1.0428611	43.0044808	438	6.00	402.75	533.55	2.52	2.03E-07	-0.50	0.36	7.97	15.15	56.73	1120.59	443.13	9.17	109.31	14.28
GRAMon	Hautes Pyrénées (65)	Grande Baïse	Montastruc	0.3459000	43.2196006	334	8.50	372.62	419.58	21.72	1.48E-07	1.50	-1.06	8.17	37.19	57.34	896.68	128.36	10.37	125.00	14.06
HERAig	Ariège (09)	Hers	Aiguillon	1.8995535	42.9239377	470	9.00	988.38	593.25	34.42	8.67E-08	3.65	-0.14	8.35	54.79	50.91	1442.14	207.77	10.94	151.39	12.35
JOBBlza	Haute Garonne (31)	Job	Izaut-de-l'hôtel	0.7516395	43.0192601	417	7.00	483.83	544.48	12.10	1.93E-07	0.79	0.47	8.38	31.34	50.19	1328.60	402.20	10.02	148.00	15.39
JUSMan	Haute Garonne (31)	Justale	Mane	0.9462705	43.0767587	315	4.50	407.18	518.07	10.08	2.26E-07	-1.79	2.28	8.26	64.47	51.24	3301.11	524.22	9.15	117.27	17.00
LACAla	Ariège (09)	Lachein	Alas	1.0383228	42.9521304	534	4.00	549.84	558.48	4.94	1.74E-07	3.55	-0.28	8.25	30.74	43.41	1177.93	294.39	10.86	123.48	11.29
LAVDur	Ariège (09)	Lavoir	Durban-sur-Arize	1.3376314	43.0189233	386	1.30	109.58	537.40	2.20	1.38E-07	0.50	0.43	8.01	39.08	82.06	1701.22	314.31	9.80	143.95	15.25
LENFab	Ariège (09)	Lens	Fabas	1.0457386	43.0975574	354	6.30	319.57	522.67	18.52	2.12E-07	-3.02	0.22	7.90	33.58	69.15	2209.69	308.13	8.40	109.31	17.19
LEZMou	Ariège (09)	Lez	Moullis	1.0854939	42.9583245	438	22.00	747.88	552.69	34.77	1.81E-07	1.23	-1.62	8.18	11.29	50.29	553.70	156.23	10.07	121.09	13.66
LOSEnc	Haute Garonne (31)	Lose	Encausse-les-Themes	0.7375201	43.0542969	379	6.50	466.28	539.81	4.99	2.02E-07	-0.59	0.31	8.23	52.75	42.30	3156.01	262.31	9.91	126.23	16.94
NER Sai	Haute Garonne (31)	Nere	Saint-Lary-Boujean	0.7228772	43.2293251	334	3.00	408.94	524.33	35.59	1.86E-07	-0.76	-1.14	8.38	31.88	51.94	1218.15	136.45	9.62	121.27	16.37
NESAné	Hautes Pyrénées (65)	Neste	Anères	0.4623010	43.0663986	491	14.00	728.28	574.53	72.73	1.72E-07	-0.51	-0.93	8.41	31.97	67.29	934.14	156.45	9.70	122.19	16.11
NOUMou	Haute Garonne (31)	Noue	Saint-Ignan	0.7063066	43.1526031	391	5.00	546.53	542.08	19.83	1.80E-07	-0.95	-0.81	8.19	24.24	47.48	2380.58	200.19	9.63	101.35	16.01
OURSar	Hautes Pyrénées (65)	Ourse	Sarp	0.5914000	43.0136986	466	10.00	564.00	577.75	23.19	1.64E-07	0.28	0.10	8.35	24.66	74.22	848.27	346.54	9.94	101.52	14.41
RAUMaz	Ariège (09)	Raunier	Mazères	1.6696681	43.2501290	236	4.00	307.23	486.38	11.10	1.37E-07	-0.75	4.11	7.94	39.46	90.21	30588.35	260.91	9.28	117.60	15.35
RIOCas	Haute Garonne (31)	Riouaris	Castelbiague	0.9281637	43.0906000	363	4.60	393.32	525.82	9.07	2.11E-07	0.14	0.31	8.20	33.52	78.33	3787.35	274.86	10.07	105.00	15.14
SALOUS	Ariège (09)	Salat	Oust	1.2117036	42.9061787	474	12.00	684.58	562.01	27.79	1.70E-07	-0.78	-1.09	8.30	20.70	45.21	557.90	213.22	9.37	121.66	15.79
SALTau	Ariège (09)	Salat	Taurignan	1.1114100	43.0279007	364	22.00	975.00	540.49	49.45	1.98E-07	-0.13	-0.44	8.46	41.48	76.28	680.59	193.66	10.21	107.78	16.11
SALUSau	Ariège (09)	Saurat	Saurat	1.5498853	42.8761895	629	8.00	552.79	551.99	12.18	1.03E-07	-0.19	0.31	8.37	22.98	155.63	649.61	281.82	9.66	123.05	15.44
SAVVil	Haute Garonne (31)	Save	Villeeneuve-Lécussan	0.4925740	43.1371994	468	4.00	405.58	536.76	13.80	1.68E-07	-0.06	-0.86	8.24	25.01	49.09	996.05	218.00	9.91	101.97	15.02
SIO Mon	Ariège (09)	Sios	Montgailhard	1.6251211	42.9427416	418	9.50	519.54	533.08	18.40	1.13E-07	-1.16	-0.02	8.17	51.13	56.55	674.98	250.41	9.34	122.57	16.47
TONPal	Haute Garonne (31)	Tounis	Palaminy	1.0700907	43.1901509	249	3.00	260.65	495.13	8.44	2.27E-07	-0.51	1.23	8.16	51.88	45.97	1690.91	444.62	9.60	98.12	15.85
TORTuz	Hautes Pyrénées (65)	Torte	Tuzaguet	0.4405610	43.0881996	536	4.25	342.39	576.80	5.61	1.67E-07	0.74	-0.20	8.17	40.63	65.87	5541.15	142.16	10.20	104.40	14.31
TOUFre	Ariège (09)	Touyre	Freychinadel	1.8104900	42.9026985	634	7.00	454.99	586.90	14.56	8.85E-08	2.46	0.05	8.34	63.42	47.72	594.00	227.76	10.39	123.85	12.21
VOlMon	Haute Garonne (31)	Volp	Montbéraud	1.1309806	43.1525902	288	7.50	371.20	500.87	35.32	2.04E-07	-0.75	1.33	8.26	65.29	97.14	1194.52	350.26	9.70	101.64	15.81

Table I.S2. Number of individuals sampled in each species for genomic analysis, genomic variability in each species and community variability in each species. For genomic variability, classic measures such as Fst were not possible in our case because of pooled data.

Site code	Number of individuals sampled and			Number of species sampled			Expected heterozygosity			Polymorphism percentage			
	<i>Alnus</i>	<i>Gammarus</i>	<i>Phoxinus</i>	Riparian	Benthic	Fish	<i>Alnus</i>	<i>Gammarus</i>	<i>Phoxinus</i>	<i>Alnus</i>	<i>Gammarus</i>	<i>Phoxinus</i>	
	<i>glutinosa</i>	<i>fossarum</i>	<i>dragarum</i>	Trees	Invertebrates		<i>glutinosa</i>	<i>fossarum</i>	<i>dragarum</i>	<i>glutinosa</i>	<i>fossarum</i>	<i>dragarum</i>	
ALOLac	15	31	NA		11	30	1	0.020	0.120	NA	58.958	71.483	NA
ALSHer	14	29	32	15	22	3	0.021	0.144	0.125	59.490	73.858	70.599	
ARASou	32	26	32	10	31	5	0.020	0.135	0.147	58.047	72.759	74.463	
ARBBar	21	NA	32	16	32	3	0.021	NA	0.121	60.147	NA	69.960	
ARBpon	NA	32	32	15	29	4	NA	0.152	0.151	NA	74.807	74.929	
ARGSai	19	32	NA	13	21	2	0.019	0.161	NA	58.578	75.660	NA	
ARIVar	NA	26	32	12	30	5	NA	0.170	0.122	NA	78.475	70.316	
ARNBom	26	32	NA	12	30	1	0.019	0.149	NA	57.617	75.165	NA	
ARZBas	19	32	32	14	28	5	0.020	0.158	0.078	59.153	76.769	63.179	
ARZMas	9	31	32	16	24	7	0.018	0.171	0.107	58.130	80.142	68.977	
AUJBas	18	32	32	16	20	4	0.021	0.153	0.063	60.652	77.130	60.343	
BADCla	16	NA	NA	11	33	4	0.020	NA	NA	60.135	NA	NA	
BAIBeg	25	NA	31	11	35	4	0.020	NA	0.129	58.881	NA	77.072	
BALSer	20	27	NA	13	23	1	0.021	0.147	NA	59.782	75.715	NA	
BASGal	14	NA	32	12	31	6	0.020	NA	0.148	58.732	81.840	76.157	
BAUBal	15	32	32	17	31	5	0.020	0.148	0.136	58.886	75.724	72.135	
BELBet	13	32	32	15	30	5	0.020	0.156	0.157	59.126	76.048	75.447	
BOGAud	32	23	32	20	29	3	0.020	0.124	0.142	59.113	71.755	73.318	
CIEMon	10	NA	31	17	30	4	0.018	NA	0.156	58.342	NA	78.297	
COUSai	NA	29	32	18	21	3	NA	0.126	0.149	NA	72.140	74.906	
ESPSal	25	29	32	9	16	2	0.019	0.134	0.142	57.826	73.356	72.648	
GERAsp	22	32	32	10	29	3	0.020	0.140	0.150	58.483	73.520	75.220	
GERPoi	30	32	32	18	25	5	0.020	0.109	0.176	58.894	70.997	79.410	
GESBla	33	NA	32	13	23	5	0.019	NA	0.147	58.290	NA	75.689	
GEZSar	12	NA	32	17	24	11	0.018	NA	0.133	57.428	NA	71.812	
GIMGen	28	NA	NA	16	35	1	0.018	NA	NA	56.974	NA	NA	
GOUCas	12	32	32	11	28	4	0.019	0.142	0.127	58.219	73.987	72.974	
GRAMon	12	NA	32	11	24	5	0.019	NA	0.135	57.687	NA	72.803	
HERAig	32	29	32	20	28	4	0.020	0.130	0.119	57.898	72.744	69.261	
JOBlza	17	31	32	15	35	4	0.018	0.144	0.136	57.186	73.193	72.243	
JUSMan	14	24	32	15	23	5	0.020	0.161	0.132	58.338	74.789	72.130	
LACAla	26	32	NA	16	30	2	0.021	0.162	NA	59.393	74.673	NA	
LAVDur	10	31	32	16	18	1	0.018	0.147	0.089	57.628	75.065	65.706	
LENFab	16	19	32	9	22	6	0.019	0.144	0.121	57.556	74.297	70.716	
LEZMou	14	30	32	14	32	3	0.020	0.125	0.109	59.428	70.602	68.423	
LOSEnc	17	NA	32	15	17	4	0.020	NA	0.113	59.070	NA	68.898	
NERSai	23	NA	30	12	15	6	0.021	NA	0.147	59.676	NA	74.931	
NESane	26	NA	32	19	27	4	0.020	NA	0.162	59.031	NA	77.402	
NOUMou	26	NA	32	20	20	7	0.020	NA	0.094	58.924	NA	66.738	
OURSar	22	NA	32	19	42	4	0.021	NA	0.147	59.610	NA	75.386	
RAUMaz	29	NA	31	9	18	10	0.020	NA	0.144	58.636	NA	74.161	
RIOCas	12	29	32	16	27	4	0.019	0.159	0.149	58.283	75.496	74.759	
SALOUS	29	20	32	13	33	4	0.020	0.165	0.151	58.225	76.978	74.749	
SALTau	32	30	32	16	30	4	0.019	0.157	0.160	57.651	75.259	75.752	
SAUSau	25	NA	32	15	31	2	0.021	NA	0.112	59.093	NA	68.402	
SAVVil	12	NA	32	12	31	4	0.019	NA	0.186	58.127	NA	80.897	
SIOMon	23	30	32	20	26	4	0.020	0.141	0.125	58.535	73.912	70.469	
TONPal	11	30	32	16	32	5	0.019	0.140	0.094	58.585	74.869	66.261	
TORTuz	20	NA	32	16	28	7	0.020	NA	0.194	58.405	NA	81.967	
TOUFre	10	NA	NA	7	28	3	0.019	NA	NA	58.496	NA	NA	
VOLMon	21	19	31	16	34	8	0.020	0.155	0.053	58.252	76.716	59.471	

Table I.S3. Total size and quality of our reference genomes. We included here total length (Mb), N percentage, CG content, the total number of sequences, the number of sequences longer than 100 kb, N50 (length of the median read), the shortest and the longest read. For *P. dragarum*, the Whole Genome Shotgun project has been deposited at DDBJ/ENA/GenBank under the accession JARPMJ000000000. The version described in this paper is version JARPMJ010000000.

	<i>Gammarus sp.</i>	<i>Phoxinus dragarum</i>
Total (Mb)	3916.1	968.1
% N	1.3879	0
% GC	41.1	39.14
Nb seq	10263562	10137
Nb seq>100kb	0	3100
N50 (kb)	0.99	128.19
shortest	100	13920
longest	79162	1089874

Table I.S4. Diversity estimates values. Shannon entropy (α -diversity) and Bray-Curtis dissimilarity uniqueness (β -diversity) estimates in each species and community for our 3 trophic levels (riparian trees, benthic macroinvertebrates and fish).

Site code	Genomic Shannon entropy			Species Shannon entropy			Genomic Bray-Curtis dissimilarity			Species Bray-Curtis dissimilarity		
	<i>Alnus</i>	<i>Gammarus</i>	<i>Phoxinus</i>	Riparian	Benthic	Fish	<i>Alnus</i>	<i>Gammarus</i>	<i>Phoxinus</i>	Riparian	Benthic	Fish
	<i>glutinosa</i>	<i>fossarum</i>	<i>dragarum</i>	Trees	Invertebrates		<i>glutinosa</i>	<i>fossarum</i>	<i>dragarum</i>	Trees	Invertebrates	Fish
ALOLac	0.315	0.034	NA	-0.629	0.787	-1.488	-0.529	-0.576	NA	-1.011	0.241	1.015
ALSHer	0.918	-0.008	0.114	0.992	-0.830	-0.951	-0.421	-0.597	-0.493	-1.184	-0.669	-1.040
ARASou	-0.218	-0.509	0.780	-2.149	0.526	1.021	0.430	-0.206	-0.611	1.658	-0.777	0.194
ARBBar	1.661	NA	-0.846	0.921	1.145	-0.359	-0.624	NA	-0.367	-0.490	-1.377	-0.710
ARBPon	NA	0.104	0.927	0.398	0.145	0.405	NA	-0.625	-0.634	2.093	0.245	-0.093
ARGSai	-0.354	0.092	NA	-1.231	-1.751	-1.390	-0.667	-0.713	NA	-0.824	1.163	1.458
ARIVar	NA	0.780	-0.402	-1.165	-1.299	-0.681	NA	-0.861	-0.695	2.101	-0.595	-1.003
ARNBom	-1.337	0.002	NA	-0.626	-0.826	-1.488	-0.277	-0.579	NA	-0.493	0.750	1.061
ARZBas	0.561	0.935	-1.781	0.881	1.322	0.735	-0.669	-0.838	1.484	-0.123	-0.637	-0.910
ARZMas	-1.005	2.116	0.280	0.245	0.390	0.636	1.006	-0.815	0.404	2.170	0.894	-0.599
AUJBas	1.557	2.015	-2.088	1.001	-0.429	-0.607	-0.661	-0.663	2.143	-0.143	1.413	-1.117
BADCla	1.022	NA	NA	-0.623	-0.148	0.044	-0.599	NA	NA	-0.590	-0.379	0.912
BAIBeg	0.166	NA	0.949	-1.136	1.900	0.299	-0.369	NA	2.758	-1.203	-0.274	1.223
BALSer	1.150	1.743	NA	-0.878	-0.616	-1.488	-0.657	-0.740	NA	-0.956	-1.079	0.951
BASGal	0.167	NA	0.740	-1.440	-0.234	1.733	-0.420	NA	-0.630	-1.123	-0.718	-0.464
BAUBal	0.625	1.119	-0.247	0.705	0.301	0.140	-0.531	-0.810	-0.785	-0.433	-0.364	-0.403
BELBet	-0.001	1.231	0.806	0.560	0.550	-0.144	-0.246	-0.831	-0.730	-1.021	-0.556	-0.400
BOGAud	0.624	0.668	0.619	0.116	0.216	-1.133	0.430	-0.647	-0.540	-1.038	-0.283	-0.742
CIEMon	-0.562	NA	1.110	1.370	1.111	0.357	0.583	NA	-0.139	-0.008	-0.904	-0.424
COUSai	NA	0.578	1.071	0.768	-0.207	-0.990	NA	-0.694	-0.310	0.049	0.610	0.750
ESPSal	-0.890	0.717	0.299	-1.738	-0.801	-0.521	-0.367	-0.819	-0.575	0.946	2.923	-0.638
GERAAsp	0.045	-0.281	0.877	-0.899	-0.448	-0.764	-0.578	-0.517	-0.706	-1.344	-1.476	0.618
GERPoi	0.420	-0.685	1.758	1.841	-0.360	0.732	0.183	0.818	0.071	0.876	-0.113	0.767
GESBla	-0.268	NA	0.792	-0.987	2.024	0.982	0.571	NA	-0.648	0.851	0.220	0.240
GEZSar	-1.129	NA	0.296	0.642	-0.884	2.661	-0.047	NA	-0.633	1.114	-0.151	2.838
GIMGen	-1.298	NA	NA	0.197	1.583	-1.488	-0.052	NA	NA	0.036	0.459	0.945
GOUCaz	-0.066	-0.078	0.500	-1.693	0.230	-0.712	-0.049	-0.623	0.400	-0.609	1.891	0.669
GRAMon	-0.701	NA	-0.799	-0.225	-0.306	0.247	-0.049	NA	0.575	0.941	-0.229	1.058
HERAig	-0.067	0.530	-0.805	1.326	-0.174	-0.014	0.429	-0.693	-0.300	0.760	-0.992	-1.258
JOBiza	-1.441	-0.618	-0.233	0.511	-0.024	1.065	-0.644	-0.097	-0.822	-1.498	-0.248	-0.964
JUSMan	-0.101	-0.747	-0.476	-0.700	-0.214	-0.488	-0.421	0.072	-0.781	-1.042	-1.185	-0.278
LACAla	1.217	-0.988	NA	0.825	-0.127	-0.764	-0.276	0.219	NA	-0.994	-1.417	1.122
LAVDur	-1.303	0.910	-0.638	0.937	-1.442	-1.488	0.587	-0.855	0.429	0.015	2.200	-0.269
LENFab	-1.075	0.641	-0.432	-1.148	0.434	0.445	-0.604	-0.440	-0.614	-0.416	0.931	-0.544
LEZMou	0.691	0.144	-1.226	1.181	-0.423	-0.582	-0.420	-0.612	0.111	1.439	-0.876	0.140
LOSEnc	0.302	NA	-1.008	0.182	0.727	-0.307	-0.647	NA	-0.214	-0.771	2.222	-0.983
NEFSai	1.175	NA	0.741	-0.136	-1.079	1.400	-0.515	NA	-0.322	0.169	-0.982	-0.033
NESAne	0.707	NA	0.039	0.330	2.205	0.264	-0.278	NA	-0.232	1.525	1.340	1.742
NOUMou	0.189	NA	-1.597	1.217	-1.180	1.704	-0.277	NA	0.874	-1.063	-0.887	-0.756
OURSar	0.995	NA	-0.039	1.268	0.672	0.234	-0.578	NA	-0.701	-0.209	0.604	-0.698
RAUMaz	0.271	NA	0.066	-1.444	-1.114	1.870	0.061	NA	-0.614	0.635	1.342	2.422
RIOCas	-0.382	-0.246	0.823	0.882	1.602	-0.593	-0.048	-0.568	-0.735	-0.752	0.389	-0.867
SALOUS	0.189	-0.004	0.387	-0.074	2.145	0.433	0.059	-0.337	-0.847	0.193	0.429	-1.239
SALTau	-0.586	-0.208	0.823	-0.241	0.068	0.316	0.427	-0.597	-0.743	0.987	-1.147	-1.514
SAUSau	0.900	NA	-0.582	-0.546	-1.160	-0.739	-0.371	NA	-0.438	-0.127	-0.394	0.424
SAVWil	-0.494	NA	1.610	-0.556	-0.612	0.463	-0.048	NA	0.199	0.348	0.329	-0.203
SIOMon	0.552	0.005	-0.567	1.341	-0.170	-0.477	-0.518	-0.620	-0.210	-1.353	-0.238	-1.199
TONPal	-0.089	1.385	-1.637	0.009	0.599	0.023	0.245	-0.774	0.766	1.165	-0.457	-0.477
TORTuz	0.026	NA	1.551	1.028	-1.638	-0.069	-0.658	NA	0.166	1.187	-0.481	-0.889
TOUFre	-0.222	NA	NA	-1.713	-0.713	-1.266	0.582	NA	NA	0.053	-0.064	1.265
VOLMon	-0.025	1.562	-2.350	0.402	-0.214	1.012	-0.629	-0.589	2.989	-0.084	-0.352	-0.463

Table I.S5. Effect of each environmental parameter on each diversity component.

Shannon entropy (α -diversity) and Bray-Curtis dissimilarity uniqueness (β -diversity) were estimated in each species (*A. glutinosa*, *Gammarus* sp. and *P. Phoxinus*) and community (riparian trees, benthic macroinvertebrates and fishes) for our 3 trophic levels. If the effect is significant, the value is in bold. Two stars (**) indicates a strong significant effect (p-value < 0.01). A star (*) indicates a significant effect (p-value < 0.05). A point (.) indicates an almost significant effect (0.05 < p-value < 0.10).

α-diversity	River width	Connectivity	Oxygen and temperature	Eutrophication	pH	Altitude	Distance from outlet	East-west gradient	Multiple R squared
<i>A. glutinosa</i>	0.108	0.146	-0.038	-0.004	-0.079	0.335	0.001	0.044	0.130
<i>G. sp</i>	-0.113	-0.091	0.129	-0.390.	-0.574*	-0.876*	0.504	0.138	0.515
<i>P. dragarum</i>	0.062	-0.048	0.098	0.211	0.111	0.217	-0.091	-0.366	0.165
Riparian trees	0.015	-0.179	0.031	-0.002	0.109	-0.419.	0.464.	-0.231	0.176
Macro-invertebrates	0.152	-0.070	-0.079	-0.082	-0.111	-0.221	0.313	-0.434*	0.167
Fish	0.184	-0.147	-0.123	0.115	0.110	-0.442*	0.015	-0.406*	0.417

β-diversity	River width	Connectivity	Oxygen and temperature	Eutrophication	pH	Altitude	Distance from outlet	East-west gradient	Multiple R squared
<i>A. glutinosa</i>	0.126	-0.180	0.277.	0.023	0.089	-0.369.	0.036	0.164	0.212
<i>G. sp</i>	0.143	-0.131	-0.039	0.447.	0.454.	0.596.	-0.497	-0.550	0.470
<i>P. dragarum</i>	-0.049	0.108	0.196	-0.196	-0.373.	-0.016	-0.120	0.076	0.160
Riparian trees	0.299.	-0.165	0.113	-0.170	-0.058	-0.599**	0.226	0.011	0.238
Macro-invertebrates	0.076	-0.186	-0.049	0.195	-0.502*	-0.296	0.576*	-0.268	0.258
Fish	-0.065	-0.122	0.142	0.245	0.174	0.387.	-0.510*	-0.017	0.248

CHAPITRE II – GENETIC DIVERSITY AFFECTS ECOSYSTEM FUNCTIONS ACROSS TROPHIC LEVELS AS MUCH AS SPECIES DIVERSITY, BUT IN AN OPPOSITE DIRECTION

Laura Fargeot^{*1,2}, Camille Poesy¹, Maxim Lefort¹, Jérôme G. Prunier¹, Madoka Krick¹, Charlotte Veysière², Rik Verdonck¹, Murielle Richard¹, Delphine Legrand¹, Géraldine Loot² & Simon Blanchet^{*1}

¹ Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale, UAR 2029, 2 route du CNRS, F-09200 Moulis, France; laura.fargeot@live.fr (L.F.); camille.poesy@orange.fr (C.P.); maxim.lft@gmail.com (M.L.); jerome.prunier@gmail.com (J. G. P.); madokakrick@gmail.com (M.K.); murielle.richard@sete.cnrs.fr (M.R.); simon.blanchet@sete.cnrs.fr (S.B.); delphine.legrand@sete.cnrs.fr (D.L.)

² Université Paul Sabatier (UPS) Toulouse III, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse CEDEX 4, France; geraldine.loot@univ-tlse3.fr (G.L.); veysiere.charlotte@gmail.com (C.V.)

* Correspondence:

Laura Fargeot, laura.fargeot@live.fr

Simon Blanchet, simon.blanchet@sete.cnrs.fr

Manuscript in preparation for submission in **Ecology Letters**.

Key words: Intraspecific and interspecific BEF, decomposition, biomass, trophic chains, genetic, river ecosystems, fish, macroinvertebrate shredders, riparian trees, *Alnus*, *Gammarus*, *Phoxinus*

RÉSUMÉ

Bien que la diversité intra- et interspécifique soient toutes deux importantes pour le fonctionnement des écosystèmes, leurs effets relatifs sur les processus écosystémiques sont encore mal compris, en particulier dans des conditions naturelles où plusieurs niveaux trophiques interagissent. Ici, en nous concentrant sur les écosystèmes fluviaux et sur trois niveaux trophiques (arbres de la ripisylve, macroinvertébrés décomposeurs et poissons), nous évaluons l'importance relative de la diversité spécifique et génétique pour le fonctionnement de l'écosystème dans un contexte naturel. Pour ce faire, nous avons estimé la diversité des espèces, la diversité génétique (SNP) et plusieurs fonctions de l'écosystème au sein de chaque niveau trophique et dans une large gamme d'habitats. Nous avons ensuite utilisé la modélisation causale (analyse de voies) pour tester la force des relations entre la biodiversité et les fonctions écosystémiques (BEFs) à travers les niveaux trophiques et les facettes de biodiversité spécifique et génétique. Pour l'ensemble des fonctions écosystémiques et des niveaux trophiques, nous avons constaté que la diversité génétique impactait positivement les fonctions écosystémiques, tandis que la diversité spécifique les impactait négativement. Toutefois, ces effets antagonistes de la diversité des espèces et de la diversité génétique n'ont été observés que lorsque les BEFs étaient mesurés à l'intérieur des niveaux trophiques, et non entre les niveaux trophiques. De plus, les tailles d'effet des BEFs génétiques et spécifiques étaient similaires, ce qui étend les conclusions des travaux antérieurs à un contexte sauvage et multi-trophique. Les effets antagonistes de la diversité résultent probablement d'une complémentarité négative (et d'une compétition) entre les espèces et d'une complémentarité positive (et d'une facilitation) entre les génotypes au sein des espèces. Nos résultats démontrent l'importance de la diversité spécifique et génétique pour soutenir les fonctions écosystémiques dans la nature, mais aussi la difficulté de prédire les conséquences des pertes de biodiversité sur la dynamique des écosystèmes.

ABSTRACT

Although intra- and interspecific diversity are both important for ecosystem functioning, their relative effects on ecosystem processes are yet poorly understood. This is particularly true under natural conditions in which multiple trophic levels are interacting. Here, focusing on river ecosystems and on three trophic levels (riparian trees, macroinvertebrate shredders and fishes), we assess the relative importance of species and genetic diversity for ecosystem functioning under a natural setting. To do so, we estimated species diversity, genetic (SNP) diversity and several ecosystem functions within each trophic level and across a wide habitat range. We then used causal modeling to test the strength of the relationships between biodiversity and ecosystem functions (BEF) across trophic levels and species and genetic diversity facets. Across all ecosystem functions and trophic levels, we found that genetic diversity was positively and consistently associated with ecosystem functions, whereas species diversity was negatively associated. However, these antagonist effects of species and genetic diversity were only observed when BEFs were measured within trophic levels, not across trophic levels. Moreover, genetic and species BEFs effect sizes were similar, extending conclusions from previous works in a wild and multi-trophic context. The antagonist diversity effects likely result from negative complementarity (and competition) among species and positive complementarity (and facilitation) among genotypes within species. Our findings demonstrate the importance of both species and genetic diversity for ecosystem functions, but also the difficulty to predict the consequences of biodiversity loss on ecosystem dynamics.

1. **Introduction**

Diversity *within* and *among* species are both important to ensure and stabilize ecosystem functions (Cardinale *et al.* 2012; Raffard *et al.* 2021; Wan *et al.* 2022). Studies on the link between biodiversity and ecosystem functioning (BEFs) have primarily focused on the interspecific (species) facet of biodiversity, including taxonomic, functional or phylogenetic diversity of species assemblages (Loreau *et al.* 2001; Hooper *et al.* 2005; Balvanera *et al.* 2006; Cardinale *et al.* 2011). However, in the last decade, the intraspecific (genetic) facet of biodiversity, including phenotypic, functional and genetic diversity, has also been proved to have substantial effects on ecosystems functions (e.g., Hughes & Stachowicz 2004; Reusch *et al.* 2005; Crutsinger 2006; Raffard *et al.* 2021; Prunier *et al.* 2023). Recent meta-analyses showed that genetic diversity of plant and animal populations affects community structure and ecosystem functions, and that the shape of the relationship between genetic diversity and ecosystem functions is often similar (a saturating relationship) to that reported for species diversity (Raffard *et al.* 2019; Wan *et al.* 2022). These recent findings participated in fostering the conservation of genetic diversity as the 4th global target of the COP15 for 2030 (Official Convention on Biological Diversity Press Release - 19 December 2022, Montreal, Ainsworth 2022).

Although natural assemblages encompass both intra- and interspecific diversity, most studies investigating BEFs are considering each biodiversity facet separately (but see, Fridley & Grime 2010; Hargrave *et al.* 2011; Prieto *et al.* 2015). This obviously limits our ability to tease apart the relative role of genetic and species diversity on ecosystem functions, which impedes general predictions regarding the consequence of biodiversity loss as a whole on the rate of ecosystem functions and their stability (Blanchet *et al.* 2023). For instance, we are currently unaware whether genetic diversity may functionally compensate for the loss of a species in a (species-poor) ecosystem, whether the loss of genetic diversity within a few species in a assemblage is as detrimental for ecosystem functions as the loss of a single species, or whether the combined loss of genetic and species diversity may have non-additive consequences (more than the sum of each of them) on ecosystem functions and stability. Although these scenarios of biodiversity loss are realistic and ongoing, our knowledge on the relative role of genetic vs. species diversity for ecosystem functions are yet too scarce for providing reliable predictions.

Studies having investigated the combined effects of genetic and species diversity on ecosystem functioning have all been conducted experimentally by manipulating the genetic and species diversity of assemblages under (semi-)controlled conditions (e.g., Fridley & Grime

2010; Hargrave *et al.* 2011; Prieto *et al.* 2015). As a consequence, our understanding of genetic and species BEFs primarily relies on simplified ecosystems that often lack variation in other factors (including spatial scales, abiotic factors, invasions...), and in which feedbacks between ecosystem functions and biodiversity are limited (Duffy *et al.* 2017; Prunier *et al.* 2023). Knowledge acquired from BEFs at the interspecific level (species BEFs) strongly suggests that environmental variation can either reduce or enhance the effects of biodiversity on ecosystem functions, hence generating large variance in the strength and sign of BEFs measured in the wild (Duffy *et al.* 2017; van der Plas 2019; Hagan *et al.* 2021). Whether environmental variation blurs, or on the contrary enhances the relative influence of genetic and species diversity on ecosystem functions has up to our knowledge never been tackled. We therefore need further realistic (field-based) BEFs studies embracing the whole diversity of life forms (from genes to species) to generate insightful knowledge for informing future mechanistic and predictive models.

BEFs studies are often considering a single trophic level, whereas there is accumulating evidence that biodiversity measured at a given trophic level can propagate to other trophic levels, generating “multi-trophic BEFs” (Lefcheck *et al.* 2015; Soliveres *et al.* 2016; Seibold *et al.* 2018; Eisenhauer *et al.* 2019). For instance, studies testing the joint effects of genetic and species diversity on ecosystem functions have mostly considered the effect of the diversity of primary producers on its own productivity (“*within-trophic level BEFs*”, e.g., Fridley & Grime 2010; Hargrave *et al.* 2011; Prieto *et al.* 2015), hence concentrating our knowledge at a single (basal) trophic level. However, genetic and species diversity measured at a given trophic level likely have (differential) propagating effects on ecosystem at other trophic levels (hereafter, “*between-trophic level BEFs*”). For instance, a genetically-diversified predator population may allow sustaining a prey community with a larger biomass than a genetically-poor predator population, because the former better share resources, hence allowing prey coexistence (strong *between-trophic level BEFs* due to genetic diversity, e.g., Chen *et al.* 2019; Raffard *et al.* 2021). Alternatively, a species-rich community of primary producers likely favors a higher primary productivity, as species in rich communities better share the basal resources than in species-poor communities (strong *within-trophic level BEFs* due to species diversity, Hooper *et al.* 2005; Balvanera *et al.* 2006). Similarly, the relative impacts of genetic and species diversity is likely to be inconsistent across trophic levels. For instance, the relative impact of genetic diversity on ecosystem functions should increase with increasing trophic levels, because the higher the trophic level, the lower the species richness and the higher the chance for genetic diversity to have strong effects on functions (Reusch *et al.* 2005; Blanchet *et al.* 2020). Studies considering genetic and species BEFs under a realistic

multitrophic scenario may hence provide insightful information that has so far rarely been revealed, even theoretically.

Here, we conducted a field study to test the relative importance of genetic and species diversity for ecosystem functions across multiple trophic levels in a natural and heterogeneous landscape. We focused on three trophic levels from riverine freshwater ecosystems, namely riparian trees (primary producers), macroinvertebrate shredders (primary consumers) and fishes (secondary consumers). For each trophic level, we quantified species diversity of each community, as well as the genetic diversity of a single target and dominant species (*Alnus glutinosa*, *Gammarus* sp. and *Phoxinus phoxinus* respectively). We further estimated multiple ecosystem functions, including the decomposition of riparian tree leaves, the biomasses of each target species and the total biomasses of each community within each trophic level. We relied on causal path analysis taking into account the direct and indirect (through biodiversity) effects of the environment on ecosystem functions (Duffy *et al.* 2016; Lefcheck 2016) to test i) whether BEFs measured at the genetic level (*genetic* BEFs) are similar in strength and direction than BEFs measured at the species level (*species* BEFs); and ii) whether *within-trophic level* BEFs are similar in effect sizes than *between-trophic level* BEFs. We further tested whether the relative effects of species and genetic diversity on ecosystem functions (within or between trophic levels) were consistent across the three trophic levels (primary producers, primary consumers or secondary consumers), so as to generalize findings along the trophic chain.

2. Materials and methods

2.1. River sites and trophic chain

We sampled 52 rivers in Southern France, located within the Adour-Garonne watershed, and distributed along an east-west gradient in the Pyrenees Mountains (**Figure II.1a**). We acquired data on species diversity, genetic diversity and ecosystem functions at three trophic levels (primary producer, primary consumer and secondary consumer) (**Figure II.1b**). Riparian trees (57 species in our sampled area) are primary producers providing organic matter in the form of falling leaves as a food source for decomposers. We selected *Alnus glutinosa* for the acquisition of genetic data due to its abundance (it is the dominant species in most sites) and its functional relevance, because its roots serve as a shelter for many aquatic species and its implication for nitrogen fixing (Milner & Gloyne-Phillips 2005; Khan *et al.* 2022). Macroinvertebrate shredders (>101 genus in total in our sampled area) are primary consumers using leaves as resources, and converting them into accessible organic matter for other species (Wallace & Webster 1996). We focused on the most abundant Gammarid species in

the sampling area for genetic data acquisition, referred to as *Gammarus* sp. This species has not yet been formally named although we know it is phylogenetically distinct from its closest relative, *Gammarus fossarum* (Carnevali 2022; Piscart, unpublished data). This species is particularly efficient for decomposing tree leaves and can utilize alder roots both as food source and shelter (Cummins 1974; Macneil *et al.* 2007). Fishes (20 species in total in our sampled area) are secondary consumers feeding on invertebrates (amongst others). We used *Phoxinus phoxinus* as the fish target species as it is an abundant and important predator strongly impacting invertebrate communities (Miró *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2021).

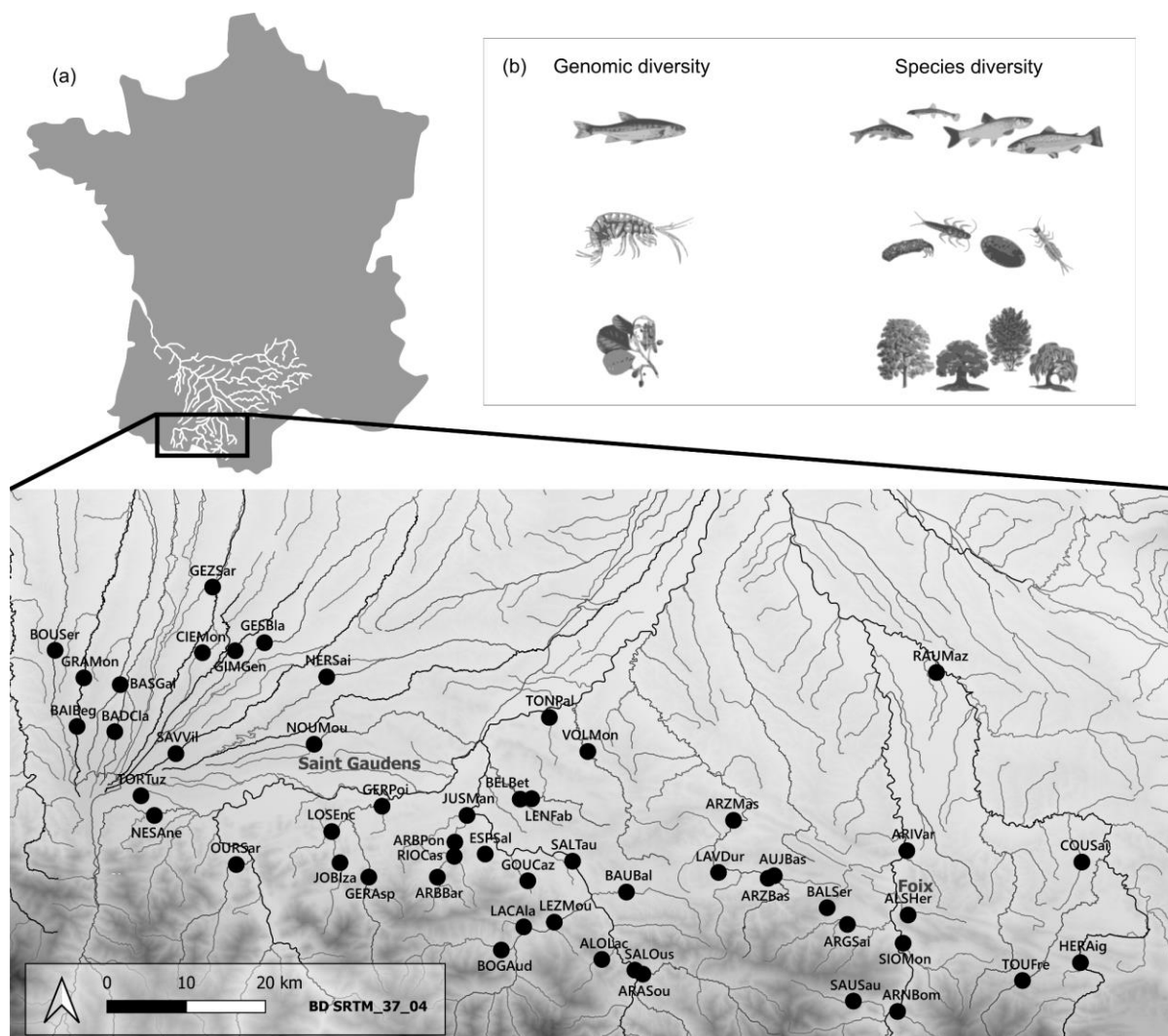


Figure II.1. Location of river sites and trophic chain. (a) Distribution of the 52 sampling sites (black dots) spanning the East-West gradient in the foothills of the Pyrenees Mountains. Each site is denoted by a six-letter code, with the three first letters indicating the river name and the three last letters indicating the closest city or village. **(b)** Our study focused on a tri-trophic food chain commonly found in mountain rivers, consisting of riparian trees, macroinvertebrate shredders and fishes (from bottom to top). Within each trophic level, we measured two facets of biodiversity: genetic diversity in a single target species within each

trophic level (specifically *Phoxinus dragarum*, *Gammarus* sp. and *Alnus glutinosa*), and species diversity from communities.

2.2. Biodiversity estimations

2.2.1. Species datasets

In each site, we collected data on the occurrence and abundance of all species within each trophic level, at one occasion for trees (July-August 2021) and two occasions for invertebrates (July and November 2020) and fishes (mid-July to mid-August 2020 and 2021), to obtain accurate biodiversity estimates. We identified tree species along a 200m transect of each river bank, excluding trees with trunk smaller than 2cm in diameter and more than one meter away from the river bank (except if at least one branch overhanged the river). The abundances of trees were estimated as the total number of individuals in each species and in each site. For invertebrates, we identified shredders at the genus level (or to the family level for some groups such as chironomids) sampled from two types of standardized traps installed in four favorable micro-habitats per site: natural coconut brushes (15*5.5 cm, bristles length 7.5cm) recovered after 1.5 month of colonization and litter bags (15*11 cm, 0.8 cm mesh size) filled with senescent alder leaves from each site recovered after 9 days of colonization (see section 2.3). We calculated abundances of each invertebrate genus by summing the total number of individuals per genus found in the four coco brushes and the four litter bags, and we averaged the abundances over the two sampling occasions to get a single estimate per genus and per site. For fishes, we collected all specimens using a single-pass approach of electrofishing over a mean area of $\sim 469.9 \text{ m}^2$ ($\pm 174 \text{ m}^2$) per site. Then we anesthetized, identified and counted each of them to the species level. We calculated abundances of fish species as the number of individuals per species and per m^2 , and we averaged the abundances over the two sampling occasions to get a single estimate per species and per site.

2.2.2. Genetic datasets

In each of the 52 sites, we collected fresh tissue on up to 32 individuals for each of the three target species. We collected fresh young leaves of *A. glutinosa* in May 2020, specimens of *Gammarus* sp. in alder roots in February 2020, and a small piece of pelvic fin for *P. dragarum* during the 2020 electric-fishing session. Leaves were dried using silica beads whereas invertebrates and fish tissue samples were stored individually into a 1.5mL tube containing 96% ethanol. The DNA of these samples was extracted using the DNeasy® 96 Plant Kit (QIAGEN) from dry chips for plants, the DNeasy® Blood and tissue kit (QIAGEN) from the head of each individual for invertebrates and a salt-extraction protocol from finclips for fishes (Aljanabi & Martinez 1997). For each specimen, DNA concentrations were measured using

Qubit 3.0 fluorometer (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). Sequencing was performed based on pools of DNA (“pool-seq” approach, Schlötterer *et al.* 2014; Abrams *et al.* 2021) from each population and each species, with equimolar contribution from each individual per pool. For *Gammarus sp.*, we obtained a ~600 bp mitochondrial sequence from the COI mitochondrial gene from each individual to ensure identification (Folmer *et al.* 1994; Hou *et al.* 2007). We created one DNA pool per site and species (128 pools: 52 pools in *A. glutinosa*, 47 pools in *Gammarus sp.* and 44 pools in *P. dragarum*) and performed Double-digest restriction-site associated DNA (ddRAD-seq) for *A. glutinosa* and *Gammarus sp.* (respectively, PstI/MseI and PstI/HindIII enzymes) and Normalized Genotyping-by-Sequencing (nGBS) for *P. dragarum* (single digest protocol with MseI). Library preparation and pool-sequencing on an Illumina NovaSeq (2x150 pb) were externalized to LGC Genomics (Biosearch Technologies, Berlin, Germany). Data processing was performed according to De Kort *et al.* 2018), except that sequence alignment was performed on reference genomes. The genome of *A. glutinosa* was already available (Griesmann *et al.* 2018), whereas we built reference genomes from Illumina short-read sequencing and PacBio long read sequencing for *Gammarus sp.* (available upon request) and *P. dragarum* (accession number on DDBJ/ENA/GenBank: JARPMJ000000000), respectively. SNP calling was performed following De Kort *et al.* 2018) with (i) filtering of raw sequencing files; (ii) indexing of reference genomes; (iii) aligning sequencing files to the reference; (iv) filtering for unpaired and badly/non-mapped reads; (v) assembling all reads information in a single file per population and per species and (vi) SNP allelic frequencies calculation. The total number retrieved for each species was 583 862 for *A. glutinosa*, 331 728 for *Gammarus sp.* and 414 213 for *P. dragarum* (Fargeot *et al.* 2023).

2.2.3. Species and genetic diversity estimates

We calculated α -diversity within each site using the Shannon entropy from the “hillR” R package (Chao *et al.* 2014) for both species and genetic diversity. The Shannon entropy is a metric of evenness that takes into account the distribution of -allele or species- abundances in each site (Gaggiotti *et al.* 2018) by weighting each species/allele by its proportional abundance ($q = 1$). We chose this index because evenness effects are known to be more important than the species richness for ecosystem functioning in rivers (Lecerf & Richardson 2010). Results were similar when using the Simpson’s diversity index ($q = 2$, results not shown).

2.3. Ecosystem functioning measurement

In each site, we measured seven ecosystem functions. We collected data on the biomass of all species from each trophic level (hereafter “total biomass”), the biomass of each target species and the decomposition rate of *Alnus* leaves. Biomasses were estimated during community sampling (see section 2.2.1.). For riparian trees, we used the trunk diameter of each single tree as a proxy of individual tree biomass, and we summed the trunk diameter of all trees found along the transect that we divided by the length of the transect to estimate the total tree biomass of each site per meter of river bank. The same approach was used to estimate *A. glutinosa* biomass in each site. For macroinvertebrate shredders, we estimated the total invertebrate biomass by drying all individuals found in the standardized traps (see section 2.1) for 24h at 60°C before weighing them (10⁻⁴g). The same procedure was used to estimate the biomass of *Gammarus* sp., except that we sorted all specimens belonging to *Gammarus* sp. from each site. For both estimates (total shredders biomass and *Gammarus* sp. biomass) we averaged biomasses over the two sampling occasions. For fishes, (fresh) total fish biomass was estimated as the total weight of all individuals (to the nearest 0.01g) caught in a site, whereas *P. dragarum* biomass was the weight of all *P. dragarum* specimens identified in a site. As for invertebrates, fish biomasses were averaged across the two sampling sessions.

For the decomposition rate, we quantified leaf mass loss in litter bags placed in four micro-habitats per site on two occasions (July and November 2020). We first collected and dried senescent leaves during fall 2019 from each site and from five *Alnus* trees to limit genotypic effects on decomposition (Crutsinger *et al.* 2009). Litter bags were 15cm x 11cm pockets of plastic wire mesh (coarse mesh size of 8 mm to permit invertebrate colonization,) in which we introduced 4g of dried leaves before closing the bags with staples and iron wires. We installed three bags per micro-habitats (12 per site) that we removed sequentially after ~9 days, ~18 days and ~27 days respectively to estimate decomposition rate. Bags were then brought back to the laboratory, the remaining leaves were cleaned, dried and weighed to estimate leaf mass loss over time. Decomposition rate was estimated as the slope of leaf mass loss over time (obtained from a linear model) that we averaged across replicates and sampling sessions (Wider & Lang 1982).

2.4. Environmental data

A major challenge for inferring BEFs from empirical data is to take into account the direct and indirect (through biodiversity) effects of environmental factors on ecosystem functions (Duffy *et al.* 2016, 2017; Prunier *et al.* 2023). Failing to take into account environmental contributions may lead to overestimated and/or artifactual BEFs, especially if the same environmental factor is affecting simultaneously biodiversity and ecosystem function (Grace *et al.* 2016; Duffy *et al.* 2017). For each site, we therefore informed thirteen variables related to river topography and physico-chemical characteristics that likely influence biodiversity and ecosystem processes in rivers (Altermatt 2013; Blanchet *et al.* 2020), and that we integrated into our causal modeling framework (see section 2.5.1). *River width* of the river bed (m) was averaged from five measurements on each site; *connectivity* was calculated as the “closeness centrality” (*i.e.*, the inverse of the sum of the distances of a node to all other nodes along the shortest paths possible, Newman 2010) using QGIS and the “RiverDist” R package (Tyers & Tyers 2017); *altitude* (m), *distance from the outlet* (m) and *east-west gradient* (position along the Pyrenees chain) were estimated using QGIS; *oxygen concentration* (mg.L⁻¹), *oxygen saturation* (%), *water temperature* (°C), *specific conductivity* (μS/cm) and *pH* were measured (and averaged) in summers 2020 and 2021 using a multi-parameter probe (Aqua TROLL 500, In-Situ Inc.); concentration in $NO_3^-+NO_2^-$, NH_4^+ and PO_4^{3-} were estimated (and averaged) during summers 2020 and 2021 from a filtered water volume (100mL) using the Alpkem Flow Solution Iv Autoanalyzer (OI Analytical, externalized to Laboratoire Ecologie Fonctionnelle et Environnement at University Paul Sabatier, Toulouse, France).

A Principal Component Analysis combining all thirteen variables was performed using the R package “ade4” (Dray & Dufour 2007), and coordinates of each site on the two first axes (38.03% of the total variance, see **Table II.1**) were used as synthetic environmental variables. We kept only these two first axes to avoid collinearity and over-parameterization of subsequent models. The first axis is defined by a strong contribution of (in decreasing order) oxygen concentration and altitude (**Table II.1**). Sites with positive values along this axis were characterized by a high concentration of oxygen and a high altitude (*i.e.*, the more upstream sites). The second axis is defined by a strong contribution of east-west gradient and connectivity (**Table II.1**). Sites with positive values along this axis are western sites that are strongly connected to other sites.

Table II.1. Characteristics of the two first principal components identified by the Principal Component Analysis (PCA) ran on the thirteen environmental variables. The part of the total environmental variance (%) and the contribution of each variable on each component are shown. The variables that contributed significantly to the axis are shown in bold.

	Component 1	Component 2
Part of total Variance (%)	21.66	16.37
River width	0.596	0.320
Connectivity	-0.155	0.646
Altitude	0.648	-0.385
Distance from outlet	0.528	-0.331
East-west gradient	0.105	-0.795
Oxygen concentration	0.738	0.343
Oxygen saturation	0.266	-0.509
Water temperature	-0.594	-0.012
Specific conductivity	-0.463	-0.045
pH	0.573	0.398
Concentration in NO ₃ ⁺ NO ₂	-0.369	-0.286
Concentration in NH ₄ ⁺	-0.019	-0.207
Concentration in PO ₄ ³⁻	-0.279	0.236
Global characteristic	Low altitude, poorly oxygenated site - High altitude, highly oxygenated sites	Poorly connected east site - Highly connected west site

2.5. Statistical analyses

2.5.1. BEF relationships

For quantifying the strength and significance of association between biodiversity estimates and ecosystem functions (BEFs), we performed piecewise Structural Path Models (pSEM) using the “piecewiseSEM” package (Duffy *et al.* 2016; Lefcheck 2016). pSEM allows modeling direct and indirect causal relationships among a set of response variables and predictors (Shipley 2009; Lefcheck 2016). Further, pSEM uses local estimation of each linear structured equation separately (*i.e.*, parameters are estimated from a series of independent models forming a general causal), which allows the inclusion of a large number of parameters despite restricted sample sizes (Shipley 2009). We ran a pSEM for each ecosystem function separately (*i.e.*, seven pSEMs, see an example in **Figure II.2**). In each pSEM, the ecosystem function was the dependent variable while the six biodiversity estimates (species and genetic diversity estimated for each trophic level) and two synthetic environmental variables were the predictors. In each model, environmental predictors were also assumed to explain each biodiversity estimate (indirect effects of environmental variables through their influence on biodiversity, see **Figure II.2**).

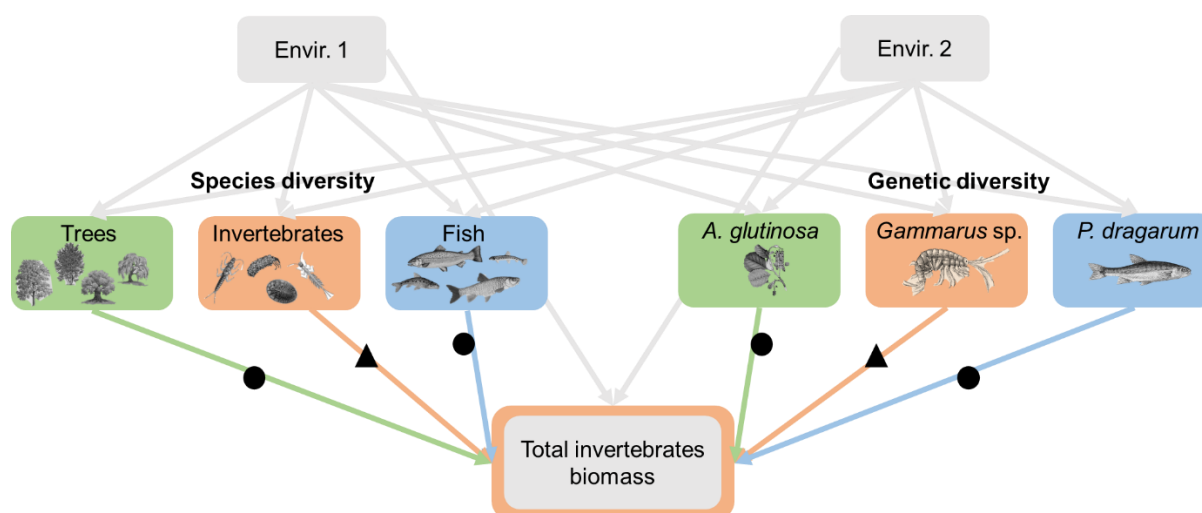


Figure II.2. Example of one of our seven piecewise models to quantify the relationship between (species and genetic) diversity and ecosystem functioning. We focused on seven ecosystem functions that we explained with genetic and species diversity at three trophic levels (green for primary producer, orange for primary consumer and blue for secondary consumer). Each relationship between biodiversity and ecosystem functioning ($n = 6$ values by models, 7 ecosystem functions, i.e., $n = 42$ values in total) were measured at the same trophic level (triangles) or at another trophic level (dots).

For each function, we retrieved the standardized estimates associated with the direct effect of each biodiversity estimate (six per function) on the function (coloured arrows in **Figure II.2**), which informs both the strength and the sign of each BEF. To ease comparison, we calculated a standardized effect size for each BEF by applying the Fisher's Z transformation (Zr, Rosenberg 2000; Nakagawa & Cuthill 2007) to the standardized estimates. Our seven measures of ecosystem functioning were not correlated with each other, so this did not bias our results (**Figure II.S1**).

2.5.2. Signs and strength of all types of BEFs.

We used a linear model to test simultaneously (i) whether the strength and sign of *genetic*-BEFs are similar to that of *species*-BEFs, and (ii) whether *within-trophic level* BEFs are similar in effect sizes than *between-trophic level* BEFs. In this model, Zr (sign and strength of each BEF, $n=42$) was the dependent variable, and the predictors were the diversity facets on which biodiversity is measured (genetic or species diversity) and the type of BEFs (within-trophic or between trophic levels, triangles vs. dots in **Figure II.2**). We also included the resulting two-term two-term interaction to test whether the relative effects of genetic and species diversity on functions is similar between *within-trophic level* and *between-trophic level* BEFs.

We finally ran an additional linear model similar to the previous one, except that we added as a fixed effect the trophic level at which biodiversity is measured to estimate BEFs (primary producers, primary consumers or secondary consumers) as well as all interaction terms. Interaction terms permit testing whether major conclusions were consistent across the trophic levels (which would be indicated by non-significant interaction terms), and hence generalizing (or not) findings along the trophic chain. Models we ran using the `lm` function from the “bases” R package and significance of fixed effect was determined using type III ANOVA (function `Anova` from the “car” R package, $\alpha=0.05$).

3. Results

We found a significant interaction term between the facet at which biodiversity is measured (genetic or species diversity) and whether the BEFs have been measured within- or between trophic levels (**Table II.2**).

Table II.2. ANOVA table for the linear model. This model aims at testing the impact of biodiversity facets (species vs genetic) and trophic association (within vs between trophic levels) in the strength of the link between biodiversity and ecosystem functioning.

	Sum Sq	Df	F value	P(>F)
(Intercept)	0.02561	1	0.5613	0.458343
Biodiversity facet	0.01793	1	0.393	0.53448
Trophic association	0.2419	1	5.302	0.026871 *
Biodiversity facet:Trophic association	0.38026	1	8.3344	0.006384 **
Residuals	1.73375	38		

This interaction term indicates (i) that -overall- *within-trophic levels* BEFs were negative when considering species diversity ($Z_{r_{\text{Within}^* \text{Species}}} = -0.185$, 95% CI [-0.343, -0.027]), whereas *within-trophic levels* BEFs were positive when considering genetic diversity ($Z_{r_{\text{Within}^* \text{Genetic}}} = 0.168$, 95% CI [0.010, 0.326], see **Figure II.3a**), and (ii) that this pattern was not observed for *between-trophic levels* BEFs, in which case an opposite tendency (though not significant) was observed (**Figure II.3a**). This shows that species and genetic diversity have opposite effects on ecosystem functions when considering *within-trophic level* BEFs; species diversity has -on average- a negative influence on ecosystem functions, whereas genetic diversity has a positive influence, but only when the impact of biodiversity on functions is measured within the same trophic level.

When including the trophic level at which biodiversity is measured (primary producers, primary consumers or secondary consumers), we did not find neither significant interaction terms between trophic levels and other fixed effects nor an additive effect of trophic levels (see **Table II.S1**). This indicates that our main findings were consistent across trophic levels, *i.e.*, the negative effects and positive effects of species and genetic diversity respectively on functions statistically hold true for all trophic levels (**Figure II.3b**).

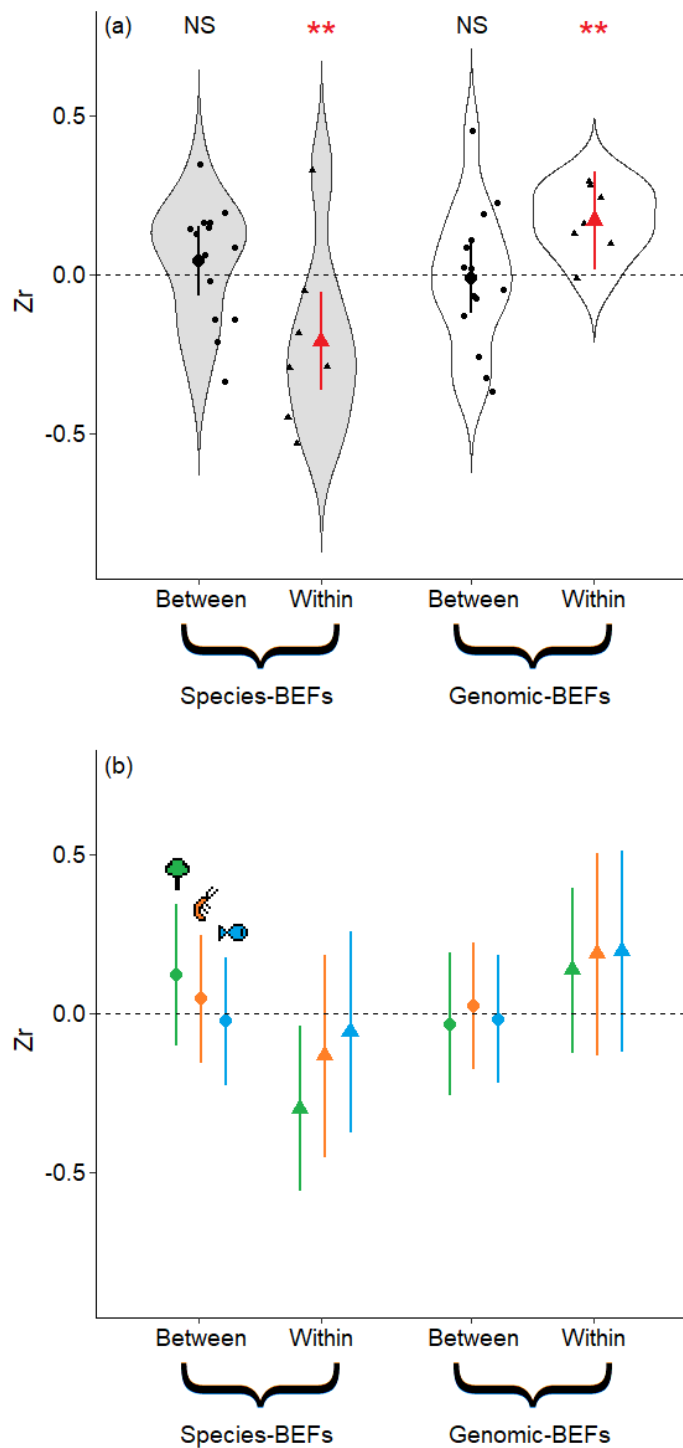


Figure II.3. Relationship between diversity and ecosystem functioning (BEF relationship). We focused on seven ecosystem functions that we explained with species and genetic diversity (shown respectively in gray and white, $n = 21$) measured at the same trophic level (triangles, $n = 7$) or at another trophic level (dots, $n = 14$). Red lines and stars indicate relationships that are significantly different from zero (p -value < 0.001). **(a)** The effect of species and genetic diversity on ecosystem functions within and between trophic levels. **(b)** The trophic level considered does not impact the strength of BEF relationship (green for primary producer, orange for primary consumer and blue for secondary consumer).

4. Discussion

We provide here one of the first empirical evidence that the effect sizes of genetic and species diversity on multi-trophic ecosystem functions are of similar magnitude in river ecosystems, but in opposite directions. We indeed demonstrated that -for BEFs measured within the same trophic level- the effects of species diversity on ecological functions were moderately negative on average, whereas the effects of genetic diversity were moderately positive. This later finding implies an antagonist effect of the genetic and species components of diversity in modulating ecological functions at the same trophic level. This antagonist effect was not identified for BEFs measured across trophic levels (e.g., the effect of predator diversity on the biomass of their resources), as in these cases neither the impacts of genetic diversity nor species diversity on functions were (in average) different from zero. These conclusions hold true across three trophic levels (plants, invertebrates and fish), indicating that the relative effect of genetic and species diversity on ecosystem functioning is not reliant on a specific trophic level.

Our study confirms a conclusion from a previous meta-analysis demonstrating that genetic and species diversity modulates ecological functions with a similar magnitude (Raffard *et al.* 2019), as well as the few experimental studies having manipulated both the genetic and species components of biodiversity under controlled conditions (e.g., Hargrave *et al.* 2011; Prieto *et al.* 2015; Jiang *et al.* 2022). Indeed, the absolute effect sizes measured *within-trophic levels* of genetic and species diversity on functions were similar in magnitude one to the other ($|Zr| = 0.168$ and 0.185 for genetic and species diversity effects respectively), and slightly higher than the effect sizes reported by Raffard *et al.* ($|lnRR| = 0.132$ and 0.134 for genetic and species diversity effects respectively, Raffard *et al.* 2019) and those reported more generally for species BEFs ($|Zr| = 0.101$, Balvanera *et al.* 2006). The range of variation in effect size estimates was also the same for genetic and species BEFs, ranging from low (null) values to high ($|Zr| > 0.4$) absolute values (see the height of boxplots in **Figure II.2**), as expected for BEFs measured under natural conditions (Hagan *et al.* 2021). These two findings demonstrate under natural field conditions that the effects of genetic and species components of biodiversity on ecological functions are comparable. However, our study goes two steps further as (i) it extends the conclusion made by Raffard *et al.* (2019) to multiple trophic levels and (ii) it demonstrates that the effect sizes of genetic and species BEFs are actually of opposite direction. As pointed out by Raffard *et al.* (2019), the vast majority (91% of 23 reviewed studies by 2019, see also Chen *et al.* 2019) of studies investigating the effects of genetic diversity on ecological functions have been held on primary producers, and all of them were

experimentally-based, which is also the case for studies having manipulated jointly genetic and species diversity (see e.g., Hargrave *et al.* 2011; Prieto *et al.* 2015; Hahn *et al.* 2017, but see Fridley & Grime 2010). This strikingly limits generalization that can be made, and our findings break this limitation down by providing a strong support for broadening the conclusion that genetic and species diversity have both a similar role predicting ecosystem functions in the wild.

More strikingly, our results unambiguously demonstrate that, although the absolute effect sizes of genetic and species BEFs are of similar magnitude, the sign of their effects are opposite; for *within-trophic level* BEFs, species diversity reduces (in average) the rate of ecosystem functions while genetic diversity increases the rate of the same functions. For instance, high fish species diversity reduces the productivity (biomass) of *Phoxinus phoxinus*, whereas its own genetic diversity increases its productivity (**Table II.S2**). These antagonist effects of genetic and species diversity on ecological functions parallel previous experimental findings on plants (Hahn *et al.* 2017; Hazard *et al.* 2017; Tang *et al.* 2022). Understanding the mechanisms sustaining these antagonist effects are now an essential step forward. Here, species BEFs were in average negative (see **Table II.S2** for individual estimates), which is contradictory to the many studies having reported positive effects of species biodiversity on ecosystem functioning (Loreau & Hector 2001; Cardinale *et al.* 2007, 2012; Loreau 2010; Poisot *et al.* 2013; Woods *et al.* 2020), although not surprising (Thébault & Loreau 2005; Hagan *et al.* 2021; Dee *et al.* 2023). The net effect of species biodiversity on ecosystem functioning results from the combined effects of both negative factors arising from antagonistic interactions such as negative complementarity or selection effect, and positive factors arising from beneficial interactions such as niche complementarity or facilitation (Loreau & Hector 2001; Loreau 2010; Jousset *et al.* 2011; Tilman *et al.* 2014; Wang *et al.* 2021). It is likely that in our case, the net effect of interspecific biotic interactions mostly results from negative complementarity among species, whereas contrastingly the net effect of intraspecific biotic interactions results from facilitative interactions and/or improved niche complementarity with increased genetic diversity. Intraspecific competition is thought to be stronger than interspecific competition (Connell 1983; Schoener 1983), and we may therefore have expected intraspecific interactions to lead more frequently to negative complementarity (and hence negative genetic BEFs) than do interspecific interactions. As we observe the inverse, we can hypothesize that genetic diversity is essential for increasing niche complementarity within species and hence reducing the pervasive effects of intraspecific interactions (Hughes *et al.* 2008; Prunier *et al.* 2023). Given the empirical nature of our study, we are yet unable to tease apart underlying mechanisms. We anticipate that theoretical approaches modeling simultaneously the genetic

and species components of biodiversity would be extremely useful for revealing the biological mechanisms that could lead to such repeatable patterns.

These antagonist effects were observed only for BEFs measured *within* trophic level, not for those measured *between* (across) trophic levels. As *between-trophic level* BEFs were overall not different from zero, this suggests that biodiversity measured at a trophic level has limited impact on ecosystem functions measured at another trophic level. For example, the biomass of *P. dragarum* was primarily influenced by genetic and species diversity in fishes, rather than diversity measured at another trophic level (**Figure II.S2**). When looking more closely to the distribution of effect sizes for *between-trophic level* BEFs (**Figure II.3**), this result is actually not contradictory to previous studies demonstrating that species or genetic diversity significantly alter functions of adjacent trophic levels (e.g., Konishi *et al.* 2001; Lefcheck *et al.* 2015; Schuldt *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2021). Indeed, for both genetic and species estimates of biodiversity, there was a large variation in effect sizes for *between-trophic level* BEFs that ranged from strongly negative to strongly positive. This suggests that biodiversity effects transcending trophic levels are more variable in their sign than within-trophic level BEFs that are more constrained. This large variance in the sign of effect sizes for *between-trophic level* BEFs is particularly expected under natural conditions in which interactions involve multiple prey and predator species, fostering co-adaptation among communities from different trophic levels (Poisot *et al.* 2013; Aubree *et al.* 2020). In such complex ecosystems, trophic complementarity between two trophic levels (i.e., the originality of a species based on the identity of the species it interacts with) is a stronger determinant of ecosystem functions than complementarity measured at either one of the two trophic levels (Poisot *et al.* 2013). Quantifying trophic complementarity among our three target species (and communities) using stable isotope analyses or gut content analyses for instance would be extremely valuable to assess whether this complexity can better explain the links between biodiversity and ecosystem functioning between trophic levels than diversity measured at either one of the trophic level (DeLong 2010; Aubree *et al.* 2020).

The empirical patterns we revealed here were all extremely consistent across the three trophic levels we investigated, hence generalizing our findings. BEFs were not particularly stronger at a specific trophic level (**Figure II.S2**) and the relative effects of genetic vs. species diversity did not depend upon the trophic level at which the function was estimated. We could have expected a stronger top-down regulation (i.e., biodiversity of predators has more effects than biodiversity of resources) of ecosystem functions since previous studies showed that biodiversity loss should have greater consequences for multi-functionality when it occurs at

higher trophic levels (Lefcheck *et al.* 2015, but see Balvanera *et al.* 2006). For instance, increased genetic diversity within a predatory fish species has experimentally been shown to indirectly increase the rate of litter decomposition by increasing the diversity of shredders (Raffard *et al.* 2021). Similarly, we could have expected that the relative effects of genetic and species diversity on functions vary among trophic levels, and in particular that the relative importance of genetic diversity would have been higher for species-poor trophic levels (i.e., fish community in our case) because of a “compensatory effect”. We did not evidence these potential trophic-level dependencies, and rather found extremely consistent patterns, which from a broader perspective reveals the importance of incorporating both multi-trophic and multi-faceted approaches for predicting the global consequences of biodiversity loss for the dynamics of natural ecosystems.

To conclude, we found for the first time that the genetic (intraspecific) and species (interspecific) facets of biodiversity are both important drivers of ecosystem functioning in a natural and multi-trophic context. In the wild, these two facets of biodiversity can, as expected, generate low to moderately high impact on ecosystem functions measured across three trophic levels, and they can generate impacts of opposite direction. This clearly demonstrates the importance for managers of developing integrative conservation plans spanning the entire diversity of life (from genes to species). For instance, genetic diversity loss often precedes species loss, and our results suggest that -in mountain streams- losing genes may actually be more detrimental for the performance of ecosystem functioning than losing species; as such it appears essential to maintain populations with high levels of genetic diversity in these ecosystems. Future studies should (i) extend these findings to other ecosystems and by quantifying natural genetic variation in more than a single species per trophic level, (ii) generate theoretical predictions regarding the biotic mechanisms that likely explain the antagonist effects of genetic and species diversity on function we revealed, and (iii) use a broader integrative approach for estimating biodiversity across facets (*inclusive* biodiversity) by using either a trait-based approach (see for instance Start & Gilbert 2019) or a genetic-based approach as recently proposed by Blanchet *et al.* (2023) and Loreau *et al.* (2023).

AUTHOR CONTRIBUTION

Laura Fargeot: Conceptualization (Supporting); Methodology (Equal); Software (Equal); Validation (Equal); Formal analysis (Lead); Investigation (Lead); Data curation (Lead); Writing - original draft (Lead); Writing - review & editing (Equal); Visualization (Lead); Supervision (Equal); Project administration (Lead). **Camille Poesy:** Methodology (Equal); Validation (Equal); Investigation (Lead); Data curation (Supporting); Supervision (Equal); Project administration (Supporting). **Maxim Lefort:** Methodology (Supporting); Investigation (Lead); Data curation (Supporting); Supervision (Equal); Project administration (Supporting). **Jérôme G. Prunier:** Methodology (Supporting); Software (Equal); Formal analysis (Supporting); Investigation (Supporting); Resources (Equal); Data curation (Supporting); Writing - original draft (Supporting); Writing - review & editing (Supporting). **Madoka Krick:** Methodology (Supporting); Investigation (Equal). **Charlotte Veysière:** Methodology (Supporting); Investigation (Equal). **Rik Verdonck:** Methodology (Supporting); Investigation (Equal). **Murielle Richard:** Methodology (Supporting); Investigation (Supporting); Writing - review & editing (Supporting). **Delphine Legrand:** Validation (Equal); Writing - review & editing (Equal); Visualization (Supporting). **Géraldine Loot:** Validation (Equal); Investigation (Supporting); Writing - review & editing (Supporting); Visualization (Supporting). **Simon Blanchet:** Conceptualization (Lead); Methodology (Lead); Software (Supporting); Validation (Equal); Formal analysis (Supporting); Investigation (Lead); Resources (Equal); Data curation (Supporting); Writing - original draft (Supporting); Writing - review & editing (Lead); Visualization (Lead); Supervision (Lead); Project administration (Lead); Funding acquisition (Lead).

REFERENCES

- Abrams, A.N., McDaneld, T.G., Keele, J.W., Chitko-McKown, C.G., Kuehn, L.A. & Gonda, M.G. (2021). Evaluating Accuracy of DNA Pool Construction Based on White Blood Cell Counts. *Front. Genet.*, 12, 635846.
- Ainsworth, D. (2022). Nations Adopt Four Goals, 23 Targets for 2030 In Landmark UN Biodiversity Agreement. *Official Convention on Biological Diversity (CBD) Press Release - 19 December 2022, Montreal.*
- Aljanabi, S.M. & Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR- based techniques. *Nucleic Acids Research*, 25, 4692–4693.
- Altermatt, F. (2013). Diversity in riverine metacommunities: a network perspective. *Aquat Ecol*, 47, 365–377.
- Aubree, F., David, P., Jarne, P., Loreau, M., Mouquet, N. & Calcagno, V. (2020). How community adaptation affects biodiversity–ecosystem functioning relationships. *Ecol Lett*, 23, 1263–1275.
- Balvanera, P., Pfisterer, A.B., Buchmann, N., He, J.-S., Nakashizuka, T., Raffaelli, D., *et al.* (2006). Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and

- services: Biodiversity and ecosystem functioning/services. *Ecology Letters*, 9, 1146–1156.
- Blanchet, S., Fargeot, L. & Raffard, A. (2023). Phylogenetically-conserved candidate genes unify biodiversity–ecosystem function relationships and eco-evolutionary dynamics across biological scales. *Molecular Ecology*, mec.17043.
- Blanchet, S., Prunier, J.G., Paz-Vinas, I., Saint-Pé, K., Rey, O., Raffard, A., *et al.* (2020). A river runs through it: The causes, consequences, and management of intraspecific diversity in river networks. *Evol Appl*, 13, 1195–1213.
- Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., *et al.* (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486, 59–67.
- Cardinale, B.J., Matulich, K.L., Hooper, D.U., Byrnes, J.E., Duffy, E., Gamfeldt, L., *et al.* (2011). The functional role of producer diversity in ecosystems. *American Journal of Botany*, 98, 572–592.
- Cardinale, B.J., Wright, J.P., Cadotte, M.W., Carroll, I.T., Hector, A., Srivastava, D.S., *et al.* (2007). Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 104, 18123–18128.
- Carnevali, M. (2022). Etude phylogénétique des populations de *Gammarus* (sp.) du piedmont Pyrénéen. *Master Thesis - Université Paul Sabatier*.
- Chao, A., Chiu, C.-H. & Jost, L. (2014). Unifying Species Diversity, Phylogenetic Diversity, Functional Diversity, and Related Similarity and Differentiation Measures Through Hill Numbers. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 45, 297–324.
- Chen, C., Chen, H.Y.H., Chen, X. & Huang, Z. (2019). Meta-analysis shows positive effects of plant diversity on microbial biomass and respiration. *Nat Commun*, 10, 1332.
- Connell, J.H. (1983). Interpreting the Results of Field Experiments: Effects of Indirect Interactions. *Oikos*, 41, 290.
- Crutsinger, G.M. (2006). Plant Genotypic Diversity Predicts Community Structure and Governs an Ecosystem Process. *Science*, 313, 966–968.
- Crutsinger, G.M., Sanders, N.J. & Classen, A.T. (2009). Comparing intra- and inter-specific effects on litter decomposition in an old-field ecosystem. *Basic and Applied Ecology*, 10, 535–543.
- Cummins, K.W. (1974). Structure and Function of Stream Ecosystems. *BioScience*, 24, 631–641.
- De Kort, H., Prunier, J.G., Tessier, M., Turlure, C., Baguette, M. & Stevens, V.M. (2018). Interacting grassland species under threat of multiple global change drivers. *J Biogeogr*, 45, 2133–2145.
- Dee, L.E., Ferraro, P.J., Severen, C.N., Kimmel, K.A., Borer, E.T., Byrnes, J.E.K., *et al.* (2023). Clarifying the effect of biodiversity on productivity in natural ecosystems with longitudinal data and methods for causal inference. *Nat Commun*, 14, 2607.
- Delong, M.D. (2010). Food webs and the Upper Mississippi River: contributions to our understanding of ecosystem function in large rivers. *Hydrobiologia*, 640, 89–101.
- Dray, S. & Dufour, A.-B. (2007). The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *J. Stat. Soft.*, 22.
- Duffy, J.E., Godwin, C.M. & Cardinale, B.J. (2017). Biodiversity effects in the wild are common and as strong as key drivers of productivity. *Nature*, 549, 261–264.
- Duffy, J.E., Lefcheck, J.S., Stuart-Smith, R.D., Navarrete, S.A. & Edgar, G.J. (2016). Biodiversity enhances reef fish biomass and resistance to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113, 6230–6235.
- Eisenhauer, N., Schielzeth, H., Barnes, A.D., Barry, K.E., Bonn, A., Brose, U., *et al.* (2019). A multitrophic perspective on biodiversity–ecosystem functioning research. In: *Advances in Ecological Research*. Elsevier, pp. 1–54.

- Fargeot, L., Poesy, C., Lefort, M., Prunier, J.G., Krick, M., Veyssière, C., *et al.* (2023). Genomic and species diversity patterns across multiple trophic levels in riverscapes. *Oikos*, e100015.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.
- Fridley, J.D. & Grime, J.P. (2010). Community and ecosystem effects of intraspecific genetic diversity in grassland microcosms of varying species diversity. *Ecology*, 91, 2272–2283.
- Gaggiotti, O.E., Chao, A., Peres-Neto, P., Chiu, C., Edwards, C., Fortin, M., *et al.* (2018). Diversity from genes to ecosystems: A unifying framework to study variation across biological metrics and scales. *Evol Appl*, 11, 1176–1193.
- Grace, J.B., Anderson, T.M., Seabloom, E.W., Borer, E.T., Adler, P.B., Harpole, W.S., *et al.* (2016). Integrative modelling reveals mechanisms linking productivity and plant species richness. *Nature*, 529, 390–393.
- Griesmann, M., Chang, Y., Liu, X., Song, Y., Haberer, G., Crook, M.B., *et al.* (2018). Phylogenomics reveals multiple losses of nitrogen-fixing root nodule symbiosis. *Science*, 361, eaat1743.
- Hagan, J.G., Vanschoenwinkel, B. & Gamfeldt, L. (2021). We should not necessarily expect positive relationships between biodiversity and ecosystem functioning in observational field data. *Ecology Letters*, 24, 2537–2548.
- Hahn, C.Z., Niklaus, P.A., Bruelheide, H., Michalski, S.G., Shi, M., Yang, X., *et al.* (2017). Opposing intraspecific vs. interspecific diversity effects on herbivory and growth in subtropical experimental tree assemblages. *Journal of Plant Ecology*, 10, 242–251.
- Hargrave, C.W., Hambright, K.D. & Weider, L.J. (2011). Variation in resource consumption across a gradient of increasing intra- and interspecific richness. *Ecology*, 92, 1226–1235.
- Hazard, C., Kruitbos, L., Davidson, H., Taylor, A.F.S. & Johnson, D. (2017). Contrasting effects of intra- and interspecific identity and richness of ectomycorrhizal fungi on host plants, nutrient retention and multifunctionality. *New Phytol*, 213, 852–863.
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., *et al.* (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75, 3–35.
- Hou, Z., Fu, J. & Li, S. (2007). A molecular phylogeny of the genus *Gammarus* (Crustacea: Amphipoda) based on mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45, 596–611.
- Hughes, A.R., Inouye, B.D., Johnson, M.T.J., Underwood, N. & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity: Ecological effects of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11, 609–623.
- Hughes, A.R. & Stachowicz, J.J. (2004). Genetic diversity enhances the resistance of a seagrass ecosystem to disturbance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101, 8998–9002.
- Jiang, M., He, L., Fan, B., Wang, T., Yang, N., Liu, Y., *et al.* (2022). Intraspecific more than interspecific diversity plays an important role on Inner Mongolia grassland ecosystem functions: A microcosm experiment. *Science of The Total Environment*, 826, 154134.
- Jousset, A., Schmid, B., Scheu, S. & Eisenhauer, N. (2011). Genotypic richness and dissimilarity opposingly affect ecosystem functioning: Genotypic diversity and ecosystem functioning. *Ecology Letters*, 14, 537–545.
- Khan, N., Jhariya, M.K., Banerjee, A., Meena, R.S., Raj, A. & Yadav, S.K. (2022). Riparian conservation and restoration for ecological sustainability. In: *Natural Resources Conservation and Advances for Sustainability*. Elsevier, pp. 195–216.

- Konishi, M., Nakano, S. & Iwata, T. (2001). Trophic cascading effects of predatory fish on leaf litter processing in a Japanese stream: Predator impact on decomposition processes. *Ecological Research*, 16, 415–422.
- Lecerf, A. & Richardson, J.S. (2010). Biodiversity-ecosystem function research: Insights gained from streams. *River Res. Applic.*, 26, 45–54.
- Lefcheck, J.S. (2016). piecewiseSEM: Piecewise structural equation modelling in R for ecology, evolution, and systematics. *Methods Ecol Evol*, 7, 573–579.
- Lefcheck, J.S., Byrnes, J.E.K., Isbell, F., Gamfeldt, L., Griffin, J.N., Eisenhauer, N., *et al.* (2015). Biodiversity enhances ecosystem multifunctionality across trophic levels and habitats. *Nat Commun*, 6, 6936.
- Loreau, M. (2010). Linking biodiversity and ecosystems: towards a unifying ecological theory. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 365, 49–60.
- Loreau, M. & Hector, A. (2001). Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, 412, 72–76.
- Loreau, M., Jarne, P. & Martiny, J.B.H. (2023). Opportunities to advance the synthesis of ecology and evolution. *Ecology Letters*, ele.14175.
- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., *et al.* (2001). Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current Knowledge and Future Challenges. *Science*, 294, 804–808.
- Macneil, C., Dick, J.T.A. & Elwood, R.W. (2007). The trophic ecology of freshwater *gammarus* spp. (crustacea:amphipoda): problems and perspectives concerning the functional feeding group concept. *Biological Reviews*, 72, 349–364.
- Milner, A.M. & Gloyne-Phillips, I.T. (2005). The role of riparian vegetation and woody debris in the development of macroinvertebrate assemblages in streams. *River Res. Applic.*, 21, 403–420.
- Miró, A., Sabás, I. & Ventura, M. (2018). Large negative effect of non-native trout and minnows on Pyrenean lake amphibians. *Biological Conservation*, 218, 144–153.
- Nakagawa, S. & Cuthill, I.C. (2007). Effect size, confidence interval and statistical significance: a practical guide for biologists. *Biological Reviews*, 82, 591–605.
- Newman, M. (2010). *Networks: an introduction*. Oxford University Press. Oxford.
- van der Plas, F. (2019). Biodiversity and ecosystem functioning in naturally assembled communities. *Biol Rev*, brv.12499.
- Poisot, T., Mouquet, N. & Gravel, D. (2013). Trophic complementarity drives the biodiversity-ecosystem functioning relationship in food webs. *Ecol Lett*, 16, 853–861.
- Prieto, I., Violle, C., Barre, P., Durand, J.-L., Ghesquiere, M. & Litrico, I. (2015). Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. *Nature Plants*, 1, 15033.
- Prunier, J.G., Veyssière, C., Loot, G. & Blanchet, S. (2023). Comparing the Utility of Microsatellites and Single Nucleotide Polymorphisms in Conservation Genetics: Insights from a Study on Two Freshwater Fish Species in France. *Diversity*, 15, 681.
- Raffard, A., Cucherousset, J., Montoya, J.M., Richard, M., Acoca-Pidolle, S., Po sy, C., *et al.* (2021). Intraspecific diversity loss in a predator species alters prey community structure and ecosystem functions. *PLoS Biol*, 19, e3001145.
- Raffard, A., Santoul, F., Cucherousset, J. & Blanchet, S. (2019). The community and ecosystem consequences of intraspecific diversity: a meta-analysis: The ecological effects of intraspecific diversity. *Biol Rev*, 94, 648–661.
- Reusch, T.B.H., Ehlers, A., Hämmerli, A. & Worm, B. (2005). Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 2826–2831.
- Rosenberg, M.S. (2000). *MetaWin: statistical software for meta-analysis*. [Version] 2.0. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.

- Schlötterer, C., Tobler, R., Kofler, R. & Nolte, V. (2014). Sequencing pools of individuals — mining genome-wide polymorphism data without big funding. *Nat Rev Genet*, 15, 749–763.
- Schoener, T.W. (1983). Field Experiments on Interspecific Competition. *The American Naturalist*, 122, 240–285.
- Schuldt, A., Assmann, T., Brezzi, M., Buscot, F., Eichenberg, D., Gutknecht, J., *et al.* (2018). Biodiversity across trophic levels drives multifunctionality in highly diverse forests. *Nat Commun*, 9, 2989.
- Seibold, S., Cadotte, M.W., Maclvor, J.S., Thorn, S. & Müller, J. (2018). The Necessity of Multitrophic Approaches in Community Ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 33, 754–764.
- Shipley, B. (2009). Confirmatory path analysis in a generalized multilevel context. *Ecology*, 90, 363–368.
- Soliveres, S., van der Plas, F., Manning, P., Prati, D., Gossner, M.M., Renner, S.C., *et al.* (2016). Biodiversity at multiple trophic levels is needed for ecosystem multifunctionality. *Nature*, 536, 456–459.
- Start, D. & Gilbert, B. (2019). Trait variation across biological scales shapes community structure and ecosystem function. *Ecology*, 100.
- Tang, T., Zhang, N., Bongers, F.J., Staab, M., Schuldt, A., Fornoff, F., *et al.* (2022). Tree species and genetic diversity increase productivity via functional diversity and trophic feedbacks. *eLife*, 11, e78703.
- Thébault, E. & Loreau, M. (2005). Trophic Interactions and the Relationship between Species Diversity and Ecosystem Stability. *The American Naturalist*, 166, E95–E114.
- Tilman, D., Isbell, F. & Cowles, J.M. (2014). Biodiversity and Ecosystem Functioning. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 45, 471–493.
- Tyers, M. & Tyers, M. (2017). Package ‘riverdist’.
- Wallace, J.B. & Webster, J.R. (1996). The Role of Macroinvertebrates in Stream Ecosystem Function. *Annu. Rev. Entomol.*, 41, 115–139.
- Wan, N.-F., Fu, L., Dainese, M., Hu, Y.-Q., Pødenphant Kiær, L., Isbell, F., *et al.* (2022). Plant genetic diversity affects multiple trophic levels and trophic interactions. *Nat Commun*, 13, 7312.
- Wang, S., Isbell, F., Deng, W., Hong, P., Dee, L.E., Thompson, P., *et al.* (2021). How complementarity and selection affect the relationship between ecosystem functioning and stability. *Ecology*, 102.
- Wider, R.K. & Lang, G.E. (1982). A Critique of the Analytical Methods Used in Examining Decomposition Data Obtained From Litter Bags. *Ecology*, 63, 1636.
- Woods, T., Comte, L., Tedesco, P.A. & Giam, X. (2020). Testing the diversity–biomass relationship in riverine fish communities. *Global Ecol. Biogeogr.*, 29, 1743–1757.

SUPPLEMENTARY MATERIALS

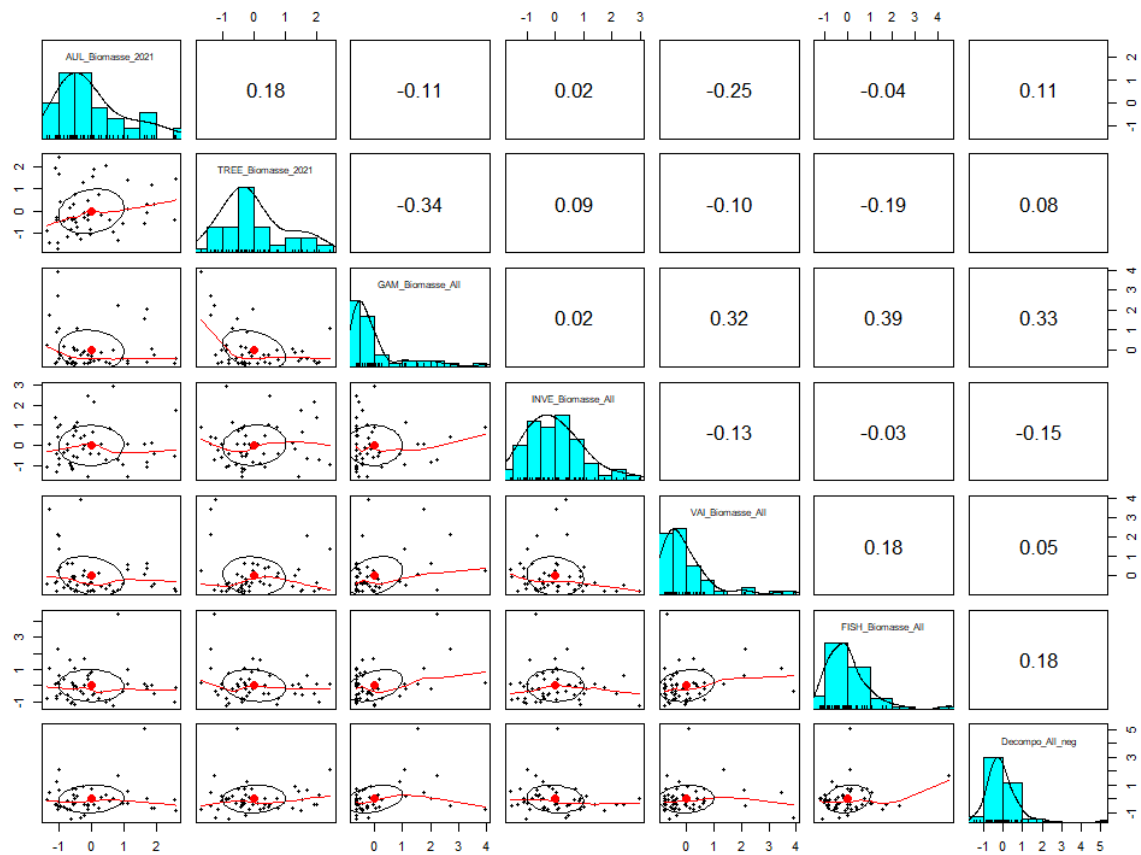


Figure II.S1. Pearson’s correlograms were used to assess collinearity among our seven ecosystem functions. All values are below 0.4 in absolute value, which is below the threshold of 0.7 (Dormann *et al.* 2013). Therefore, we concluded that they do not introduce bias into our results.

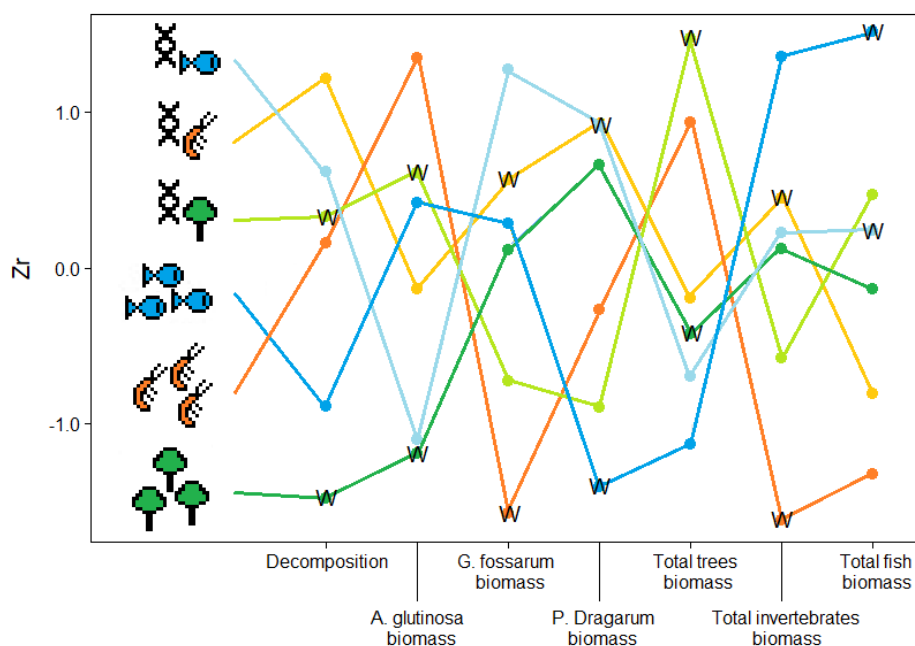


Figure II.S2. Our six biodiversity indexes have idiosyncratic effects on seven ecosystem functions. They include (from top to bottom) genetic biodiversity in *Phoxinus dragarum*, *Gammarus* sp., and *Alnus glutinosa*, as well as species biodiversity in fishes, macroinvertebrates shredders, and riparian trees. Within-trophic level relationships (i.e. biodiversity and ecosystem function share the same trophic levels, marked as 'W') show a bimodal distribution with strong positive and negative relationships. Positive relationships are more pronounced with light colors (light green, orange, and blue, representing genetic biodiversity), while dark colors (dark green, orange, and blue, representing species biodiversity) show a stronger negative relationship. Other relationships occur between different trophic levels and exhibit a general trend of idiosyncrasy.

Table II.S1. ANOVA table for the linear complete model. This model aims at testing whether the strength and sign of *genetic*-BEFs are similar to that of *species*-BEFs (biodiversity facet effect), whether *within-trophic level* BEFs are similar in effect sizes than *between-trophic level* BEFs (trophic association effect), and whether there is an effect of the trophic level (primary producer, primary consumer and secondary consumer) on the strength of the link between biodiversity and ecosystem functioning

	Sum Sq	Df	F value	P(>F)
(Intercept)	0.03203	1	0.623	0.43575
Biodiversity facet	0.01653	1	0.3215	0.57465
Trophic level	0.0207	2	0.2013	0.81872
Trophic association	0.2737	1	5.3226	0.02767 *
Biodiversity facet:Trophic level	0.00331	2	0.0322	0.96833
Biodiversity facet:Trophic association	0.3826	1	7.4404	0.01027 *
Trophic level:Trophic association	0.07369	2	0.7165	0.49612
Residuals	1.64548	32		

Table II.S2. Estimates of individual effect sizes (Z_r) for *within-trophic* level BEFs. Estimates are shown for the genetic (intraspecific Z_r) and species (interspecific Z_r) components of biodiversity measured at each trophic level (riparian trees, macroinvertebrate shredders and fish). 95% confidence intervals are provided together with the estimate of each BEF.

Ecosystem function	Intraspecific Z_r	95% CI	Interspecific Z_r	95% CI
Decomposition	-0.012	[-0.394, 0.370]	-0.293	[-0.630, 0.060]
A. glutinosa biomass	0.128	[-0.179, 0.433]	-0.447	[-0.695, -0.143]
G. sp biomass	0.292	[-0.120, 0.688]	-0.273	[-0.661, 0.128]
P. dragarum biomass	0.244	[-0.064, 0.542]	-0.529	[-0.803, -0.166]
Riparian tree biomass	0.280	[-0.062, 0.609]	-0.183	[-0.485, 0.122]
Macroinvertebrate shredders biomass	0.097	[-0.242, 0.435]	-0.051	[-0.381, 0.279]
Fish biomass	0.159	[-0.260, 0.575]	0.326	[-0.123, 0.753]

CHAPITRE III – PHYLOGENETICALLY-CONSERVED CANDIDATE GENES UNIFY BIODIVERSITY–ECOSYSTEM FUNCTION RELATIONSHIPS AND ECO-EVOLUTIONARY DYNAMICS ACROSS BIOLOGICAL SCALES

Simon Blanchet^{1*#}, Laura Fargeot^{1#} & Allan Raffard^{2#}

¹ Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Station d'Écologie Théorique et Expérimentale, UAR 2029, 2 route du CNRS, F-09200 Moulis, France; simon.blanchet@sete.cnrs.fr (S.B.); laura.fargeot@live.fr (L.F.)

² Université Savoie Mont Blanc, Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE), Centre Alpin de Recherches sur les Réseaux Trophiques des Ecosystèmes Limniques, 75 bis avenue de Corzent, F-74200 Thonon-les-Bains, France; allan.raffard@inrae.fr (A.R.)

All authors contributed equally to the work

* Correspondence:

Simon Blanchet, simon.blanchet@sete.cnrs.fr

Manuscript published in **Molecular Ecology**.

Keywords: Biodiversity, evolution, ecology, population genetics, functional ecology, functional genomics, ecosystem functioning, meta-communities, feedback

RÉSUMÉ

Les facettes intra- et interspécifiques de la biodiversité ont traditionnellement été analysées séparément, ce qui limite notre compréhension de la manière dont l'évolution a façonné la biodiversité, de la manière dont la biodiversité (dans son ensemble) altère les dynamiques écologiques et, par conséquent, des rétroactions éco-évolutives à l'échelle de la communauté. Nous proposons ici d'utiliser des gènes candidats conservés phylogénétiquement entre les espèces et qui soutiennent des traits fonctionnels comme unité de biodiversité *inclusive* transcendant les frontières intra- et interspécifiques. Ce cadre fusionne les connaissances de la génomique fonctionnelle et de l'écologie fonctionnelle. Dans ce travail, nous fournissons d'abord les lignes directrices de notre approche et un exemple concret pour identifier les gènes candidats conservés phylogénétiquement (PCCG) au sein des communautés, et pour mesurer la biodiversité à partir des PCCGs. Nous expliquons ensuite comment la biodiversité mesurée au niveau des PCCGs peut être liée aux fonctions de l'écosystème, unifiant ainsi les observations récentes selon lesquelles la biodiversité intra- et interspécifique sont toutes deux importantes pour les fonctions de l'écosystème. Nous mettons ensuite en évidence les processus éco-évolutifs qui façonnent les patrons de diversité des PCCGs, et nous soutenons que leur rôle respectif peut être déduit de concepts dérivés de la génétique des populations. Enfin, nous expliquons comment les PCCGs peuvent faire évoluer le domaine de la dynamique éco-évolutive, en passant d'une approche centrée sur les espèces vers une approche plus réaliste centrée sur les communautés. Ce cadre offre une perspective novatrice pour étudier les conséquences globales sur les écosystèmes de la perte de diversité à travers les échelles biologiques, et la manière dont ces changements écologiques impactent ensuite l'évolution de la biodiversité.

ABSTRACT

The intra- and interspecific facets of biodiversity have traditionally been analysed separately, limiting our understanding of how evolution has shaped biodiversity, how biodiversity (as a whole) alters ecological dynamics, and hence eco-evolutionary feedbacks at the community scale. Here, we propose using candidate genes phylogenetically-conserved across species and sustaining functional traits as an inclusive biodiversity unit transcending the intra- and interspecific boundaries. This framework merges knowledge from functional genomics and functional ecology, and we first provide guidelines and a concrete example for identifying phylogenetically-conserved candidate genes (PCCGs) within communities, and for measuring biodiversity from PCCGs. We then explain how biodiversity measured at PCCGs can be linked to ecosystem functions, which unify recent observations that both intra- and interspecific biodiversity are important for ecosystem functions. We then highlight the eco-evolutionary processes shaping PCCGs diversity patterns, and argue that their respective role can be inferred from concepts derived from population genetics. Finally, we explain how PCCGs may shift the field of eco-evolutionary dynamics from a focal-species approach to a more realistic focal-community approach. This framework provides a novel perspective to investigate the global ecosystem consequences of diversity loss across biological scales, and how these ecological changes further alter biodiversity evolution.

1. *Introduction*

Global change is modifying worldwide patterns of biodiversity (Newbold *et al.* 2015; Parmesan & Yohe, 2003). Biodiversity changes concern both species loss and the loss of the diversity within species, that is, intraspecific diversity. Genes and life-history strategies are being lost because fundamental processes impairing intraspecific diversity are altered (Hendry *et al.* 2008; Spielman *et al.* 2004). The loss of intraspecific diversity precedes (and speeds up) species loss (Spielman *et al.* 2004); biodiversity loss is hence an inclusive process occurring from genes to species (Bellard *et al.* 2012).

Nonetheless, in most studies, the intra- and interspecific facets of biodiversity are treated separately, whereas they form an evolutionary continuum. This limits the development of an integrative eco-evolutionary framework linking biodiversity, the environment and ecosystem functioning (Matthews *et al.* 2011). This gap has historical causes: intraspecific diversity has mainly been studied by population geneticists, whereas interspecific diversity has mainly been studied by community ecologists (but see, Hubbell 2001; Matthews *et al.* 2014; Vellend 2005; Whitham *et al.* 2003, 2006). It also has an intrinsic cause: intra- and interspecific diversity are quantified using different units. Interspecific diversity is generally measured as the number of species, whereas intraspecific diversity is estimated through metrics of genetic (allelic richness, heterozygosity...) and phenotypic (trait variance, number of ecotypes...) diversity, impeding the inclusive measurement of biodiversity within communities.

Allowing for a common biodiversity measurement may change our perspective on the links between biodiversity and ecosystem functioning ('BEF'). Biodiversity sustains ecosystem functions such as primary productivity or recycling organic matter (Chapin *et al.* 2000; Hooper *et al.* 2005; Loreau *et al.* 2001). These links imply that increasing biodiversity promotes trait complementarity among individuals and/or may sustain highly competitive traits with dominant effects (see **Box III.1**), both processes maximizing resource acquisition and energy conversion (Hooper *et al.* 2005). BEF relationships have been historically described at the interspecific level, and seminal experiments have demonstrated that higher plant species richness increases and stabilizes yields (Chapin *et al.* 1997; Tilman *et al.* 1996, 2006). Recently, similar observations have been reported at the intraspecific level; higher number of genotypes in populations increases biomass production (Crutsinger *et al.* 2006; Hughes & Stachowicz 2004; Raffard *et al.* 2021; Reusch *et al.* 2005). Altogether, this suggests that both losing alleles within populations and species within communities alter ecosystem functioning. Yet, the dichotomy between intra- and interspecific diversity impedes a global assessment of the consequences of biodiversity loss on ecosystem functioning (but see, Prieto *et al.* 2015).

Developing a common biodiversity unit should also facilitate our understanding of how ecology affects the evolution of organisms and vice versa. Ecological effects generated by biodiversity described above can feedback to evolutionary processes when these ecological effects alter selective regimes and/or effective population sizes ('eco-evolutionary dynamics'; [Hendry 2017; Schoener 2011; Thompson 1998]). Revealing eco-evolutionary dynamics requires tracking allele frequencies -within communities- of genes sustaining traits impacting - and reciprocally impacted by- ecological processes (Lowe *et al.* 2017; Skovmand *et al.* 2018). Although allele frequencies can 'easily' be tracked in a single focal species (Lowe *et al.* 2017; Rudman *et al.* 2018), this becomes more complicated when considering allele frequencies from genes of all species from a community (De Meester *et al.* 2019; Hendry 2019). This dichotomic perception of intra- and interspecific diversity limits our capacity to predict eco-evolutionary dynamics beyond a (few) focal species, which hence minimizes the relevance of the eco-evolutionary framework for predicting the consequences of global change on biological dynamics.

Here, we propose that candidate genes that are phylogenetically-conserved across taxa and that sustain key functional traits may serve as a common biodiversity unit unifying the intra- and interspecific diversity facets (**Figure III.1**). Specifically, we first develop the rationales motivating our idea that 'phylogenetically-conserved candidate genes' (PCCGs) are ideal targets to unify biodiversity metrics across scales, and we present examples from functional biology having linked these genes to ecologically-important traits. We provide technical guidelines to sequence these genes and to estimate a common metric of biodiversity from PCCGs, which we illustrate with an example of freshwater Crustacean communities. We finally expand on the implications of measuring the diversity of PCCGs in communities, particularly for predicting the functioning and stability of ecosystems, for revealing the demographic and evolutionary processes shaping biodiversity patterns and for elucidating the feedback between ecological and evolutionary dynamics at the focal-community level (**Figure III.1**).

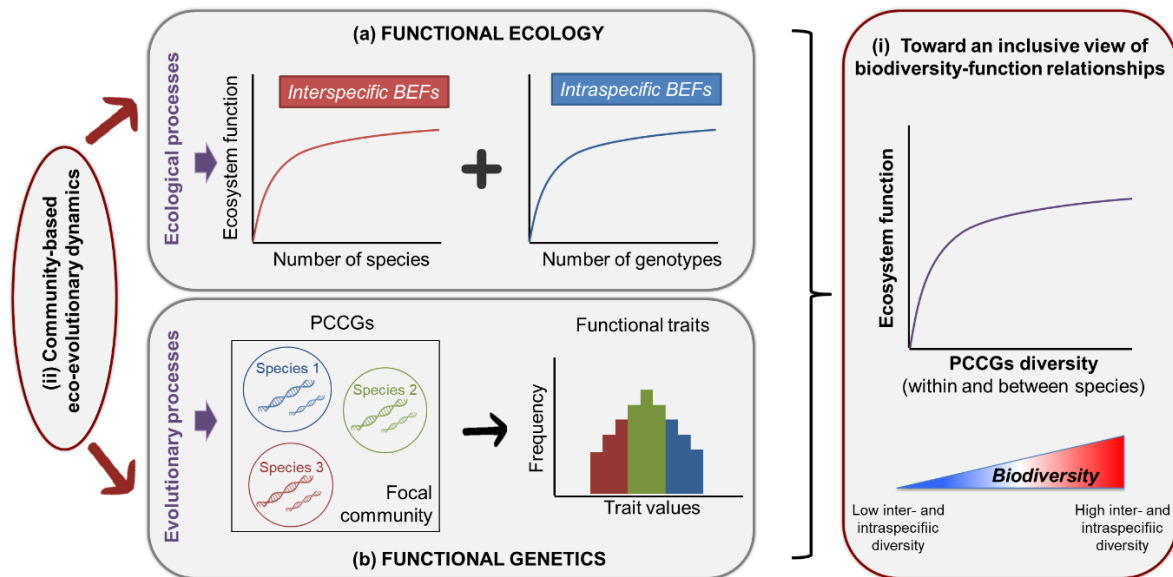


Figure III.1. Conceptual diagram showing how a common quantification of biodiversity from phylogenetically-conserved candidate genes (PCCGs) allows to move to an integrative view of biodiversity–function (BEF) relationships (i) and to embrace a community-based perspective of eco-evolutionary dynamics (ii). Our concept is based on the idea to merge the fields of functional ecology (a) and functional biology and genetics (b) to simultaneously quantify the intra- and interspecific diversity components of focal communities through PCCGs diversity. PCCGs should be selected so as to be variables both intra- and interspecifically and to sustain ecologically-important traits.

2. Phylogenetically-conserved candidate genes as a common unit of biodiversity

2.1. Definition of phylogenetically-conserved candidate genes

Phylogenetically-conserved candidate genes are genes identified by functional geneticists as having major effects on traits, and whose sequences and functions are (at least partly) conserved across a broad range of species. This concerns genes coding for ecologically-important traits, for example, traits associated with resource acquisition or interactions with other organisms (Barbour *et al.* 2022; Skovmand *et al.* 2018; Wuest & Niklaus 2018). Many PCCGs have been identified, but this knowledge has poorly percolated into ecological and evolutionary sciences (but see, Ducrest *et al.* 2008; Fitzpatrick *et al.* 2005).

Seminal works from the 90s have identified candidate genes sustaining traits that matter for fitness, and since then, the discovery of candidate genes has grown exponentially (Andersen & Lübberstedt 2003; Anreiter & Sokolowski 2019; Meinke *et al.* 2008; Schwander *et al.* 2014). In animals, some of these genes code for functional traits (e.g. foraging, metabolism, stoichiometry) that are strongly related to resource acquisition and/or biomass production (Brown *et al.* 2004; Wolf & Weissing 2012). For instance, the *for* gene determines the foraging behaviour of *Drosophila melanogaster* (Anreiter & Sokolowski 2019; de Belle *et*

al. 1989; Sokolowski 2001). This gene codes for a cGMP-dependent protein kinase (a signaling molecule) and encodes two behavioural strategies: the rover strategy (*Drosophila* larvae travels long distance to feed) and the sitter strategy (*Drosophila* larvae feeds in more restricted areas). This gene also impacts food intake (rover larvae have lower food intake) and preference (rover larvae absorb higher glucose quantities) of individuals (Anreiter & Sokolowski 2019). We can expect that variation in the expression of this gene will have consequences on trophic chains and ecosystem functioning. For plants, MADS-box genes described in *Antirrhinum majus* (Schwarz-Sommer *et al.* 1990) are a gene family involved in plant architecture, and fruit, seed and root development (Schilling *et al.* 2018). MADS-box genes are targets to improve crops' yields and are altering the short-term adaptation of plants to environmental changes (Cho *et al.* 2017; Theißen *et al.* 2018). For instance, the Flowering Loci C and T regulate flowering time in many plant species, an important trait for individual fitness and pollination (Schmidt *et al.* 2016).

This type of candidate genes is reinforcing the idea of 'Ecology Important Genes' (EIG; Skovmand *et al.* 2018), defined as genes contributing strongly to phenotypes having a large effect on communities and ecosystems. Nonetheless, we stress that our approach -contrary to Skovmand *et al.* (2018)- considers the impacts of a *large* number of candidate genes (a hundred or more) with differential individual contributions to traits and ecological dynamics. Our approach acknowledges the idea that phenotypes are likely polygenic and arising from the effect of many genes (with potential epistatic interactions) with small effect sizes (Falconer, 1981). Focusing on a large number of candidate genes should also lead to identify complementarity and redundancy (i.e. in terms of trait functions, see **Box III.1**) among genes or locus within a community, which are two important concepts for predicting the impacts of biodiversity on ecological processes (Loreau 1998).

BOX III.1. Biodiversity–ecosystem function relationships (BEFs) across biodiversity facets.

Ecologists have long sought to understand how changes in community composition and species loss alter the fate of ecosystem functions. Theoretical works and large-scale experiments using plant communities have provided the foundation of BEFs. For instance, many studies have investigated the relationships between plant species richness and primary production, demonstrating a positive and saturating relationship between richness and primary production (Loreau, 1998; Tilman *et al.* 1996). The conclusions have then been extended to multiple ecosystem types (e.g. aquatic ecosystems), functional groups (e.g. consumers

species) and ecosystem functions (e.g. secondary production, carbon storage or nutrient recycling; Balvanera *et al.* 2006; Cardinale *et al.* 2012; Hooper *et al.* 2005).

Biodiversity–ecosystem relationships are explained by several nonexclusive mechanisms, including complementarity, facilitation and sampling (or selection) effects. Complementarity among species allows species to use different resources, eventually releasing competitive interactions; facilitation occurs when species provide resources or modify habitat that benefits the others in the community; sampling effects (aka selection or dominance effects) leads to a positive effect of biodiversity on ecosystem functions because in diverse communities the probability to include a highly productive (competitive) species is higher. Interestingly, these mechanisms often led ecosystem functions to increase at low biodiversity level and then reach a plateau at higher biodiversity levels according to a saturating relationship. The probability to include species with similar functional roles is indeed higher when biodiversity is high, increasing functional redundancy among species. Contrastingly, in some cases, negative (or neutral) BEF relationships can arise (see Hagan *et al.* 2021 for further discussions). These particular examples suggest that in some communities, increasing diversity might actually induce negative competitive interactions among species. Finally, biodiversity has also been shown to stabilize ecosystem functions (over space and time) by buffering ecosystem variation against environmental fluctuation (the insurance hypothesis, Yachi & Loreau, 1999). Richer communities displayed higher resilience after a perturbation than poorer communities, because of the presence of species with high recovery rates.

While BEF relationships have primarily been investigated at the interspecific level, diversity within species also determines ecosystem functions. Similar mechanisms are at play—such as complementarity, redundancy and sampling effects—acting here not among species but among individuals within species. Importantly, the effects of intraspecific diversity on ecosystem functioning can be as strong as those of species diversity (Raffard *et al.* 2019). Therefore, recent studies plead for the existence of *intraspecific*-BEFs. This corroborates some mechanistic models that did not initially distinguish between intra- and interspecific diversity in their formulation and demonstrates that biodiversity loss *per se* alters ecosystem functions (Loreau, 1998; Norberg *et al.* 2001). These processes (complementarity, redundancy, sampling effect) can actually be transferred to gene functions and hence directly applied to a BEF framework in which genes phylogenetically-conserved (i.e. that can be sequenced across species from a community) and coding for important ecological traits would be the core unit of an inclusive measure of biodiversity (i.e. including both intra- and interspecific levels).

An important aspect is that we focus on candidate genes that are phylogenetically-conserved that can be sequenced across a large range of species within communities. Most candidate genes identified in model species are actually (partly) phylogenetically-conserved. For instance, the *for* gene can be retrieved from a large number of Invertebrate species (Anreiter & Sokolowski 2019; Sokolowski 2001). An ortholog gene -i.e. a gene whose sequence has diverged from a shared genetic ancestor- identified in vertebrates (PRKG1) was found associated with foraging-like behaviour (Anreiter & Sokolowski 2019; Struk *et al.* 2019). Similarly, the MADS-box gene complex has been identified in mosses, gymnosperms and angiosperms (Gramzow & Theißen 2013; Schilling *et al.* 2018). Conservatism of candidate genes should actually be the norm rather than the exception given their importance for biological functions (Barson *et al.* 2015; James *et al.* 2017; Marden *et al.* 2013; McGirr & Martin 2017).

Using PCCGs as targets for measuring biodiversity inclusively is attractive because the dynamics of PCCGs is shaped by micro- and macro-evolutionary processes, and because PCCGs likely code for important ecological traits linked to ecological processes. PCCGs are therefore at the interface between ecological and evolutionary dynamics, which makes them good candidates to reveal mechanisms linking the environment, biodiversity and ecosystem functioning.

2.2. Quantifying biodiversity from phylogenetically-conserved candidate genes

We hereafter describe the main steps to reveal PCCGs from focal communities (**Figure III.2**); (i) defining and sampling the focal community, (ii) identifying PCCGs from the literature (and databases), (iii) sequencing PCCGs across species and (iv) quantifying PCCGs diversity.

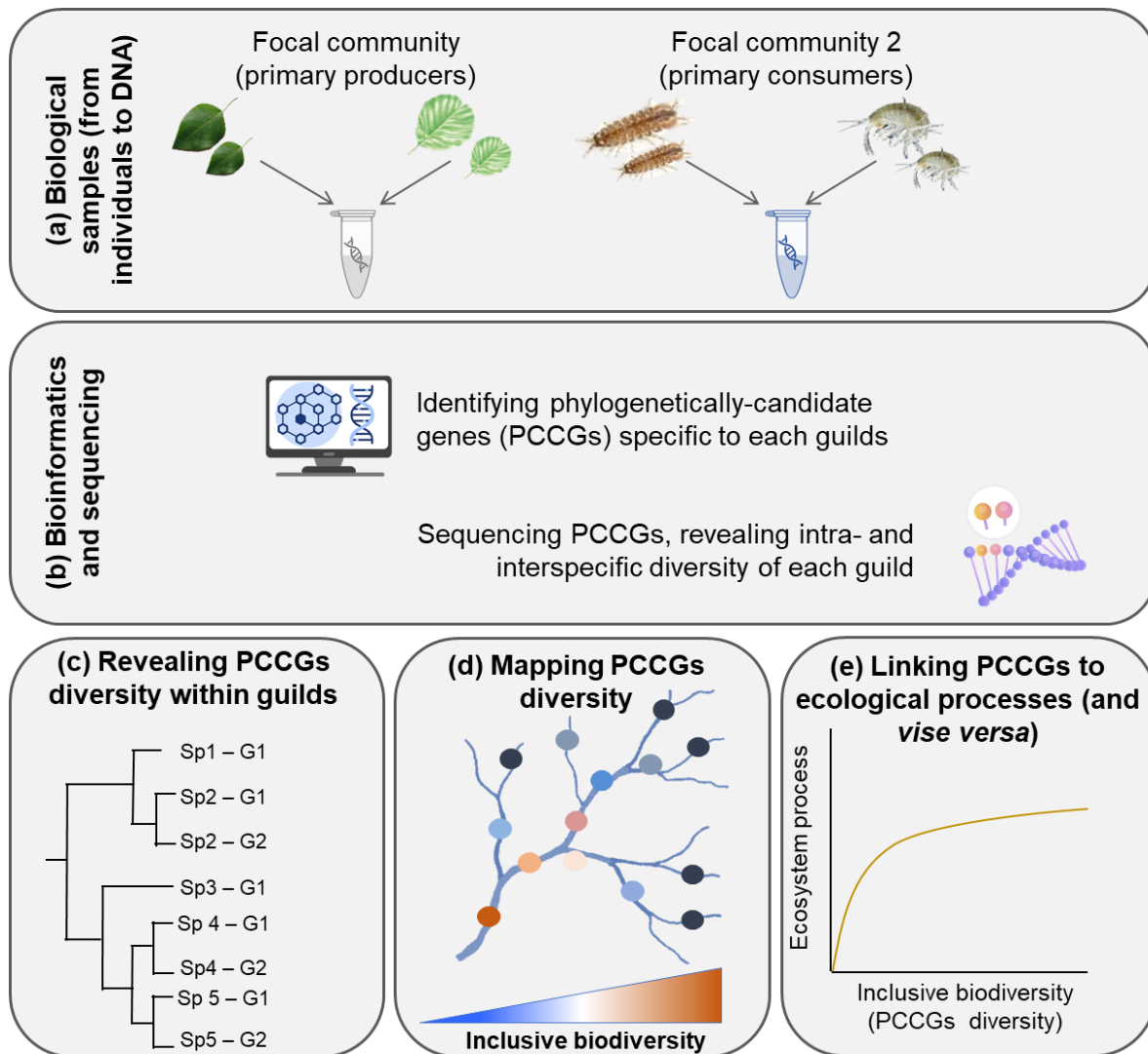


Figure III.2. General framework describing the main steps to reveal phylogenetically-conserved candidate genes (PCCGs) diversity within focal communities. (a) This starts by defining appropriate focal communities (two examples here within a river ecosystem; leaves from riparian trees and crustaceans decomposing these leaves) and sampling the biological diversity of the focal communities, both within and between species (here two species per community and two genotypes, large and small, per species). The total DNA of this focal community is extracted so as to represent both intra- and interspecific diversity. (b) PCCGs are identified bioinformatically from existing literature (on functional genes) and available genomic resources. The selected genes (a hundred to a thousand of sequences) are sequenced for each focal community separately. (c–e) Once the raw sequence data are obtained, inclusive biodiversity can be quantified from PCCGs for each focal community, it can be analysed spatially and/or temporally to search for underlying eco-evo processes, and it can be linked (either experimentally or empirically) to ecological processes so as to reveal feedbacks between ecological and evolutionary dynamics occurring at the community level.

2.2.1. Defining and sampling the focal community

The PCCGs approach can be applied to all living entities (prokaryotes and eukaryotes), if (i) candidate genes have been identified in the target taxonomic group, and (ii) they are conserved phylogenetically among species within this group. Nonetheless, phylogenetic conservatism is restrained, so that the PCCGs approach cannot be used for communities that contain highly divergent species (i.e. >20% molecular divergence, Faircloth 2017, but see hereafter). Therefore, the focal community from which PCCGs diversity is measured must follow an 'ecological logic'. A focal community should be a 'group of trophically similar, sympatric species that actually or potentially compete in a local area for similar resources' (Hubbell 2001). Examples of focal communities satisfying this definition nonexhaustively includes insectivorous fish, insect pollinators, desert plants, tropical trees, detritivorous insects, etc. A prerequisite for the PCCGs approach is to sample both the intra- and interspecific diversity components of the focal community. This can be done by sampling several individuals for all known species from the focal communities. An alternative approach consists of sampling as many specimens as possible to provide a representative view of the diversity of the focal community. This later approach (i) best represents the actual diversity (rare species are less represented in the final pool) and (ii) is technically feasible, as detailed later, if the DNA of specimens can be pooled across species (see below for further details on the sampling strategy).

2.2.2. Identifying and selecting PCCGs from relevant traits

We detailed hereafter the main steps to select appropriate PCCGs, which we illustrate with a real case study (**Figure III.3**), implying a focal community of freshwater crustaceans (10 species from 4 Genera and 2 Orders, see **Figure III.4**) involved in leaf litter decomposition and for which we uncovered 529 exons from 120 PCCGs (~338,000 bp; **Figure III.2b**).

A prerequisite of our approach is that PCCGs must be polymorphic both among and within species from the focal community. This condition is complicated to meet for all PCCGs from a panel (assuming 100–1000 genes), since genes that are highly polymorphic intraspecifically are generally not conserved among many species and vice versa. For instance, developmental genes are extremely conserved interspecifically but should be less variable intraspecifically (Cardoso-Moreira *et al.* 2019). A compromise must therefore be reached, and a solution is to mix genes with various levels of conservatism in the PCCGs panel. This implies that some PCCGs from the panel will not necessarily be sequenced in all species from the focal community (i.e. genes that are expected to be intraspecifically variable),

and/or that some PCCGs will not display intraspecific polymorphism in some species from the focal community (i.e. genes that are expected to be highly conserved).

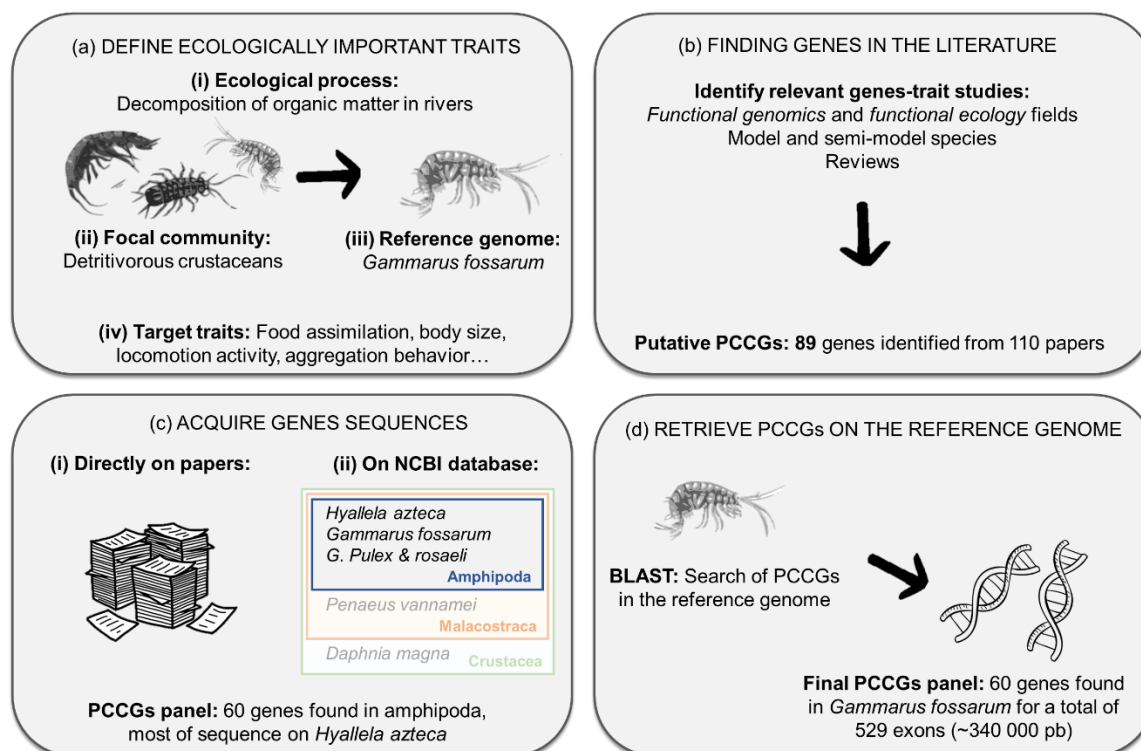


Figure III.3. Diagram illustrating the four main steps to select phylogenetically-conserved candidate genes (PCCGs) from a focal community. The diagram builds on a concrete example involving the search of PCCGs for a community of detritivorous freshwater Crustaceans (10 species, 4 Genera, 2 Orders). (a) A first step consists in defining the ecological process and the focal community to target, as well as the traits associated with the ecological process and focal community. (b) A second step aims at finding the appropriate genes associated with the selected traits from the available literature. (c) In a third step, the sequences associated with these genes are acquired directly from articles or from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database. Here, the gene sequences were identified from NCBI by focusing on annotated genomes of Amphipoda (*Hyalalella azteca*), the closest annotated genome to the focal community. (d) A final step uses a local base alignment search tool (BLAST) to retrieve the PCCG sequences on the reference genome of some focal species of the focal community. For Crustaceans, we used a published reference genome (*Gammarus roeselii*) and a reference genome that we assembled (*Gammarus* sp., see **Figure III.4**). As genes cannot be targeted over their entire sequences, exons and/or promoter regions are generally selected for the final panel of PCCGs. This final PCCGs panel will serve as the basis for the design of the probes and for the hybridization-based capture sequencing. DNA strand vector comes from www.svgrepo.com.

Then, PCCGs must be chosen according to relevant functional traits that will depend upon the targeted ecological process(es). For instance, for leaf litter decomposition in freshwaters, relevant traits of crustaceans are locomotion activity, metabolism, body size, aggregation behaviour and food assimilation (Rota *et al.* 2018; **Figure III.3a**). As the PCCGs approach assumes that the expression of trait is polygenic and that this list of traits will be the

basis to search candidate genes in the literature, we must consider a large set of potential traits, rather than a restricted set. Noteworthy, pleiotropic genes (i.e. affecting multiple traits) are excellent putative PCCGs as they are particularly relevant for linking traits to ecological dynamics (Ducrest *et al.* 2008; Watanabe *et al.* 2019). Similarly, neutral genes (or sequences) randomly taken from the genome (or known to be neutral) can be added to the PCCGs panel to test for instance the role of selection *versus* drift.

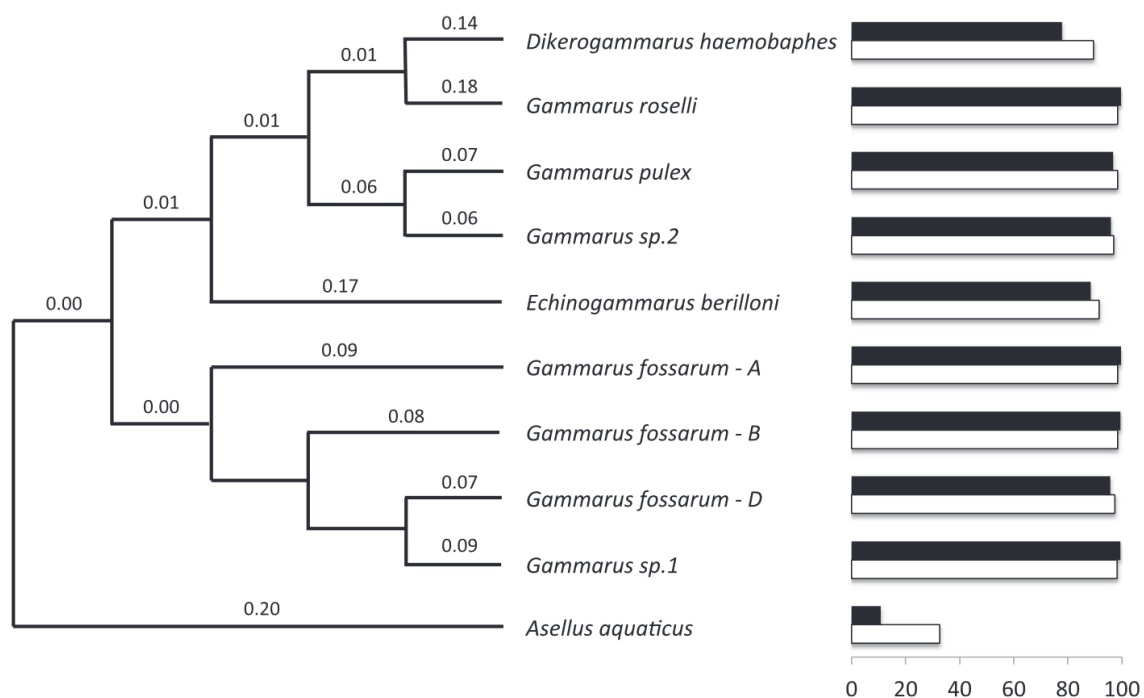


Figure III.4. Phylogeny of species from the focal community. The left panel depicts the phylogenetic relationships among the 10 Crustacean species from the focal community using COI mitochondrial sequences gathered from GeneBank. Evolutionary distances were computed using the Tajima-Nei method; the overall mean distance among pairs of species was 0.29 ± 0.02 and varied from 0.13 to 0.42, which is within the range observed in this group (Hou *et al.* 2007) *Gammarus fossarum* A, B and D represents potentially cryptic species (Wattier *et al.* 2020), whereas *Gammarus* spp. 1 & 2 are two new species from Southern France being described. The right panel depicts the percentage of genes (white bars) and exons (black bars) retrieved out of the 120 genes and 529 exons of the PCCGs panel.

Potential PCCGs are then identified from the literature establishing a link between a gene and its phenotypic function (**Figure III.3b**). Most of these studies are focusing on models (e.g. *Arabidopsis thaliana*, *Zea mays*, *Mus musculus*, *Drosophila melanogaster*, *Danio rerio*...) and 'semimodel' species (*Macrobrachium rosenbergii*, *Populus nigra*, *Cyprinus carpio*...). Although natural communities often lack one of these species, our favourite biological models generally have phylogenetic cousins from one of these species, making them relevant to identify putative PCCGs. It is noteworthy that because the genetic architecture of ecologically-important traits likely varies among species, it is important to be taxonomically exhaustive in

the search and selection of potential PCCGs, so as to take into account (and potentially reveal) these different genetic architectures. For the focal community of freshwater crustaceans, we screened ~110 papers that focused on gammarids, amphipods and crustaceans in general from which we preselected 273 genes coding for traits associated with (among others) fatty acid digestion, respiration, circadian rhythm, growth, locomotion activity, moulting, etc. (**Figure III.3b**).

Once identified, the sequences of putative PCCGs are retrieved from databases such as NCBI (**Figure III.3c**). An annotated genome from a phylogenetically close species must be available to efficiently retrieve the sequences of PCCGs. Our Crustacean genes have been found in various crustaceans' species (*Hyallela azteca*, *Penaeus vannamei*, *Daphnia magna*, etc.), but we kept sequences that were most likely to be retrieved in our target community and we discarded more distant matches. Consequently, we mainly relied on *Hyallela azteca* (the most closely related annotated genome from our focal community) and on gammarids, from which we retrieved the sequences of 120 out of the 273 preselected genes (we kept the most commonly reported genes in the literature). Genes are often constituted of several exons that can all be potentially informative and gene promoters are also essential, and we therefore recommend retrieving all exons from the genes and conserving ~100–200bp of the flanking regions of each exon to possibly simultaneously retrieve the promoters.

The final step (**Figure III.3d**) is to obtain the homologous sequences of these PCCGs on species that are phylogenetically close to the focal community or that belong to the focal community but for which an annotated genome is not available. For Crustaceans, we used the published reference genome from *Gammarus roeselii* and the partial genome that we assembled for another *Gammarus* species (not named yet; **Figures III.3d** and **III.4**). This step consists in blasting the sequences found on model species to search for their homology in the reference genome(s), which improves the design of capture probes (see hereafter and Faircloth 2017 for further details). In Crustaceans, we generate homologous sequences for the 120 genes, which corresponds to 529 exons for a total of ~338,000 bp.

2.2.3. Sequencing hundreds of PCCGs across species

Phylogenetically-conserved candidate genes sequencing benefits from the recent development of target enrichment methods (capture of specific regions of the genome, Jiménez-Mena *et al.* 2022; Jones & Good 2016; Mertes *et al.* 2011) such as the hybridization-based capture sequencing (HBCS; Hawkins *et al.* 2016). In HBCS, we design oligonucleotides (called 'probes' or 'baits') that are complementary to the target (PCCG) sequences. These oligos capture and enrich complementary target sequences from a next-generation

sequencing (NGS) library. This method has been used in many taxa (Albert *et al.* 2007; Mamanova *et al.* 2010); its use and potential for evolution are well described (Faircloth 2017; Jiménez-Mena *et al.* 2022). HBCS allows for mismatches between probes and the target sequences, allowing 15%–20% of divergence (Faircloth 2017); this threshold should (ideally) be used to define the appropriate focal species. In crustaceans, we successfully sequenced 89.92% of the PCCGs on average across the 10 species (**Figure III.4**). The success rate was always higher than 89%, but for one species (*Aseelus aquaticus*, 32.54%) that was the most phylogenetically distant species (~42% molecular divergence, **Figure III.4**). In this case (highly divergent species), it is possible to develop several probes sets according to 'phylogenetic clusters' and/or to fine-tune the library preparation to allow for a relaxed capture ability (Faircloth, 2017).

The sampling of focal communities in the wild can be performed according to two approaches. The first approach consists in sampling all known species from the focal communities and, for each of them, sampling several individuals (5–30 individuals per species depending on their rarity) to reveal intraspecific diversity. This approach is appropriate when the focal community is already well-described taxonomically. The second approach consists of sampling as many specimens as possible in the focal community to provide a holistic and representative view of the diversity of the focal community. This approach does not require a priori knowledge on the focal community, and it best represents the actual diversity (rare species may be less represented in the final pool, but they are also inherently less represented in the actual community). Then, HBCS can be performed either (i) at the individual level: all individuals from all species are sequenced or (ii) at the focal community level: the DNA of all individuals from all species are pooled (from 50 to 100 individuals per pool, Schlötterer *et al.* 2014) and this DNA pool is sequenced. Individual-based sequencing is more costly but can be used to relate specific gene polymorphism to individual traits or ecological processes for instance. In contrast, pool-seq approaches are extremely affordable (Schlötterer *et al.* 2014). An intermediate approach consists in pooling individuals per species, which allows conserving both the intra- and interspecific information. Pool-seq approaches allow estimating allele frequencies for each marker (Gautier *et al.* 2022; Sham *et al.* 2002) and hence estimating inclusive biodiversity from PCCGs.

2.2.4. Defining metrics for estimating PCCGs diversity of focal communities

All metrics used by population geneticists and community phylogeneticists are valid to describe PCCG biodiversity patterns. Biodiversity metrics should follow the diversity partitioning proposed by community ecologists in the 1960s (Whittaker 1960): α and γ

components as the local and regional diversity components, and the β component quantifies the differentiation among local sites. Population geneticists (and ecologists) acknowledged that (i) the metrics traditionally used to describe genetic diversity patterns in populations (such as the allelic richness or F_{st}) actually conform to Whittaker's framework, (ii) that tight (statistical) connections exist between the 'population' and 'community' approaches and (iii) that developing a unified framework to analyse diversity patterns across populations and communities would be beneficial (Gaggiotti *et al.* 2018; Jost 2008; Vellend 2005). Many papers discussed the metrics that can be used to unify disciplines (Gaggiotti *et al.* 2018), and the choice of a metric should be dictated by scientific objectives (Mouquet *et al.* 2012; Tucker *et al.* 2017). For instance, the F_{st} measures drift (Holsinger & Weir 2009), whereas dissimilarity metrics inform about the relative role of nestedness and turnover for explaining β -diversity patterns (Baselga 2010). Nonetheless, the choice of metrics derived from PCCGs must take into account that intra- and interspecific diversity are shaped by similar processes (drift, selection, mutation/speciation, dispersal) acting over a continuum from ecological to evolutionary scales (Hubbell 2001; Vellend & Geber 2005). The description of biodiversity using PCCGS inherently helps following this principle.

For individual-based sequencing, SNP loci (including both intra- and interspecific SNPs) and haplotypes that group all loci from a given gene can be derived. In the Crustacean focal community, we detected 51,012 SNPs at the interspecific level (nucleotidic variation observed among species) and on average 2480 SNPs per species (range, 141–4307) at the intraspecific level (nucleotidic variation observed within species). Many types of metrics can be derived from SNPs; the number of polymorphic SNPs can be compared among communities, and the evenness can be derived from allele frequencies, as well as the dissimilarity among local communities (Gaggiotti *et al.* 2018). Haplotypes can be used to build phylogenetic trees (including both intraspecific and interspecific tips) from which all phylogenetic metrics of community can be derived (Tucker *et al.* 2017). For the pool-seq approach, SNPs can be retrieved together with their relative frequency within the community; alleles cannot be attributed to a particular species (except when pools are built at the species level) or a particular individual within a species, which impedes the reconstruction of haplotypes. For this approach, metrics derived from SNP data (including information on allele frequencies) are therefore favoured (Schlötterer *et al.* 2014). As a proof of example, we built artificial communities of freshwater Crustaceans by mixing the DNA of various species (1, 3 or 5 species per pool) and several individuals per species (15, 5 or 3 individuals per species); we found that the Shannon diversity index estimated from SNP frequencies was in average $S=14,723$, $S=16,840$ and $S=17,964$ for pools with 1, 3 and 5 species, respectively.

3. *Implications for befs: befs across biodiversity and spatial scales*

Biodiversity and ecosystem functioning relationships have historically used species richness to quantify the diversity of communities (Hooper *et al.* 2005). Alternative approaches have emerged and improved our understanding of BEFs; in particular, phylogenetic diversity and/or functional traits diversity have recently been used as measures of community diversity (Cadotte *et al.* 2012; Le Bagousse-Pinguet *et al.* 2019). Functional (trait) diversity has revealed the causal mechanisms underlying BEFs (Cadotte *et al.* 2011; Norberg *et al.* 2001). The use of phylogenetic diversity (based on one of a few supposedly neutral genes) has permitted capturing macro-evolutionary processes shaping community assemblages and therefore the evolution of niche complementarity among species (Cadotte *et al.* 2012; Mouquet *et al.* 2012). The use of PCCGs has the potential to encompass most aspects of the phylogenetic and functional approaches because PCCGs are related to functional traits and directly influenced by evolutionary processes. In addition, and contrary to the classic phylogenetic approach, the PCCGs considered the possibility of interactions (e.g. epistatic interactions) both among and within species as drivers of ecological dynamics. By aggregating both the functional and evolutionary components of diversity, PCCGs may reveal novel causal processes and may improve the general fit of BEF relationships.

Most studies having used functional and phylogenetic diversity failed to integrate the intraspecific component of diversity (Mouquet *et al.* 2012). The PCCGs approach intrinsically includes both the intra- and interspecific facets of biodiversity, which is important given that intraspecific diversity can affect ecosystem functions as much as interspecific diversity (Raffard *et al.* 2019, **Box III.1**). The few experimental works having simultaneously manipulated the two facets of diversity demonstrated that the relative effect of intra- versus interspecific diversity was dependent upon the considered function (Fridley & Grime 2010; Hargrave *et al.* 2011). For instance, intraspecific diversity improved the temporal stability of biomass production in plant populations, whereas species richness improved the mean biomass production of the same community (Prieto *et al.* 2015). This suggests a complementarity between intra- and interspecific diversity that cannot be revealed if only one of them is considered. While valuable, these studies are still rare and do not reflect the observation that genetic diversity within a species can vary according to the number of species in the community. The PCCGs approach opens novel perspectives to grasp the relative contribution of intra- and interspecific diversity for ecosystem functioning. For instance, the PCCGs approach would permit testing whether the effects of intra- and interspecific diversity facets on ecosystem functions are additive or not and if the potential additivity of their effects is context-dependent. This would also allow testing

the hypothesis that intraspecific diversity may ‘compensate’ for the loss of interspecific diversity under some circumstances.

In addition, more specific questions might be addressed using the PCCGs approach. For instance, ecosystem functions generally display high variability among monocultures, which has often been explained by the intrinsic efficiency of a species to perform a function (Huston 1997). The performance of a species in monoculture is likely determined—among others—by its intraspecific diversity that can be revealed using PCCGs (**Figure III.5b**). Species with higher performance should be more diversified, as expected if genetic complementarity is linked to species performance (Hughes *et al.* 2008). Alternatively, highly performing species might arise because of the selection of certain genotypes (or variants) that increase the performance of these species (selection effect, **Box III.1**, see also, Wuest & Niklaus 2018). Both alternatives can be tested using the PCCGs approach by using appropriate statistical methods (e.g. GWAs, GEAs). As a consequence of these differences in monocultures’ productions, species-rich communities might show high performances because of the presence of the most performant species (sampling effect, see **Box III.1**). Although this sampling effect has long been debated (Loreau 1998), assessing BEF relationships using PCCGs diversity might reveal underlying mechanisms. For instance, understanding whether communities containing a high-performance species increase the rate of the target function because they contain the species per se (i.e. because this species contains a specific genomic variant that increases performance, Barbour *et al.* 2022; Wuest & Niklaus 2018) or because this species increases substantially PCCGs diversity (**Figure III.5c**). By accounting for intra- and interspecific diversity, PCCGs quantify the ‘true’ diversity present in the community and allow forecasting ecosystem functions based on biodiversity with finer precision.

More generally, PCCGs diversity can reveal different patterns of biodiversity. For instance, communities with the same species richness might actually encompass different levels of PCCGs diversity (**Figure III.5c**), and a species-poor community might be as diverse as a species-rich community if the former has a high intraspecific diversity for each species (compensation effect). Therefore, important questions regarding the spatial and the temporal heterogeneity of biodiversity can be addressed using PCCGs diversity. This is particularly interesting when comparing, for example, the efficiency of functions in communities from different biomes. Communities in tropical areas exhibit higher species diversity than communities at higher latitude, whereas they may exhibit lower intraspecific diversity than communities at higher latitude (De Kort *et al.* 2021). We can hypothesize that communities at higher latitudes mainly rely on complementarity among individuals within populations—rather

than on complementarity among species—to use and transform energy efficiently (Hughes *et al.* 2008). Comparing the strength and form of BEFs among contrasted biomes of this type is complicated using traditional approaches, whereas it becomes possible using the PCCGs approach because it relies on a single metric. This is essential for scaling-up BEF relationships from local to global scales (Gonzalez *et al.* 2020).

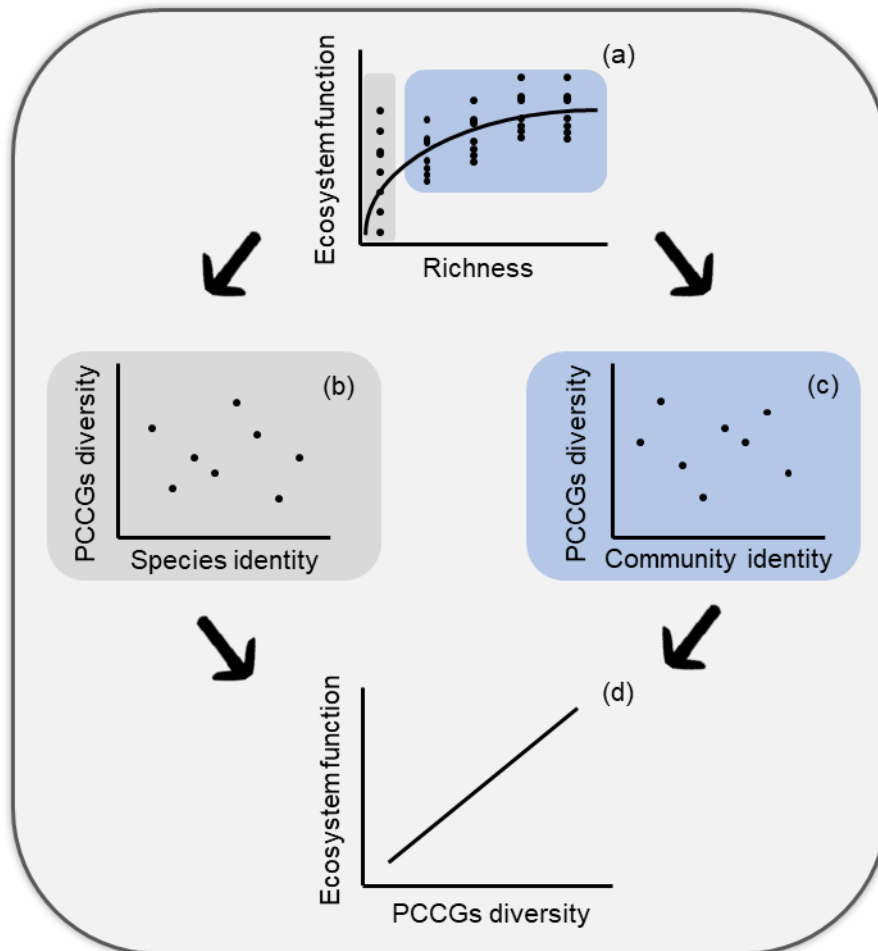


Figure III.5. Theoretical contribution of PCCGs for the study of biodiversity-ecosystem functioning relationships (BEF). The relationships between biodiversity (measured as the number of species per local community) and ecosystem functioning classically follows a saturating shape (a). The high variability observed among monocultures (grey area in [a]) may be attributed to variation in (intraspecific) PCCGs diversity within species (b). A PCCGs approach may allow illuminating variation that is generally overlooked in classical BEF relationships. Similarly, pluricultures (blue area in [a]) may differ in their PCCGs diversity regardless of the number of species (c). Eventually, this might allow forecasting ecosystem functions more accurately, for instance by changing the shape of BEF relationships and/or increasing the predictive power (d).

4. PCCGs implications for ecoevolutionary dynamics: toward focal-community eco-evolutionary dynamics

The PCCG diversity of a focal community is governed by its past demographic and evolutionary history (macro-evolution), which encompasses geological processes (e.g. isolation from a glacial refuge) and contemporary processes (micro-evolution such as recent bottlenecks). Assuming that PCCGs are governing ecological dynamics, quantifying biodiversity from PCCGs is particularly relevant for predicting eco-evolutionary feedbacks (Schoener 2011).

Considering PCCGs for understanding eco-evolutionary dynamics constitutes a major conceptual shift, as this permits moving from a focal-species approach to a focal-community approach. Most studies investigating empirical eco-evolutionary feedback have considered reciprocal effects between evolutionary processes acting within a single species and ecosystem processes (De Meester *et al.* 2019; Hendry 2019; Schoener 2011). Contrastingly, very few studies have considered the possibility that evolution affects the genotypic (and trait) distribution of an entire focal community, with consequences for the dynamics of the community itself and the ecosystem, which themselves feedback to the gene pool of the focal community (but see, Aubree *et al.* 2020; Moorsel *et al.* 2019; Norberg *et al.* 2012). Thus, with PCCGs measured inclusively in a community, the ‘focal-species approach’ used in most eco-evolutionary dynamics studies will naturally shift toward a ‘focal-community’ perspective (De Meester *et al.* 2019; Govaert *et al.* 2021; Hendry 2019), making more realistic empirical eco-evolutionary studies. Hereafter, we detail three perspectives for exploring the implications of PCCGs for eco-evolutionary dynamics.

First, spatial and temporal patterns of PCCG diversity must be uncovered in various communities to reveal the underlying processes. Hubbell (2001) and Vellend (2005) proposed that spatial patterns of intraspecific (gene) diversity and interspecific (species) diversity are driven by similar processes (natural selection/environmental filtering, gene flow/dispersal, genetic drift/ecological drift, mutation/speciation). Nonetheless, in all associated empirical studies (Fourtune *et al.* 2016; Manel *et al.* 2020; Taberlet *et al.* 2012; Vellend *et al.* 2014), the two facets of diversity are still dichotomized (see also, Govaert *et al.* 2021). Here, we offer an alternative view that they actually form a continuum that must be analysed as a single entity; biodiversity. Spatial patterns of biodiversity can then be understood through processes derived from population genetics: mutation acts on genes, which eventually leads to speciation; natural selection (indirectly) acts on genes, which eventually leads to different gene frequencies; gene flow acts on genes, which eventually homogenize the gene frequencies among local

communities; and drift acts on genes, which eventually differentiate local communities. By using appropriate tools (Lowe *et al.* 2017), patterns of PCCGs diversity and underlying processes can be revealed at different spatial and temporal scales, in different environmental contexts and taxonomic groups. Revealing the evolutionary processes governing gene frequencies in focal communities allows relating the potential for eco-evolutionary dynamics to both adaptive (selection) and non-adaptive processes (gene flow, drift, mutation; Lowe *et al.* 2017). This contributes to embracing a more realistic perspective of empirical eco-evolutionary dynamics (De Meester *et al.* 2019; Norberg *et al.* 2012).

Secondly, PCCGs as a unit of biodiversity will provide a relevant substratum to move research on eco-evolutionary dynamics from a 'focal-species' approach to a 'focal-community' approach (De Meester *et al.* 2019; Hendry 2019). Long-term experiments have shown that (i) interspecific diversity alters the evolutionary dynamics of plant species (ecology-to-evolution, e.g. Moorsel *et al.* 2019) and (ii) that the evolution of some plants within plots with different levels of interspecific diversity may alter plant productivity (evolution-to-ecology, e.g. van Moorsel *et al.* 2018). This suggests eco-evolutionary dynamics occurring at the community level, and theoretical models are now integrating the potential for community evolution as a driver/modulator of ecological dynamics (Aubree *et al.* 2020; Loeuille 2010). Eco-evolutionary dynamics involving the evolution of communities have been suggested in experiments manipulating microorganisms (Faillace & Morin 2017; Gravel *et al.* 2010; Lawrence *et al.* 2012), but these studies remain limited by the difficulty to simultaneously track gene frequencies for a substantial number of species. Quantifying diversity from PCCGs inherently allows for such tracking and therefore breaks down a major wall. This genetic tracking can be done in the wild over large spatial and/or temporal scales, especially using pool-seq approaches (Czech *et al.* 2022). Alternatively, it becomes possible to experimentally assemble focal communities varying according to their PCCGs diversity and track the consequences of this diversity on ecological processes, and reciprocally the consequences of the later on PCCGs diversity.

Finally, a PCCGs approach allows identifying ecologically-important genetic sequences (Barbour *et al.* 2022; Skovmand *et al.* 2018) and their distribution in communities. It has long been argued that phenotype is pivotal for linking ecological and evolutionary dynamics. While we agree with that statement, phenotypic diversity includes both an environmental (nonheritable) and a genetic component, the latter being central to eco-evolutionary dynamics. By assuming that functional genes are sustaining (at least partly) phenotypic variation among individuals and species, the PCCGs approach overcomes the shortcoming of including

nonheritable components and allows focusing more tightly on the ‘genes that matter’. Genome-wide-association approaches (GWAs) can be used to relate SNP diversity at the community level and any ecological process to identify the gene(s) that is/are the most tightly linked to the process (Rudman *et al.* 2018). Important variants may be concentrated in a single species or multiple species and may be spread (or not) over multiple genes. Gene complementarity may also arise when two or more variants are beneficial to each other for ecological processes, which would underlie the importance of (synergistic or antagonistic) ‘genomic interactions’ for ecological processes. In the same way, by building PCCGs panels in interacting guilds (e.g. tree leaves and crustaceans, **Figure III.2**), this provides the possibility to reveal complementarity, gene–gene interactions and co-evolution among trophic levels, which has yet poorly been explored. Nonetheless, we anticipate that comparing the relative influence of PCCGs and functional trait diversity (measured at the community scale) on ecological dynamics would greatly help in understanding the heritable and environmental components of eco-evolutionary dynamics. Interestingly, by screening a panel of PCCGs, this approach might also allow to investigate particular traits and combinations of traits. Using adequate statistics, assessing the linkage between PCCGs diversity on a sub-sample of traits (for instance with random permutations) and ecosystem functions would indeed permit uncovering whether some specific trait combinations are ecologically-important. These questions may reveal whether genes in a community are complementary or whether a few of them are driving ecological processes. Because we propose an approach using genes extremely well known by functional biologists, a deeper understanding of the molecular mechanisms sustaining these gene–function relationships are further possible. For instance, it has recently been shown that epigenetic marks play a pivotal role in controlling the sitter/rover behaviour associated with the for gene in *D.melanogaster* (Anreiter *et al.* 2017). The toolbox of functional biologists may be transferred to functional ecologists for improving the mechanistic linkage that exists between genes and ecological dynamics.

5. **Concluding remarks**

We provide a novel framework to quantify biodiversity that breaks the historical boundary between the intra- and interspecific facets of diversity. This framework may substantially improve our ability to understand the reciprocal links between environmental changes, biodiversity and ecosystem dynamics. There have been previous attempts to break this boundary (Gaggiotti *et al.* 2018; Start & Gilbert, 2019; Vellend 2005), but our approach differs from previous ones in that it relies on the idea of a biodiversity unit going beyond the species concept, that is driven by demographic and evolutionary processes and that putatively

affects ecological processes. This approach is similar to that used by microbiologists (Burke *et al.* 2011; Konopka 2009; Morris *et al.* 2020) that use molecular markers to characterize bacterial communities, mainly because specifically naming bacteria is tricky. Our approach is also 'agnostic' (*sensu* Morris *et al.* 2020) in that this is not species that matters anymore, but candidate gene frequencies at the community level (whatever the species that carry the genes), which, from a theoretical point of view, is similar to the neutral perspective developed by Hubbell (2001).

The PCCGs approach is based on knowledge accumulated by functional geneticists. Contrary to recent perspectives (Rudman *et al.* 2018; Skovmand *et al.* 2018), we do not aim to search for new candidate genes with strong ecological effects (Skovmand *et al.* 2018). Although this quest for keystone genes is valuable and necessary (Barbour *et al.* 2022), we argue that novel insights can also emerge by merging previous findings from research fields that are poorly connected. Of course, our a priori approach is not without limitations, and it is obvious that important genes (as well as interactions among genes or gene regulatory sequences) may be missed, whereas they would have been revealed using alternative approaches. Both approaches are therefore valuable and should be pursued. Moreover, by focusing on phylogenetically-conserved genes, we might underestimate intraspecific diversity that matters for ecological and evolutionary dynamics. Although technical solutions can be set to solve this issue (see above Section 2.2.2), a failure to do so would still be highly relevant to reveal patterns and consequences of functional genomic diversity at the community level, which would open relevant research opportunities (Mouquet *et al.* 2012).

Another limit of the PCCGs approach is that it focuses on genes coding for important traits, while 'ignoring' functional trait variability observed in the wild. The main implication is that the environmental component (i.e. plasticity) of trait variability is missed. There have been some attempts to link traits measured at the community level and ecological processes and functions (Le Bagousse-Pinguet *et al.* 2019; Start & Gilbert 2019), and we fully acknowledge that this is relevant to illuminate mechanistic pathways (Norberg *et al.* 2001). Although traits can be tricky to estimate (especially for animals), revealing the causal links between PCCGs, trait diversity (measured at the community scale) and ecological dynamics would be extremely valuable to test for redundancy/complementarity among the genetic and phenotypic diversity of communities. For instance, some important traits may be missed while being captured by the genetic diversity of populations of communities ('ghost' traits) and vice versa; trait diversity and genetic diversity can be complementary for explaining ecological processes (Raffard *et al.* 2021). Combining both PCCGs and traits will likely generate unexpected mechanistic insights

into the links between biodiversity, ecological dynamics and the environment. Yet, for eco-evolutionary dynamics, what matters is information transmitted across generations (De Meester *et al.* 2019). Focusing directly on genes that sustain trait variation therefore allows for better integration of biodiversity into the framework of eco-evolutionary dynamics.

To conclude, the PCCGs approach has many implications that actually go beyond BEF relationships and eco-evolutionary dynamics (e.g. conservation biology), and that could be discussed elsewhere and after some proof of concepts have emerged. Reducing the complexity of natural communities to candidate gene frequencies will likely ease the links between theories and empirical observations, as the theory generally simplifies premises (Govaert *et al.* 2019; Hubbell 2011; Loreau 1998; Norberg *et al.* 2001). We now hope that empiricists and theoreticians will be convinced enough and that future works integrating PCCGs will soon emerge.

AUTHOR CONTRIBUTION

Laura Fargeot: Conceptualization (Supporting); Investigation (Equal); Writing - original draft (Equal); Writing - review & editing (Equal); Visualization (Equal). **Simon Blanchet:** Conceptualization (Lead); Investigation (Equal); Writing - original draft (Equal); Writing - review & editing (Equal); Visualization (Equal); Supervision (Equal); Project administration (Lead); Funding acquisition (Equal). **Allan Raffard:** Conceptualization (Supporting); Investigation (Equal); Writing - original draft (Equal); Writing - review & editing (Equal); Visualization (Equal); Supervision (Equal); Funding acquisition (Equal).

REFERENCES

- Albert, T. J., Molla, M. N., Muzny, D. M., Nazareth, L., Wheeler, D., Song, X., Richmond, T. A., Middle, C. M., Rodesch, M. J., Packard, C. J., Weinstock, G. M., & Gibbs, R. A. (2007). Direct selection of human genomic loci by microarray hybridization. *Nature Methods*, 11, 903–905.
- Andersen, J. R., & Lübberstedt, T. (2003). Functional markers in plants. *Trends in Plant Science*, 11, 554–560.
- Anreiter, I., Kramer, J. M., & Sokolowski, M. B. (2017). Epigenetic mechanisms modulate differences in *Drosophila* foraging behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(47), 12518–12523.
- Anreiter, I., & Sokolowski, M. B. (2019). The *foraging* gene and its behavioral effects: Pleiotropy and plasticity. *Annual Review of Genetics*, 53(1), 373–392.
- Aubree, F., David, P., Jarne, P., Loreau, M., Mouquet, N., & Calcagno, V. (2020). How community adaptation affects biodiversity–ecosystem functioning relationships. *Ecology Letters*, 23(8), 1263–1275.
- Balvanera, P., Pfisterer, A. B., Buchmann, N., He, J.-S., Nakashizuka, T., Raffaelli, D., & Schmid, B. (2006). Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem

- functioning and services: Biodiversity and ecosystem functioning/services. *Ecology Letters*, 9(10), 1146–1156.
- Barbour, M. A., Kliebenstein, D. J., & Bascompte, J. (2022). A keystone gene underlies the persistence of an experimental food web. *Science*, 376(6588), 70–73.
- Barson, N. J., Aykanat, T., Hindar, K., Baranski, M., Bolstad, G. H., Fiske, P., Jacq, C., Jensen, A. J., Johnston, S. E., Karlsson, S., Kent, M., Moen, T., Niemelä, E., Nome, T., Næsje, T. F., Orell, P., Romakkaniemi, A., Sægrov, H., Urdal, K., ... Primmer, C. R. (2015). Sex-dependent dominance at a single locus maintains variation in age at maturity in salmon. *Nature*, 528(7582), 405–408.
- Baselga, A. (2010). Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity: Partitioning beta diversity. *Global Ecology and Biogeography*, 19(1), 134–143.
- Bellard, C., Bertelsmeier, C., Leadley, P., Thuiller, W., & Courchamp, F. (2012). Impacts of climate change on the future of biodiversity: Biodiversity and climate change. *Ecology Letters*, 15(4), 365–377.
- Brown, J. H., Gillooly, J. F., Allen, A. P., Savage, V. M., & West, G. B. (2004). Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 85(7), 1771–1789.
- Burke, C., Steinberg, P., Rusch, D., Kjelleberg, S., & Thomas, T. (2011). Bacterial community assembly based on functional genes rather than species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(34), 14288–14293.
- Cadotte, M. W., Carscadden, K., & Mirotnick, N. (2011). Beyond species: Functional diversity and the maintenance of ecological processes and services: Functional diversity in ecology and conservation. *Journal of Applied Ecology*, 48(5), 1079–1087.
- Cadotte, M. W., Dinnage, R., & Tilman, D. (2012). Phylogenetic diversity promotes ecosystem stability. *Ecology*, 93(sp8), S223–S233.
- Cardinale, B. J., Duffy, J. E., Gonzalez, A., Hooper, D. U., Perrings, C., Venail, P., Narwani, A., Mace, G. M., Tilman, D., Wardle, D. A., Kinzig, A. P., Daily, G. C., Loreau, M., Grace, J. B., Larigauderie, A., Srivastava, D. S., & Naeem, S. (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486(7401), 59–67.
- Cardoso-Moreira, M., Halbert, J., Valloton, D., Velten, B., Chen, C., Shao, Y., Liechti, A., Ascensão, K., Rummel, C., Ovchinnikova, S., Mazin, P. V., Xenarios, I., Harshman, K., Mort, M., Cooper, D. N., Sandi, C., Soares, M. J., Ferreira, P. G., Afonso, S., ... Kaessmann, H. (2019). Gene expression across mammalian organ development. *Nature*, 571(7766), 505–509.
- Chapin, F. S., Walker, B. H., Hobbs, R. J., Hooper, D. U., Lawton, J. H., Sala, O. E., & Tilman, D. (1997). Biotic control over the functioning of ecosystems. *Science*, 277(5325), 500–504.
- Chapin, F. S., Zavaleta, E. S., Eviner, V. T., Naylor, R. L., Vitousek, P. M., Reynolds, H. L., Hooper, D. U., Lavorel, S., Sala, O. E., Hobbie, S. E., Mack, M. C., & Diaz, S. (2000). Consequences of changing biodiversity. *Nature*, 405(6783), 234–242.
- Cho, L.-H., Yoon, J., & An, G. (2017). The control of flowering time by environmental factors. *The Plant Journal*, 90(4), 708–719.
- Crutsinger, G. M., Collins, M. D., Fordyce, J. A., Gompert, Z., Nice, C., & Sanders, N. J. (2006). Plant genotypic diversity predicts community structure and governs an ecosystem process. *Science*, 313(5789), 966–968.
- Czech, L., Peng, Y., Spence, J. P., Lang, P. L. M., Bellagio, T., Hildebrandt, J., Fritschi, K., Schwab, R., Rowan, B. A., GrENE-net consortium, Weigel, D., Scheepens, J. F., Vasseur, F., & Exposito-Alonso, M. (2022). *Monitoring rapid evolution of plant populations at scale with Pool-Sequencing* [Preprint]. *Evolutionary Biology*.
- de Belle, J. S., Hilliker, A. J., & Sokolowski, M. B. (1989). Genetic localization of foraging (for): A major gene for larval behavior in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 123(1), 157–163.

- De Kort, H., Prunier, J. G., Ducatez, S., Honnay, O., Baguette, M., Stevens, V. M., & Blanchet, S. (2021). Life history, climate and biogeography interactively affect worldwide genetic diversity of plant and animal populations. *Nature Communications*, 12(1), 516.
- De Meester, L., Brans, K. I., Govaert, L., Souffreau, C., Mukherjee, S., Vanvelk, H., Korzeniowski, K., Kilsdonk, L., Decaestecker, E., Stoks, R., & Urban, M. C. (2019). Analyzing eco-evolutionary dynamics – The challenging complexity of the real world. *Functional Ecology*, 33, 43–59.
- Ducrest, A., Keller, L., & Roulin, A. (2008). Pleiotropy in the melanocortin system, coloration and behavioural syndromes. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(9), 502–510.
- Faillace, C. A., & Morin, P. J. (2017). Evolution alters the consequences of invasions in experimental communities. *Nature Ecology and Evolution*, 1(1), 0013.
- Faircloth, B. C. (2017). Identifying conserved genomic elements and designing universal bait sets to enrich them. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(9), 1103–1112.
- Falconer, D. (1981). *Introduction to quantitative genetics*. Longman Group Limited.
- Fitzpatrick, M., Benshahar, Y., Smid, H., Vet, L., Robinson, G., & Sokolowski, M. (2005). Candidate genes for behavioural ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(2), 96–104.
- Fourtune, L., Paz-Vinas, I., Loot, G., Prunier, J. G., & Blanchet, S. (2016). Lessons from the fish: A multi-species analysis reveals common processes underlying similar species-genetic diversity correlations. *Freshwater Biology*, 61(11), 1830–1845.
- Fridley, J. D., & Grime, J. P. (2010). Community and ecosystem effects of intraspecific genetic diversity in grassland microcosms of varying species diversity. *Ecology*, 91(8), 2272–2283.
- Gaggiotti, O. E., Chao, A., Peres-Neto, P., Chiu, C.-H., Edwards, C., Fortin, M.-J., Jost, L., Richards, C. M., & Selkoe, K. A. (2018). Diversity from genes to ecosystems: A unifying framework to study variation across biological metrics and scales. *Evolutionary Applications*, 11(7), 1176–1193.
- Gautier, M., Vitalis, R., Flori, L., & Estoup, A. (2022). *F*-statistics estimation and admixture graph construction with Pool-Seq or allele count data using the R package *poolstat*. *Molecular Ecology Resources*, 22(4), 1394–1416.
- Gonzalez, A., Germain, R. M., Srivastava, D. S., Filotas, E., Dee, L. E., Gravel, D., Thompson, P. L., Isbell, F., Wang, S., Kéfi, S., Montoya, J., Zelnik, Y. R., & Loreau, M. (2020). Scaling-up biodiversity-ecosystem functioning research. *Ecology Letters*, 23(4), 757–776.
- Govaert, L., Altermatt, F., De Meester, L., Leibold, M. A., McPeck, M. A., Pantel, J. H., & Urban, M. C. (2021). Integrating fundamental processes to understand eco-evolutionary community dynamics and patterns. *Functional Ecology*, 8(10), 2138–2155.
- Govaert, L., Fronhofer, E. A., Lion, S., Eizaguirre, C., Bonte, D., Egas, M., Hendry, A. P., De Brito Martins, A., Melián, C. J., Raeymaekers, J. A. M., Ratikainen, I. I., Saether, B., Schweitzer, J. A., & Matthews, B. (2019). Eco-evolutionary feedbacks—Theoretical models and perspectives. *Functional Ecology*, 33(1), 13–30.
- Gramzow, L., & Theißen, G. (2013). Phylogenomics of MADS-box genes in plants—Two opposing life styles in one gene family. *Biology*, 2(3), 1150–1164.
- Gravel, D., Bell, T., Barbera, C., Bouvier, T., Pommier, T., Venail, P., & Mouquet, N. (2010). Experimental niche evolution alters the strength of the diversity–productivity relationship. *Nature*, 469(7328), 89–92.
- Hagan, J. G., Vanschoenwinkel, B., & Gamfeldt, L. (2021). We should not necessarily expect positive relationships between biodiversity and ecosystem functioning in observational field data. *Ecology Letters*, 24(12), 2537–2548.

- Hargrave, C. W., Hambright, K. D., & Weider, L. J. (2011). Variation in resource consumption across a gradient of increasing intra- and interspecific richness. *Ecology*, 92(6), 1226–1235.
- Hawkins, M. T. R., Hofman, C. A., Callicrate, T., McDonough, M. M., Tsuchiya, M. T. N., Gutiérrez, E. E., Helgen, K. M., & Maldonado, J. E. (2016). In-solution hybridization for mammalian mitogenome enrichment: Pros, cons and challenges associated with multiplexing degraded DNA. *Molecular Ecology Resources*, 16(5), 1173–1188.
- Hendry, A. P. (2017). *Eco-evolutionary dynamics*. Princeton University Press.
- Hendry, A. P. (2019). A critique for eco-evolutionary dynamics. *Functional Ecology*, 33(1), 84–94.
- Hendry, A. P., Farrugia, T. J., & Kinnison, M. T. (2008). Human influences on rates of phenotypic change in wild animal populations. *Molecular Ecology*, 17(1), 20–29.
- Holsinger, K. E., & Weir, B. S. (2009). Genetics in geographically structured populations: Defining, estimating and interpreting FST. *Nature Reviews Genetics*, 10(9), 639–650.
- Hou, Z., Fu, J., & Li, S. (2007). A molecular phylogeny of the genus *Gammarus* (Crustacea: Amphipoda) based on mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 10, 596–611.
- Hooper, D. U., Chapin, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J. H., Lodge, D. M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A. J., Vandermeer, J., & Wardle, D. A. (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75(1), 3–35.
- Hubbell, S. (2001). *The unified neutral theory of biodiversity and biogeography*. Princeton University Press.
- Hughes, A. R., Inouye, B. D., Johnson, M. T. J., Underwood, N., & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity: Ecological effects of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11(6), 609–623.
- Hughes, A. R., & Stachowicz, J. J. (2004). Genetic diversity enhances the resistance of a seagrass ecosystem to disturbance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(24), 8998–9002.
- Huston, M. A. (1997). Hidden treatments in ecological experiments: Re-evaluating the ecosystem function of biodiversity. *Oecologia*, 110(4), 449–460.
- James, A. M., Ma, D., Mellway, R., Gesell, A., Yoshida, K., Walker, V., Tran, L., Stewart, D., Reichelt, M., Suvanto, J., Salminen, J.-P., Gershenson, J., Séguin, A., & Constabel, C. P. (2017). Poplar MYB115 and MYB134 transcription factors regulate Proanthocyanidin synthesis and structure. *Plant Physiology*, 174(1), 154–171.
- Jiménez-Mena, B., Flávio, H., Henriques, R., Manuzzi, A., Ramos, M., Meldrup, D., Edson, J., Pálsson, S., Ásta Ólafsdóttir, G., Ovenden, J. R., Nielsen, E. E., & Alexander, A. (2022). Fishing for DNA? Designing baits for population genetics in target enrichment experiments: Guidelines, considerations and the new tool superBaits. *Molecular Ecology Resources*, 22(5), 2105–2119.
- Jones, M. R., & Good, J. M. (2016). Targeted capture in evolutionary and ecological genomics. *Molecular Ecology*, 25(1), 185–202.
- Jost, L. (2008). G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17(18), 4015–4026.
- Konopka, A. (2009). What is microbial community ecology? *The ISME Journal*, 3(11), 1223–1230.
- Lawrence, D., Fiegna, F., Behrends, V., Bundy, J. G., Phillimore, A. B., Bell, T., & Barraclough, T. G. (2012). Species interactions alter evolutionary responses to a novel environment. *PLoS Biology*, 10(5), e1001330.
- Le Bagousse-Pinguet, Y., Soliveres, S., Gross, N., Torices, R., Berdugo, M., & Maestre, F. T. (2019). Phylogenetic, functional, and taxonomic richness have both positive and

- negative effects on ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(17), 8419–8424.
- Loeuille, N. (2010). Influence of evolution on the stability of ecological communities: Evolution and stability of communities. *Ecology Letters*, 13(12), 1536–1545.
- Loreau, M. (1998). Biodiversity and ecosystem functioning: A mechanistic model. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(10), 5632–5636.
- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J. P., Hector, A., Hooper, D. U., Huston, M. A., Raffaelli, D., Schmid, B., Tilman, D., & Wardle, D. A. (2001). Biodiversity and ecosystem functioning: Current knowledge and future challenges. *Science*, 294(5543), 804–808.
- Lowe, W. H., Kovach, R. P., & Allendorf, F. W. (2017). Population genetics and demography unite ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 32(2), 141–152.
- Mamanova, L., Coffey, A. J., Scott, C. E., Kozarewa, I., Turner, E. H., Kumar, A., Howard, E., Shendure, J., & Turner, D. J. (2010). Target-enrichment strategies for next-generation sequencing. *Nature Methods*, 7(2), 111–118.
- Manel, S., Guerin, P.-E., Mouillot, D., Blanchet, S., Velez, L., Albouy, C., & Pellissier, L. (2020). Global determinants of freshwater and marine fish genetic diversity. *Nature Communications*, 11(1), 692.
- Marden, J. H., Fescemyer, H. W., Schilder, R. J., Doerfler, W. R., Vera, J. C., & Wheat, C. W. (2013). Genetic variation in HIF signaling underlies quantitative variation in physiological and life-history traits within lowland butterfly populations. *Evolution*, 67(4), 1105–1115.
- Matthews, B., De Meester, L., Jones, C. G., Ibelings, B. W., Bouma, T. J., Nuutinen, V., van de Koppel, J., & Odling-Smee, J. (2014). Under niche construction: An operational bridge between ecology, evolution, and ecosystem science. *Ecological Monographs*, 84(2), 245–263.
- Matthews, B., Narwani, A., Hausch, S., Nonaka, E., Peter, H., Yamamichi, M., Sullam, K. E., Bird, K. C., Thomas, M. K., Hanley, T. C., & Turner, C. B. (2011). Toward an integration of evolutionary biology and ecosystem science. *Ecology Letters*, 14(7), 690–701.
- McGirr, J. A., & Martin, C. H. (2017). Novel candidate genes underlying extreme trophic specialization in Caribbean pupfishes. *Molecular Biology and Evolution*, 34, 873–888.
- Meinke, D., Muralla, R., Sweeney, C., & Dickerman, A. (2008). Identifying essential genes in *Arabidopsis thaliana*. *Trends in Plant Science*, 13(9), 483–491.
- Mertes, F., ElSharawy, A., Sauer, S., van Helvoort, J. M. L. M., van der Zaag, P. J., Franke, A., Nilsson, M., Lehrach, H., & Brookes, A. J. (2011). Targeted enrichment of genomic DNA regions for next-generation sequencing. *Briefings in Functional Genomics*, 10(6), 374–386.
- Moorsel, S. J., Schmid, M. W., Wagemaker, N. C. A. M., Gulp, T., Schmid, B., & Vergeer, P. (2019). Evidence for rapid evolution in a grassland biodiversity experiment. *Molecular Ecology*, 28(17), 4097–4117.
- Morris, A., Meyer, K., & Bohannan, B. (2020). Linking microbial communities to ecosystem functions: What we can learn from genotype–phenotype mapping in organisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society, B: Biological Sciences*, 375(1798), 20190244.
- Mouquet, N., Devictor, V., Meynard, C. N., Munoz, F., Bersier, L.-F., Chave, J., Couteron, P., Dalecky, A., Fontaine, C., Gravel, D., Hardy, O. J., Jabot, F., Lavergne, S., Leibold, M., Mouillot, D., Münkemüller, T., Pavoine, S., Prinzing, A., Rodrigues, A. S. L., ... Thuiller, W. (2012). Ecophylogenetics: Advances and perspectives. *Biological Reviews*, 87(4), 769–785.
- Newbold, T., Hudson, L. N., Hill, S. L. L., Contu, S., Lysenko, I., Senior, R. A., Börger, L., Bennett, D. J., Choimes, A., Collen, B., Day, J., De Palma, A., Díaz, S., Echeverria-

- Londoño, S., Edgar, M. J., Feldman, A., Garon, M., Harrison, M. L. K., Alhusseini, T., ... Purvis, A. (2015). Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature*, 520(7545), 45–50.
- Norberg, J., Swaney, D. P., Dushoff, J., Lin, J., Casagrandi, R., & Levin, S. A. (2001). Phenotypic diversity and ecosystem functioning in changing environments: A theoretical framework. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(20), 11376–11381.
- Norberg, J., Urban, M. C., Vellend, M., Klausmeier, C. A., & Loeuille, N. (2012). Eco-evolutionary responses of biodiversity to climate change. *Nature Climate Change*, 2(10), 747–751.
- Parmesan, C., & Yohe, G. (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, 421(6918), 37–42.
- Prieto, I., Violle, C., Barre, P., Durand, J.-L., Ghesquiere, M., & Litrico, I. (2015). Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. *Nature Plants*, 1(4), 15033.
- Raffard, A., Cucherousset, J., Montoya, J. M., Richard, M., Acoca-Pidolle, S., Poésy, C., Garreau, A., Santoul, F., & Blanchet, S. (2021). Intraspecific diversity loss in a predator species alters prey community structure and ecosystem functions. *PLoS Biology*, 19(3), e3001145.
- Raffard, A., Santoul, F., Cucherousset, J., & Blanchet, S. (2019). The community and ecosystem consequences of intraspecific diversity: A meta-analysis: The ecological effects of intraspecific diversity. *Biological Reviews*, 94(2), 648–661.
- Reusch, T. B. H., Ehlers, A., Hämmerli, A., & Worm, B. (2005). Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(8), 2826–2831.
- Rota, T., Jabiol, J., Chauvet, E., & Lecerf, A. (2018). Phenotypic determinants of inter-individual variability of litter consumption rate in a detritivore population. *Oikos*, 127(11), 1670–1678.
- Rudman, S. M., Barbour, M. A., Csilléry, K., Gienapp, P., Guillaume, F., Hairston, N. G., Jr., Hendry, A. P., Lasky, J. R., Rafajlović, M., Räsänen, K., Schmidt, P. S., Seehausen, O., Therkildsen, N. O., Turcotte, M. M., & Levine, J. M. (2018). What genomic data can reveal about eco-evolutionary dynamics. *Nature Ecology and Evolution*, 2(1), 9–15.
- Schilling, S., Pan, S., Kennedy, A., & Melzer, R. (2018). MADS-box genes and crop domestication: The jack of all traits. *Journal of Experimental Botany*, 69(7), 1447–1469.
- Schlötterer, C., Tobler, R., Kofler, R., & Nolte, V. (2014). Sequencing pools of individuals—Mining genome-wide polymorphism data without big funding. *Nature Reviews Genetics*, 15(11), 749–763.
- Schmidt, N. M., Mosbacher, J. B., Nielsen, P. S., Rasmussen, C., Høye, T. T., & Roslin, T. (2016). An ecological function in crisis? The temporal overlap between plant flowering and pollinator function shrinks as the Arctic warms. *Ecography*, 39(12), 1250–1252.
- Schoener, T. W. (2011). The newest synthesis: Understanding the interplay of evolutionary and ecological dynamics. *Science*, 331(6016), 426–429.
- Schwander, T., Libbrecht, R., & Keller, L. (2014). Supergenes and complex phenotypes. *Current Biology*, 24(7), R288–R294.
- Schwarz-Sommer, Z., Huijser, P., Nacken, W., Saedler, H., & Sommer, H. (1990). Genetic control of flower development by homeotic genes in *Antirrhinum majus*. *Science*, 250(4983), 931–936.
- Sham, P., Bader, J. S., Craig, I., O'Donovan, M., & Owen, M. (2002). DNA pooling: A tool for large-scale association studies. *Nature Reviews Genetics*, 3(11), 862–871.

- Skovmand, L. H., Xu, C. C. Y., Servedio, M. R., Nosil, P., Barrett, R. D. H., & Hendry, A. P. (2018). Keystone genes. *Trends in Ecology & Evolution*, 33(9), 689–700.
- Sokolowski, M. B. (2001). Drosophila: Genetics meets behaviour. *Nature Reviews Genetics*, 2(11), 879–890.
- Spielman, D., Brook, B. W., & Frankham, R. (2004). Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(42), 15261–15264.
- Start, D., & Gilbert, B. (2019). Trait variation across biological scales shapes community structure and ecosystem function. *Ecology*, 100(9), e02769.
- Struk, A. A., Mugon, J., Huston, A., Scholer, A. A., Stadler, G., Higgins, E. T., Sokolowski, M. B., & Danckert, J. (2019). Self-regulation and the *foraging* gene (*PRKG1*) in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(10), 4434–4439.
- Taberlet, P., Zimmermann, N. E., Englisch, T., Tribsch, A., Holderegger, R., Alvarez, N., Niklfeld, H., Coldea, G., Mirek, Z., Moilanen, A., Ahlmer, W., Marsan, P. A., Bona, E., Bovio, M., Choler, P., Cieślak, E., Colli, L., Cristea, V., Dalmas, J.-P., ... IntraBioDiv Consortium. (2012). Genetic diversity in widespread species is not congruent with species richness in alpine plant communities. *Ecology Letters*, 15(12), 1439–1448.
- Theißen, G., Rümpler, F., & Gramzow, L. (2018). Array of MADS-box genes: Facilitator for rapid adaptation? *Trends in Plant Science*, 23(7), 563–576.
- Thompson, J. (1998). Rapid evolution as an ecological process. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(8), 329–332.
- Tilman, D., Reich, P. B., & Knops, J. M. H. (2006). Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature*, 441(7093), 629–632.
- Tilman, D., Wedin, D., & Knops, J. (1996). Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature*, 379(6567), 718–720.
- Tucker, C. M., Cadotte, M. W., Carvalho, S. B., Davies, T. J., Ferrier, S., Fritz, S. A., Grenyer, R., Helmus, M. R., Jin, L. S., Mooers, A. O., Pavoine, S., Purschke, O., Redding, D. W., Rosauer, D. F., Winter, M., & Mazel, F. (2017). A guide to phylogenetic metrics for conservation, community ecology and macroecology: A guide to phylogenetic metrics for ecology. *Biological Reviews*, 92(2), 698–715.
- van Moorsel, S. J., Hahl, T., Wagg, C., De Deyn, G. B., Flynn, D. F. B., Zuppinger-Dingley, D., & Schmid, B. (2018). Community evolution increases plant productivity at low diversity. *Ecology Letters*, 21(1), 128–137.
- Vellend, M. (2005). Species diversity and genetic diversity: Parallel processes and correlated patterns. *The American Naturalist*, 166(2), 199–215.
- Vellend, M., & Geber, M. A. (2005). Connections between species diversity and genetic diversity. *Ecology Letters*, 8(7), 767–781.
- Vellend, M., Lajoie, G., Bourret, A., Múrria, C., Kembel, S. W., & Garant, D. (2014). Drawing ecological inferences from coincident patterns of population- and community-level biodiversity. *Molecular Ecology*, 23(12), 2890–2901.
- Wattier, R., Mamos, T., Copilas-Ciocianu, D., Jelic, M., Ollivier, A., Chaumot, A., Danger, M., Felten, V., Piscart, C., Žganec, K., & Rewicz, T. (2020). Continental-scale patterns of hyper-cryptic diversity within the freshwater model taxon *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Scientific Reports*, 10, 16536.
- Watanabe, K., Stringer, S., Frei, O., Umičević Mirkov, M., de Leeuw, C., Polderman, T. J. C., van der Sluis, S., Andreassen, O. A., Neale, B. M., & Posthuma, D. (2019). A global overview of pleiotropy and genetic architecture in complex traits. *Nature Genetics*, 51(9), 1339–1348.
- Whitham, T. G., Bailey, J. K., Schweitzer, J. A., Shuster, S. M., Bangert, R. K., LeRoy, C. J., Lonsdorf, E. V., Allan, G. J., DiFazio, S. P., Potts, B. M., Fischer, D. G., Gehring, C. A., Lindroth, R. L., Marks, J. C., Hart, S. C., Wimp, G. M., & Wooley, S. C. (2006). A

- framework for community and ecosystem genetics: From genes to ecosystems. *Nature Reviews Genetics*, 7(7), 510–523.
- Whitham, T. G., Young, W. P., Martinsen, G. D., Gehring, C. A., Schweitzer, J. A., Shuster, S. M., Wimp, G. M., Fischer, D. G., Bailey, J. K., Lindroth, R. L., Woolbright, S., & Kuske, C. R. (2003). Community and ecosystem genetics: A consequence of the extended phenotype. *Ecology*, 84(3), 559–573.
- Whittaker, R. H. (1960). Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs*, 30(3), 279–338.
- Wolf, M., & Weissing, F. J. (2012). Animal personalities: Consequences for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(8), 452–461.
- Wuest, S., & Niklaus, P. A. (2018). A plant biodiversity effect resolved to a single chromosomal region. *Nature Ecology and Evolution*, 2(12), 1933–1939.
- Yachi, S., & Loreau, M. (1999). Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(4), 1463–1468.

CHAPITRE IV – PHYLOGENETICALLY-CONSERVED CANDIDATE GENES ALLOW THE DETECTION OF INTRA ET INTERSPECIFIC DIVERSITY: A TEST USING FRESHWATER CRUSTACEANS

Laura Fargeot^{*1}, Yves Cuénot², Rik Verdonck¹, Tristan Lefébure³, Thierry Rigaud⁴, Michael Danger⁵, Rémi Wattier⁴, Delphine Legrand¹, Géraldine Loot⁶, Hervé Philippe¹ & Simon Blanchet^{*1}

¹ Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale, UAR2029, 2 route du CNRS, F-09200 Moulis, France; laura.fargeot@live.fr (L.F.); delphine.legrand@sete.cnrs.fr (D.L.) ; herve.philippe@sete.cnrs.fr (H.P.) ; simon.blanchet@sete.cnrs.fr (S.B.)

² CNRS, Institut de Recherche pour de Développement (IRD), Laboratoire Évolution et Diversité Biologique, UMR 5174, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, F-31400 Toulouse, France; yves.cuenot@univ-tlse3.fr (Y.C.)

³ CNRS, Laboratoire d'écologie des hydrosystèmes naturels et anthropisés, UMR 5023, Université Claude Bernard Lyon I, F-69622 Villeurbanne cedex, France; tristan.lefebure@univ-lyon1.fr (T.L.)

⁴ CNRS, Laboratoire Biogéosciences, UMR 6282, Université de Bourgogne, F-21000 Dijon, France; thierry.rigaud@u-bourgogne.fr (T.R.) ; remi.wattier@u-bourgogne.fr (R.W.).

⁵ CNRS, Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux, UMR 7360, Université de Lorraine, F-57070 Metz, France; michael.danger@univ-lorraine.fr (M.D)

⁶ Université Paul Sabatier (UPS) Toulouse III, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse CEDEX 4, France; geraldine.loot@univ-tlse3.fr (G.L.)

* Correspondence:

Laura Fargeot, laura.fargeot@live.fr

Simon Blanchet, simon.blanchet@sete.cnrs.fr

Manuscript in preparation.

Key words: Inclusive biodiversity, methodology, evolution, ecology, community-scale, interspecific, intraspecific, crustacea, amphipoda, isopoda

QUELQUES MOTS

Ce chapitre préliminaire est rédigé en français a pour but de présenter l'outil que nous avons défendu dans le **Chapitre III** et de tester sa capacité à capter la biodiversité *inclusive* dans les populations et les communautés de crustacés décomposeurs. En utilisant des gènes phylogénétiquement conservés mais variables entre les individus, nous montrons qu'il est possible de détecter du polymorphisme intra- et inter-spécifique directement à l'échelle de la communauté. Dans cette étude, nous testons aussi si des pools à l'échelle de la communauté (un tube contenant un mélange d'ADN de toute une communauté) permettent de récupérer les SNPs avec la même efficacité que des données individuelles, et les résultats sont plutôt concluants, encourageant l'utilisation des méthodes poolées pour des études futures. La sélection de gènes que nous avons choisis codent pour des traits *écologiquement importants* puisque nous sommes particulièrement intéressés par le lien entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes. Cependant, notre méthode est très souple, et exportable à d'autres contextes. Elle pourrait permettre, par exemple, de mieux comprendre les patrons de distribution de la biodiversité *inclusive* (c'est-à-dire aux échelles intra- et interspécifique simultanément) dans la nature, mais aussi de quantifier le lien entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes ou de suivre les dynamiques évo-évolutives, directement à l'échelle des communautés.

1. Introduction

Nos connaissances sur la relation entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes (BEFs) ont émergé de façon indépendante aux échelles inter- et intraspécifique, mais il apparaît aujourd'hui nécessaire de tendre vers des approches plus inclusives pour comprendre les impacts de la biodiversité (à toutes ses échelles) sur les écosystèmes. Historiquement, les études ont considéré l'importance de la richesse spécifique, de la diversité taxonomique ou de la diversité phylogénétique pour la productivité ou la stabilité des écosystèmes (Webb *et al.* 2002; Hooper *et al.* 2005; Balvanera *et al.* 2006; Cardinale *et al.* 2011). Récemment, il a été montré que la diversité des traits et des gènes, mesurée à l'intérieur des espèces, affecte, elle aussi, la structure des communautés et le fonctionnement des écosystèmes (Crutsinger 2006; Whitham *et al.* 2006; Hughes *et al.* 2008) et que la forme et la force de ces liens sont similaires à ceux observés à l'échelle spécifique (Des Roches *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2019; Wan *et al.* 2022). Cette observation suggère que des processus similaires pourraient façonner la biodiversité à de multiples échelles. Cette idée n'est pas nouvelle puisque des processus communs façonnant la biodiversité simultanément à toutes ses échelles ont déjà été identifiés par le passé (Antonovics 1976; Vellend & Geber 2005; Vellend & Orrock 2009). Ces anciennes études trouvent un écho dans la littérature actuelle puisque que certains concepts venus de l'écologie des communautés (espèce centrée) et de la biologie évolutive (individu centrée) semblent en fait s'appliquer simultanément aux populations et aux communautés (Nosil *et al.* 2021; Loreau *et al.* 2023). Des processus communs façonnent apparemment la diversité biologique à toutes les échelles simultanément, mais aucun outil n'existe actuellement pour mesurer la biodiversité de façon *inclusive*, c'est-à-dire simultanément aux échelles inter- et intraspécifique.

Dans le chapitre précédent (Blanchet *et al.* 2022), nous avons proposé l'idée que quelques gènes phylogénétiquement conservés (phylogenetically-conserved candidate genes, PCCGs) dans de nombreuses espèces puissent servir de mesure de biodiversité *inclusive* à l'échelle des communautés. Les PCCGs ont été définis comme « des gènes identifiés dans la littérature comme ayant un impact majeur sur des traits et dont les séquences et les fonctions sont (au moins partiellement) conservés chez de nombreuses espèces » (Blanchet *et al.* 2022). Les traits intéressants dépendent, dans cette approche, de la question biologique. Dans le cadre de l'étude des liens entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes, les traits d'intérêt sont des traits *écologiquement importants*, c'est-à-dire ayant un impact sur le fonctionnement des écosystèmes. La génétique des communautés (et des écosystèmes) a mis en lumière le fait que les génotypes et phénotypes des espèces dites

« ingénieuses » ou « clefs de voute » (entre autres, voir Ellison *et al.* 2005) sont *écologiquement importants* (Fridley 2001; Whitham *et al.* 2003; Crutsinger *et al.* 2014) : tous les gènes concernés sont des gènes candidats (potentiels PCCGs). Cependant, pour qu'un gène candidat soit validé en tant que PCCGs, il faut qu'il soit phylogénétiquement conservé (et séquençable) chez de nombreuses espèces, tout en étant polymorphe entre et au sein des espèces de la communauté cible, et cela semble être une limite majeure à la validation de l'approche PCCGs.

Le séquençage des PCCGs chez une communauté cible suppose la capture de régions spécifiques du génome chez de multiples espèces (ces régions seront variables d'une espèce à l'autre) et cela est rendu possible par le développement des technologies de séquençage ciblé (Jones & Good 2016). Les méthodes qui partitionnent le génome sont plus pertinentes que les approches de séquençage de génome entier (WGS, Whole Genome Sequencing) puisqu'elles permettent d'étudier des régions du génome chez un grand nombre d'individus à un coût raisonnable et en relativement peu de temps. Pour cette raison, la méthode RAD-seq (Restriction-site-associated DNA sequencing) est devenue l'approche classique et privilégiée pour les questions d'écologie et d'évolution chez des espèces non-références, particulièrement pour la génétique des populations ou pour les études phylogéographiques (Miller *et al.* 2007; Elshire *et al.* 2011; Narum *et al.* 2013). Pour étudier la diversité génétique à large échelle en limitant encore les coûts, cette méthode autorise le séquençage de groupes d'individus plutôt que de devoir le faire sur chaque individu séparément (approches poolées, Schlötterer *et al.* 2014; Abrams *et al.* 2021), on parle alors de RAD-seq poolé. Cependant, quand il s'agit de cibler des régions en particulier, les approches de capture ciblées telles que le séquençage basé sur l'hybridation (HBCS, Hawkins *et al.* 2016) fournissent une meilleure qualité de données. Les HSBC permettent de séquencer spécifiquement les séquences cibles grâce à des oligonucléotides (appelés sondes) dont la séquence est complémentaire. Ainsi, ces méthodes garantissent mieux que la région d'intérêt sera couverte, permettent une identification de SNP plus précise et des contigs assemblés généralement plus longs (Gnirke *et al.* 2009; Mertes *et al.* 2011; Harvey *et al.* 2016). Ces méthodes ont aussi l'énorme avantage de tolérer de la variation dans les régions génomiques ciblées (15 à 20%), ce qui garantit le succès de la capture dans des échantillons de faible qualité ou relativement divergent (Faircloth 2017). Les approches de capture ciblées ont par conséquent été utilisés en premier lieu pour la reconstruction des phylogénies ou l'étude de certaines maladies humaines (Faircloth *et al.* 2013; McCormack *et al.* 2013; Harvey *et al.* 2016; Gaudin & Desnues 2018), mais restent relativement peu utilisées dans les études en écologie et évolution (Jones & Good 2016). L'utilisation du séquençage ciblé dans le cadre des liens biodiversité-fonction pour

mesurer la biodiversité *inclusive* dans les communautés est donc un « détournement » d'une méthode traditionnellement utilisées dans d'autres domaines qui semble pertinent mais qui mérite d'être testé.

Cette étude a pour objectif de tester l'approche (PCCGs) que nous avons développé pour mesurer la biodiversité *inclusive* (c'est-à-dire à la fois à l'échelle intra- et interspécifique) dans les communautés. Pour cela, nous avons appliqué la méthodologie d'identification des PCCGs à une communauté artificielle de crustacés décomposeurs d'eau douce, composées de multiples espèces et de multiples populations (14 espèces dont 4 genres et 2 ordres). Cette communauté nous intéresse pour son rôle dans la décomposition de la matière organique dans les rivières. Dans un premier temps, nous avons donc utilisé la littérature existante pour identifier un ensemble de gènes qui codent pour des traits reliés à la capacité de dégradation de la communauté. Une fois les 60 gènes candidats (potentiels PCCGs) identifiés, nous avons testé leur niveau de capture chez toutes les espèces de la communauté et s'ils permettent bien de mesurer de la diversité à l'échelle intra- et interspécifique. Finalement, nous avons testé si des approches poolées permettent de capturer les variations génétiques *inclusives* aussi efficacement que les approches individuelles. Si ces gènes candidats sont conservés chez de nombreuses espèces de la communauté et qu'ils permettent bien de mesurer la biodiversité inclusive, cela confirmerait la validité de l'approche PCCGs pour enfin analyser conjointement les multiples facettes de la biodiversité. Si les approches poolées se révèlent efficaces pour capturer la biodiversité inclusive, cela ouvrirait des perspectives de quantification de biodiversité *inclusive* dans des communautés entières à moindre coût.

2. Matériels et méthodes

L'identification de PCCGs dans les communautés se fait en quatre étapes que nous avons suivi dans cette étude : (i) définir et échantillonner la communauté focale, (ii) identifier les PCCGs à partir de la littérature et récupérer leur séquence, (iii) séquencer les PCCGs à travers les espèces de la communauté et (iv) quantifier la diversité des PCCGs.

2.1. Définition et échantillonnage de la communauté focale

Nous avons considéré des communautés artificielles de crustacés décomposeurs d'eau douce composée de quatorze espèces (présentant jusqu'à 30% de divergence moléculaire). Parmi ces quatorze espèces, on compte dix espèces d'amphipodes appartenant à la famille des Gammaridés (*Gammarus ariegii*, *Gammarus fossarum* type A, B, et D, *Gammarus pseudopulex ariegii*, *Gammarus pulex* type I et II, *Gammarus roeselii*, *Dikerogammarus haemobaphes* et *Echinogammarus berilloni*) et quatre espèces d'isopodes

appartenant à la famille des Asellidés (*Asellus aquaticus*, *Bragasellus molinai*, *Proasellus cavaticus* et *Proasellus coiffaiti*). *Gammarus sp.* est une espèce de gammare qui n'a pas encore été nommée officiellement bien qu'elle ait été démontrée comme phylogénétiquement indépendante de l'espèce la plus proche (*Gammarus fossarum*, Carnevali 2022; C. Piscart, données non publiées). Il en va de même pour *Gammarus pseudopulex ariegii*, plus proche cette fois de *Gammarus pulex*. Les différents *Gammarus fossarum* (type A, B et D) et *Gammarus pulex* (I et II) ont eux aussi été identifiés comme des lignées indépendantes (Švara *et al.* 2019; Wattier *et al.* 2020).

Pour valider notre outil, la communauté focale doit nous permettre de mesurer de la diversité à l'échelle intra- et interspécifique. Pour une espèce (*G. ariegii*, qui nous sert d'espèce de référence pendant tout le développement de l'outil), nous avons donc échantillonné 15 individus dans quatre populations différentes (60 individus), tandis que pour les treize autres, nous avons échantillonné 5 individus dans une population (65 individus). Les 125 individus ont été collectés entre 2019 et 2021 dans un large éventail d'habitats d'eau douce (17 sites, des grottes aux ruisseaux de surface, **Tableau IV.1**). Les animaux entiers ont été préservés individuellement dans des tubes de 1.5 mL remplis d'éthanol à 96% et stockés à -20°C.

Tableau IV.1. Information sur les espèces et les sites d'échantillonnages. Nom de l'espèce, ordre auquel elle appartient, ville la plus proche du point d'échantillonnage, rivière, bassin versant et coordonnées géographiques (X pour latitude nord et Y pour longitude est) du point d'échantillonnage. Certaines informations sont manquantes pour le moment.

Species name	Order	City	River	River Catchment	X dec	Y dec
<i>Gammarus ariegii</i>	Amphipoda	Herm	Alsés	Garonne	42.9748515	1.6321128
		Le Mas-d'Azil	Arize	Garonne	43.0782544	1.6321128
		Saint quentin la tour	Countirou	Garonne	43.0378837	1.3591782
		Castelbiague	Riouaris	Garonne	43.03006	1.8995834
<i>Gammarus fossarum A type</i>		Felling	Thur	Rhine	47.89172	0.9281637
<i>Gammarus fossarum B type</i>		MagnyVernois	Ognon	Rhone	47.65564	6.984666
<i>Gammarus fossarum D type</i>		Jamezieu	Bourbe	Rhone	45.7155555	6.467608
<i>Gammarus pseudopulex ariegii</i>		Montastruc	Grande Baïse	Garonne	43.2196006	3.257422
<i>Gammarus pulex I type</i>		Staffelden	Thur	Rhine	47.827111	5.159444
<i>Gammarus pulex II type</i>		Dompierre-sur-Nièvre	Nièvre	Loire	47.241088	7.266027
<i>Gammarus rosaeli</i>		- (Moselle)	Nied	Rhine	-	0.3459
<i>Echinogammarus berilloni</i>		- (Moselle)	-	-	-	-
<i>Dikerogammarus haemobaphes</i>	- (Moselle)	-	-	-	-	
<i>Asellus aquaticus</i>	Isopoda	Toulouse	"Sentier nature" pond	-	43.560259	1.474398
<i>Proasellus cavaticus</i>		-	-	-	-	-
<i>Bragasellus molinai</i>		- (Spain)	Valporque cave	-	-	-
<i>Proasellus coiffaiti</i>		-	-	-	-	-

2.2. Identification des PCCGs dans la littérature et les bases de données.

Les études publiées ayant établi un lien entre un gène et un trait écologiquement important (à défaut d'une fonction écosystémique) ont été récupérées dans les moteurs de recherche *Google Scholar*, *Web of Science* et *PubMed*. Nous nous sommes concentrés sur trois traits majeurs impliqués dans la capacité à dégrader la ressource : (1) l'assimilation de ressource, (2) l'activité et (3) la croissance. Nous avons également retenu quelques traits annexes, qui peuvent avoir un impact indirect sur la consommation de ressource : (4) l'immunité, la reproduction et le comportement d'agrégation. Pour chaque trait, nous avons utilisé les mots clefs suivants (que je mets donc ici en anglais) : (1) "glucose", "fat", "protein", "nutrition", "digestive process", (2) « cardiovascular system », « neuronal activity », « locomotion activity », « respiration », « muscle contraction », (3) « body weight / size », « development », « molting », « age at maturity », « ageing », « longevity », (4) « immunity », « immune system », « reproduction » et « aggregation behavior ». Tous ces mots-clefs ont été assemblés un à un avec « Gene » ou « Genetic » ainsi que « *Gammarus* », « Amphipoda » ou « Crustacea » (toutes les combinaisons ont été utilisées). Les recherches ont été effectuées entre septembre 2020 et mai 2021. Nous avons retenu (i) des revues qui recensent plusieurs gènes qui peuvent naturellement varier et sont impliqués dans l'un des traits ciblés (Jung *et al.* 2013 sur les performances de croissance en est un bon exemple) ; (ii) des études de génétique fonctionnelle qui découvrent un nouveau lien entre un gène et un trait et (iii) des études de génétique des écosystèmes qui ont prouvé un lien entre la diversité des gènes et la consommation des ressources. Pour chaque gène, nous avons renseigné le nom du gène, la protéine codée et la fonction écologique associée.

Nous avons trouvé 222 articles potentiellement intéressants sur la base du titre. Après lecture du résumé et recherche de mots clefs dans le texte principal, nous en avons éliminé 102. Sur les 110 restants, nous avons identifié 271 gènes potentiellement intéressants. Pour les étapes suivantes, nous n'avons gardé que les gènes "les plus importants", c'est-à-dire ceux qui apparaissaient dans au moins deux articles, ce qui donne 89 gènes. La séquence (intron et exon) de chacun de ces 89 gènes a ensuite été recherché sur le site web du National Center for Biotechnology Information (NCBI) (disponible à l'adresse suivante : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) avec comme mots clefs : le nom du gène ou de la protéine codée, suivi de "amphipoda". Nous avons limité notre sélection aux séquences de l'ordre des amphipodes pour augmenter les chances d'amplification dans notre espèce de référence *G. ariegii*. La plupart du temps, nous avons trouvé des séquences chez *Hyalella azteca* dont le génome a été séquencé, assemblé et annoté puisque c'est une espèce modèle (Poynton *et*

al. 2018). Nous avons également obtenu quelques séquences chez *Gammarus lacustris*, *Gammarus fossarum* et *Gammarus pulex* pour des gènes spécifiques, respectivement HP70 (Heat shock protein 70 kb), ND (NADH déshydrogénase) et BRC (transcription factor broad-complex). Ce processus a permis de dresser une liste de 60 gènes et 228 exons candidats potentiellement intéressants (voir **Annexe IV** pour les détails méthodologiques). Nous avons utilisé BLAST²⁴ (un outil de recherche par alignement) pour trouver des séquences analogues sur notre espèce cible (*G. ariegii*, pour laquelle nous avons un assemblage de référence de 3.916 Gb, voir **Tableau IV.S1** pour les détails de qualité du génome), ce qui a donné 306 exons chez *G. ariegii*. Toutes les séquences ont été filtrées pour éviter d'avoir des séquences bactériennes, ce qui peut être particulièrement le cas chez les gammares (Zimmer & Bartholmé 2003). Après ce filtrage, nous avons obtenu 261 exons candidats autour lesquels nous avons conservé 100 pb de régions flanquantes de chaque côté (longueur moyenne = 534,14 nt pour un total de 139 410 nt). Nous avons également sélectionné des exons (séquences codantes) aléatoirement dans le génome dont la distribution de la taille imitait celle de nos exons candidats, ce qui a donné lieu à la sélection de 268 exons « contrôle » avec leurs régions flanquantes (longueur moyenne = 744,60 nt pour un total de 199 552 nt). Notre jeu de données final est donc composé de 529 exons (longueur moyenne de 640 nt pour un total de 338 962 nt) dont certains peuvent potentiellement être des PCCGs.

2.3. Extraction d'ADN et capture de gène à travers les espèces

L'ADN des 125 individus a été extrait à l'aide d'un kit d'extraction « DNeasy Blood & Tissue Kit » (Qiagen, Hilden, Allemagne). Après l'ajout de 180 µl de tampon ATL et de 20 µl de protéinase K dans chaque tube, les échantillons ont été incubés à 56 °C pendant 16 heures afin de maximiser les rendements en ADN. Après la lyse, les échantillons ont été centrifugés à 16,200 g pendant 5 minutes pour extraire les tissus non lysés, principalement chitineux, car cela peut avoir un impact sur la qualité de l'ADN (Verovnik *et al.* 2003). Les échantillons ont ensuite été traités conformément au protocole décrit dans le kit Qiagen (comme décrit dans Fuller *et al.* 2019). La qualité de l'ADN extrait a été évaluée à l'aide d'une fluorométrie spécifique à l'ADN double brin en utilisant le Qubit (Life Technologies, New York, Etats-Unis).

Des échantillons d'ADN individuels ont été combinés pour produire des pools uniques d'ADN par communauté, avec des contributions équimolaires de chaque individu. A partir de quatre populations et sept espèces de gammares, nous avons constitué quatorze pools de quinze individus avec des taux de diversité inter- et intraspécifique variables (**Tableau IV.2**).

²⁴ L'acronyme réfère au terme anglophone « Basic Local Alignment Search Tool ».

Dix de ces pools sont variables uniquement à l'échelle intraspécifique : six contenant des individus d'une seule population de *G. ariegii* (4 populations utilisées, 2 réplicats pour tester la répétabilité), un pool contenant des individus de deux populations, deux pools contenant des individus de trois populations et un pool contenant des individus de quatre populations. Les quatre autres pools sont variables à l'échelle interspécifique : deux pools contenant des individus de trois espèces, et deux pools contenant des individus de cinq espèces (**Tableau IV.2**).

Tableau IV.2. Composition des pools. Nous avons créé quatorze communautés artificielles ayant des niveaux de diversité intra- et interspécifique variables pour tester l'efficacité des approches poolées dans le cadre des PCCGs. Le numéro du pool, le nombre de populations (pop.) ou d'espèces (esp.) mélangées ainsi que le nombre d'individus provenant de chaque population ou espèce est indiqué. Pour faire ces pools, nous avons utilisé quatre populations de *Gammarus ariegii* (indiquées par un code à six lettres, les trois premières lettres indiquent le nom de la rivière et les trois dernières lettres font référence à la ville ou au village le plus proche) et 6 autres espèces (*Gammarus fossarum* type A, type B et type D, *Gammarus pulex* type I et II, et *Gammarus roeselii*) de gammarus.

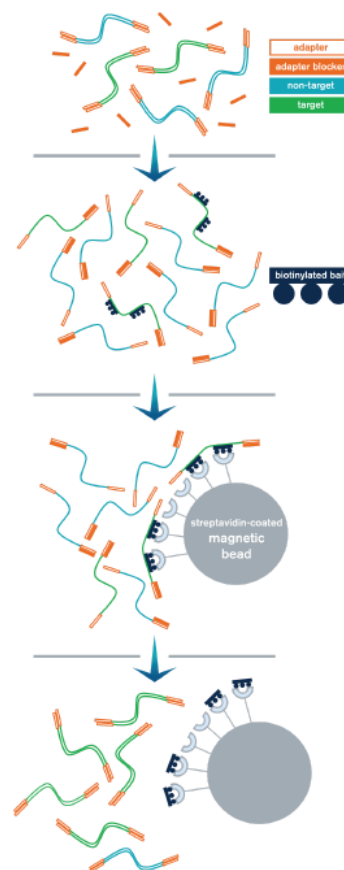
Numéro du pool	1	2&3	4	5&6	7	8	9	10	11	12	13	14
Composition	1 pop.	1 pop.	1 pop.	1 pop.	2 pop.	3 pop.	3 pop.	4 pop.	3 esp.	3 esp.	5 esp.	5 esp.
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	15				7		5	4		5		
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas		15			8	5		3			3	
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai			15			5	5	4				
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas				15		5	5	4				3
<i>G. fossarum</i> - A type									5			3
<i>G. fossarum</i> - B type										5		3
<i>G. fossarum</i> - D type											3	3
<i>G. pulex</i> - I Type										5	3	
<i>G. pulex</i> - II Type									5		3	
<i>G. roselii</i>									5		3	3
Total	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

Les 528 séquences des exons candidats ont été envoyées à une entreprise qui a conçu des sondes pour la capture de gènes (myBaits, Arbor Biosciences, Ann Arbor, Michigan, Etats-Unis). Nous avons choisi cette méthode car elle permet une certaine divergence des séquences capturées et ne nécessite pas la conception d'amorces. Nous avons un total de 338 962 nt à amplifier et myBaits a conçu pour nous 10 816 sondes chevauchantes de 80 nt, ce qui représentent un total de 865 280 nt à séquencer. L'ADN de nos échantillons (individuel et poolé) a été fragmenté par sonication à l'aide du « BioRuptor » (Diagenode, Liège, Belgique). L'enrichissement ciblé (amplification de nos exons) a été réalisé grâce à une capture basée sur l'hybridation en utilisant les sondes ADN personnalisés conçues par myBaits (**Figure IV.1** **Figure IV.**). En suivant les instructions du manuel (myBaits, v.5.01, mars 2021), nous avons utilisé le protocole « Standard » associé à (i) pour l'étape d'hybridation, une température d'hybridation de 62°C pour permettre une divergence de 10 à 15% entre les séquences sondes et cibles, et un mélange de bloqueurs adapté à la plupart des taxons

(« Most taxa » blockers mix setup) ; (ii) pour le nettoyage, une température de 62°C (toujours pour permettre les mêmes taux de divergence) et (iii) pour la remise en suspension de la librairie et l'amplification, le « Workflow A » (avec le KAPA HiFi HotStart) pour l'étape de récupération de la librairie enrichie et 1X de billes de « Solid Phase Reversible Immobilisation » (SPRI) pour purifier notre amplification. La qualité des librairies a été évaluée grâce de la « TapeStation 4150 » (Agilent, Santa Clara, Etats-Unis) et les librairies ont été quantifiées par QPCR à l'aide du kit de quantification des librairies Kapa (Roche, Bâle, Suisse). Des pools de 8 à 10 librairies individuelles ont été séquencés à l'aide du « HiSeq 3000 » (150 bp « paired end », Illumina Inc, California, USA). Les librairies poolées ont été séquencées individuellement. Le séquençage a été réalisé à la plateforme Montpellier génomiX (MGX) de Montpellier (France).

Procedure Overview

1. Amplified sequencing library, adapter blockers, and other hybridization reagents are combined.
2. Libraries are denatured, allowing blockers to hybridize to adapters. Baits are then introduced and hybridized to targets for several hours.
3. Bait-target hybrids are bound to streptavidin-coated magnetic beads and pulled out of suspension with a magnet.
4. Most non-target DNA is washed away. The remaining library is then amplified and either taken directly to sequencing or further treated.



myBaits® - Hybridization Capture for Targeted NGS - Manual v.5.01 March 2021

Figure IV.1. Fonctionnement de la capture par hybridation créée par myBaits. Figure extraite telle quelle du manuel fourni par myBaits.

2.4. Traitement de données

Le traitement des données individuelles et poolées a été effectué séparément en adaptant les outils aux types de données, mais en suivant les mêmes étapes. Nous avons utilisé les 528 exons cibles comme génome de référence dans les deux cas. L'identification des SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) a été fait en suivant les étapes suivantes : (i) les fichiers fastq bruts ont été filtrés à l'aide de la fonction `clone_filter` (de `stacks`, Catchen *et al.* 2013) et de la fonction `trimmomatic` (Bolger *et al.* 2014) pour éliminer les doublons PCR et les reads de mauvaise qualité ; (ii) le génome de référence (au format fasta) a ensuite été indexé ; (iii) les fichiers fastq filtrés ont ensuite été alignés sur le génome de référence indexé à l'aide de la fonction « `mem` » dans `bwa` ; (iv) les fichiers SAM alignés ont été convertis au format BAM et filtrés pour enlever les reads non appariés et mal/non-mappés ; (v) tous les fichiers BAM indexés et filtrés ont ensuite été assemblés dans un seul fichier grâce à GATK et `vcftools` pour les données individuelles (ce vcf final contient l'information portée par chaque individu sur chaque SNP) et grâce à `mpileup` pour les données poolées (Kofler *et al.* 2011; De Kort *et al.* 2018). Pour les données poolées, les fréquences alléliques ont été obtenue en utilisant `Popoolation2` (Kofler *et al.* 2011; De Kort *et al.* 2018). Nous n'avons conservé que les SNP bi-alléliques. Nous avons ainsi identifié un total de 63 808 SNPs pour les 125 individus et un total de 14304 SNPs pour les 14 pools.

2.5. Analyses statistiques

Pour décrire les gènes candidats et leur fonction écologique, nous avons simplement établi la liste des 60 gènes candidats, les protéines codées par ces gènes et les traits écologiques associés mentionnés dans la bibliographie.

Le succès de capture a été mesuré comme le pourcentage d'exons couvert par au moins un read de bonne qualité (Jones & Good 2016; Jiménez-Mena 2021). Un read de bonne qualité a une qualité d'alignement >20. Nous avons utilisé `idxstats` pour obtenir ces statistiques.

La diversité génétique a été calculée comme le pourcentage de polymorphisme (pourcentage de SNPs polymorphes) observé dans les espèces et dans les populations pour chaque exon candidat. Nous avons aussi quantifié le nombre d'exons polymorphe par espèce et population. Pour donner une idée de l'éventail des diversités que permet de quantifier notre outil, nous avons aussi compté le nombre de SNPs polymorphes à différentes échelles : les SNPs polymorphes uniquement entre les espèces ou les populations (inter- uniquement),

uniquement au sein des espèces ou des populations (intra- uniquement) et ceux qui sont polymorphes à la fois entre et dans les espèces ou les populations (inter- et intra-).

Pour comparer les données individuelles et les données poolées, nous avons quantifié le nombre de SNPs attendus (calculé à partir des données individuelles) et observés (calculé à partir des données poolées) dans les pools pour chacune de nos communautés artificielles. Nous avons utilisé des coefficients de corrélation de Pearson (r) pour évaluer la force de la corrélation entre le nombre de SNPs attendus et observés dans les pools. Nous avons fait la même chose avec le pourcentage de polymorphisme (pourcentage de SNPs polymorphes) total.

3. Résultats

La liste des 60 gènes candidats et de leur fonction écologique est présentée ci-dessous. Tous les traits écologiquement importants recherchés dans la littérature apparaissent dans le jeu de données final (**Tableau IV.3**). La majorité des gènes sont cependant liés à la dégradation de la matière organique de façon indirecte. On retrouve ainsi en majorité des gènes qui codent pour des protéines liées à la croissance et l'activité, avec par exemple de nombreux gènes qui codent pour le comportement de mue (BRC, E74, E75, ECDYR, JH, MF et MH) ou lié au système endocrinien (DAT, DBH, DRD2, GABA, MIH, OCT et SERT, **Tableau IV.3**). Les gènes liés à la reproduction sont relativement présents mais les gènes qui participent directement à la digestion sont plus rares, tout comme les gènes liés au système immunitaire. Finalement, une bonne moitié des gènes utilisés sont impliquées dans de nombreux traits et impactent donc la dégradation de la matière organique potentiellement de plusieurs façons différentes (**Tableau IV.3**).

Le succès de capture des 528 exons est en moyenne sur la totalité de nos individus de 84.216%. Chez les amphipodes, les moyennes spécifiques sont (par ordre décroissant) d'environ 99-98% chez *G. fossarum* (Type A et B), les quatre populations de *G. ariegii*, *G. roeselii* et *G. pulex* (Type I), 96-95% chez *G. pulex* (Type II), *G. pseudopulex-ariegii* et *G. fossarum* (Type D), 88.393 % chez *E. berilloni* et 77.845 % chez *D. haemobaphes* (**Figure IV.2, Tableau IV.S2** pour les succès de capture individuels). Chez les isopodes, les taux chutent avec respectivement 29.376 % chez *P. coiffaiti*, 11-10% chez *B. molinai* et *A. aquaticus* et 7.902 % chez *P. cavaticus* (**Figure IV.2, Tableau IV.S2**). Le succès de capture est donc significativement moins bon chez les isopodes que chez les amphipodes.

Tableau IV.3. Les gènes candidats. Noms des soixante gènes fonctionnels, protéines codées et traits écologiques associés mentionnés dans la bibliographie.

Candidate gene code	Encoded protein	Ecological trait
5HT	Serotonin receptor	Growth, general metabolism, general behavior
ACTA	Actin, alpha skeletal muscle	Muscle growth
ACTN	Alpha-actinin sarcomeric	Muscle growth
AMY	Alpha amylase	Glucose assimilation
BRC	transcription factors broad-complex	Molting
CAD	Carbamyl-phosphate synthase II / Aspartate carbamoyltransférase / Dihydroorotase	Reproduction
CATL	Cathepsin L synthesis	Digestion
COX1	Cytochrome c oxidase I	Respiration
CRY	Cryptochrome	Diapause capacity
CuZnSOD	Copper zinc superoxide dismutase	General metabolism, stress response, anti-oxydant defences
DAT	Dopamine transporter	Neuroendocrine system and general metabolism
DBH	Dopamine beta-hydroxylase	Neuroendocrine system and general metabolism
DR	Dopamine receptor	Locomotion activity
DRD2	Dopamine D2 receptor	Neuroendocrine system and general metabolism
E74	ecdysone induced protein 74EF	Reproduction and molting
E75	nuclear receptors ecdysone induced protein 75B	Reproduction and molting
ECDYR	ecdysone receptor	Reproduction, molting, endocrine system
FABP	Fatty acid-binding protein	Fatness
FACL	fatty acid-CoA ligase	Digestion
FADS	Fatty acid desaturase 2	Fatty acid digestion
FIB	Fibrillarlin	Individual growth
GABA	Gamma-aminobutyric acid	Neuroendocrine system, general metabolism
GDF-8	Growth factor 8 / myostatin	Growth and differentiation
GH	Growth hormone	Growth
GHF16	glycosyl hydrolase family 16	Digestion and immunity
GLUT	Glucose transporter protein	Carbohydrate and glucose consumption
GPDH	Glyceradehyde-3-phosphate dehydrogenase	Glycolytic enzyme, growth, reproduction
GR	gustatory receptor	Chemoreception
GST	Glutathione-S-transferase	Anti-oxydant defences
HIF	Hypoxia inducible factor	Respiration
HSP60	Heat shock protein 60 kb	Development, metabolism, growth, differentiation
HSP70	Heat shock protein 70 kb	Development, metabolism, growth, differentiation
HSP75	Heat shock protein 75 kb	Development, metabolism, growth, differentiation
HSP90	Heat shock protein 90 kb	Development, metabolism, growth, differentiation
JH	Juvenile hormone	Molting
MAOA	monoamine oxidase A	Serotonin synthesis, activity
MF	Methyl farnesoate	Juvenile characteristics, molting, reproduction, growth etc.
MHC	Myosis heavy chain	Muscle contraction
MIH	Molt-inhibiting hormone	Molting, growth, endocrine system
MnSOD	Mn superoxide dismutase	Stress response, anti-oxydant defences
ND	NADH dehydrogenase	Respiration
OCT	Octopamine	Neuroendocrine system, general metabolism
PER	Period circadian protein	Circadian rythm, activity
PGI	Glucose-6-Phosphate isomerase	Maturation, glycolyse, fitness, mobility
PRKG	cGMP-dependent Protein Kinase	Rover or sitter behavior
proPO	prophenoloxidase	Immunity, circulatory system
Rhod1	Rhodopsin	Velocity
SDHD	succinate dehydrogenase cytochrome b	General metabolism, growth, ecotox
SERT	serotonin transporter	Serotonin synthesis, activity, neuroendocrine system, general metabolism
SGLT	Sodium-glucose cotransporter	Carbohydrate and glucose consumption
SIBD	Single insulin binding domain protein	Growth
SPARC	Secreted protein acidic and rich in cysteine	Development, differentiation
STAT	Signal transducer and activator of transcription	Developmental processes, immunity
TIM	Timeless	Diapause capacity
TLRs	Toll-like receptors	Immunity
TPM	tropomyosin	Affected by ressource quality
TRAX	Translin and its binding partner protein, translin-associated factor-X	Cell growth, neuronal development
UB	Ubiquitin	Cell cycle control, signal transduction, stress response
VG	vitellogenin protein	Reproduction
VIH	Vitellogenesis inhibiting hormone	Gonad maturation

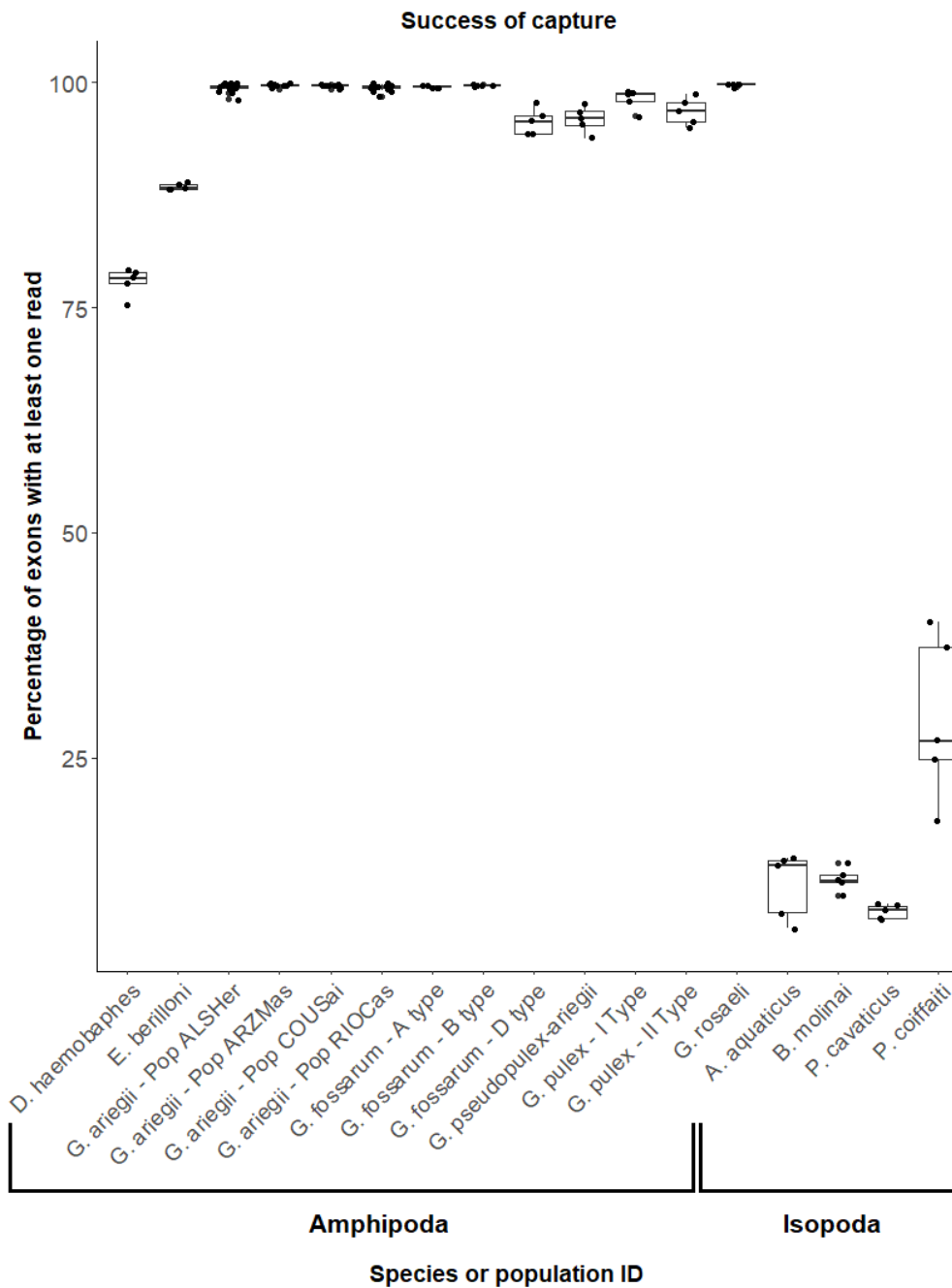


Figure IV.2. Succès de capture des 528 exons candidats sur les 14 espèces de notre communauté cible. Dix espèces d'amphipodes et quatre espèces d'isopodes sont représentées. Respectivement de gauche à droite : *Dikerogammarus haemobaphes*, *Echinogammarus berilloni*, *Gammarus ariegii*, *Gammarus fossarum* type A, *Gammarus fossarum* type B, *Gammarus fossarum* type D, *Gammarus pseudopulex ariegii*, *Gammarus pulex* type I, *Gammarus pulex* type II, *Gammarus roselii*, *Asellus aquaticus*, *Bragasellus molinai*, *Proasellus cavaticus* et *Proasellus coiffaiti*. Pour *G. ariegii*, 4 populations sont montrées, le nom de chaque population est indiqué par un code à six lettres, les trois premières lettres indiquent le nom de la rivière et les trois dernières lettres font référence à la ville (ou au village) le plus proche. Le succès de capture est mesuré ici comme le pourcentage d'exons couvert par au moins un read (Jones & Good 2016; Jiménez-Mena 2021). Nous avons ciblé seulement les reads avec une qualité d'alignement >20.

Les 528 exons présentait un niveau de polymorphisme variable d'une espèce à l'autre au sein de la communauté cible. Le pourcentage de polymorphisme moyen sur tous les exons allait de 5.687% chez *G. fossarum* - Type A à 46.846% chez *G. ariegii* (population ARZMas) et était généralement plus haut chez les isopodes. Le nombre d'exons polymorphe est particulièrement haut chez les *gammarus* (presque la totalité des exons le sont), décroît chez les *echinogammarus* (environ 250) et devient très faible chez les isopodes (une petite vingtaine, **Tableau IV.4. Diversité génétique observée chez chacune des espèces de la communauté cible.** Nombre d'exons polymorphes et pourcentage de polymorphisme moyen sur les 528 exons. **Tableau IV.4**). Parmi les 63 808 SNPs identifiés dans la communauté, 13 948 et 18 328 n'étaient variables respectivement qu'entre les espèces et au sein des espèces, tandis que 31 532 SNPs variaient à la fois entre et au sein des espèces (**Tableau IV.5**). 28 893 SNPs étaient polymorphes à l'échelle des populations et parmi eux, 98 et 23 514 n'étaient variables respectivement qu'entre les populations et au sein des populations, tandis que 5 281 variaient à la fois entre et au sein des populations (**Tableau IV.5**).

Tableau IV.4. Diversité génétique observée chez chacune des espèces de la communauté cible. Nombre d'exons polymorphes et pourcentage de polymorphisme moyen sur les 528 exons.

	Exons polymorphes	% polymorphisme moyen
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	512	7.788
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	528	46.846
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	495	6.724
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	513	9.444
<i>Gammarus fossarum</i> A type	416	5.687
<i>Gammarus fossarum</i> B type	468	7.108
<i>Gammarus fossarum</i> D type	258	6.276
<i>Gammarus pseudopulex ariegii</i>	430	6.280
<i>Gammarus pulex</i> I type	493	10.878
<i>Gammarus pulex</i> II type	400	6.527
<i>Gammarus rosaeli</i>	514	26.903
<i>Echinogammarus berilloni</i>	288	9.515
<i>Dikerogammarus haemobaphes</i>	248	12.326
<i>Asellus aquaticus</i>	10	12.873
<i>Proasellus cavaticus</i>	12	17.907
<i>Bragasellus molinai</i>	11	23.064
<i>Proasellus coiffaiti</i>	20	14.799

Tableau IV.5. Nombre de SNPs polymorphes observés à différentes échelles sur les 528 exons. Les SNPs peuvent être polymorphes uniquement entre les espèces ou les populations (Inter- uniquement), uniquement au sein des espèces ou des populations (Intra- uniquement) ou polymorphes à la fois entre et dans les espèces ou les populations (Inter- et intra-).

Variabilité	Inter- uniquement	Intra- uniquement	Inter- et intra-	Totale
Espèces	13948	18328	31532	63808
Populations	98	23514	5281	28893

Finalement, le coefficient de corrélation (r) entre nombre de SNPs attendus et observés dans les pools était positif, significatif et particulièrement élevé ($r = 0.921$, 95% CI [0.762, 0.975], **Tableau IV.6**) indiquant que le nombre de SNPs attendus et observés sont très liés dans les données individuelles et poolées. Il en va de même pour les pourcentages de polymorphisme attendus et observés ($r = 0.952$, 95% CI [0.851, 0.985], **Tableau IV.6**). Cependant, pour le nombre de SNPs bruts, les valeurs observées étaient généralement plus élevées que les valeurs attendues pour les pools intraspécifiques (Pool 1 à 10), tandis que la tendance s'inverse pour les pools interspécifiques (Pool 11 à 14). Les valeurs observées et attendues sont donc plus proches pour des communautés moins variables (et plus différentes pour des communautés très variables).

Tableau IV.6. Nombre de SNPs attendus et observés dans les pools. Chaque pool contient un nombre variable de populations (pop.) ou d'espèces (esp.). Pour chacun d'entre eux, nous avons calculé le nombre de SNPs théoriquement attendu (calculé à partir des données individuelles) et le nombre de SNPs retrouvés réellement (calculé à partir des données poolées).

Numero du pool	Composition	Attendu		Observé	
		Nombre de SNPs	% polymorphisme	Nombre de SNPs	% polymorphisme
1	1 pop.	4159	6.521	7683	54.003
2	1 pop.	8656	13.566	8149	57.635
3 (réplicat du 2)	1 pop.	8656	13.566	7460	52.168
4	1 pop.	3475	5.446	7710	54.101
5	1 pop.	5191	8.137	7774	54.983
6 (réplicat du 5)	1 pop.	5191	8.137	7367	51.528
7	2 pop.	8372	13.123	7866	55.038
8	3 pop.	8836	13.848	7907	55.352
9	3 pop.	7220	11.318	7881	55.143
10	4 pop.	8308	13.025	7894	55.214
11	3 esp.	23284	36.544	9397	78.629
12	3 esp.	19235	30.173	10752	75.654
13	5 esp.	25275	39.643	10415	74.340
14	5 esp.	21710	34.049	10089	70.641

4. Synthèse

Cette étude avait pour objectif de tester l'approche (PCCGs) que nous avons développé pour mesurer la biodiversité inclusive (c'est-à-dire à la fois à l'échelle intra- et interspécifique) dans une communauté artificielle de crustacés décomposeurs d'eau douce (14 espèces dont 4 genres et 2 ordres).

Malgré le fait que la communauté qui nous intéresse ici ne contiennent pas d'organisme modèle, tous les traits *écologiquement importants* que nous avons recherchés sont représentés dans le jeu de PCCGs final. Une analyse plus fine sur chaque gène permettrait de les ranger selon leur importance : il est très probable que certains gènes soient plus importants que d'autres pour moduler les traits portés par les individus, et donc impacter les écosystèmes. La majorité des PCCGs présentés ici codent tout de même pour des protéines liées à la croissance des individus ou, dans beaucoup de cas, pour de multiples traits. Cette première observation s'explique par le fait que la croissance des crustacés a été très étudiée dans le cadre de l'élevage destiné à l'alimentation humaine (Jung *et al.* 2013). Le fait que de nombreux gènes codent pour des traits multiples renforcent l'idée que les gènes pléiotropes sont particulièrement intéressants en tant que PCCGs.

Les taux de capture sont bons pour les amphipodes, mais chutent chez les isopodes. Dans cette étude, les PCCGs ont été identifiés à partir du génome de *G. ariegii*, il n'est donc pas étonnant que ces gènes soient bien retrouvés chez les amphipodes. Certains de nos PCCGs sont présents chez les isopodes, ce qui est déjà une bonne surprise, mais les taux de capture sont tout de même faibles. Une façon de remédier à ce problème pourrait être de considérer un isopode au moment de la conception du jeu de PCCGs. Cependant, ce n'est pas toujours possible puisque cela nécessite l'existence d'un génome de référence. Une solution alternative serait de baisser les températures d'hybridation pendant la capture de gènes. Nous avons choisi une température qui autorise 10 à 15% de divergence (62°C) mais il est possible d'aller jusqu'à 15 à 25% de divergence (60°C) selon le manuel fourni par myBaits.

Malgré le constat des taux de capture inégaux entre les espèces de la communauté cible, nous avons été capables de quantifier de la diversité à de nombreuses échelles différentes, ce qui est très encourageant. En effet, nous avons pu calculer des pourcentages de polymorphismes chez toutes les espèces cibles. De plus, au sein de notre communauté cibles nous avons pu trouver des SNPs de toutes sortes : variables uniquement entre les espèces ou entre les populations, variables uniquement au sein des espèces ou des populations et variables à la fois entre et au sein des espèces et des populations. La diversité

des SNPs capturés confirme que l'idée d'utiliser des PCCGs comme mesure de biodiversité *inclusive* fonctionne à l'échelle de la communauté.

Les approches poolées fonctionnent plutôt bien pour quantifier la biodiversité relative d'une communauté à l'autre, et un peu moins bien pour quantifier la biodiversité absolue. En effet, les coefficients de corrélations très élevées que nous avons trouvés indiquent que les biodiversité relatives (une communauté par rapport à une autre) sont bien calculées avec les approches poolées, autant qu'avec des approches individuelles. Pour les valeurs brutes en revanche, les approches poolées semblent « plafonner » à une certaine quantité de diversité observée (environ 10 000 SNPs dans notre cas). Ce plafond est sûrement dû à la profondeur du séquençage et pourrait sans doute être relevé en utilisant des séquenceur qui permettent une plus grande profondeur.

Nous utilisons d'ailleurs cette méthode dans le chapitre V (mais uniquement à l'échelle intraspécifique).

Finalement, nous avons démontré dans cette étude que, bien que l'approche puisse être encore améliorée, des gènes *écologiquement importants* et phylogénétiquement conservés (les PCCGs) entre les espèces peuvent servir à mesurer la biodiversité inclusive (c'est-à-dire à l'échelle intra- et interspécifique) dans les communautés.

CONTRIBUTION DES AUTEURS

Laura Fargeot: Conceptualization (Supporting); Methodology (Equal); Software (Equal); Validation (Equal); Formal analysis (Lead); Investigation (Lead); Data curation (Lead); Writing - original draft (Lead); Writing - review & editing (Lead); Visualization (Lead); Supervision (Equal); Project administration (Lead). **Yves Cuénot:** Methodology (Lead); Validation (Equal); Investigation (Lead); Resources (Equal); Supervision (Equal); Project administration (Supporting). **Rik Verdonck:** Software (Supporting); Investigation (Equal). **Tristan Lefébure:** Investigation (Equal); Resources (Equal). **Thierry Rigaud:** Investigation (Equal); Resources (Equal). **Michael Danger:** Investigation (Equal); Resources (Equal). **Rémi Wattier:** Investigation (Equal); Resources (Equal). **Delphine Legrand:** Conceptualization (Equal); Validation (Equal); Writing - review & editing (Supporting); Visualization (Supporting). **Géraldine Loot:** Conceptualization (Equal); Validation (Equal); Investigation (Supporting); Writing - review & editing (Supporting); Visualization (Supporting). **Hervé Philippe:** Methodology (Lead); Software (Supporting); Validation (Equal); Formal analysis (Lead); Investigation (Equal); Resources (Equal); Data curation (Lead). **Simon Blanchet:** Conceptualization (Lead); Methodology (Lead); Software (Supporting); Validation (Equal);

Formal analysis (Supporting); Investigation (Lead); Resources (Equal); Data curation (Supporting); Writing - original draft (Supporting); Writing - review & editing (Lead); Visualization (Lead); Supervision (Lead); Project administration (Lead); Funding acquisition (Lead).

RÉFÉRENCES

- Abrams, A.N., McDanel, T.G., Keele, J.W., Chitko-McKown, C.G., Kuehn, L.A. & Gonda, M.G. (2021). Evaluating Accuracy of DNA Pool Construction Based on White Blood Cell Counts. *Front. Genet.*, 12, 635846.
- Antonovics, J. (1976). The Input from Population Genetics: "The New Ecological Genetics." *Systematic Botany*, 1, 233.
- Balvanera, P., Pfisterer, A.B., Buchmann, N., He, J.-S., Nakashizuka, T., Raffaelli, D., *et al.* (2006). Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services: Biodiversity and ecosystem functioning/services. *Ecology Letters*, 9, 1146–1156.
- Blanchet, S., Fargeot, L. & Raffard, A. (2022). *Phylogenetically-conserved candidate genes unify biodiversity-ecosystem function relationships and eco-evolutionary dynamics across biological scales* (preprint). Preprints.
- Bolger, A.M., Lohse, M. & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30, 2114–2120.
- Cardinale, B.J., Matulich, K.L., Hooper, D.U., Byrnes, J.E., Duffy, E., Gamfeldt, L., *et al.* (2011). The functional role of producer diversity in ecosystems. *American Journal of Botany*, 98, 572–592.
- Carnevali, M. (2022). Etude phylogénétique des populations de *Gammarus* (sp.) du piedmont Pyrénéen. *Master Thesis - Université Paul Sabatier*.
- Catchen, J., Hohenlohe, P.A., Bassham, S., Amores, A. & Cresko, W.A. (2013). Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Mol Ecol*, 22, 3124–3140.
- Crutsinger, G.M. (2006). Plant Genotypic Diversity Predicts Community Structure and Governs an Ecosystem Process. *Science*, 313, 966–968.
- Crutsinger, G.M., Rodriguez-Cabal, M.A., Roddy, A.B., Peay, K.G., Bastow, J.L., Kidder, A.G., *et al.* (2014). Genetic variation within a dominant shrub structures green and brown community assemblages. *Ecology*, 95, 387–398.
- De Kort, H., Prunier, J.G., Tessier, M., Turlure, C., Baguette, M. & Stevens, V.M. (2018). Interacting grassland species under threat of multiple global change drivers. *J Biogeogr*, 45, 2133–2145.
- Des Roches, S., Post, D.M., Turley, N.E., Bailey, J.K., Hendry, A.P., Kinnison, M.T., *et al.* (2018). The ecological importance of intraspecific variation. *Nature Ecology & Evolution*, 2, 57–64.
- Ellison, A.M., Bank, M.S., Clinton, B.D., Colburn, E.A., Elliott, K., Ford, C.R., *et al.* (2005). Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3, 479–486.
- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S., *et al.* (2011). A Robust, Simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for High Diversity Species. *PLoS ONE*, 6, e19379.
- Faircloth, B.C. (2017). Identifying conserved genomic elements and designing universal bait sets to enrich them. *Methods Ecol Evol*, 8, 1103–1112.
- Faircloth, B.C., Sorenson, L., Santini, F. & Alfaro, M.E. (2013). A Phylogenomic Perspective on the Radiation of Ray-Finned Fishes Based upon Targeted Sequencing of Ultraconserved Elements (UCEs). *PLoS ONE*, 8, e65923.

- Fridley, J.D. (2001). The influence of species diversity on ecosystem productivity: how, where, and why? *Oikos*, 93, 514–526.
- Fuller, N., Ford, A.T., Lerebours, A., Gudkov, D.I., Nagorskaya, L.L. & Smith, J.T. (2019). Chronic radiation exposure at Chernobyl shows no effect on genetic diversity in the freshwater crustacean, *Asellus aquaticus* thirty years on. *Ecol Evol*, 9, 10135–10144.
- Gaudin, M. & Desnues, C. (2018). Hybrid Capture-Based Next Generation Sequencing and Its Application to Human Infectious Diseases. *Front. Microbiol.*, 9, 2924.
- Gnirke, A., Melnikov, A., Maguire, J., Rogov, P., LeProust, E.M., Brockman, W., *et al.* (2009). Solution hybrid selection with ultra-long oligonucleotides for massively parallel targeted sequencing. *Nat Biotechnol*, 27, 182–189.
- Harvey, M.G., Smith, B.T., Glenn, T.C., Faircloth, B.C. & Brumfield, R.T. (2016). Sequence Capture versus Restriction Site Associated DNA Sequencing for Shallow Systematics. *Syst Biol*, 65, 910–924.
- Hawkins, M.T.R., Hofman, C.A., Callicrate, T., McDonough, M.M., Tsuchiya, M.T.N., Gutiérrez, E.E., *et al.* (2016). In-solution hybridization for mammalian mitogenome enrichment: pros, cons and challenges associated with multiplexing degraded DNA. *Mol Ecol Resour*, 16, 1173–1188.
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., *et al.* (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75, 3–35.
- Hughes, A.R., Inouye, B.D., Johnson, M.T.J., Underwood, N. & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity: Ecological effects of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11, 609–623.
- Jiménez-Mena. (2021). Fishing for DNA? Designing baits for population genetics in target enrichment experiments: guidelines, considerations and the new tool supeRbaits.
- Jones, M.R. & Good, J.M. (2016). Targeted capture in evolutionary and ecological genomics. *Mol Ecol*, 25, 185–202.
- Jung, H., Lyons, R.E., Hurwood, D.A. & Mather, P.B. (2013). Genes and growth performance in crustacean species: a review of relevant genomic studies in crustaceans and other taxa. *Reviews in Aquaculture*, 5, 77–110.
- Kofler, R., Orozco-terWengel, P., Maio, N.D., Pandey, R.V., Nolte, V. & Kosiol, C. (2011). PoPoolation: A Toolbox for Population Genetic Analysis of Next Generation Sequencing Data from Pooled Individuals. *PLoS ONE*, 6.
- Loreau, M., Jarne, P. & Martiny, J.B.H. (2023). Opportunities to advance the synthesis of ecology and evolution. *Ecology Letters*, ele.14175.
- McCormack, J.E., Harvey, M.G., Faircloth, B.C., Crawford, N.G., Glenn, T.C. & Brumfield, R.T. (2013). A Phylogeny of Birds Based on Over 1,500 Loci Collected by Target Enrichment and High-Throughput Sequencing. *PLoS ONE*, 8, e54848.
- Mertes, F., ElSharawy, A., Sauer, S., van Helvoort, J.M.L.M., van der Zaag, P.J., Franke, A., *et al.* (2011). Targeted enrichment of genomic DNA regions for next-generation sequencing. *Briefings in Functional Genomics*, 10, 374–386.
- Miller, M.R., Dunham, J.P., Amores, A., Cresko, W.A. & Johnson, E.A. (2007). Rapid and cost-effective polymorphism identification and genotyping using restriction site associated DNA (RAD) markers. *Genome Res.*, 17, 240–248.
- Narum, S.R., Buerkle, C.A., Davey, J.W., Miller, M.R. & Hohenlohe, P.A. (2013). Genotyping-by-sequencing in ecological and conservation genomics. *Mol Ecol*, 22, 2841–2847.
- Nosil, P., Feder, J.L. & Gompert, Z. (2021). Biodiversity, resilience and the stability of evolutionary systems. *Current Biology*, 31, R1149–R1153.
- Poynton, H.C., Hasenbein, S., Benoit, J.B., Sepulveda, M.S., Poelchau, M.F., Hughes, D.S.T., *et al.* (2018). The Toxicogenome of *Hyalella azteca*: A Model for Sediment Ecotoxicology and Evolutionary Toxicology. *Environ. Sci. Technol.*, 52, 6009–6022.

- Raffard, A., Santoul, F., Cucherousset, J. & Blanchet, S. (2019). The community and ecosystem consequences of intraspecific diversity: a meta-analysis: The ecological effects of intraspecific diversity. *Biological Reviews*, 94, 648–661.
- Schlötterer, C., Tobler, R., Kofler, R. & Nolte, V. (2014). Sequencing pools of individuals — mining genome-wide polymorphism data without big funding. *Nat Rev Genet*, 15, 749–763.
- Švara, V., Norf, H., Luckenbach, T., Brack, W. & Michalski, S.G. (2019). Isolation and characterization of eleven novel microsatellite markers for fine-scale population genetic analyses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Mol Biol Rep*, 46, 6609–6615.
- Vellend, M. & Geber, M.A. (2005). Connections between species diversity and genetic diversity: Species diversity and genetic diversity. *Ecology Letters*, 8, 767–781.
- Vellend, M. & Orrock, J.L. (2009). Ecological and genetic models of diversity: Lessons across disciplines. *The theory of island biogeography revisited*. Princeton University Press, Princeton, 439–461.
- Verovnik, R., Sket, B., Prevorc̃nik, S. & Trontelj, P. (2003). Random amplified polymorphic DNA diversity among surface and subterranean populations of *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda), 11.
- Wan, N.-F., Fu, L., Dainese, M., Hu, Y.-Q., Pødenphant Kiær, L., Isbell, F., *et al.* (2022). Plant genetic diversity affects multiple trophic levels and trophic interactions. *Nat Commun*, 13, 7312.
- Wattier, R., Mamos, T., Copilaș-Ciocianu, D., Jelić, M., Ollivier, A., Chaumot, A., *et al.* (2020). Continental-scale patterns of hyper-cryptic diversity within the freshwater model taxon *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Sci Rep*, 10, 16536.
- Webb, C.O., Ackerly, D.D., McPeck, M.A. & Donoghue, M.J. (2002). Phylogenies and Community Ecology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 33, 475–505.
- Whitham, T.G., Bailey, J.K., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., Bangert, R.K., LeRoy, C.J., *et al.* (2006). A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. *Nat Rev Genet*, 7, 510–523.
- Whitham, T.G., Young, W.P., Martinsen, G.D., Gehring, C.A., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., *et al.* (2003). Community and ecosystem genetics: a consequence of the extended phenotype. *Ecology*, 84, 559–573.
- Zimmer, M. & Bartholmé, S. (2003). Bacterial endosymbionts in *Asellus aquaticus* (Isopoda) and *Gammarus pulex* (Amphipoda) and their contribution to digestion. *Limnol. Oceanogr.*, 48, 2208–2213.

MATÉRIEL COMPLÉMENTAIRE

Annexe IV. Méthodologie utilisée (rédigée en anglais) pour sélectionner les séquences (validée par MyBaits).

General objective: Identifying exon sequences of genes associated to ecological traits (growth, activity, metabolism...) in several *Gammarus* species (freshwater crustaceans), and particularly in *Gammarus ariegii*, our main target species. Then, designing probes to sequence these genes in several wild populations/communities of *Gammarus*. These genes will ultimately be linked to ecosystem processes (eg productivity, decomposition rate).

In this document, I provide a proof of concept of the approach I used to identify potential candidate gene. The goal being to validate or not this approach, and if validated to extend it to hundreds of genes. As a proof of concept, I take here the example of the "5HT", a gene coding for 5-hydroxytryptamine receptor (serotonin receptor). The objective is to find the sequence in *Gammarus fossarum* (our main target species, given that ultimately, we would like the sequences to be targeted on other closely related species).

Step 1: Spot the gene in literature (no matter the species). Up to now, I have found ~60 genes, each composed of several exons. Before going further, the idea is to validate the approach.

Step 2: Finding the gene in well-annotated reference genomes of Crustaceans in NCBI. For 5HT, I found 41 sequences (one sequence per exon) from 9 different products found in 3 different Crustacean species:

- *Hyallela azteca* (malacostracea, amphipoda)
- *Penaeus vannamei* (malacostraceae, decapoda)
- *Eurytemora affinis* (maxillopoda, copepoda)

Step 3: Alignment of the sequences on a custom databank of target sequences composed of seven transcriptomes of *G. ariegii* and one full genome of *G. roeselii* (there is not much genome available for *Gammarus* sp). I used the function Blastn from Geneious® (slower but most sensitive option, allows more dissimilar matches; best option for more distantly related query species).

→ For this gene, I found **284 sequences**.

Step 4: Selection of the best-match sequences based on three statistics (see Tableau Annexe IV.1 below). I keep only sequences with a sequence length ≥ 100 pb, a % pairwise identity $\geq 75\%$ and a pairwise Query coverage $\geq 50\%$.

Tableau Annexe IV.1. Few statistics about the 17 retained sequences.

Sequence Name	Sequence Length	Query coverage	E Value	% Pairwise Identity	Grade
EQH5800071520	110	100.00%	1.05e-27	85.5%	92.7%
EQH5800600236	138	61.40%	1.10e-12	76.1%	43.7%
EQH5800600236	138	61.40%	1.34e-11	75.4%	43.4%
EQH5800169905	113	95.76%	1.60e-19	79.6%	62.7%
EQH5800142592	460	79.45%	1.80e-91	76.5%	78.0%
EQH5800449295	110	100.00%	2.03e-30	87.3%	93.6%
EQH5800064206	171	99.42%	2.74e-44	83.6%	91.5%
EQH5800071520	339	99.71%	3.10e-60	75.5%	87.6%
EQH5800436232	132	98.51%	3.43e-16	75.0%	61.8%
EQH5800071520	296	63.15%	4.07e-54	76.4%	69.7%
EQH5800449295	102	92.73%	5.09e-19	81.4%	62.0%
EQH5800064206	170	97.70%	5.74e-34	79.4%	88.6%
EQH5800064206	197	82.77%	5.97e-42	79.7%	81.2%
EQH5800881798	108	50.23%	6.92e-09	77.8%	39.0%
EQH5800436232	132	98.51%	8.06e-37	86.4%	92.4%
EQH5800931848	150	98.68%	8.21e-44	86.7%	92.7%
EQH5800071520	109	99.09%	9.83e-22	81.7%	87.9%

→ This resulted to **17 sequences** that we kept of the next step.

Step 5: Extract these 17 sequences from the target genomes (see Tableau Annexe IV.2 below. All of the 17 sequences come from *G. roselii* genome in this example (indicated by the “EQH” code in the sequence name column).

Tableau Annexe IV.2. Detailed sequences of the 17 retained sequences.

Sequence Name	Sequence
EQH5800071520	ATCAGTCAAGAGTGGGTGTGGGGCCGGAGCTATGCGACA TGTGGACC TCCAG TGACGTGC TCTGC TGACCCTCCATCC TGACCT TGTGGCTATAGCACTCGACAG
EQH5800600236	G-TGGCAGGTACTC---TGGC--CGGCGGTGGCA-GG-TA--C-----TCTG-G--C--GG-C---GGT--GG-C-A-GGTA---CTCTG---G--CC--GG--C---GG---T-GG-CA----G-GTACT---CTG-G-C---CGGC--A-----G---T-GG--CAG---GT-----AC-T-----C---TGG--C--CGGC--A-----G-----T-GG---CA---GGTACTCTGG--C--CGGCGGT-GGCA
EQH5800600236	G-TGGCAGGTACTC---TGGC--CGGCGGTGGCA-GG-TA--C-----TCTG-G--C--GG-C---GGT--GG-C-A-GGTA---CTCTG---G--CC--GG--C---GG---T-GG-CA----G-GTACT---CTG-G-C---CGGC--G-----G---T-GG--CAG---GT-----AC--T-----C---TGG--A--CGGC--G-----G-----T-GG---CA---GGCACTCTGG--C--CGGCGGT-GGCA
EQH5800169905	ATATGCCTCGAGAAGCGTCTCCACAACG TCACCAACTACTTCCTC ATG TCGCTCGCCGTCGCCG ACCTTCTGGTG TCGCTCG TGGTGATGC CCTTCGGCGCTATCGCCGGGT
EQH5800142592	TTCTGTTGATCATCAT TGTCCGCAC TGTCTG TAGGCAACCTG TTAGTG TGTGT TGCCGTG TGCA TGGTCAAAAA TTGCGGCG TCCAT ACA ACTACCTACTTGTGCAT TAGC TGTGTG TGA TCTG TGCGTGGCCA TCTTGGTGA TGCCCGTGC TCT ACTCAACGAG TTC TTAGGAAGGTG GGAGTTTGGCCCCCTAGTGTGCGACATCTGGGTA TCGT TTG ATG TTC TGTCT TTG TAC TGCCAGCA TCCTCAATCT ATG TATGATAAG TGTG GATAGATATCTTGCATAACAAGGCCCT TAGA ATATGG TGTCAAGAGACCCCC AAGAG AA TGT TTGC TTAC ATCGC TGTGTG TATGGGT GGGGGCGGGCTTTGTGAGTGTGCCACTGTCTCTATAC TCGGCAACG AGCACGG --- AGATGGCAACCGCTGCGACGCTGCCAGAACTTC TACTA TCA
EQH5800449295	GTGAGCCAGGAGTGGCGCTGGGCGCCGAGCTGTGCGACATGTGGACGGCTTGGGACG TGCTGTGC TGACAGCGCTCCATCC TGACCC TTGTGGCCATCGCGCTGGACAG
EQH5800064206	TGGTCGCAAGGTACTCTTCCACCAAGCCCTTGTGG ACTGC TGCAGGGCGGCCATC TTGG TTCC TCTTGTGCTGCTCC ATC TACG ACTGCC AACCCGTCGCAAGTGTCTGTTGGTTGAG ACAGCTTTCC TGCTGC TAG TGACCCGTC TCAACCGTCAACATGCTGACTACG
EQH5800071520	TACTGGGCTGTCACCAAGTCGACTACA TCCAGGCA AGACGGAATGGCAAGCGCAT AGGCA TCATG ATCC TCT TGA TCTGGA TGACGGC AGTCATAGTGTCCATGCTCCATTTCTTGG TTGGA AAG ACCCCGACT ACCTTACC GGGTG AACGAGCAGAAG AAGTG TCTAGTG TCGCA GGATCTCGCCTACCAGATCTTGTCT ACCCTGGCCACC TTC TA TGT TCCGCTAAC TG CAA TTC TTC TAC TCT ACTGG AGGAT AT TTC AA ACTG CAAGGAAGAGATTGCAACAAGAGACCTGGAAAG AGCAACAT TCCAAG AAGATTAAG TCT TAG ATCAAAG
EQH5800436232	AACGTGTTGTCATCGCCCATCTTGC TGGAGCGTAACC TGCAGTCGG TGGCCAAC TACC TCATCC TGAGCC TGGCCGTCGCTG ATC TG CTGGTGGCTGCTCTGTCATGCTCTTGGGGCGGTGTACGAG
EQH5800071520	CAGGTACTGGGCTGTACCCAAGTCGACTACA TCCAGGC AAGACGGAATGGCAAGCGCA TAGGCA TCA TGATCC TC TTGATCTGG ATGA CGGCAGTCATAGTGTCCATGGCTCCATTC TTTGGT TGGA AAGACCCGAC TACC TTC ACCGGGTGAACGAGCAG AAGAAGTG TCTAG TG TCGCAGGATCTCGCTACCAGATCTTGTCT ACCCTGGCCACC TTC TA TGT TCCGCTAAC TG CAA TTC TTC TAC TCT ACTGG AGGAT AT TTC AA ACTG AACTGCAAGGAAGAGATTGCAACAAG A
EQH5800449295	GGAGTGGCGCTGGGGCCGAGCTGTGCGACATGTGGACGGCTTGGGACGCTGCTGTGC TGCACGGCTCC ATCC TG CACC TTG TGGCCA TCGCGCTGGACAG
EQH5800064206	TGAACGATCGCCACTGCTTCTGAAGA TGCCGACCA AAAAGCCCTGCC TCTTA TGA TGGAA TCCCAACAG TGCGTC TTTTCGGCACCTT CATGATTTGGTTGTCATC AATACCA TAAACCTTGGACCCACTTCTC TCTGGAGCC TTAGCAGCCAACA TAGACG AG
EQH5800064206	GTTTACCCTCTCCGTCATGTCCAATC ATC ATGGGGCCCCCTCGGCAC TACGTGC TCAATG TGCTG TGGAT AGTGAC AAATC TCCTCG TGG TACTCTCACCGTCTTCCACCTT TGCAAGC TT TACCG AGA TCTA AGCAC TTC TAGC TTGGAGG CAG TCCGGA TTGCGTCCC TCGT ACCAC GATGATCAGTGTGAC
EQH5800881798	GGC--TG-CGTTGGC--TG-TC-A-----C-TG-G--G--C--TG-C---GTT--GG-C-T--G-A---CACTG---G--GC--TG--C---GT---T-GG-C-----T-G-ACA---CTG-G--G---CTGC---G-----T---T-GG--C-----TG-----AC--A-----C---TGG--G--CTGC--G-----T-----T-GG---C-----TG-ACACTGG--G
EQH5800436232	AACGTGTTGTCATCGCCCATCTTGC TGGAGCGTAACC TGCAGTCGG TGGCCAAC TACC TCATCC TGAGCC TGGCCGTCGCTG ATC TG CTGGTGGCTGCTCTGTCATGCTCTTGGGGCGGTGTACGAG
EQH5800931848	TACTGGCCGTTCCGGCTGGTGTGGTGCAACATC TACA TCAGC TGTG ATG TGCTAGCC TG CACC TCGAGCA TCA TGCACA TGTGCACC ATC TCCTTAGGGCGCTACATGGGATCAGGAACCCGCTC AAGACGCGC AACAACAGCAAGAAG
EQH5800071520	TCAGTCAAGAGTGGGTGTGGGGCCGGAGCTATGCGAC ATG TGGACCTCCAGTG ACGTGTCT TGCTGC ACCGCTCCATCCTGC ACCTT GTGGCTATAGCACTCGACAG

Step 6: Delete duplicates. If the sequence match more than once in the same reference genome, I keep all variations (maybe it is not necessary), except when sequences are too close. An example here with the **sequences in bold purple** (four mutations make them different), I would choose the sequence with the better Grade (43.7% here).

Tableau IV.S1. Taille et qualité de notre assemblage de référence de *Gammarus ariegii*. Nous avons inclus ici la longueur totale (Mb), le pourcentage de N, le contenu en CG, le nombre total de séquences, le nombre de séquences de plus de 100 kb, la longueur du read median (N50) et le read la longueur du read le plus court et le plus long.

<i>Gammarus sp.</i>	
Total (Mb)	3916.1
% N	1.3879
% GC	41.1
Nb seq	10263562
Nb seq> 100kb	0
N50 (kb)	0.99
shortest	100
longest	79162

Tableau IV.S2. Succès de capture individuels des 528 exons candidats. Quatorze espèces sont repertoriées, respectivement de haut en bas : *Asellus aquaticus*, *Bragasellus molinai*, *Dikerogammarus haemobaphes*, *Echinogammarus berilloni*, *Gammarus ariegii*, *Gammarus fossarum* type A, *Gammarus fossarum* type B, *Gammarus fossarum* type D, *Gammarus pseudopulex ariegii*, *Gammarus pulex* type I, *Gammarus pulex* type II, *Gammarus roeselii*, *Proasellus cavaticus* et *Proasellus coiffaiti*.

Species	ID individual	Raw capture success	Percentage of capture success
<i>A. aquaticus</i>	AA-01	73	13.800
<i>A. aquaticus</i>	AA-02	69	13.043
<i>A. aquaticus</i>	AA-03	72	13.611
<i>A. aquaticus</i>	AA-04	41	7.750
<i>A. aquaticus</i>	AA-05	32	6.049
<i>B. molinai</i>	BM-01	59	11.153
<i>B. molinai</i>	BM-02	51	9.641
<i>B. molinai</i>	BM-03	63	11.909
<i>B. molinai</i>	BM-04	70	13.233
<i>B. molinai</i>	BM-05	60	11.342
<i>D. haemobaphes</i>	DH-01	398	75.236
<i>D. haemobaphes</i>	DH-02	411	77.694
<i>D. haemobaphes</i>	DH-03	417	78.828
<i>D. haemobaphes</i>	DH-04	414	78.261
<i>D. haemobaphes</i>	DH-05	419	79.206
<i>E. berilloni</i>	EB-01	467	88.280
<i>E. berilloni</i>	EB-02	470	88.847
<i>E. berilloni</i>	EB-03	466	88.091
<i>E. berilloni</i>	EB-04	469	88.658
<i>E. berilloni</i>	EB-05	466	88.091
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-01	524	99.055
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-02	523	98.866
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-03	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-04	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-05	525	99.244
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-06	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-07	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-08	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-09	519	98.110
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-10	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-11	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-12	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-13	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-14	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ALSHer	GA-ALSHer-15	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-01	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-02	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-03	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-04	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-05	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-06	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-07	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-08	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-09	525	99.244
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-10	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-11	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-12	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-13	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-14	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop ARZMas	GA-ARZMas-15	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-01	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-02	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-03	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-04	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-05	525	99.244
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-06	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-07	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-08	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-09	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-10	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-11	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-12	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-13	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-14	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop COUSai	GA-COUSai-15	527	99.622

Species	ID individual	Raw capture success	Percentage of capture success
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-01	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-02	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-03	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-04	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-05	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-06	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-07	524	99.055
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-08	527	99.622
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-09	525	99.244
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-10	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-11	528	99.811
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-12	521	98.488
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-13	526	99.433
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-14	524	99.055
<i>G. ariegii</i> - Pop RIOCas	GA-RIOCas-15	527	99.622
<i>G. fossarum</i> - A type	GF-A-01	527	99.622
<i>G. fossarum</i> - A type	GF-A-02	526	99.433
<i>G. fossarum</i> - A type	GF-A-03	526	99.433
<i>G. fossarum</i> - A type	GF-A-04	527	99.622
<i>G. fossarum</i> - A type	GF-A-05	526	99.433
<i>G. fossarum</i> - B type	GF-B-01	527	99.622
<i>G. fossarum</i> - B type	GF-B-02	528	99.811
<i>G. fossarum</i> - B type	GF-B-03	527	99.622
<i>G. fossarum</i> - B type	GF-B-04	527	99.622
<i>G. fossarum</i> - B type	GF-B-05	527	99.622
<i>G. fossarum</i> - D type	GF-D-01	517	97.732
<i>G. fossarum</i> - D type	GF-D-02	499	94.329
<i>G. fossarum</i> - D type	GF-D-03	499	94.329
<i>G. fossarum</i> - D type	GF-D-04	506	95.652
<i>G. fossarum</i> - D type	GF-D-05	509	96.219
<i>G. pseudopulex-ariegii</i>	GPPA-01	508	96.030
<i>G. pseudopulex-ariegii</i>	GPPA-02	496	93.762
<i>G. pseudopulex-ariegii</i>	GPPA-03	512	96.786
<i>G. pseudopulex-ariegii</i>	GPPA-04	504	95.274
<i>G. pseudopulex-ariegii</i>	GPPA-05	517	97.732
<i>G. pulex</i> - I Type	GP-I-01	523	98.866
<i>G. pulex</i> - I Type	GP-I-02	523	98.866
<i>G. pulex</i> - I Type	GP-I-03	522	98.677
<i>G. pulex</i> - I Type	GP-I-04	509	96.219
<i>G. pulex</i> - I Type	GP-I-05	518	97.921
<i>G. pulex</i> - II Type	GP-II-01	506	95.652
<i>G. pulex</i> - II Type	GP-II-02	502	94.896
<i>G. pulex</i> - II Type	GP-II-03	522	98.677
<i>G. pulex</i> - II Type	GP-II-04	512	96.786
<i>G. pulex</i> - II Type	GP-II-05	517	97.732
<i>G. rosaeli</i>	GR-01	528	99.811
<i>G. rosaeli</i>	GR-02	528	99.811
<i>G. rosaeli</i>	GR-03	526	99.433
<i>G. rosaeli</i>	GR-04	528	99.811
<i>G. rosaeli</i>	GR-05	528	99.811
<i>P. cavaticus</i>	PCav-01	43	8.129
<i>P. cavaticus</i>	PCav-02	46	8.696
<i>P. cavaticus</i>	PCav-03	37	6.994
<i>P. cavaticus</i>	PCav-04	38	7.183
<i>P. cavaticus</i>	PCav-05	45	8.507
<i>P. coiffaiti</i>	PCoi-01	131	24.764
<i>P. coiffaiti</i>	PCoi-02	142	26.843
<i>P. coiffaiti</i>	PCoi-03	95	17.958
<i>P. coiffaiti</i>	PCoi-04	197	37.240
<i>P. coiffaiti</i>	PCoi-05	212	40.076

CHAPITRE V – POLYMORPHISM AT A FEW KEYSTONE GENES EXPLAINS ECOSYSTEM FUNCTIONING AS MUCH AS TRAIT AND GENOMIC DIVERSITY

Laura Fargeot^{1*}, Thomas Picq¹, Guillaume Verchère¹, Camille Poésy¹, Maxime Lefort¹, Yves Cuénot¹, Murielle Richard¹, Delphine Legrand¹, Géraldine Loot² & Simon Blanchet^{1*}

¹ Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale, UAR 2029, 2 route du CNRS, F-09200 Moulis, France.

² Evolution et Diversité Biologique, UMR5174, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse CEDEX 4).

* Correspondence:

Laura Fargeot, laura.fargeot@live.fr

Simon Blanchet, simon.blanchet@sete.cnrs.fr

Manuscript in preparation.

Key words: Biodiversity patterns, community structure, population genomics, species-genetic diversity correlations, trophic chains, river ecosystems, fish, invertebrates, riparian trees, *Alnus*, *Gammarus*, *Phoxinus*

RÉSUMÉ

La biodiversité intraspécifique est désormais reconnue comme un régulateur important des processus écosystémiques. Cependant, elle comprend différentes composantes, des gènes aux traits, et nous comprenons encore mal lesquelles expliquent le mieux les liens entre la diversité intraspécifique et les processus écosystémiques. Ici, nous avons estimé la diversité intraspécifique dans des populations sauvages d'un crustacé décomposeur d'eau douce (*Gammarus* sp.) en utilisant une approche basée sur les traits, une approche à l'échelle du génome (mesurée à partir de contigs répartis aléatoirement dans le génome et d'exons fonctionnels) et une approche basée sur les gènes candidats. Nous avons ensuite comparé dans quelle mesure chacune de ces composantes était liée statistiquement à la capacité de décomposition des feuilles de chaque population, mesurée dans des conditions contrôlées. Nous avons constaté que les traits phénotypiques (en particulier le taux métabolique et sa variation) permettaient de prédire jusqu'à 78% de la variabilité observée dans la capacité de décomposition des populations, alors que la diversité à l'échelle du génome n'était pas un facteur prédictif significatif. En utilisant une approche d'association à l'échelle du génome, nous avons identifié 29 SNPs candidats qui étaient fortement liés à la capacité de décomposition de chaque population, et nous avons montré que la fréquence allélique à un locus unique expliquait jusqu'à 87% de la variabilité des capacités de décomposition. Ces SNPs candidats codaient pour des protéines liées à des caractéristiques *écologiquement importantes* telles que l'activité et le métabolisme, et peuvent être considérés comme des "gènes clefs" étant donné leur énorme contribution aux fonctions de l'écosystème. L'existence de ces gènes clefs suggère que les effets génomiques écologiques sont plus probablement dus à des effets "locaux" qu'à des effets "globaux" de la diversité génomique. Nous avons conclu que la diversité intraspécifique mesurée au niveau de quelques gènes clefs peut être aussi importante que la diversité mesurée au niveau de plusieurs traits. Notre étude souligne l'importance des approches génomiques pour comprendre les liens entre la diversité intraspécifique et la fonction de l'écosystème dans une perspective évolutive.

ABSTRACT

Intraspecific biodiversity is now recognized as an important regulator of ecosystem processes. However, it includes different components, from genes to traits, and we still poorly understand which of these components best explain the links between intraspecific diversity and ecosystem processes. Here, we assessed intraspecific diversity in wild populations of a freshwater crustacean (*Gammarus* sp.) that decomposes dead leaves using a trait-based approach, a genome-wide approach (measured from both random contigs and functional exons) and a candidate genes approach. We then compared how much each of these components was statistically linked to the leaf decomposition ability of each population under controlled conditions. We found that phenotypic traits (especially the metabolic rate and its variation) predicted up to 78% of the variability observed in the decomposition ability of populations, whereas genome-wide diversity was not a significant predictor. Using a genome-wide association approach, we further identified 29 candidate SNPs that were strongly linked to the decomposition ability of each population, and we showed that allelic frequency at a single locus explained up to 87% of the variability in decomposition ability. These candidate SNPs were associated with proteins related to ecologically-important traits such as activity and metabolism, and may be considered as “keystone genes” given their huge contribution to ecosystem functions. The existence of these keystone genes suggest that ecological genomic effects are more likely due to “local” rather than “global” effects of genomic diversity. We concluded that intraspecific diversity measured at a few keystone genes may be as important as diversity measured at several traits, which underlies the importance of genomic approaches for understanding the links between intraspecific diversity and ecosystem function under an evolutionary perspective.

1. Introduction

Human activities are driving the current decline in biodiversity by causing losses both *within* and *among* species, which can ultimately have broad impacts on ecosystem functioning. The study of the relationships between biodiversity and ecosystem functioning (BEFs) historically focused on species diversity, which have been found to ensure and stabilize ecosystem functions in various terrestrial and aquatic ecosystems (Loreau *et al.* 2001; Hooper *et al.* 2005; Balvanera *et al.* 2006; Cardinale *et al.* 2011; Woods *et al.* 2020). However, diversity loss occurring within species generally precedes the loss of species in the wild, and sometimes accelerates it (Spielman *et al.* 2004). Studies on the links between intraspecific diversity and ecosystem functioning flourished in the last decades, and intraspecific biodiversity is now acknowledged as an important regulator for major ecosystem functions such as pollination, freshwater quality or food production (Des Roches *et al.* 2021; Stange *et al.* 2021). Recent meta-analyses showed that intraspecific biodiversity supports ecosystem functions as much as species diversity, and that mechanisms similar to that proposed for explaining interspecific-BEFs sustain the relationships between intraspecific biodiversity and ecosystem processes (Des Roches *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2019; Wan *et al.* 2022). However, intraspecific biodiversity encompasses various components that ranges from genetic to trait diversity (including behavioral, physiological, morphological and life history traits), and we still poorly know which of these components best explain the links between intraspecific biodiversity and ecosystem processes.

Understanding the links between intraspecific biodiversity and ecosystem processes ideally requires estimating (trait and/or genetic) diversity in a set of populations, and correlate this estimate of intraspecific diversity to ecosystem function(s). But this is surprisingly rarely done as such in the literature. Estimating trait diversity of populations for explaining ecosystem processes is attracting as traits are thought to sustain biological functions (e.g., metabolism, resource acquisition) that can be causally related to the fate of ecosystem functions (Díaz & Cabido 2001; Tilman 2001; Violle *et al.* 2007; Mouillot *et al.* 2011; Gross *et al.* 2017). Accordingly several studies have demonstrated that some trait characteristics of some populations partly explain why they impact differentially ecosystem functions (Lecerf & Chauvet 2008; Des Roches *et al.* 2018; Rota *et al.* 2018). However, very few of them have linked trait variation (i.e., to which extent a trait vary within a population) to ecosystem functions, which limits some inferences regarding underlying mechanisms of intraspecific-BEFs such as the possibility that populations with higher trait variance sustain a higher trait

complementarity, the later theoretically increasing the rate of ecosystem functions (Hughes *et al.* 2008; Raffard *et al.* 2021). An alternative to trait diversity is to estimate the genetic diversity of populations, with the assumptions that (i) genetic diversity is a good proxy for trait diversity and (ii) that it can encapsulates trait that are difficult to estimate (“cryptic” trait variation, Raffard *et al.* 2021). In most intraspecific-BEF studies, the number of genotypes is manipulated in (semi-)experimental populations, and a higher number of genotypes in experimental populations has been shown to increase ecosystem functioning, resilience and stability (Gamfeldt *et al.* 2005; Reusch *et al.* 2005; Crutsinger 2006; Ehlers *et al.* 2008; Prunier *et al.* 2023). The assumption being that a higher number of genotypes increases the genetic diversity of populations, which favor individual complementarity and in turn enhances ecosystem functions (Hughes *et al.* 2008). However, the link between genetic diversity and ecosystem functions has rarely been tested explicitly (but see Prunier *et al.* 2023), so that we lack the causal link between genetic diversity and ecosystem processes. To sum up, although the links between intraspecific diversity and ecosystem functioning are now acknowledged (Des Roches *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2019), we still lack proper studies aiming at revealing how trait and/or genetic diversity impact ecosystem functions, which is however essential to gain insights into underlying mechanisms of intraspecific-BEFs.

Alternatively to approaches based on traits and/or on genetic diversity as a whole, it has been proposed in the 2000’s that polymorphism measured at a few numbers of genes (rather than diversity measured across traits and several genomic markers) could sustain substantial impacts on ecosystem functions (Whitham *et al.* 2003; Skovmand *et al.* 2018; Barbour *et al.* 2022; Blanchet *et al.* 2023), and hence could be the mains driver of the link between intraspecific diversity and ecosystem functioning. Indeed, “genes-to-ecosystems” approaches (*sensu* Crutsinger *et al.* 2014) highlighted that the expression of a few genes can go beyond the individual level, and extend to population or ecosystem properties (Whitham *et al.* 2003, 2006; Bailey *et al.* 2009; Bailey 2011; Wymore *et al.* 2011). With the advances of sequencing technologies, these ideas have been renewed and the terms “ecologically-important genes” and “keystone genes” have recently been proposed (Rudman *et al.* 2017; Skovmand *et al.* 2018). The effects of such ecologically-important genes on ecosystem functions are usually mediated by ecologically important trait(s) such as morphology, physiology or behavior (Blanchet *et al.* 2023), hence reconciling trait-based and genetic approaches. For instance, a single allele at a single gene in *Arabidopsis thaliana* was recently found to increase the persistence of insect food web by increasing plant growth rate (Barbour *et al.* 2022, see also Wuest & Niklaus 2018). Similarly, a single protein within *Populus tremuloides* natural populations was associated with insect community diversity by modulating

complex community trait (Barker *et al.* 2019). These examples illustrate the importance of polymorphism measured at few genes in sustaining the link between intraspecific diversity and ecosystem functions. However, up to our knowledge, no study has yet compared the relative strength of these “local” genomic effects to that of diversity measured at ecologically-important traits or at the genomic-wide scale. Such comparison would however be extremely valuable to test (i) whether or not traits are better than their underlying genes in explaining ecosystem functions and (ii) whether diversity at a few genes better explains ecosystem functions than diversity at the genome-wide scale, which would suggest that “local” effects are more likely than complementarity (“global”) effects for explaining intraspecific-BEFs (Blanchet *et al.* 2023).

Here, we conducted an experiment to compare the effects of different components of intraspecific diversity on ecosystem functioning. We estimated intraspecific diversity from wild populations of *Gammarus* sp. (a freshwater crustacean involved in the decomposition of dead organic matter) using a trait-based approach, a genome-wide approach and a candidate genes approach. We then inferred and compared the statistical links between each of these components of intraspecific diversity and the decomposition ability of each population measured under controlled conditions. We predict that traits will be better predictors of decomposition ability than candidate genes and genome-wide estimates of diversity, mainly because traits are expected to be more closely linked to functions (Díaz & Cabido 2001; Violle *et al.* 2007) and because they also account for non-genetic effects that cannot be captured by a genome-wide or a candidate gene approach. The candidate gene approach should, for the same reason, predict the decomposition ability of population better than genome-wide estimates of diversity. If our predictions are correct, this may permit potential gene-trait-ecosystem linkages (*sensu* Rudman *et al.* 2017), and this would suggest that the local effects of certain genes are most important than complementary effects at the genome-wide level for explaining ecosystem functions.

2. Materials and methods

2.1. Sampling and breeding condition

The macroinvertebrate shredder used for this study is a freshwater amphipod belonging to the Gammaridae family: *Gammarus* sp. Gammarids are widely distributed and abundant in Europe and are considered as a keystone species in freshwater ecosystems (Dangles & Malmqvist 2004; Wattier *et al.* 2020). Indeed, they efficiently decompose the dead organic matter and hence ensure nutrient recycling in lakes and rivers, and they are also a food source for organisms at higher trophic levels (Cummins 1974; Dangles & Malmqvist 2004).

Adult and juvenile individuals of *Gammarus sp.* were collected using dip-net fishing in autumn 2020 in fourteen populations (rivers) in Southern France at the foothill of the Pyrenean Mountains (in the Garonne River basin, **Figure V.1**). All rivers were selected based on previous molecular results indicating that they all harbor a single *Gammarus* species (*Gammarus sp.* not described taxonomically yet, C. Piscart, unpublished data, Carnevali 2022; Fargeot *et al.* 2023) that is the same across all rivers. About 250 specimens per population were brought back to the laboratory, acclimated for two hours and then placed in 40L tanks (50 cm length, 34 cm width and 25cm height). Tanks were filled with water from the nearby Lez River and contain a chiller (BlueMarine®) to keep water temperature stable (15°C), an air bubbler connected to a foam filter for oxygenation and to ensure water filtration, a coconut brush to serve as shelter, and their bottom was covered with a 2-cm layer of pebbles. We fed them *ad libitum* with alder leaves (*Alnus glutinosa*) previously leached in water for 24 hours to facilitate consumption and, once a week, we added frozen blood worms to ensure protein and nutrient inputs. We maintained a 16/8 h light/dark cycle in the breeding room. We changed 1/10th of the water of each tank once every 3 days for water renewal. Populations were raised for 2 months before starting the experiment.

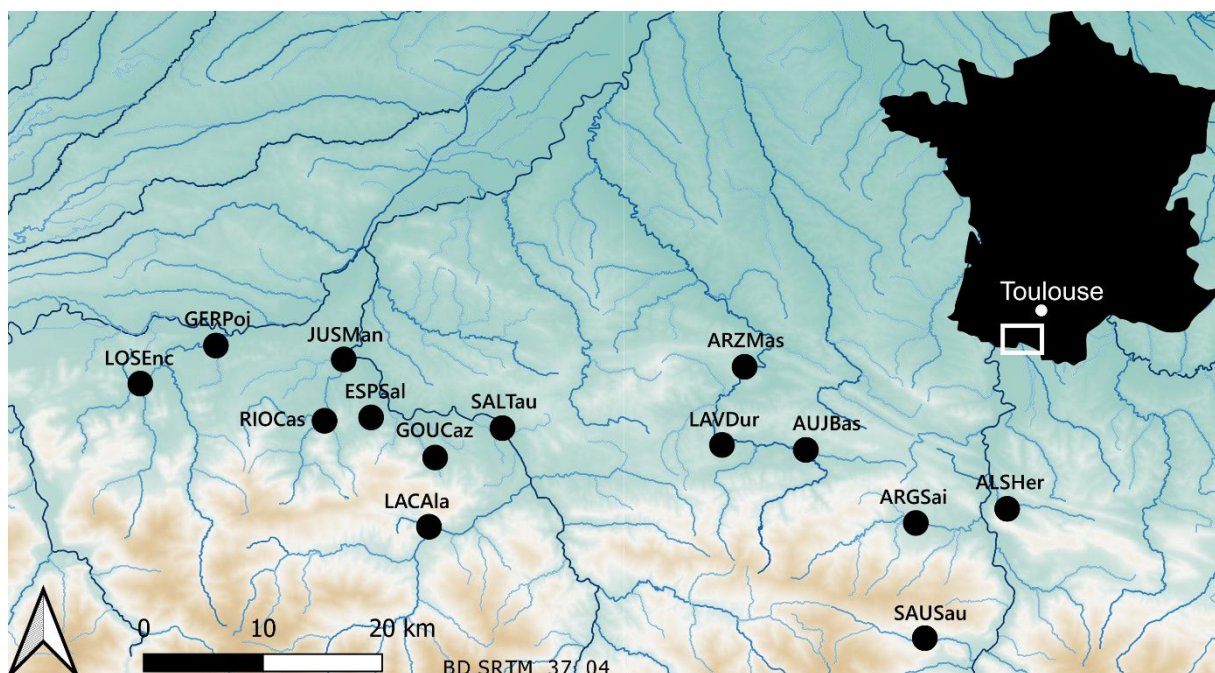


Figure V.1. Distribution of the 14 sampling sites (black dots) at the foothill of the Pyrenees Mountains. A six-letter code represents each site, the three first letters indicate the river name and the three last letters refer to the closest city (or village).

2.2. Functional traits data

Four functional traits generally associated with the decomposition ability of *Gammarus* (Rota *et al.* 2018) were estimated for each population: activity, metabolic rate, body mass and body condition. For each trait, we estimated the average value for each population level as well as the variance (estimated as the coefficient of variation, CV) within each population. Indeed, both components (mean value and variance) can influence functions: high trait value can increase the function (e.g., populations with a high body mass may be more efficient to use the resource, selection effect *sensu* Loreau & Hector 2001) and high variance for a trait within populations can also increase the function through complementary effects (Hughes *et al.* 2008).

Activity was estimated in 28 individuals within each population. Each individual was placed in individual 50 mL Petri dishes (150 mm diameter, 15 mm height) containing water from the Lez River. After 10 minutes of acclimation, we recorded a 5-minute movie with webcams placed above the Petri dishes and connected to a computer. Each movie was loaded in Virtual Dub (Avery Lee, version 1.10.4.35491) to create image sequences (around 300 frames, one image per second), we tracked the position of each individual manually used ImageJ (Schneider *et al.* 2012, version 2015) and we calculated the distance (in cm) travelled between two consecutive images. As a measure of activity, we computed the mean distance travelled per second for each individual. We used these individual estimates to assess the mean activity per population and its CV (mean/SD).

Metabolic rate was estimated for 10 individuals per population. Each individual was transferred into a 5mL PreSens vials SensorDishes® for oxygen (OxoDish®) filled with water from the Lez River. Each vial was sealed tightly and placed onto two 24-channel readers equipped with oxygen sensors (SDR PreSens SensorDish® Reader) connected to a computer equipped with the SDR software (version 4.0.0). We recorded oxygen consumption for 2 hours (one measure every minute) but we excluded the first 10 minutes that we considered as an acclimatization period. We computed for each individual the metabolic rate as the slope (absolute value) of oxygen consumption from a linear model linking oxygen consumption with time as the predictor. As for the activity, we did not correct the metabolic rate for the body mass of each individual (although the metabolic rate is generally positively correlated to body mass in ectotherms, West *et al.* 1999; Dodds *et al.* 2000) as we were interested by the actual effect of this trait on decomposition ability and this effect can be mediated by large body masses (Wilhelm *et al.* 2006; Jourdan *et al.* 2016). We used these individual estimates to assess the mean metabolic rate per population and its CV.

Mass and *body condition* were assessed using 50 individuals per populations. Individuals were dried at 60°C for 48 hours and then weighed to the nearest 10⁻⁴g. *Body condition* was computed as the residuals of the relationship between the body size and the body mass. Size of the same individuals were estimated as the distance (in mm) between the base of the first antenna and the upper junction of the head with the first segment (**Figure V.S1**) under a binocular microscope at a standardized magnification (50x). The residuals (body condition) of the relationship between the body size and the body mass were extracted from a linear model with Gaussian error terms. For each of these traits (body mass and condition), we used individual estimates to assess the mean values per population and their respective CV.

2.3. Genomic data

For each population, we collected up to 32 specimens of *Gammarus sp.* from alder roots in February 2020. We stored each of them into a 1.5mL tube containing 96% ethanol before extracting the DNA from their head using the DNeasy® Blood and tissue kit (QIAGEN). We used Qubit 3.0 fluorometer (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) to measure DNA concentrations and we combined all individuals from each population in equimolar concentration to create a single DNA pool per population (see Fargeot *et al.* 2023 for further details). We then used two approaches to retrieve SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) data for each population; an approach based on a reduced-genome representation (Fargeot *et al.* 2023) and another approach based on the capture of functional (coding) regions of the genome (Blanchet *et al.* 2023, Fargeot *et al.* In prep). We did not opt for a full genome sequencing since the genome size of *Gammarus sp.* (~8.3Gb, unpublished data) strikingly limits sequencing possibilities within reasonable costs.

Regarding the reduced-genome representation approach, a double-digest restriction-site associated DNA (ddRAD-seq with Pst/HindIII enzymes) was performed and the resulting libraries were sequenced on an Illumina NovaSeq (2x150 pb) by LGC Genomics (Biosearch Technologies, Berlin, Germany) (see Fargeot *et al.* 2023 for further details). This approach allows identifying SNPs randomly distributed in the genome, most of them are inserted within non-functional regions of the genome (due to the repetitive nature of large genomes) whereas some of them can be inserted within coding regions. On the contrary, the capture approach allows targeting specific regions of the genome. We here target functional regions (exons) associated with traits (e.g., food assimilation, body size, locomotion or metabolism) that are themselves associated (directly or indirectly) with the decomposition ability of *Gammarus sp.* (Blanchet *et al.* 2023, Fargeot *et al.* In prep). This approach was performed using hybridization-

based capture with custom probes created by myBaits (Arbor science, Ann Arbor, Michigan, Etats-Unis) which allowed us to capture 529 exonic sequences (including 228 exons on genes for which we know the encoded protein and the ecological trait, see Fargeot *et al.* In prep [Chapter IV] for further details). The libraries were homemade according to classical protocols and sent for sequencing (one single lane of NovaSeq, 2*150bp) to MGX (Montpellier, France).

Data processing was the same for the two types of genomic data. We followed the methodology detailed in De Kort *et al.* 2018), with the exception that we used a reference genome to perform sequence alignment. SNP calling was conducted by (i) filtering the raw sequencing files; (ii) indexing the reference genomes; (iii) aligning the sequencing files to the reference; (iv) filtering out unpaired and poorly/non-mapped reads; (v) assembling all reads information in a single file per population and (vi) calculating SNP allelic frequencies. After filtering out SNPs with NA percentages greater than 4/14, the total number of SNPs retrieved for these fourteen population of *Gammarus* sp. was 40 766 SNPs with respectively 10 728 SNPs found on functional exons and 30 038 on random contigs. We calculated genomic diversity for each approach separately (as we can expect that genomic diversity estimated from exonic SNPs will be more informative than genomic diversity estimated from SNPs in random contigs) as the percentage of polymorphism of each population (**Table V.S1**). We hereafter refer to as contig diversity and exon diversity for the genomic diversity estimated from the ddRAD and capture approaches respectively.

2.4. Laboratory decomposition experiment

We assess the decomposition ability of each population as the amount of dead leaves being decomposed per unit of time by Gammarids, while accounting for their density. To do so, we used independent 500 mL plastic trays (13 cm length, 10 cm width and 5cm height) filled with water from the Lez River in which we introduced 8 adult gammarids from a single population and ~1 gram (to the nearest 10⁻²g) of dried alder leaves (*A. glutinosa*, collected during fall 2019 from a single source). Plastic trays were placed in a water bath to regulate water temperature (15°C) and we changed 1/10th of the water once every 3 days. The experiment lasted 21 days after which we removed gammarids (and counted them to estimate mortality) and the remaining leaves. The later were dried for 48h at 60°C and weighted to the nearest 10⁻²g to estimate leaf mass loss after 21 days. We ran four independent replicates per population (56 trays in total). To account for possible effect of microbes contained in the water on leaf litter degradation (Taylor & Chauvet 2014; Tanentzap *et al.* 2019), we included control trays without gammarids. Decomposition ability was calculated as the percentage of leaf mass

loss (% LML) in each tray containing gammarids minus the (averaged) percentage of leaf mass loss measured in control trays as follows:

$$\text{Percentage of leaf mass loss (\% LML)} = \frac{\text{Dry mass}_{\text{Initial}} - \text{Dry mass}_{\text{Final}}}{\text{Dry mass}_{\text{Initial}}} * 100$$

$$\text{Decomposition ability} = \% \text{ LML}_{\text{Experiment}} - \% \text{ LML}_{\text{Control}}$$

2.5. Statistical analyses

For the trait and genome-wide approach, we ran a single linear model linking the decomposition ability of each population (dependent variable) to each trait (mean and CV) and to both contig and exon genomic diversity (predictors). Given the low statistical power (N = 14) and to avoid over-parametrization, we used the *dredge* function from the “MuMIn” R package (v. 1.47.5, Barton 2023) to identify the best model by comparing all possible models containing a maximum of four (out of ten) predictors. We identified the best model(s) as the ones (among all possible models) having a $\Delta\text{AIC} < 2$. For these models, we measured the percentage of explained variance (coefficient of determination, r^2) that provides an estimate of the predictive power of each model, irrespectively of its complexity (i.e., number of parameters, from 1 to 5 including the intercept).

For the candidate genes approach, the first step was to identify putative candidate SNPs. To do so, we used a Genome Wide Association Studies (GWAS) approach consisting in a series of linear models in which we assessed the statistical association between each the 40 766 SNPs and the degradation ability of each population (one model per SNP, Scherer & Christensen 2016). For each linear model, the decomposition ability of each population was the dependent variable and the frequency of one of the two alleles of each SNP was the predictor. Given the explorative and comparative nature of the objectives and the relatively low sample size, we considered as candidates all SNPs for which the p-value was lower than 0.001. We filtered further the candidate SNPs for linkage disequilibrium by conserving a single SNP per gene or contig. Finally, we reported the r^2 of each model of the selected candidate SNPs and we compared it to those obtained for the best model(s) including both traits and genome-wide diversity (see above).

To go further, we assessed the functional role of the candidate SNPs. We first used Pearson’s correlation coefficients (r) to assess the strength of associations between allelic frequencies of each candidate SNPs and the activity, metabolic rate, mass and body condition (mean values) of each population (“gene-trait associations”). We then used a BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) on the sequences (100 pb before and after the SNP) to find

regions of similarity on NCBI (National Center for Biotechnology Information) databases (Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) using BLAST2GO (OmicsBox – Bioinformatics Made Easy, BioBam Bioinformatics, March 3, 2019, <https://www.biobam.com/omicsbox>, Gotz *et al.* 2008) with an expected value (E-value) threshold of 1×10^{-3} .

3. Results

3.1. Trait and genome-wide approach

We identified four models with a $\Delta AIC < 2$ (**Table V.1**). On average, r^2 observed for the best models was 0.593 and it ranges from 0.383 to 0.778 (**Table V.1**). The model with the highest predictive ability ($r^2 = 0.778$) included four predictors: the mean metabolic rate (negative effect, $\beta_{\text{Metabolic rate}} = -0.414 \pm 0.106$), the CV of the metabolic rate (negative effect, $\beta_{\text{Metabolic rate CV}} = -0.121 \pm 0.032$), the body condition (positive effect, $\beta_{\text{Body condition}} = 0.062 \pm 0.022$) and the body mass (positive effect, $\beta_{\text{Mass}} = 0.001 \pm 0.000$). None of the genomic diversity estimates was identified as an important predictor in the four best models (**Table V.1**). Moreover, when ranking models according to their AIC, it appears that all the four best models ($\Delta AIC < 2$) included CV of the metabolic rate as predictor, suggesting this was the most important predictor for the decomposition ability (**Table V.1, Figure V.2**). The decomposition ability was hence higher for populations with a low variance in metabolic rate, a low metabolic rate, a high body condition and a high body mass (**Table V.1, Figure V.2**).

Table V.1. Dredge table showing the best models (delta AIC <2) for the traits and genomic approach. The aim was to test the predictive power for decomposition in experiment of raw trait measures (activity, body condition, mass and metabolic rate), diversity trait measures (coefficient of variation, CV, of the same four traits), functional gene diversity and random gene diversity.

	Mod. 1	Mod. 2	Mod. 3	Mod. 4
Intercept	0.228	0.140	0.195	0.209
Activity	-	-	-	-
Metabolic rate	-0.308	-	-0.190	-0.414
Mass	-	-	-	0.001
Body condition	0.054	-	-	0.062
Activity CV	-	-	-	-
Metabolic rate CV	-0.129	-0.123	-0.127	-0.121
Mass CV	-	-	-	-
Body condition CV	-	-	-	-
Functional exon div.	-	-	-	-
Random contig div.	-	-	-	-
r^2	0.684	0.383	0.526	0.778
F	7.231	7.447	6.101	7.905
df	5.000	3.000	4.000	6.000
logLik	38.213	33.518	35.363	40.688
AICc	-58.926	-58.636	-58.282	-57.376
delta	0.000	0.290	0.644	1.551
weight	0.191	0.165	0.138	0.088

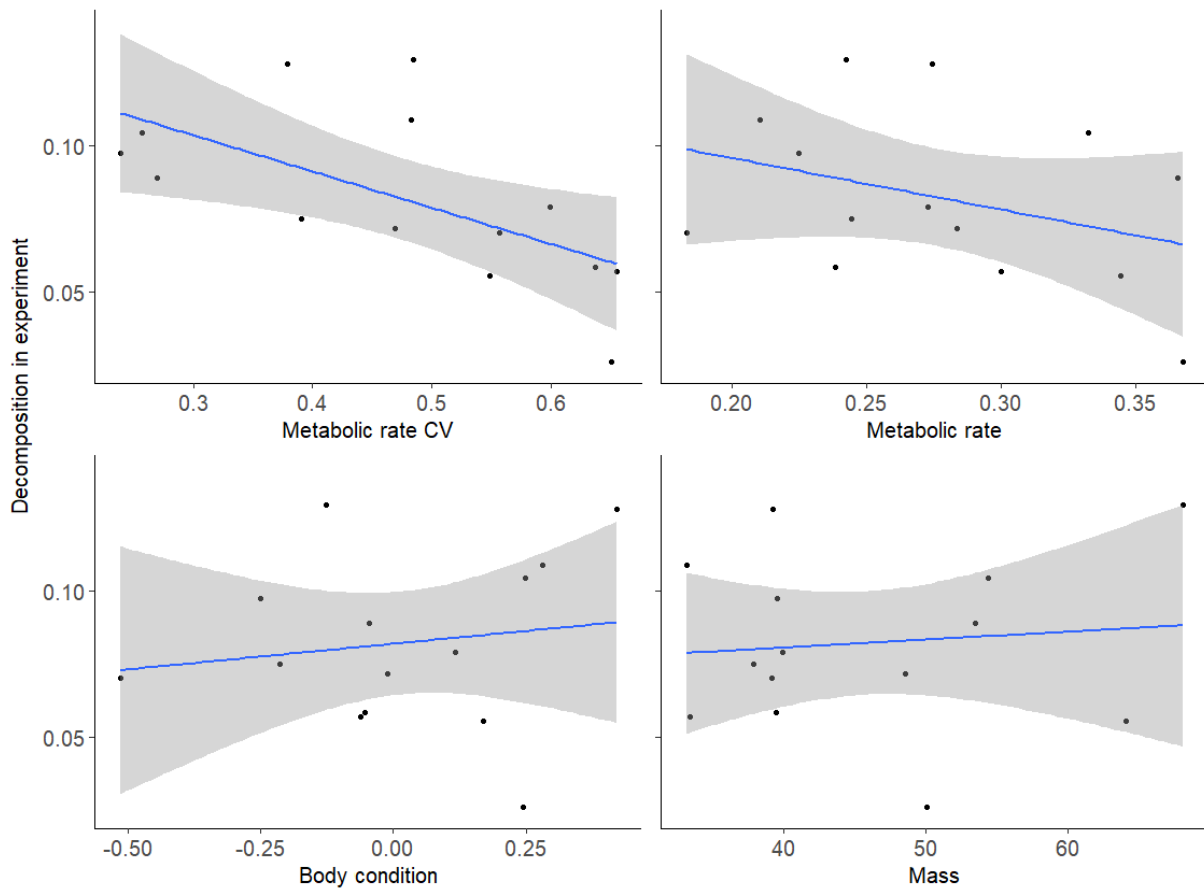


Figure V.2. Relationship between decomposition in the experiment and the four best predictors found using the traits and genomic approach. From left to right and top to bottom, the four best predictors for decomposition in experiment are (raw data, ascending order) one diversity trait measure (coefficient of variation of metabolic rate) and three raw trait measures (metabolic rate, body condition and mass). None of the genomic diversity estimates appeared as an important predictor.

3.2. Candidate gene approach

Within the total 40 766 SNPs, we detected 29 candidate SNPs based on GWAS (p -value < 0.001 , no linkage disequilibrium), with respectively 14 SNPs inserted within functional exons (6 with known functions, **Table V.2, Figure V.3a**) and 15 SNPs from random contigs (**Table V.2, Figure V.3b**). Although the proportion of candidate SNPs did not significantly differ between the exon and random contig datasets ($\chi^2 = 2.7092$, $df = 1$, $N = 14$, p -value < 0.09), the proportion of candidate SNPs from functional genes is twice higher than that from the random contigs (0.979 ‰, compared to 0.499 ‰, **Table V.2**). On average, r^2 observed for candidate SNPs was 0.721 (**Table V.3**, see **Table V.S2** for details) and it ranges from 0.869 (SNP01) to 0.616 (SNP29, **Figure V.4, Table V.3**, see **Table V.S2** for details). For instance, SNP01, SNP02 and SNP07 explained respectively 86.9%, 85.9% and 77.7% of the variance in decomposition ability of populations. For these three SNPs, the populations with

the highest degradation capacity were, respectively, heterozygous (this was the case for 11 out of 29 SNPs, represented in orange in **Figure V.4**), homozygous (this was the case for 2 out of 29 SNPs, represented in green in **Figure V.4**) or have a specific allelic frequency value (this was the case for 16 out of 29 SNPs, represented in blue in **Figure V.4**). This means that allelic frequencies measured at a single SNP can explained up to 86.9% of the variance in decomposition ability observed among populations, which is 9.1% more than the best model identified from traits and genomic diversity.

Regarding the functional role of the candidate SNPs, 19 of them were (at least moderately, $r > 0.3$) correlated with activity, 11 with body condition, 2 with mass and 8 to metabolic rate (**Table V.3**). Moreover, 12 of them were moderately to strongly associated with more than one trait (see e.g., SNP02 which is associated to some extent with the four traits, **Table V.3**), which suggest the existence of pleiotropic SNPs. BLAST revealed that 19 SNPs were located in genes for which the encoded protein and/or the ecological traits were found in NCBI database. For instance, some SNPs were located in genes coding for the 5HT, DR, FADS, GDF, HSP70 and TLR proteins (see **Table V.3**) that are implied in important ecological traits such as growth, locomotion activity, digestion, general metabolism and immunity (**Table V.3**).

Table V.2. Number of SNPs per type. The total number of single nucleotide polymorphisms (SNPs), the number of candidate SNPs, the percentage of candidate SNPs among all SNPs in functional and random dataset were determined using Genome Wide Association Studies (GWAS) methodology.

	All SNPs	Candidate SNPs	‰ of candidate SNPs
Functional (known function)	14303 (5842)	14 (6)	0.979
Random	30 038	15	0.499
Total	40 766	29	0.711

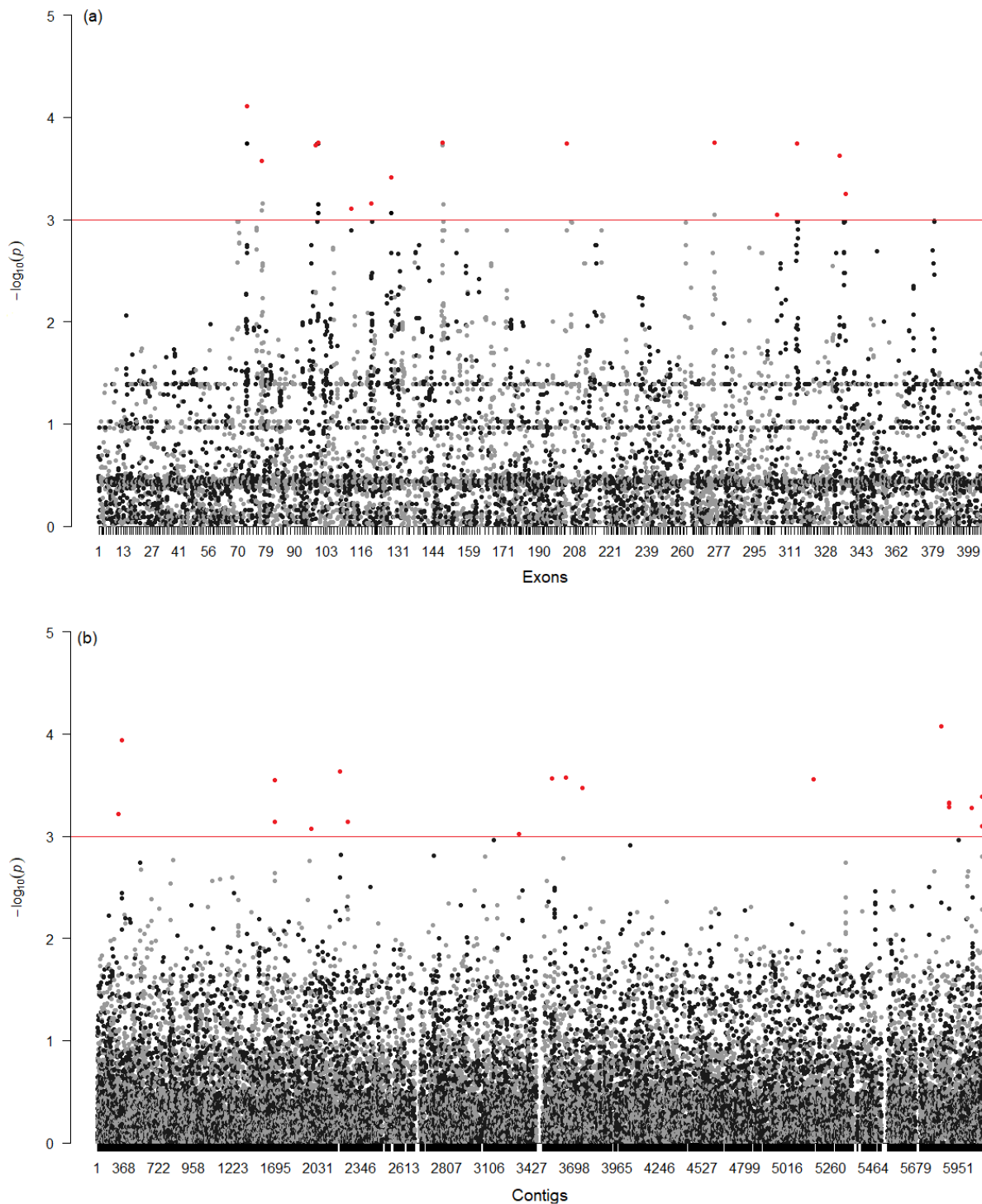
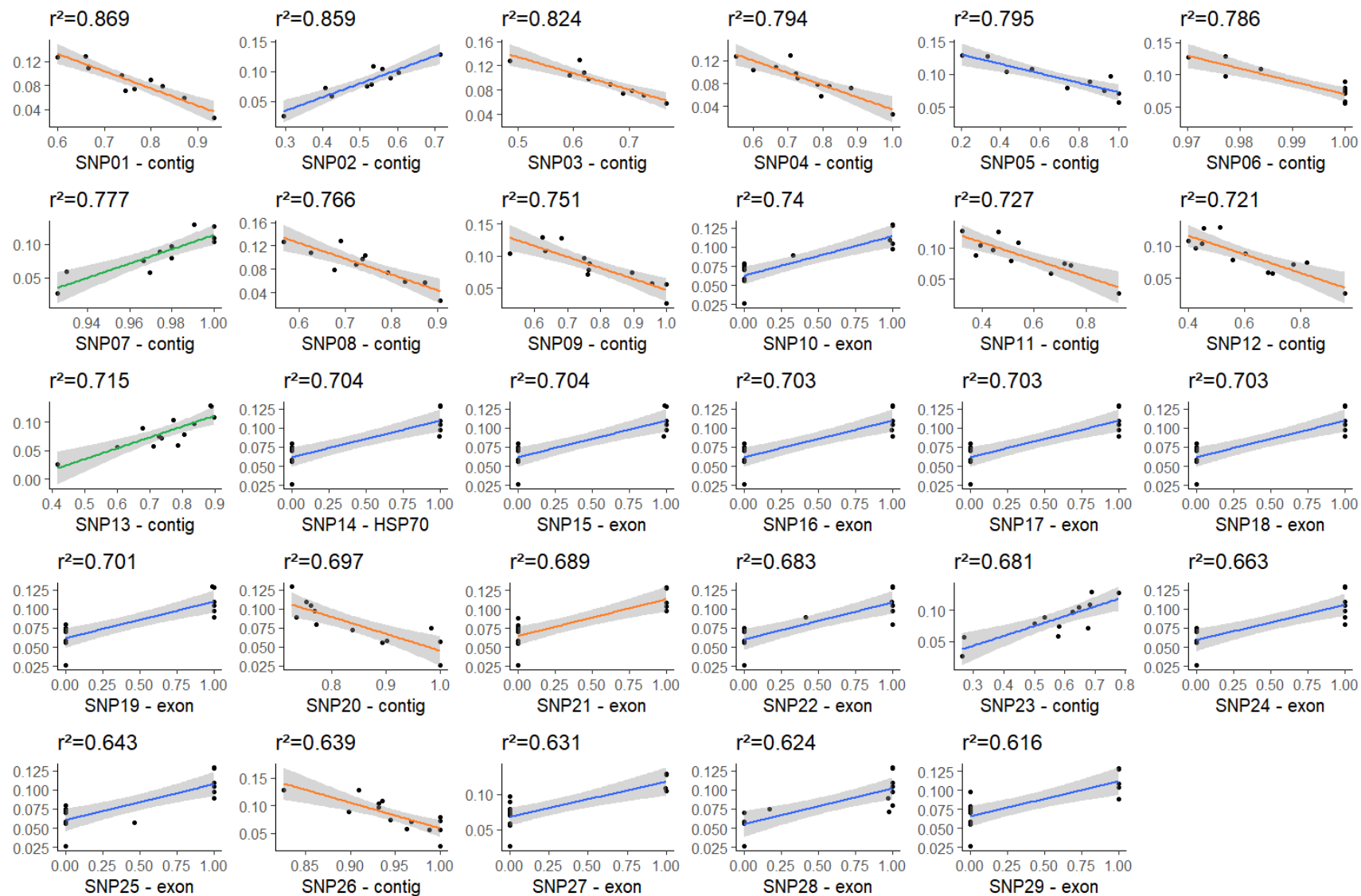


Figure V.3. Manhattan plot for the candidate SNPs selection phase. The plot shows on the y-axis the negative log-base-10 of the p value for each of the polymorphism in the genome (along the x-axis, each dot represents a polymorphism). **(a)** Polymorphism in the functional gene dataset (i.e. containing only exons) and **(b)** polymorphisms in the random gene dataset (i.e. containing contigs scattered along the whole genome). We selected the 29 SNPs (red dots) most likely to be linked to our ecosystem function as candidate (above red line, raw p-value < 0.001) with no linkage disequilibrium between them.

Table V.3. Predictive power for decomposition in experiment of the 29 candidate SNPs and their functional role. We reported here the candidate SNP unique identity, the database in which it is found, the predictive power for decomposition in experiment (r^2 from the linear model), the Pearson's correlation coefficients (r) quantifying the strength of associations between allelic frequencies of each candidate SNPs and the activity, metabolic rate, mass and body condition (mean at the population level), the name of the functional genes on which we found candidate SNPs according to BLAST, the associated protein, the physiological role of the protein, the ecological trait associated and the accession number on the NCBI database. Bold indicates moderate correlation values (greater than 0.3). Relevant means are provided at the end of the table, with "abs" indicating that the mean has been calculated from absolute values.

SNP ID	Database	r ²	Activity	Body condition	Mass	Metabolic rate	Gene (BLAST)	Protein associated	Role of protein	Ecological trait	Accession number
SNP01	contig	0.869	-0.448	-0.167	0.005	0.514	-	-	-	-	-
SNP02	contig	0.859	0.490	-0.389	0.339	-0.360	-	-	-	-	-
SNP03	contig	0.824	-0.366	-0.567	-0.102	-0.066	-	-	-	-	-
SNP04	contig	0.794	-0.671	-0.303	0.038	0.262	-	-	-	-	-
SNP05	contig	0.795	-0.110	-0.642	-0.579	-0.110	-	-	-	-	-
SNP06	contig	0.786	-0.003	-0.271	-0.016	0.471	-	-	-	-	-
SNP07	contig	0.777	0.361	0.247	0.075	-0.263	NEURL4	Neuralized-like protein 4	Mediates ADP-ribosylation of mitochondrial proteins	Development	GBM14655
SNP08	contig	0.766	0.045	-0.391	-0.009	0.383	TC3	Transposable element tc3 transposase	Member of Tc1/mariner family of transposable elements	-	GFX83596
SNP09	contig	0.751	-0.188	-0.178	-0.059	0.401	-	-	-	-	-
SNP10	exon	0.740	0.317	0.303	0.122	-0.198	ANKRD28	Serine/threonine-protein phosphatase 6 regulatory ankyrin repeat subunit A-like	Intracellular signaling	-	XP_050724783 XP_050724784 XP_050724785
SNP11	contig	0.727	-0.486	0.059	-0.321	0.151	HP	Hypothetical protein	-	-	KAA0184875
SNP12	contig	0.721	-0.306	-0.206	0.011	0.415	HP	Hypothetical protein	-	-	RUS70453
SNP13	contig	0.715	0.275	-0.075	-0.262	-0.779	-	-	-	-	-
SNP14	exon	0.704	0.312	0.266	0.182	-0.039	HSP70	Heat shock protein 70, partial	Molecular chaperone	Response to stress, growth...	All17356
SNP15	exon	0.704	0.313	0.268	0.178	-0.041	SMC1A	structural maintenance of chromosomes protein 1A	sister chromatid cohesion	-	XP_018027642
SNP16	exon	0.703	0.313	0.266	0.183	-0.037	TTN	Titin-like isoform X4	Protein of striated muscle	Muscular activity	XP_045612902 XP_045612911
SNP17	exon	0.703	0.312	0.265	0.183	-0.038	DR	Dopamine receptor 2, partial	Dopaminergic neurotransmission	Locomotion activity	USS30764
SNP18	exon	0.703	0.312	0.265	0.183	-0.038	FADS	Delta(9)-fatty-acid desaturase fat-7-like	-	Fatty acid digestion	XP_018014012
SNP19	exon	0.701	0.313	0.267	0.180	-0.037	NLGN4Y	Neuroigin-4, Y-linked-like	Synapse formation	Multiple (nervous system)	XP_018015228
SNP20	contig	0.697	0.090	-0.053	-0.295	0.219	-	-	-	-	-
SNP21	exon	0.689	0.303	0.310	0.080	-0.273	MEGF8	Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8-like	Single pass membrane protein	Development, cellular communication	KAG7161272
SNP22	exon	0.683	0.124	0.357	0.044	-0.187	CCNQ	Cyclin-Q-like	Cyclin	Reproduction, growth... (cell cycle)	XP_027211588
SNP23	contig	0.681	0.080	0.118	0.158	-0.521	ZBED4	Zinc finger BED domain-containing protein 4-like	Binding of DNA	Multiple	XP_004213102
SNP24	exon	0.663	0.130	0.323	0.102	-0.049	NOTCH1	Neurogenic locus Notch protein	Single pass membrane protein	Development, cellular communication	ROT61489
SNP25	exon	0.643	0.435	0.251	0.107	-0.011	SHT	5-hydroxytryptamine receptor 1	Serotonin receptor	Growth, general metabolism and behavior	XP_018009960
SNP26	contig	0.639	-0.344	-0.209	-0.002	0.131	-	-	-	-	-
SNP27	exon	0.631	0.343	0.502	0.179	-0.140	RGS2	Regulator of G-protein signaling loco-like isoform X2	G-protein-coupled receptor	Multiple (response to envir. stimulants)	XP_045599759 XP_045599760
SNP28	exon	0.624	-0.031	0.298	0.123	-0.058	ADRA2C	alpha-2C adrenergic receptor-like	Regulation of neurotransmitter	Multiple (nervous system)	XP_047737550
SNP29	exon	0.616	0.342	0.437	0.276	0.101	TLR	toll-like protein receptor 3, partial	Mediator of inflammatory pathways	Immunity	XP_045623874 AYD41578
Mean (abs)	-	0.721	0.281	0.285	0.151	0.217	-	-	-	-	-

Figure V.4. Relationship between decomposition in the experiment and allelic frequencies from the the 29 candidate SNPs. We reported here the candidate SNP unique identity, the database in which it is found and its predictive power for decomposition in experiment (r^2 from the linear model). The colors indicate the nature of the relationship between SNPs allelic frequencies and decomposition ability of populations: populations exhibiting higher decomposition abilities are heterozygous (orange), homozygous (green) or have a specific allelic frequency value (blue).



4. Discussion

In this study, we used an experimental approach to disentangle the links between different components of intraspecific diversity and an important ecosystem function. We showed that specific traits measured from individuals in *Gammarus* sp. populations were good predictors of their decomposition ability (notably the metabolic rate and its variance), whereas genetic diversity measured at the genome scale was not. However, genetic diversity measured at a few loci (local genetic effects) was strongly linked to decomposition rate. These loci explained a larger percentage variance in the decomposition ability of populations than all other components of intraspecific diversity, suggesting that they acted as “keystone genes”, *sensu* Skovmand *et al.* (2018). Finally, these keystone loci coded for ecologically important traits, reinforcing the idea that a few keystone loci modulated ecosystem functioning by (at least partly) an effect on keystone traits.

We observed that some traits measured at the population level predicted with a high accuracy the decomposition ability of gammarids. It is known that the average value of a trait within the population can influence ecosystems: populations in which individuals are characterized by a specific version (or value) of a trait consume the resource better, which is called an “identity effect” (Des Roches *et al.* 2018). The variability of a trait within a population can also affect ecosystems: high trait variation within a population permits a more efficient sharing (and use) of the resource, which is called the “complementarity effect” (Bolnick *et al.* 2003; Raffard *et al.* 2019). In our study, the diversity (coefficient of variation) and the mean value of metabolic rates within gammarid populations appeared to be important in predicting their ability to decompose organic matter. This result suggests that metabolism is an ecologically-important trait (or keystone trait) and that it impacts functions through both complementarity and identity effects. However, the effects we demonstrated are negative, which runs counter to existing literature showing that the ability of organisms to consume oxygen is a crucial factor for activity and resource consumption in gammarids (Costa 1967; Van Der Lee *et al.* 2017). Similarly, we observed an effect (although weak) of the mean value of body condition, again suggesting that this trait is ecologically important and that it modulates ecosystem functioning through a selection effect. In contrast, activity (measured as mobility in our study) was not a good predictor of ecosystem functioning in our study. Yet, behavioral variability at the intraspecific scale has already been shown to modulate community composition and ecosystem functions (Raffard *et al.* 2017; Start & Gilbert 2017). It is difficult to question the ecological importance of this trait but it is possible that our measurement, taken on each individual considered alone, does not reflect population-wide activity in the

presence of conspecifics. In a nutshell, metabolic rates and body condition in gammarid populations contributed to ecosystem functioning through both complementarity and identity effects: they are keystone traits.

Genome-wide diversity was surprisingly a poor predictor of ecosystem function, either when measured from loci evenly distributed in the genome (ddRAD approach) or from loci inserted into function genes (capture approach). The relationship between genome-wide diversity and ecosystem functions depends on the link between global genetic diversity and phenotype variance in the population (especially ecologically important traits, Bolnick *et al.* 2003; Hughes *et al.* 2008; Rota *et al.* 2018). The presence of many genotypes in a population will not necessarily implies many trait variations if these genes do not code for ecologically important traits. Since a large proportion of genetic diversity is neutral (Kimura 1979; Graur & Li 1991), genome-wide measurements of genetic diversity potentially drown out the functional signals sustained by a few ecologically-important genes. As a result, genome-wide diversity does not necessarily correlate with diversity measured on genes that code for ecologically important traits, and thus with ecosystem functions (Reed & Frankham 2001; Booth & Grime 2003; Fridley & Grime 2010). On the other hand, one might have expected the diversity calculated on functional genes to predict the decomposition ability of populations, which was not the case. Our functional dataset contains genes directly or indirectly involved in the degradation of organic matter (food assimilation, body size, locomotion or metabolism), and it is clear that this (initial) selection can (and must) be improved. This list is based on -and therefore limited to- the available bibliography on functional genetics in crustaceans. For example, the growth of individuals has been well studied in crustaceans, since it is of great interest for human consumption (Bondad-Reantaso *et al.* 2012; Jung *et al.* 2013; Uengwetwanit *et al.* 2021), and much work in ecotoxicology has identified stress response genes (Henry *et al.* 2017; Li 2017; Caputo *et al.* 2020; Zheng *et al.* 2022). Some genes of interest from the point of view of ecosystem processes are likely in this selection (and indeed we find ecologically important SNPs on the functional dataset) but the most relevant genes probably remain to be discovered.

Finally, the local effects of a few SNPs considered individually were stronger than the effects of genome-wide and trait diversity. The ecosystem genetics studies of the early 2000s were already focusing on the impact of few genotypes that codes for ecologically-important traits (Hersch-Green *et al.* 2011; Wymore *et al.* 2011). Today, the concept of ecologically-important gene has been formulated and an increasing number of examples are emerging in the literature (Skovmand *et al.* 2018; Wuest & Niklaus 2018; Barker *et al.* 2019; Barbour *et al.*

2022). For instance, the foraging gene is responsible for rover vs sitter behavior in *Drosophila* larvae and hence sustains a key trait (activity) that could strongly impact ecosystem functions (Anreiter *et al.* 2019). A single gene can therefore modulate ecologically-important traits and impact ecosystem functions. In our study, genetic diversity measured at the local scale explained decomposition rate better than other components of diversity, and therefore seemed to capture a cryptic signal (undetectable in the most common trait measures) that nevertheless had an impact on ecosystems. Indeed, we showed that allelic frequency at a single locus explained up to 87% of the variability observed in the decomposition ability of gammarid populations, which is 9% higher than the variability captured by a model encapsulating four traits. A single SNP seems therefore able to perform better than a series of traits to predict an important ecosystem function. The 29 keystone SNPs identified in this study correlated with ecologically important traits (mostly activity in our case) and often coded for multiple functions (growth, activity, general metabolism...). This later finding reinforces the importance of pleiotropic genes as drivers of the link between intraspecific diversity and ecosystem functions (Blanchet *et al.* 2023), and may explain why a single SNP explains decomposition ability of population better than other measures. Some keystone SNPs hence appeared to impact ecosystem functioning through diversity effects (the more heterozygous the population, the higher its capacity for degradation of organic matter) and identity effects (when a version of the SNP is present in the population, it has a high ability to degrade organic matter), via keystone traits that are relatively complex to measure.

Our study, in which we identified a set of 29 SNPs underlying the link between intraspecific diversity and decomposition ability in gammarid populations, provides a starting point for further investigation. Firstly, relevant population traits are absent from this study, such as parasitism rates or sex ratios, which can strongly modulate the behavior of individuals and therefore their impact on the ecosystem (Agatz & Brown 2014; Rota *et al.* 2018; Prati *et al.* 2023). Secondly, given our small sample size ($n = 14$ populations), the candidate genes and SNPs we found here need to be validated on a larger number of populations. Although we did not select more than one candidate SNP per gene to avoid linkage disequilibrium, it would be interesting to check that some genes are not physically linked (which could be the case here). On a more technical level, GWAS method for SNP detection under selection can also be improved by using, for example, techniques that take population structure into account (such as BAYPASS, Gautier 2015; Olazcuaga *et al.* 2020). However, we are still confident in our approach since we did not observe a link between SNP allelic frequencies and longitude, as expected in this area (Fargeot *et al.* 2023). Finally, to capture possible non-genetic effects of

intraspecific diversity on ecosystem functioning, it would be interesting to look at population epigenetics since it has been shown to influence ecosystem functioning (Latzel *et al.* 2013).

AUTHOR CONTRIBUTION

Laura Fargeot: Conceptualization (Supporting); Methodology (Equal); Software (Lead); Validation (Lead); Formal analysis (Lead); Investigation (Lead); Data curation (Lead); Writing - original draft (Lead); Writing - review & editing (Lead); Visualization (Lead); Supervision (Equal); Project administration (Lead). **Thomas Picq:** Methodology (Equal); Software (Equal); Validation (Equal); Formal analysis (Supporting); Investigation (Lead); Data curation (Equal). **Guillaume Verchère:** Software (Equal); Formal analysis (Supporting); Data curation (Equal); Writing - original draft (Supporting); Visualization (Supporting). **Camille Poesy:** Methodology (Equal); Validation (Equal); Investigation (Supporting); Supervision (Equal); Project administration (Supporting). **Maxim Lefort:** Methodology (Equal); Validation (Equal); Investigation (Supporting); Supervision (Equal); Project administration (Supporting). **Yves Cuénot:** Methodology (Equal); Validation (Equal); Investigation (Lead); Resources (Equal); Supervision (Equal); Project administration (Supporting). **Murielle Richard:** Methodology (Equal); Investigation (Supporting); Resources (Supporting); Writing - original draft (Supporting); Project administration (Supporting). **Delphine Legrand:** Validation (Equal). **Géraldine Loot:** Validation (Equal). **Simon Blanchet:** Conceptualization (Lead); Methodology (Lead); Software (Supporting); Validation (Lead); Formal analysis (Supporting); Investigation (Lead); Resources (Equal); Data curation (Supporting); Writing - original draft (Supporting); Writing - review & editing (Lead); Visualization (Lead); Supervision (Lead); Project administration (Lead); Funding acquisition (Lead).

REFERENCES

- Agatz, A. & Brown, C.D. (2014). Variability in feeding of *Gammarus pulex*: moving towards a more standardised feeding assay. *Environ Sci Eur*, 26, 15.
- Anreiter, I., Biergans, S.D. & Sokolowski, M.B. (2019). Epigenetic regulation of behavior in *Drosophila melanogaster*. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 25, 44–50.
- Bailey, J.K. (2011). From genes to ecosystems: a genetic basis to ecosystem services. *Population Ecology*, 53, 47–52.
- Bailey, J.K., Hendry, A.P., Kinnison, M.T., Post, D.M., Palkovacs, E.P., Pelletier, F., *et al.* (2009). From genes to ecosystems: an emerging synthesis of eco-evolutionary dynamics: Meetings. *New Phytologist*, 184, 746–749.
- Balvanera, P., Pfisterer, A.B., Buchmann, N., He, J.-S., Nakashizuka, T., Raffaelli, D., *et al.* (2006). Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services: Biodiversity and ecosystem functioning/services. *Ecology Letters*, 9, 1146–1156.

- Barbour, M.A., Kliebenstein, D.J. & Bascombe, J. (2022). A keystone gene underlies the persistence of an experimental food web. *Science*, 376, 70–73.
- Barker, H.L., Riehl, J.F., Bernhardsson, C., Rubert-Nason, K.F., Holeski, L.M., Ingvarsson, P.K., *et al.* (2019). Linking plant genes to insect communities: Identifying the genetic bases of plant traits and community composition. *Mol Ecol*, 28, 4404–4421.
- Blanchet, S., Fargeot, L. & Raffard, A. (2023). Phylogenetically-conserved candidate genes unify biodiversity–ecosystem function relationships and eco-evolutionary dynamics across biological scales. *Molecular Ecology*, mec.17043.
- Bolnick, D.I., Svanbäck, R., Fordyce, J.A., Yang, L.H., Davis, J.M., Hulsey, C.D., *et al.* (2003). The Ecology of Individuals: Incidence and Implications of Individual Specialization. *The American Naturalist*, 161, 1–28.
- Bondad-Reantaso, M.G., Subasinghe, R.P., Josupeit, H., Cai, J. & Zhou, X. (2012). The role of crustacean fisheries and aquaculture in global food security: Past, present and future. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110, 158–165.
- Booth, R.E. & Grime, J.P. (2003). Effects of genetic impoverishment on plant community diversity: *Effects of genetic impoverishment*. *Journal of Ecology*, 91, 721–730.
- Caputo, D.R., Robson, S.C., Werner, I. & Ford, A.T. (2020). Complete transcriptome assembly and annotation of a critically important amphipod species in freshwater ecotoxicological risk assessment: *Gammarus fossarum*. *Environment International*, 137, 105319.
- Cardinale, B.J., Matulich, K.L., Hooper, D.U., Byrnes, J.E., Duffy, E., Gamfeldt, L., *et al.* (2011). The functional role of producer diversity in ecosystems. *American Journal of Botany*, 98, 572–592.
- Carnevali, M. (2022). Etude phylogénétique des populations de Gammares (*Gammarus* sp.) du piedmont Pyrénéen. *Master Thesis - Université Paul Sabatier*.
- Costa, H.H. (1967). Responses of *Gammarus Pulex* (L.) To Modified Environment Iii. Reactions To Low Oxygen Tensions. *Crustac*, 13, 175–189.
- Crutsinger, G.M. (2006). Plant Genotypic Diversity Predicts Community Structure and Governs an Ecosystem Process. *Science*, 313, 966–968.
- Crutsinger, G.M., Rudman, S.M., Rodriguez-Cabal, M.A., McKown, A.D., Sato, T., MacDonald, A.M., *et al.* (2014). Testing a ‘genes-to-ecosystems’ approach to understanding aquatic-terrestrial linkages. *Mol Ecol*, 23, 5888–5903.
- Cummins, K.W. (1974). Structure and Function of Stream Ecosystems. *BioScience*, 24, 631–641.
- Dangles, O. & Malmqvist, B. (2004). Species richness-decomposition relationships depend on species dominance: Biodiversity and dominance in ecosystems. *Ecology Letters*, 7, 395–402.
- De Kort, H., Prunier, J.G., Tessier, M., Turlure, C., Baguette, M. & Stevens, V.M. (2018). Interacting grassland species under threat of multiple global change drivers. *J Biogeogr*, 45, 2133–2145.
- Des Roches, S., Pendleton, L.H., Shapiro, B. & Palkovacs, E.P. (2021). Conserving intraspecific variation for nature’s contributions to people. *Nat Ecol Evol*.
- Des Roches, S., Post, D.M., Turley, N.E., Bailey, J.K., Hendry, A.P., Kinnison, M.T., *et al.* (2018). The ecological importance of intraspecific variation. *Nature Ecology & Evolution*, 2, 57–64.
- Díaz, S. & Cabido, M. (2001). Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, 16, 646–655.
- Dodds, P.S., Rothman, D.H. & Weitz, J.S. (2000). Re-examination of the “3/4-law” of Metabolism.
- Ehlers, A., Worm, B. & Reusch, T. (2008). Importance of genetic diversity in eelgrass *Zostera marina* for its resilience to global warming. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 355, 1–7.

- Fargeot, L., Poesy, C., Lefort, M., Prunier, J.G., Krick, M., Veyssière, C., *et al.* (2023). Genomic and species diversity patterns across multiple trophic levels in riverscapes. *Oikos*, e100015.
- Fridley, J.D. & Grime, J.P. (2010). Community and ecosystem effects of intraspecific genetic diversity in grassland microcosms of varying species diversity. *Ecology*, 91, 2272–2283.
- Gamfeldt, L., Wall n, J., Jonsson, P.R., Berntsson, K.M. & Havenhand, J.N. (2005). Increasing intraspecific diversity enhances settling success in a marine invertebrate. *Ecology*, 86, 3219–3224.
- Gautier, M. (2015). Genome-Wide Scan for Adaptive Divergence and Association with Population-Specific Covariates. *Genetics*, 201, 1555–1579.
- Gotz, S., Garcia-Gomez, J.M., Terol, J., Williams, T.D., Nagaraj, S.H., Nueda, M.J., *et al.* (2008). High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite. *Nucleic Acids Research*, 36, 3420–3435.
- Graur, D. & Li, W.-H. (1991). *Fundamentals of Molecular Evolution*. Sinauer, Sunderland.
- Gross, N., Bagousse-Pinguet, Y.L., Liancourt, P., Berdugo, M., Gotelli, N.J. & Maestre, F.T. (2017). Functional trait diversity maximizes ecosystem multifunctionality. *Nat Ecol Evol*, 1, 0132.
- Henry, Y., Piscart, C., Charles, S. & Colinet, H. (2017). Combined effect of temperature and ammonia on molecular response and survival of the freshwater crustacean *Gammarus pulex*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 137, 42–48.
- Hersch-Green, E.I., Turley, N.E. & Johnson, M.T.J. (2011). Community genetics: what have we accomplished and where should we be going? *Phil. Trans. R. Soc. B*, 366, 1453–1460.
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., *et al.* (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75, 3–35.
- Hughes, A.R., Inouye, B.D., Johnson, M.T.J., Underwood, N. & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity: Ecological effects of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11, 609–623.
- Jourdan, J., Westerwald, B., Kiechle, A., Chen, W., Streit, B., Klaus, S., *et al.* (2016). Pronounced species turnover, but no functional equivalence in leaf consumption of invasive amphipods in the river Rhine. *Biol Invasions*, 18, 763–774.
- Jung, H., Lyons, R.E., Hurwood, D.A. & Mather, P.B. (2013). Genes and growth performance in crustacean species: a review of relevant genomic studies in crustaceans and other taxa. *Reviews in Aquaculture*, 5, 77–110.
- Kimura, M. (1979). The Neutral Theory of Molecular Evolution. *Scientific American*, 241, 98–129.
- Latzel, V., Allan, E., Bortolini Silveira, A., Colot, V., Fischer, M. & Bossdorf, O. (2013). Epigenetic diversity increases the productivity and stability of plant populations. *Nature Communications*, 4.
- Lecerf, A. & Chauvet, E. (2008). Intraspecific variability in leaf traits strongly affects alder leaf decomposition in a stream. *Basic and Applied Ecology*, 9, 598–605.
- Li, P. (2017). Heat shock proteins in aquaculture disease immunology and stress response of crustaceans. In: *Heat Shock Proteins in Veterinary Medicine and Sciences*. Springer International Publishing, Cham, pp. 275–320.
- Lirakis, M., Nolte, V. & Schlötterer, C. (2022). Pool-GWAS on reproductive dormancy in *Drosophila simulans* suggests a polygenic architecture. *G3 Genes/Genomes/Genetics*, 12, jkac027.
- Loreau, M. & Hector, A. (2001). Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, 412, 72–76.

- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., *et al.* (2001). Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current Knowledge and Future Challenges. *Science*, 294, 804–808.
- Mouillot, D., Villéger, S., Scherer-Lorenzen, M. & Mason, N.W.H. (2011). Functional Structure of Biological Communities Predicts Ecosystem Multifunctionality. *PLoS ONE*, 6, e17476.
- Olazcuaga, L., Loiseau, A., Parrinello, H., Paris, M., Fraimout, A., Guedot, C., *et al.* (2020). A Whole-Genome Scan for Association with Invasion Success in the Fruit Fly *Drosophila suzukii* Using Contrasts of Allele Frequencies Corrected for Population Structure. *Molecular Biology and Evolution*, 37, 2369–2385.
- Prati, S., Enß, J., Grabner, D.S., Huesken, A., Feld, C.K., Doliwa, A., *et al.* (2023). Possible seasonal and diurnal modulation of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) drift by microsporidian parasites. *Sci Rep*, 13, 9474.
- Prunier, J.G., Veyssière, C., Loot, G. & Blanchet, S. (2023). Comparing the Utility of Microsatellites and Single Nucleotide Polymorphisms in Conservation Genetics: Insights from a Study on Two Freshwater Fish Species in France. *Diversity*, 15, 681.
- Raffard, A., Cucherousset, J., Montoya, J.M., Richard, M., Acoca-Pidolle, S., Po esy, C., *et al.* (2021). Intraspecific diversity loss in a predator species alters prey community structure and ecosystem functions. *PLoS Biol*, 19, e3001145.
- Raffard, A., Lecerf, A., Cote, J., Buoro, M., Lassus, R. & Cucherousset, J. (2017). The functional syndrome: linking individual trait variability to ecosystem functioning. *Proc. R. Soc. B.*, 284, 20171893.
- Raffard, A., Santoul, F., Cucherousset, J. & Blanchet, S. (2019). The community and ecosystem consequences of intraspecific diversity: a meta-analysis: The ecological effects of intraspecific diversity. *Biological Reviews*, 94, 648–661.
- Reed, D.H. & Frankham, R. (2001). HOW CLOSELY CORRELATED ARE MOLECULAR AND QUANTITATIVE MEASURES OF GENETIC VARIATION? A META-ANALYSIS. *Evolution*, 55, 1095–1103.
- Reusch, T.B.H., Ehlers, A., H ammerli, A. & Worm, B. (2005). Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 2826–2831.
- Rota, T., Jabiol, J., Chauvet, E. & Lecerf, A. (2018). Phenotypic determinants of inter-individual variability of litter consumption rate in a detritivore population. *Oikos*, 127, 1670–1678.
- Rudman, S.M., Barbour, M.A., Csilléry, K., Gienapp, P., Guillaume, F., Hairston Jr, N.G., *et al.* (2017). What genomic data can reveal about eco-evolutionary dynamics. *Nat Ecol Evol*, 2, 9–15.
- Scherer, A. & Christensen, G.B. (2016). Concepts and Relevance of Genome-Wide Association Studies. *Science Progress*, 99, 59–67.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. & Eliceiri, K.W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*, 9, 671–675.
- Skovmand, L.H., Xu, C.C.Y., Servedio, M.R., Nosil, P., Barrett, R.D.H. & Hendry, A.P. (2018). Keystone Genes. *Trends in Ecology & Evolution*, 33, 689–700.
- Spielman, D., Brook, B.W. & Frankham, R. (2004). Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101, 15261–15264.
- Stange, M., Barrett, R.D.H. & Hendry, A.P. (2021). The importance of genomic variation for biodiversity, ecosystems and people. *Nat Rev Genet*, 22, 89–105.
- Start, D. & Gilbert, B. (2017). Predator personality structures prey communities and trophic cascades. *Ecol Lett*, 20, 366–374.
- Tanentzap, A.J., Fitch, A., Orland, C., Emilson, E.J.S., Yakimovich, K.M., Osterholz, H., *et al.* (2019). Chemical and microbial diversity covary in fresh water to influence ecosystem functioning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 116, 24689–24695.

- Taylor, B.R. & Chauvet, E.E. (2014). Relative influence of shredders and fungi on leaf litter decomposition along a river altitudinal gradient. *Hydrobiologia*, 721, 239–250.
- Tilman, D. (2001). Functional Diversity. In: *Encyclopedia of Biodiversity*. Elsevier, pp. 587–596.
- Uengwetwanit, T., Pootakham, W., Nookaew, I., Sonthirod, C., Angthong, P., Sittikankaew, K., et al. (2021). A chromosome-level assembly of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) genome facilitates the identification of growth-associated genes. *Mol Ecol Resour*, 21, 1620–1640.
- Van Der Lee, G.H., Kraak, M.H.S., Verdonschot, R.C.M., Vonk, J.A. & Verdonschot, P.F.M. (2017). Oxygen drives benthic-pelagic decomposition pathways in shallow wetlands. *Sci Rep*, 7, 15051.
- Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., et al. (2007). Let the concept of trait be functional! *Oikos*, 116, 882–892.
- Wan, N.-F., Fu, L., Dainese, M., Hu, Y.-Q., Pødenphant Kiær, L., Isbell, F., et al. (2022). Plant genetic diversity affects multiple trophic levels and trophic interactions. *Nat Commun*, 13, 7312.
- Wattier, R., Mamos, T., Copilaş-Ciocianu, D., Jelić, M., Ollivier, A., Chaumot, A., et al. (2020). Continental-scale patterns of hyper-cryptic diversity within the freshwater model taxon *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Sci Rep*, 10, 16536.
- West, G.B., Brown, J.H. & Enquist, B.J. (1999). The Fourth Dimension of Life: Fractal Geometry and Allometric Scaling of Organisms. *Science*, 284, 1677–1679.
- Whitham, T.G., Bailey, J.K., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., Bangert, R.K., LeRoy, C.J., et al. (2006). A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. *Nat Rev Genet*, 7, 510–523.
- Whitham, T.G., Young, W.P., Martinsen, G.D., Gehring, C.A., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., et al. (2003). Community and ecosystem genetics: a consequence of the extended phenotype. *Ecology*, 84, 559–573.
- Wilhelm, F.M., Taylor, S.J. & Adams, G.L. (2006). Comparison of routine metabolic rates of the stygobite, *Gammarus acherondytes* (Amphipoda: Gammaridae) and the stygophile, *Gammarus troglophilus*. *Freshwater Biol*, 51, 1162–1174.
- Woods, T., Comte, L., Tedesco, P.A. & Giam, X. (2020). Testing the diversity–biomass relationship in riverine fish communities. *Global Ecol. Biogeogr.*, 29, 1743–1757.
- Wuest, S.E. & Niklaus, P.A. (2018). A plant biodiversity effect resolved to a single chromosomal region. *Nat Ecol Evol*, 2, 1933–1939.
- Wymore, A.S., Keeley, A.T.H., Yturralde, K.M., Schroer, M.L., Propper, C.R. & Whitham, T.G. (2011). Genes to ecosystems: exploring the frontiers of ecology with one of the smallest biological units. *New Phytologist*, 191, 19–36.
- Zheng, C., Zhao, Q., Li, E., Zhao, D. & Sun, S. (2022). Role of hypoxia in the behaviour, physiology, immunity and response mechanisms of crustaceans: A review. *Reviews in Aquaculture*, 14, 676–687.

SUPPLEMENTARY MATERIALS

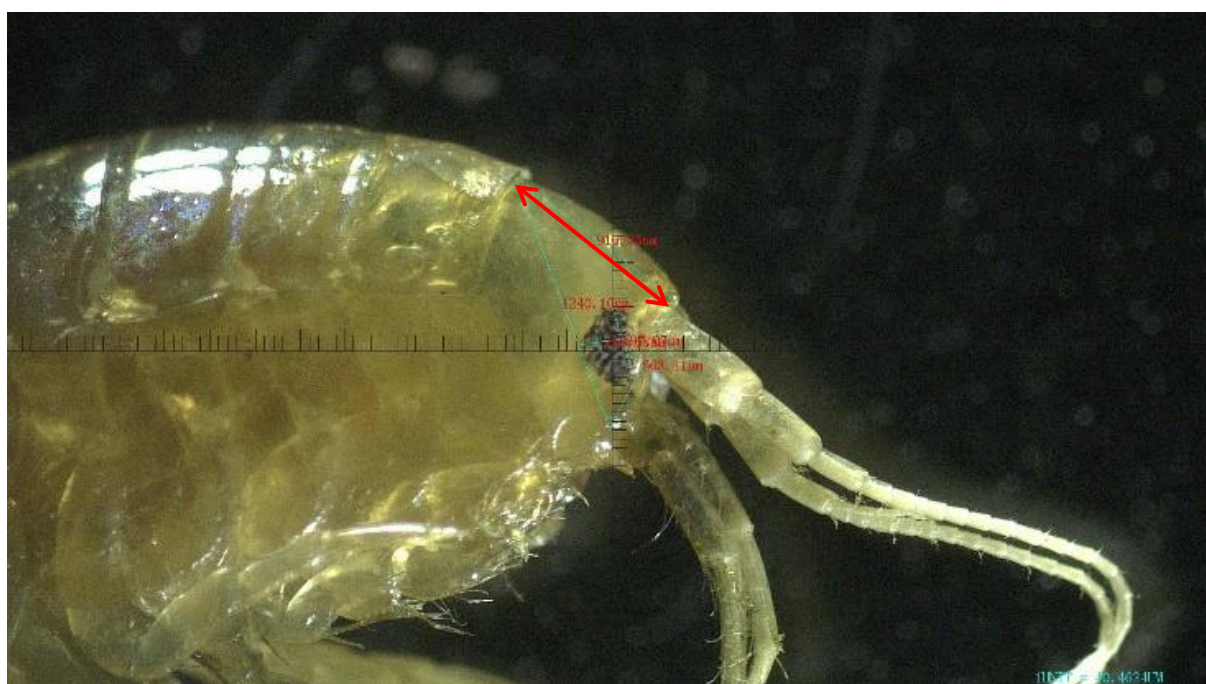


Figure V.S1. Measure of size taken in our *Gammarus* individuals. A size measurement unaffected by freezing and thawing is the distance between the base of the first antenna and the upper junction of the head with the first segment in *Gammarus* sp. (50x)

Table V.S1. Genomic diversity values. Contig diversity and exon diversity were estimated in each population (*Gammarus* sp.) as the polymorphism percentage. Each site is denoted by a six-letter code, where the initial three letters signify the river's name, and the final three letters denote the nearest city or village.

	Contig diversity	Exon diversity
ALSHer	73.858	54.003
ARGSai	75.660	54.834
ARZMas	80.142	57.635
AUJBas	77.130	54.988
ESPSal	73.356	53.681
GERPoi	70.997	53.992
GOUCaz	73.987	54.714
JUSMan	74.789	54.498
LACAia	74.673	53.450
LAVDur	75.065	56.128
LOSEnc	78.857	68.923
RIOCas	75.496	54.983
SALTau	75.259	56.300
SAUSau	76.524	53.374

Table V.S2. Relationship between allelic frequency of the 29 candidate SNPs and the decomposition in the experiment. We reported here the candidate SNP unique identity, the type of gene in which it is found and statistics from each linear model (estimate, standard error, t-value, p-value and r^2). Relevant means are provided at the end of the table, with “abs” indicating that the mean has been calculated from absolute values.

SNP ID	Database	Estimate	Std error	t-value	p-value	r^2
SNP01	contig	-0.287	0.039	-7.293	8.45E-05	0.869
SNP02	contig	0.230	0.033	6.974	1.157E-04	0.859
SNP03	contig	-0.267	0.044	-6.123	2.823E-04	0.824
SNP04	contig	-0.214	0.036	-5.894	2.309E-04	0.794
SNP05	contig	-0.072	0.013	-5.567	5.302E-04	0.795
SNP06	contig	-1.981	0.345	-5.745	2.782E-04	0.786
SNP07	contig	1.074	0.192	5.595	3.366E-04	0.777
SNP08	contig	-0.269	0.050	-5.435	4.138E-04	0.766
SNP09	contig	-0.171	0.031	-5.490	2.656E-04	0.751
SNP10	exon	0.052	0.009	5.851	7.820E-05	0.740
SNP11	contig	-0.139	0.028	-4.897	8.507E-04	0.727
SNP12	contig	-0.144	0.028	-5.085	4.743E-04	0.721
SNP13	contig	0.191	0.036	5.257	2.696E-04	0.715
SNP14	exon	0.048	0.009	5.341	1.762E-04	0.704
SNP15	exon	0.048	0.009	5.340	1.764E-04	0.704
SNP16	exon	0.048	0.009	5.335	1.778E-04	0.703
SNP17	exon	0.048	0.009	5.328	1.798E-04	0.703
SNP18	exon	0.048	0.009	5.328	1.798E-04	0.703
SNP19	exon	0.048	0.009	5.304	1.870E-04	0.701
SNP20	contig	-0.222	0.046	-4.796	7.279E-04	0.697
SNP21	exon	0.049	0.009	5.155	2.391E-04	0.689
SNP22	exon	0.048	0.010	5.085	2.685E-04	0.683
SNP23	contig	0.156	0.034	4.621	9.498E-04	0.681
SNP24	exon	0.046	0.009	4.864	3.890E-04	0.663
SNP25	exon	0.047	0.010	4.653	5.574E-04	0.643
SNP26	contig	-0.465	0.101	-4.609	6.016E-04	0.639
SNP27	exon	0.049	0.011	4.530	6.892E-04	0.631
SNP28	exon	0.046	0.010	4.462	7.760E-04	0.624
SNP29	exon	0.046	0.010	4.384	8.906E-04	0.616
Mean	-	0.226 (abs)	0.041	-	-	0.721

DISCUSSION GÉNÉRALE

Tout au long de ce travail, je me suis intéressée à la biodiversité dans les rivières et à son impact sur certaines fonctions écosystémiques (liens biodiversité-fonctions écosystémiques, BEFs²⁵). Beaucoup de travaux théoriques et expérimentaux sur les liens BEFs ont traité les individus de la même espèce comme ayant un impact écologique équivalent (Hooper *et al.* 2005; Cardinale *et al.* 2011; van der Plas 2019). Un objectif -plus philosophique- derrière ce travail de thèse était donc de redonner de la valeur aux individus en faisant la démonstration des impacts uniques de chacun, qu'ils appartiennent à la même espèce, ou non (Des Roches *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2019); et de comprendre quels sont les mécanismes à l'origine de ces liens individus-écosystèmes.

Le premier objectif était donc de montrer que les différences entre individus de la même espèce ont une importance comparable à celle des différences entre espèces pour maintenir les processus écosystémiques naturels. Pour cela, nous avons d'abord comparé la distribution spatiale de la diversité en espèces et en gènes (donc, entre individus) à trois niveaux trophiques (arbres de la ripisylve, macro-invertébrés décomposeurs et poissons) dans une cinquantaine de rivières naturelles des Pyrénées. Nous avons ensuite fait le lien entre ces multiples mesures de biodiversité et certaines fonctions écosystémiques (des mesures de biomasses à toutes les échelles et la décomposition de la matière organique). Nous avons montré qu'il n'y avait pas de points chauds²⁶ de diversité qui soient communs aux espèces et aux gènes, et que chaque facette de la biodiversité à chaque niveau trophique était influencée par des facteurs environnementaux différents (**Chapitre I**). Nous avons également montré que la biodiversité à un niveau trophique impactait uniquement les fonctions écosystémiques de même niveau trophique (par exemple, la diversité en espèce et en gènes des poissons impactait surtout les biomasses de poissons, et pas celles des macro-invertébrés décomposeurs ou la décomposition des feuilles des arbres de la ripisylve) et que, dans ce cas, la diversité génétique avait généralement un impact positif sur tous les processus écosystémiques tandis que la diversité spécifique avait un impact négatif (**Chapitre II**). Ces résultats, congruents à tous les niveaux trophiques, illustrent l'impact des différences individuelles à plusieurs échelles (intra- et interspécifique) sur les fonctions écosystémiques.

²⁵ L'acronyme réfère au terme anglophone « biodiversity-ecosystem functioning » que l'on retrouve dans la littérature scientifique.

²⁶ Un point chaud de biodiversité est une zone possédant une grande biodiversité. Identifier les points chauds de biodiversité (à échelle locale et globale) permet de prioriser ces zones dans les politiques de conservation.

La diversité en gènes est traditionnellement quantifiée à l'échelle des populations (Whitham *et al.* 2006; Hughes *et al.* 2008; Raffard *et al.* 2019), pourtant il existe des gènes conservés phylogénétiquement (d'une lignée évolutive à une autre, même relativement éloignées, Schilling *et al.* 2018; Anreiter & Sokolowski 2019; Struk *et al.* 2019) et des gènes variables entre les individus d'une même population (dans les espèces donc), et entre les espèces d'une communauté (Small *et al.* 2004; Philippe & Telford 2006; De Kort *et al.* 2021). Un ensemble de ces gènes -bien choisis- pourrait donc théoriquement servir de base pour quantifier la diversité génétique des individus présents dans une communauté, qu'ils appartiennent à la même espèce ou non. C'est ce que nous avons appelé la biodiversité *inclusive*. Puisque j'ai cherché dans ce travail à comprendre l'impact des individus sur le fonctionnement de l'écosystème, j'étais particulièrement intéressée par les gènes qui codent pour des traits *écologiquement importants*.

Le deuxième objectif de cette thèse était donc de défendre théoriquement et empiriquement l'idée que des gènes phylogénétiquement conservés et variables d'un individu à un autre au-delà des frontières des populations et des espèces peuvent servir de mesure de biodiversité *inclusive* ; et que, s'ils sont choisis pour leur impact sur les écosystèmes, on doit pouvoir prédire le fonctionnement des écosystèmes à partir de ces gènes. Nous avons appelé ces gènes des PCCGs (pour « phylogenetically-conserved candidate genes ») et nous avons proposé une méthodologie pour leur identification dans des communautés cibles (**Chapitre III**) que nous avons testée par la suite (de façon préliminaire) sur une communauté de crustacés décomposeurs (**Chapitre IV**). Notre méthode a fonctionné puisque nous sommes arrivés à identifier des gènes communs à plusieurs lignées phylogénétiques et que nous avons pu quantifier plusieurs types de biodiversité qui transcendent les niveaux d'organisations, mais elle montrait aussi rapidement des limites lorsque la communauté cible contenait des lignées phylogénétiquement éloignées. Ces résultats démontrent théoriquement et empiriquement la pertinence des PCCGs pour mesurer les différences entre individus dans une communauté en dehors des frontières des populations et des espèces. Les PCCGs que nous proposons peuvent donc désormais être utilisés pour mesurer la biodiversité *inclusive*, mais la méthode peut (et doit) être optimisée pour être exportable à d'autres communautés et d'autres problématiques.

L'impact des gènes portés pas les individus sur les écosystèmes dépend de leur lien avec des traits *écologiquement importants* (Hughes *et al.* 2008) et peut émerger par des effets de complémentarité (les différents gènes portés par différents individus leur permettent d'exploiter l'environnement de façon différente, remplissant chacun une fonction

écosystémique différente, ce qui résulte en un fonctionnement des écosystèmes élevé) ou par des effets d'identité (la présence de certains gènes ou version de gènes chez les individus suffit pour qu'ils assurent un fonctionnement écosystémique élevé, Raffard *et al.* 2019). Une façon simple de détecter les mécanismes sous-jacents au lien gènes-écosystèmes serait donc de tester l'effet de la diversité des gènes sur l'écosystème d'une part et, l'effet du polymorphisme sur chaque gène considéré séparément, d'autre part.

Le troisième et dernier objectif de ma thèse était donc de comparer le pouvoir prédictif pour le fonctionnement des écosystèmes de différentes mesures de diversité génétique (et de différentes mesures de traits). Grâce à l'étude de 14 populations de gammares en milieu contrôlé, nous avons montré que la diversité génétique globale et fonctionnelle (calculée sur les PCCGs) étaient des mauvais prédicteurs de la capacité de dégradation des populations tandis que les traits et le polymorphisme sur quelques loci (SNPs) permettaient de l'expliquer efficacement (**Chapitre V**). Ce résultat suggère que quelques gènes *écologiquement importants* (ou « keystone genes ») suffisent pour prédire le fonctionnement écosystémique et que ces effets locaux (impliquant quelques SNPs) pourraient être moteurs du lien entre les gènes et les écosystèmes. Nous montrons finalement que ces SNPs sont situés sur des gènes qui codent pour des traits *écologiquement importants*, ce qui suggère un lien gènes-traits-écosystème : quelques gènes pourraient impacter quelques traits portés par les individus qui moduleraient le fonctionnement de l'écosystème. Ces résultats, qui contredisent en partie nos observations dans les milieux naturels, permettent de réfléchir à l'impact des gènes (et de leur diversité) à différents niveaux d'organisations qui vont des performances de l'individu au fonctionnement général des écosystèmes.

1. BEFs en milieux naturels

1.1. Idiosyncrasie

Le premier constat qui s'impose dans nos études observationnelles est l'absence de patron à l'échelle globale et la grande variabilité des effets locaux. Ce constat s'inscrit dans la lignée des études récentes qui ont montré et questionné la grande variabilité des liens entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes dans les études sur le terrain (Hagan *et al.* 2021; Wu *et al.* 2023). En effet, les relations entre l'environnement abiotique, la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes étaient neutres, quelle que soit la facette de biodiversité (génétique ou spécifique) ou le niveau trophique considéré (**Chapitre I** et **Chapitre II**). En réalité, ces moyennes neutres étaient le résultat du mélange de toutes les relations observées, qui peuvent être -localement ou dans certains contextes- significativement positives ou négatives (**Figure I.S4** et **Figure II.S2**). L'effet de chaque prédicteur est décrit comme

idiosyncrasique, c'est-à-dire que sa direction et sa force changent avec la variable que l'on cherche à expliquer. Cet effet a également été appelé « contexte-dépendance » dans la littérature et a été défini comme la variation du signe ou de la force d'une relation en fonction des conditions dans lesquelles la relation est observée (Catford *et al.* 2022). Lorsque plusieurs études qui s'intéressent à la même question trouvent des résultats différents (avec des sens et des forces de relations multiples), l'écart est souvent attribué à la « contexte-dépendance » et il est parfois difficile de comprendre quels effets se cachent réellement derrière ce terme. Dans cette étude, nous avons mis en place un échantillonnage large-échelle (environ 200km de gradient est-ouest) multi-espèces et multi-facettes de biodiversité (dont l'intérêt a déjà été relevé dans des études antérieures, voir Lefcheck *et al.* 2015; Soliveres *et al.* 2016; Seibold *et al.* 2018; Eisenhauer *et al.* 2019) qui offre la possibilité de comprendre des patrons généraux subtils, cachés derrière des effets globaux neutres : en l'occurrence, nous avons pu détecter quelques effets d'interactions significatifs parmi de nombreux effets locaux idiosyncrasiques.

Les patrons de distribution de la biodiversité que nous avons observés n'étaient pas congruents à travers les deux facettes de biodiversité (spécifique et génétique) et les trois niveaux trophiques, ce qui indique le caractère unique de chaque espèce et communauté cible dans sa réponse aux variations de l'environnement. Même si nous avons pu identifier une plus grande diversité de tous les composants (toutes les facettes, tous les niveaux trophiques) à l'ouest de la carte, ce patron n'était pas assez fort pour générer une corrélation globale de biodiversité (**Chapitre I**). Ce résultat contredit les attentes d'une corrélation entre la diversité spécifique et génétique (SDGC), et apporte donc des preuves supplémentaires pour la remise en question de ce cadre (Robinson *et al.* 2010; Kahilainen *et al.* 2014; Whitlock 2014; Lamy *et al.* 2017; Schmidt *et al.* 2022). Ce manque de congruence a souvent été attribué aux besoins écologiques différents de tous les taxons (Lawton 1994). Dans notre étude, les facteurs de l'environnement avaient effectivement un effet différent sur chaque communauté et espèce cible (**Chapitre I**). De tels effets idiosyncratiques de l'environnement sur la biodiversité ont déjà été décrits dans la littérature à l'échelle spécifique (Barlow *et al.* 2007; Twomey *et al.* 2012; De Andrade *et al.* 2014; Westgate *et al.* 2014; Roque *et al.* 2017). Par exemple, il a été montré que l'état de dégradation (qui implique un tas d'effets comme la luminosité, la quantité de végétation ou les ressources disponibles) des bords de rivières influençait de manière différente les communautés d'insectes terrestres et aquatiques qui y vivaient (Roque *et al.* 2017). Si cela est vrai pour des communautés d'insectes (qui partagent donc les mêmes micro-habitats, Vinson & Hawkins 1998), c'est d'autant plus vrai chez des taxons aussi différents que le sont les plantes de la ripisylve, les macro-invertébrés benthiques et les poissons (Wallace & Webster 1996; Milner & Gloyne-Phillips 2005; Bertrand & Gido 2007). De plus, lorsqu'une

population sur une espèce cible était très unique génétiquement, les populations des autres espèces cibles étaient plutôt, au contraire, ordinaires génétiquement (**Chapitre I**). Ce résultat suggère que les allèles rares n'étaient pas situés dans les mêmes sites pour les trois espèces cibles, confirmant l'idée que les facteurs de l'environnement modulaient de façon unique la diversité des espèces de chaque communauté cible, mais aussi la diversité des gènes de chaque population cible. Finalement, la première grande conclusion de notre étude était un effet imprévisible des facteurs abiotiques sur les différents composants de la biodiversité et une distribution spatiale de la biodiversité unique à chaque niveau trophique et facette de biodiversité.

Identiquement, nous n'avons détecté aucun effet congruent de la biodiversité à un niveau trophique pour les fonctions écosystémiques des autres niveaux (**Chapitre II**). Ainsi, non seulement la biodiversité à un niveau trophique n'influence pas la biodiversité des autres niveaux, mais elle n'influence pas non plus les fonctions écosystémiques à ces niveaux. Ces résultats permettent d'exclure les hypothèses de régulation top-down -selon laquelle les fonctions de l'écosystème ou les patrons de biodiversité sont majoritairement impactées par la diversité des prédateurs (les poissons ici)- ; ou bottom-up -selon laquelle ils sont majoritairement impactées par la diversité de la ressource (les arbres ici)- dans notre chaîne trophique brune, bien que cela ait pu être suggéré par des études précédentes (Power 1992; Huryn 1998; Koetsier *et al.* 2007; Wang & Brose 2018; Raffard *et al.* 2021). Les liens entre la biodiversité et les fonctions écosystémiques étaient idiosyncratiques, tout comme l'étaient les liens biodiversité-biodiversité (**Chapitre I**). Ces résultats vont à l'encontre de l'attendu global d'une relation positive entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes mais ne sont pas forcément surprenant (Emmerson *et al.* 2001; Swart *et al.* 2020). Il a par exemple été montré que la variation intraspécifique des arbres influence la diversité des arthropodes dans des forêts tempérées, mais que la direction et le sens de ces effets varie d'une espèce d'arbre à une autre (Swart *et al.* 2020). La conclusion des auteurs est que la perte d'une seule espèce pourrait mener à des changements profonds et imprévisibles dans les biodiversités d'arthropodes qui vivent dans la canopée, ce qui menacerait l'intégrité de la forêt. De la même façon, dans notre étude, la perte d'une espèce dans la communauté ou d'un gène dans la population pourrait avoir des effets imprévisibles sur les patrons de biodiversité et les fonctions écosystémiques aux autres niveaux trophiques. Malgré cette tendance générale à l'idiosyncrasie, nous avons mis en évidence un lien complexe entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes qui était (étonnamment) constant à tous les niveaux trophiques.

1.2. Effets opposés de la diversité génétique et spécifique

Dans nos rivières, la diversité génétique avait un impact positif sur le fonctionnement des écosystèmes de même niveau trophique, tandis que la diversité spécifique avait un impact négatif (**Chapitre II**). Ces résultats vont à l'encontre du consensus actuel d'un lien positif entre la diversité spécifique et le fonctionnement des écosystèmes (même dans des milieux naturels, voir Balvanera *et al.* 2006; Cardinale *et al.* 2006; Schmid *et al.* 2009; Duffy *et al.* 2017; van der Plas 2019) et suggèrent que les interactions entre individus de différentes espèces étaient plutôt nuisibles aux fonctions écosystémiques tandis que les interactions entre individus de la même espèce mais porteurs de gènes différents étaient plutôt favorables au fonctionnement de l'écosystème. Ce résultat va à l'inverse de ce que prédit la théorie des niches, puisqu'il est attendu que plus de compétition existe entre des individus qui partagent la même niche et donc appartiennent à la même espèce (Polechová & Storch 2008). Cependant, des effets opposés de la diversité des gènes et des espèces sur le fonctionnement des écosystèmes ont déjà été montrés (Hargrave *et al.* 2011; Hahn *et al.* 2017; Hazard *et al.* 2017; Tang *et al.* 2022). Par exemple, dans un contexte expérimental, la diversité des génotypes de champignons ectomycorrhiziens influence positivement la productivité des plantes (*Pinus sylvestris*) tandis que la diversité des espèces ne l'influence pas. Dans cette étude, mélanger les génotypes permettait d'augmenter la productivité des plantes dans 42% des cas (par rapport à la monoculture la plus productive), contre seulement 10% des cas en mélangeant différentes espèces (Hazard *et al.* 2017). Cette étude suggère une influence prépondérante des mélanges de gènes par rapport aux mélanges d'espèces pour moduler les fonctions de l'écosystème. Les effets des différentes facettes de la diversité peuvent aussi être complémentaires : il a été montré (toujours expérimentalement) que la diversité spécifique améliore la productivité moyenne des communautés de plantes tandis que la diversité génétique améliore la stabilité temporelle de cette productivité (Prieto *et al.* 2015). Dans notre étude, les effets (respectivement négatif et positif) de la diversité spécifique et génétique s'annulent à l'échelle globale (résultant en un BEF moyen global neutre, **Chapitre II**). Ces résultats lèvent les doutes sur l'importance de quantifier la biodiversité à plusieurs échelles pour comprendre les variations du fonctionnement écosystémique dans les milieux naturels (Hughes *et al.* 2008; Des Roches *et al.* 2018; Raffard *et al.* 2019).

L'effet positif de la diversité génétique et négatif de la diversité spécifique pour les fonctions écosystémiques de même niveau étaient constants à tous les niveaux trophiques (**Chapitre II**). Ce résultat est surprenant puisque de nombreuses études ont montré un effet du niveau trophique sur la force et le sens des liens biodiversité-fonctions (Lefcheck *et al.*

2015; Raffard *et al.* 2019; van der Plas 2019). Ainsi, chez les arthropodes, le lien entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes était en général deux fois supérieurs à celui observé chez les poissons (Raffard *et al.* 2019). Si les liens entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes n'était pas modulés par le niveau trophique (et donc la place de la communauté ou de l'espèce dans le réseau), on ne peut pas assurer qu'ils ne soient pas influencés par les interactions trophiques (Thébault & Loreau 2003; Poisot *et al.* 2013; Aubree *et al.* 2020). En effet, puisque dans la nature chaque espèce a de nombreux prédateurs et de nombreuses proies, il aurait peut-être été plus pertinent de quantifier la complémentarité trophique (c'est-à-dire à quel point chaque espèce est unique dans sa façon d'interagir avec les autres espèces, Poisot *et al.* 2013; Aubree *et al.* 2020), plutôt que sa position dans le réseau (ce que nous avons fait ici). Chacune de nos espèces occupe en effet un rôle clef dans le réseau trophique (Wallace & Webster 1996; Milner & Gloyne-Phillips 2005; Bertrand & Gido 2007, **Chapitre I**), il y a donc fort à parier qu'une analyse du contenu des intestins de chaque espèce (ou des isotopes stables, DeLong 2010; Aubree *et al.* 2020) nous aurait révélé que ces espèces sont relativement similaires du point de vue de la complémentarité trophique. Le fait que ces espèces jouent toutes un rôle clef dans la chaîne trophique pourrait expliquer la présence de liens biodiversité-fonctions constants d'un niveau trophique à un autre (d'une espèce clef à une autre, voir **Figure 3** de l'introduction), malgré l'absence de patron de corrélation de biodiversité entre les niveaux trophiques (**Chapitre I**).

1.3. Limites et perspectives

La grande force de notre plan d'échantillonnage réside dans la quantification de deux facettes de biodiversité à trois niveaux trophiques, mais nous avons laissé de nombreux paramètres inexplorés. En effet, les échelles spatiales (notre travail est fait uniquement à large échelle), le changement climatique (nous ne connaissons pas l'impact des sécheresses hivernales et estivales qui ont eu lieu pendant notre échantillonnage) et la dynamique temporelle (nous avons une unique année d'échantillonnage pour les fonctions de l'écosystème) pourraient potentiellement avoir influencé la force des tailles d'effet rapportées dans cette étude (Hooper *et al.* 2012; Tilman *et al.* 2014; Wardle 2016; Thompson *et al.* 2018; Eisenhauer *et al.* 2019; Gonzalez *et al.* 2020; Hagan *et al.* 2021; Jackson *et al.* 2021; Kortsch *et al.* 2021; Dee *et al.* 2023). Finalement, nous avons échantillonné des rivières situées sur un gradient est-ouest dans les Pyrénées et nous n'avons donc pas capturé l'effet du gradient amont-aval dans cette étude. Ce choix est une force de l'étude puisqu'il nous a permis de limiter l'impact de la colinéarité sur nos résultats (les variables environnementales auraient été très corrélées les unes aux autres, Vannote *et al.* 1980; Benda *et al.* 2004; Doretto *et al.* 2020)

et qu'il n'existe pas encore d'outils statistiques efficaces pour traiter ce problème. Ce design nous a aussi permis de détecter des patrons plus subtils que le classique gradient amont-aval (notamment une plus forte diversité globale à l'ouest) mais a le désavantage de ne pas permettre de prédiction à l'échelle du bassin versant, puisqu'il nous manque sans doute les sites qui hébergent le plus de biodiversité. Des corrélations entre la diversité spécifique et génétique ont été détectées (chez les poissons) dans le même bassin versant (Fourtune *et al.* 2016), et il semble que le point chaud de biodiversité soit situé en milieu de réseau (donc qu'il y ait assez peu de biodiversité très en amont et très en aval). Si ces sites avaient fait partie de notre échantillonnage, il est probable que nous aurions détecté des effets plus forts et plus systématiques de la biodiversité sur le fonctionnement des écosystèmes (particulièrement dans les zones de haute biodiversité). Il est possible que les effets (majoritairement idiosyncrasiques) que nous observons dans cette étude soient spécifiques aux conditions des têtes de bassin : des cours d'eaux frais et plutôt bien oxygénées (un impact anthropique relativement limité) et une biodiversité assez faible (par rapport à tout le bassin versant).

Il existe en effet des effets d'interactions entre les facteurs abiotiques, les différents composants de la biodiversité et les fonctions de l'écosystème que nous n'avons pas pu démêler ici puisque nos sites étaient relativement homogènes à tous ces égards. L'environnement nous a permis de comprendre quelques processus évolutifs qui soutiennent les patrons de biodiversité dans notre aire d'échantillonnage (Fourtune *et al.* 2016; Gates *et al.* 2023, **Chapitre I**), et nous l'avons utilisé comme contrôle pour estimer les liens biodiversité-fonctions en dehors de l'influence de l'environnement (**Chapitre II**). Or, les facteurs environnementaux peuvent influencer, non seulement les patrons de biodiversité, mais aussi les fonctions écosystémiques et même moduler les liens entre les deux ; cela est d'autant plus vrai dans le contexte actuel de changement global (Hughes & Stachowicz 2004; Hooper *et al.* 2005; Humbert & Dorigo 2005; Reusch *et al.* 2005; Jing *et al.* 2015; Duffy *et al.* 2016; Woodward *et al.* 2016; Adje *et al.* 2022). Les facteurs abiotiques peuvent ainsi agir directement ou indirectement sur les fonctions de l'écosystème. Par exemple, les températures chaudes avaient tendance à faire augmenter les biomasses de poissons par des effets directs, en augmentant le métabolisme, mais aussi par des effets indirects, en augmentant la biodiversité spécifique (Duffy *et al.* 2016). Dans la même étude, la variation des températures réduisait les biomasses de poissons, illustrant les effets de l'instabilité climatique sur le fonctionnement des écosystèmes (Duffy *et al.* 2016). Ainsi, de bas niveaux de diversité peuvent suffire pour permettre à un écosystème de fonctionner « correctement » dans des conditions constantes, mais une plus grande biodiversité est nécessaire pour préserver les fonctions si l'environnement devient fluctuant (Humbert & Dorigo 2005; Maestre *et al.* 2012).

Sans même parler des effets de l'environnement, il peut exister des effets d'interactions entre la diversité génétique et spécifique sur le fonctionnement des écosystèmes (Hahn *et al.* 2017; Tang *et al.* 2022). Par exemple, il a été montré expérimentalement que la diversité génétique impactait positivement la croissance d'arbres subtropicaux et limitait leur taux d'herbivorie, mais uniquement dans les traitements qui contenaient des mélanges d'espèces (donc, à haute diversité spécifique, Hahn *et al.* 2017). Ce résultat montre la complexité des liens qui existent entre les différents niveaux d'organisations, et le fait qu'ils peuvent avoir des impacts dépendants les uns des autres. Pour tester de tels effets, le retour au laboratoire semble indispensable puisqu'il est laborieux et coûteux de quantifier la diversité génétique chez de nombreuses espèces d'une communauté cible. Whitham écrivait au début des années 2000 : « l'analyse génétique d'une communauté et d'un écosystème complexe peut sembler un bourbier sans espoir » (Whitham *et al.* 2006). Aujourd'hui, presque vingt ans plus tard, les études qui ont quantifié la diversité génétique chez de multiples espèces en milieux naturels restent rares, et se cantonnent souvent à une seule communauté (Taberlet *et al.* 2012; Fortune *et al.* 2016), ou comme nous, à une espèce par niveau trophique (**Chapitre I et II**). Face à ce constat, le développement d'outils pour mesurer la biodiversité génétique à l'échelle des communautés à des coûts raisonnables semble répondre à un besoin manifeste.

2. Biodiversité génétique inclusive

2.1. Validité du concept de biodiversité inclusive et de l'approche PCCGs

A partir des études existantes en biologie fonctionnelle et des techniques de séquençage ciblés disponibles, nous avons développé une méthode moléculaire pour mesurer la biodiversité *inclusive* (c'est-à-dire aux échelles intra- et interspécifique simultanément) à l'échelle des communautés (**Chapitre III**). Notre étude permet de valider empiriquement la pertinence des méthodes de captures de gènes ciblés (Hawkins *et al.* 2016; Jones & Good 2016; Faircloth 2017) combinées à des approches poolées (Schlötterer *et al.* 2014; Abrams *et al.* 2021) pour quantifier la biodiversité *inclusive* à l'échelle des communautés à un coût raisonnable (**Chapitre IV**). En effet, le séquençage de quelques régions du génome spécifiquement choisis pour répondre à une question biologique permet de limiter les coûts de séquençage tout en augmentant la profondeur de séquençage sur les régions cibles (Gnirke *et al.* 2009; Mertens *et al.* 2011; Giolai *et al.* 2016; Harvey *et al.* 2016; Hale *et al.* 2020). Plutôt que de séquencer un génome entier (3×10^9 nt dans le cas présent), nos séquences cibles couvrent environ 340 000 nt (**Chapitre III, Chapitre IV**). Pour le même prix de séquençage on peut donc obtenir environ 9 000 fois plus de données sur les régions qui nous intéressent. Cette démarche -traditionnellement plutôt utilisée en phylogénie (Stringer *et al.* 2021)- va à

l'inverse de ce qui est classiquement proposé dans les études qui lient les gènes aux écosystèmes : elle permet de cibler des gènes (et donc partir de nos connaissances préalables) pour répondre à une question biologique (voir Jiménez-Mena *et al.* 2022 pour un exemple concret de l'intérêt du séquençage ciblé) plutôt que de séquencer tout le génome et voir si certains gènes peuvent être intéressants pour la question posée (Hassani-Pak & Rawlings 2017). Les approches poolées à l'échelle de la communauté (mélanger les ADNs de tous les individus dans un seul tube) ont montré de bons résultats pour quantifier la biodiversité relative (savoir quelle communauté est plus diverse par rapport à une autre) mais le nombre de SNPs bruts détectés ne reflétaient pas la diversité présente dans le pool (ce qui était le cas pour les données individuelles, **Chapitre IV**). Malgré cet effet « plafond », qui peut surement être limité en augmentant la profondeur de séquençage, les approches poolées permettaient de quantifier la biodiversité dans tous les types de communauté (des moins diverses, composées d'une seule population, aux plus diverses, composées d'un mélange de plusieurs espèces, **Chapitre IV**). Le séquençage de gènes ciblés et les approches poolées ouvrent un horizon de séquençage à l'échelle de la communauté à prix réduit (un pool séquençé par communauté cible, **Chapitre V**).

Au-delà des aspects méthodologiques (et financiers), la difficulté pour mesurer la biodiversité *inclusive* à l'échelle des communautés résidait dans le fait de capturer des gènes polymorphes à l'échelle intraspécifique (important pour refléter des processus évolutifs à petite échelle et une éventuelle future adaptation) mais conservés dans de nombreuses espèces de la communauté (importants pour travailler à l'échelle de communautés entières). Face à cet obstacle que nous avons anticipé (**Chapitre III**), nous proposons d'inclure dans la sélection des PCCGs finales des gènes polymorphes à l'échelle intraspécifique et des gènes polymorphes à l'échelle interspécifique. Nous avons finalement, en suivant notre méthodologie (**Chapitre III**), identifié 529 séquences (exons et régions flanquantes) qui appartiennent à des PCCGs (pour « phylogenetically-conserved candidate genes », des gènes conservés phylogénétiquement et qui codent pour des traits *écologiquement importants*) que nous avons utilisé pour quantifier la biodiversité génétique *inclusive* dans une communauté artificielle de quatorze espèces présentant jusqu'à 30% de divergence moléculaire (voir l'arbre phylogénétique **Figure III.4** et le nom des quatorze espèces **Chapitre IV**). Parmi ces 529 séquences, nous avons détecté et quantifié de la variabilité génétique à toutes les échelles puisque sur la totalité des SNPs polymorphes dans la communauté, certains étaient variables au sein et/ou entre les espèces et certains étaient variables au sein et/ou entre les populations (**Chapitre IV**). Pour le niveau de conservatisme à travers les lignées évolutives, les résultats sont plus mitigés. En effet, les succès de capture chez les différentes espèces de

gammars étaient bons (amphipodes, 99 à 78% des gènes capturés) mais baissaient fortement chez les isopodes (29 à 8%). Notre étude a donc montré qu'il était possible d'allier diversité intraspécifique et conservatisme multi-espèces, dans une certaine limite.

2.2. Limites et axes d'améliorations

Notre méthode peut -et doit- donc maintenant être améliorée pour mieux tolérer la divergence moléculaire au sein de la communauté cible. Pour améliorer les taux de capture, une solution relativement immédiate serait de baisser les températures d'hybridation pendant la capture de gènes. Nous avons utilisé une température de 62°C qui autorise 10 à 15% de divergence mais il est possible d'aller jusqu'à 60°C, ce qui autoriserait 15 à 25% de divergence (manuel myBaits, v.5.01, mars 2021, **Chapitre IV**). Ce choix réduirait certainement les écarts en termes de succès de capture entre les amphipodes et les isopodes. Cependant, la sélection de séquences actuelle ne permettrait pas de mesurer la biodiversité *inclusive* dans des communautés naturelles aussi divergentes que le sont les invertébrés décomposeurs puisque on s'attend à des amphipodes (crustacea), des isopodes (crustacea) mais aussi des diptères (comme les chironomes, insecta) ou des trichoptères (insecta, **Chapitre I**). Dans ce cas, nous recommandons de considérer la communauté d'insectes comme une deuxième communauté cible et donc de rechercher des gènes spécifiques aux insectes dès la conception des amorces puis d'utiliser un deuxième génome de référence spécifique aux insectes de notre communauté cible (**Chapitre III**). Une rapide recherche « trichoptera » dans l'onglet « genome » sur les bases de données du National Center for Biotechnology Information (NCBI, disponible à l'adresse suivante : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) donne 54 résultats. La nécessité d'avoir d'un génome de référence pour chaque communauté cible peut limiter la portée de notre étude, en particulier pour les scientifiques qui travaillent sur des organismes non-modèles mais nous ne pouvons pas proposer de meilleure solution pour le moment et la tendance actuelle aux séquençages d'un maximum d'espèces rend cette solution viable à assez court terme (voir par exemple la première étape du Earth BioGenome Project qui vise à l'obtention d'un génome de référence annoté pour chaque famille taxonomique d'eucaryotes, Lewin *et al.* 2018, 2022 ou la base de données « gene ontology » qui recense les fonctions des gènes à travers les lignées évolutives Ashburner *et al.* 2000; Ebert *et al.* 2023).

Dans cette thèse, nous étions particulièrement intéressés par la capacité de dégradation de la matière organique des crustacés d'eau douces et nous avons donc sélectionné des PCCGs spécifiques à cette fonction écosystémique comme preuve de concept (**Chapitre III, Chapitre IV**). Notre objectif était de trouver un ensemble de gènes suffisamment variable au sein des populations et suffisamment conservé entre les espèces de la

communauté pour pouvoir quantifier une biodiversité fonctionnelle (c'est-à-dire qui porte sur des gènes exprimés, donc des régions exoniques) *inclusive* (c'est-à-dire à l'échelle intra- et interspécifique) et voir si cette biodiversité peut être reliée au fonctionnement des écosystèmes (ici, la capacité de dégradation des populations). Dans notre approche expérimentale, la diversité calculée sur les gènes fonctionnels ne permettait pas de prédire la capacité de dégradation des gammars mais des SNPs spécifiques, appartenant au jeu de données PCCGs, ont permis en revanche d'expliquer une grande part de la variation de la capacité de dégradation des populations (plus que les données traits ou la génétique calculée sur tout le génome **Chapitre V**). Ce résultat suggère que les gènes présents dans la sélection finale de PCCGs ne sont peut-être pas les plus pertinents pour refléter la capacité de dégradation des individus. Et effectivement, puisque notre méthode pour choisir les PCCGs est basée sur les études existantes en biologie fonctionnelle, elle a le désavantage d'être dépendante de la connaissance existante (et donc potentiellement biaisée par les choix et les intérêts humains Baxter 2020). Chez les crustacés, on trouve donc beaucoup de gènes liés à la croissance (très étudiés pour optimiser les élevages destinés à l'alimentation humaine, Jung *et al.* 2013) et assez peu liés à la consommation de ressources. Ce résultat suggère également que les liens gènes-écosystèmes passent par des effets locaux (SNPs spécifiques) plus que par des effets globaux (des effets de la diversité) et ne remet donc pas en question la pertinence de la méthode pour poser de nombreux types de questions en écologie et évolution (**Chapitre III**, **Chapitre V**). Cette expérience préliminaire en milieu expérimental peut donc servir d'appui pour étendre l'utilisation des PCCGs dans les milieux naturels, par exemple pour suivre les dynamiques éco-évolutives ou étudier les liens entre la biodiversité génétique *inclusive* et le fonctionnement des écosystèmes.

2.3. Perspectives pour les milieux naturels

Mesurer la biodiversité génétique *inclusive* (à l'échelle de la communauté) dans la nature permettrait de quantifier la biodiversité dans tout le gradient intra- et interspécifique et de comprendre son lien avec le fonctionnement des écosystèmes en dehors des limites de l'espèce. Dans notre étude, la biodiversité génétique (intraspécifique) à un niveau trophique impactait positivement les fonctions écosystémiques de même niveau trophique tandis que la biodiversité spécifique (interspécifique) les impactait négativement (**Chapitre II**). Avec cette nouvelle mesure de biodiversité *inclusive* (**Chapitre III**), nous constaterions peut-être des effets de seuils et/ou des liens plus complexes que de simples relations linéaires ou saturantes entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes (Prieto *et al.* 2015; Hahn *et al.* 2017; Hazard *et al.* 2017; Tang *et al.* 2022). Par exemple, il est possible que la diversité

inclusive ait un impact positif sur les fonctions à de bas niveaux de biodiversité et un impact négatif à des hauts niveaux de biodiversité (une forme en U inversé, voir Pennekamp *et al.* 2018). Ce résultat permettrait d'unir nos observations de terrain au sein d'une théorie commune : les bas niveaux de diversité inclusive incluant la biodiversité traditionnellement quantifiée à l'échelle des populations (diversité génétique intraspécifique dans notre cas) et les hauts niveaux de diversité incluant la biodiversité traditionnellement quantifiée à l'échelle des espèces (diversité interspécifique). Dans cette hypothèse, il existerait donc un « seuil » au-delà duquel la biodiversité (et donc les interactions entre individus) deviendrait néfaste pour le fonctionnement des écosystèmes. Une mesure *inclusive* de biodiversité pourrait aussi révéler de forts niveaux de biodiversité, cachés dans des sites qui hébergent peu d'espèces (comme nos têtes de bassins, plus pauvres en espèces que des sites plus en aval, Fourniture *et al.* 2016) puisque cette mesure ne dépend pas de la quantité d'espèce présente, mais de la diversité des gènes portés par les individus (qu'ils soient de la même espèce ou non). A l'échelle du bassin versant, il deviendrait alors possible de comparer des sites très différents du point de vue de la biodiversité spécifique et de découvrir des patrons (de distribution de biodiversité ou de lien avec l'écosystème) qui ne dépendent pas de notre définition d'espèces (Hamilton 2005; Loreau *et al.* 2023).

Notre méthode laisse libre le choix des gènes cibles et permet de les adapter à la question posée, ce qui permettrait une meilleure compréhension de l'impact de différents processus évolutifs sur la biodiversité *inclusive* dans les écosystèmes naturels. En ne sélectionnant que des gènes neutres, il serait par exemple possible de mieux comprendre comment des processus neutres façonnent la biodiversité dans les communautés à travers les facettes intra- et interspécifique (Zhou & Holliday 2012; Jiménez-Mena *et al.* 2022). En ne sélectionnant que des gènes sous sélection au contraire, il serait possible de mieux comprendre la réponse de la biodiversité (à travers toutes ses échelles) aux facteurs environnementaux (Shokralla *et al.* 2016; Alsammar *et al.* 2019). Les PCCGs que nous avons choisis sont soumis à la sélection (puisque'ils sont exprimés) et sont censés être *écologiquement importants* (puisque'ils codent pour des traits *écologiquement importants*). La quantification de la biodiversité génétique *inclusive* (à l'échelle des communautés) sur ce type de gènes permettrait donc de traquer les changements génétiques *écologiquement importants* et ainsi de suivre les dynamiques éco-évolutives à l'échelle des communautés (ce qui représente un changement par rapport aux approches actuelles, espèce-centrées, Rudman *et al.* 2017; Hendry 2019). En traquant les changements dans les fréquences alléliques des communautés et en les comparant aux mesures de fonctionnement des écosystèmes, il deviendrait donc possible de suivre la coévolution entre des communautés entières et leurs

écosystèmes (comme cela a pu être fait sur des petits nombres d'espèces jusqu'à présent : Norberg *et al.* 2012; Eisenhauer *et al.* 2019; Moorsel *et al.* 2019; Aubree *et al.* 2020). Peut-être que l'on constaterait dans ce cas des impacts forts de quelques SNPs (des effets d'identité, **Chapitre V**) ou au contraire des impacts faibles de nombreux SNPs qui, ensemble, module le fonctionnement des écosystèmes (des effets de complémentarité, **Chapitre V**). Peut-être que l'on constaterait aussi que ces SNPs sont portés par seulement quelques espèces (clef de voûte) qui seraient donc réellement *écologiquement importantes* (**Chapitre II**). Cela permettrait en tout cas d'identifier clairement quels individus et quels gènes sont *écologiquement importants* et doivent donc être préservés pour préserver les fonctions de l'écosystème.

3. Relation gènes-écosystèmes

3.1. Effets globaux vs locaux

L'étude des gènes est pertinente pour comprendre les liens entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes (**Chapitre II, Chapitre III, Chapitre IV**). Pour comprendre les mécanismes sous-jacents à ce lien gènes-écosystèmes, nous avons quantifié différents composants de la biodiversité génétique chez des populations de *Gammarus* sp. (un crustacé décomposeur d'eau douce). Nous avons ensuite comparé leurs liens statistiques avec la capacité de dégradation des populations mesurées dans un contexte expérimental. Nous avons également quantifié les liens traits-écosystèmes comme point de comparaison (puisque l'on sait que des traits *écologiquement importants* permettent une bonne prédiction du fonctionnement des écosystèmes, Rota *et al.* 2018). Nous avons ainsi pu comparer le pouvoir prédictif de la diversité génétique globale (calculée sur tout le génome et sur des gènes fonctionnels, les PCCGs) à celui de la diversité génétique locale (les fréquences alléliques de quelques SNPs précis). Cette étude a mis en évidence le fait que quelques SNPs expliquaient une plus grande part des variations dans les capacités de dégradation des populations que toutes les autres mesures (traits y compris). Notre étude à le défaut d'être limitée à l'échelle intraspécifique et il serait pertinent de répéter cette expérience avec des mesures de biodiversité génétique *inclusive* chez des communautés de décomposeurs pour expliquer les capacités de dégradation de toute la communauté (**Chapitre III, Chapitre IV**), pour voir si on retrouve bien, dans ce cas, des effets locaux forts et des effets globaux faibles.

La diversité génétique globale et fonctionnelle ne permettait pas de prédire les capacités de dégradation des populations de gammarés dans un contexte expérimental (**Chapitre V**). Ce résultat va à l'encontre de l'effet positif de la diversité génétique sur les fonctions écosystémiques que nous avons trouvé dans les milieux naturels et qui était

congruent à tous les niveaux trophiques (**Chapitre II**). Le fait que, dans les milieux naturels, nous ayons étudié la diversité génétique d'espèces *écologiquement importantes*, et des fonctions écosystémiques reliées à ces espèces, explique peut-être le lien positif que nous détectons (déjà discuté section 1.2). Dans les milieux naturels, les individus sont confrontés à des conditions environnementales (biotiques et abiotiques) beaucoup plus fluctuantes et imprévisibles (Hagan *et al.* 2021) qu'en condition expérimentale ; où la température est constante, où il n'y a pas de compétition avec d'autres espèces pour la nourriture et où l'exposition aux prédateurs est nulle. Or, il a été montré que les liens entre la biodiversité génétique et le fonctionnement des écosystèmes se révèlent dans des conditions de stress (Hughes & Stachowicz 2004; Reusch *et al.* 2005; Ehlers *et al.* 2008; Jahnke *et al.* 2015, vrai aussi pour la diversité spécifique : García *et al.* 2018; Bestion *et al.* 2021; Adje *et al.* 2022). La diversité génétique participe ainsi plus à la stabilité des écosystèmes dans le temps qu'à l'augmentation du fonctionnement moyen des écosystèmes (Humbert & Dorigo 2005; Prieto *et al.* 2015 pour un exemple en milieux naturels voir Prunier *et al.* 2023). Puisque le stress est limité dans des conditions expérimentales, le lien entre la diversité génétique globale et les écosystèmes était réduit dans notre expérience. De la même façon, la diversité mesurée sur les gènes fonctionnels (PCCGs) ne permettait pas de prédire le fonctionnement des écosystèmes. Pourtant, ces gènes ont été choisis car ils codent pour des traits *écologiquement importants*, qui eux, ont montré un bon pouvoir explicatif de la capacité de dégradation des populations (**Chapitre V**). En dehors du fait que la liste de PCCGs peut sûrement être améliorée (déjà discuté dans la section 2.2), cette absence de lien suggère un faible effet de la complémentarité des gènes sur les écosystèmes (Loreau & Hector 2001; Hughes *et al.* 2010). En revanche, les fréquences alléliques mesurées sur quelques SNPs étaient suffisantes pour prédire le fonctionnement écosystémique, suggérant que des effets de sélection sont moteurs du lien gènes-écosystèmes dans notre expérience (Hughes & Stachowicz 2004; Reusch *et al.* 2005; Wang *et al.* 2012). Lorsque l'on considère la diversité génétique globale, les effets forts de ces quelques gènes sont sans doute « noyés » dans une information génétique globalement neutre (Kimura 1979; Graur & Li 1991).

Le pouvoir prédictif de quelques « keystone SNPs » était supérieur à celui des traits pour expliquer le fonctionnement des écosystèmes (**Chapitre V**). Ce résultat suggère que, si l'objectif est de prédire la capacité de dégradation des organismes, l'obtention des fréquences alléliques à ces quelques loci est plus pertinente que des mesures complexes de traits (**Chapitre V**). Ce résultat est particulièrement intéressant puisque certaines mesures de traits peuvent être laborieuses à obtenir (ils ont parfois été appelé des « hard traits » pour cette raison dans la littérature, Violle *et al.* 2007). Parmi les traits mesurés dans notre étude, le

métabolisme ressort particulièrement, que ce soit par des effets de la valeur moyenne dans les populations, ou par des effets de la diversité au sein des populations (coefficient de variation, Costa 1967; Van Der Lee *et al.* 2017; Rota *et al.* 2018). Cependant, les taux métaboliques sont fortement influencés par la température à laquelle on les mesure (Gillooly *et al.* 2001; Brown *et al.* 2004). Une bonne mesure de métabolisme implique donc de pouvoir tracer la courbe de performance thermique, en prenant une mesure de consommation d'oxygène à plusieurs températures différentes (Galic & Forbes 2017, 6 températures). Cette mesure complexe expliquait 50% de la variation de la fonction écosystémique, contre 80% pour un seul SNP. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que les keystone SNPs sont souvent situés sur des gènes qui codent pour plus d'un trait *écologiquement important* (**Chapitre IV**, **Chapitre V**). Mesurer les fréquences alléliques sur quelques keystone SNPs revient donc probablement à mesurer plusieurs traits complexes. En admettant que les gènes qui portent ces SNPs soient phylogénétiquement conservés, il est possible d'obtenir une mesure de biodiversité à l'échelle de la communauté, bien plus facilement qu'avec les traits (bien que certains auteurs défendent cette idée, Start & Gilbert 2017; Schleuning *et al.* 2023).

3.2. Effet des gènes sur les performances : des individus aux écosystèmes

Les fréquences alléliques des keystone SNPs que nous avons identifiés dans cette étude étaient liées au fonctionnement de l'écosystème par des effets de la diversité. En effet, les fréquences alléliques indiquent à quel point une certaine version d'un gène (un allèle) est commun dans la population. Pour un locus bi-allélique (ceux que nous avons étudiés ici), une fréquence allélique de 0 ou de 1 sur un locus indiquent que, sur ce locus, un seul allèle existe dans toute la population. À l'inverse, une fréquence allélique de 0.5 indique que sur ce locus, les deux allèles existent et que chaque version du gène est présente à 50% dans la population. Les populations les plus diverses sont donc celles dont les fréquences alléliques sont proches de 0.5. Dans notre étude, il s'avère que dans un tiers des cas (sur 11 SNPs parmi les 29 keystone SNPs), ce sont les populations les plus diverses qui montrent les taux de fonctionnement écosystémiques les plus hauts (**Chapitre V**). Ce résultat suggère un lien entre la diversité allélique dans la population sur un gène donné et le fonctionnement des écosystèmes. Les effets locaux (de quelques SNPs) de la biodiversité génétique que nous observons (**Chapitre V**) sont donc des effets de diversité à l'échelle des allèles présents : les populations les plus diverses en termes d'allèles sont les plus efficaces du point de vue du fonctionnement de l'écosystème. Dans de très rares cas (2 SNPs sur 29), ce lien était inversé, c'est-à-dire que les populations les moins diverses en termes d'allèle étaient les plus efficaces du point de vue du fonctionnement de l'écosystème. Pour le reste (16 SNPs sur 29), c'est une

certaine valeur de fréquence allélique dans la population qui mène au fonctionnement le plus haut. Ces observations suggèrent que des effets de diversité et d'identité pourraient aussi exister à l'échelle des allèles dans les populations (mais que toutes les formes de liens existent).

Les fréquences alléliques, calculées à l'échelle de la population, ne renseignent pas sur l'hétérozygotie des individus. Pour une fréquence allélique de 0.5 sur un locus, on trouve bien souvent un mélange d'individus hétérozygotes (qui portent les deux versions du gène) et d'individus homozygotes (qui portent deux fois l'une ou l'autre version du gène) dans la population. Cependant, à l'échelle d'un individu, l'existence d'une corrélation positive entre l'hétérozygotie des allozymes (les différentes formes moléculaires d'une enzyme, codées chacune par un allèle d'un gène commun) et les traits liés à la fitness a été démontré depuis plus de trente ans (Zouros 1987; Chapman *et al.* 2009; Szulkin *et al.* 2010). Cette bibliographie tend à nous faire envisager des liens entre la diversité génétique intra-individu et les performances de l'individu. Il semble donc que la diversité des gènes portés par un individu influence positivement sa capacité de survie et de reproduction, tout comme la diversité des gènes portés par une population influence positivement son fonctionnement écosystémique (**Chapitre II, Chapitre V**). La diversité génétique peut donc avoir des impacts positifs (i) sur les performances de l'individu lui-même (liens hétérozygotie-fitness), (ii) sur les performances des populations (on sait que des populations plus diverses génétiquement sont moins consanguines et survivent globalement mieux), (iii) sur les performances des communautés (les communautés plus diverses sont, comme les populations, plus stables) et sur (iv) les performances des écosystèmes (**Chapitre II, Chapitre V, Figure 5**). Cette diversité génétique peut être mesurée à toutes les échelles du vivant, des individus aux écosystèmes et semblent avoir des effets plutôt positifs sur les performances des niveaux supérieurs : un individu, une population, une communauté qui portent des gènes divers mènent à des individus, des populations, des communautés et des écosystèmes plus performants et plus stables.

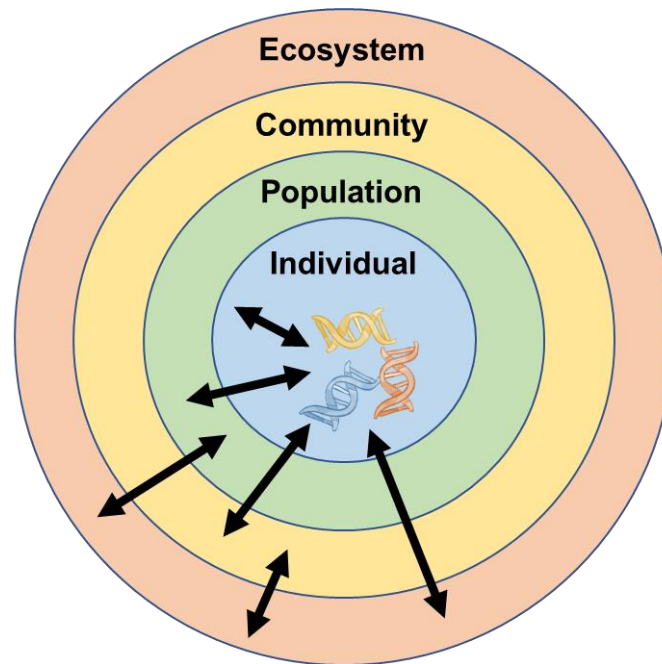


Figure 5. Les liens diversité-performances à toutes les échelles du vivant. La diversité génétique peut avoir des impacts sur les performances de l'individu, des populations, des communautés et des écosystèmes. Plus généralement, la diversité (génétique, phénotypique...) à n'importe quel niveau (individu, population, communauté et écosystème) influence les performances aux niveaux supérieurs.

4. Conclusion

Grâce à une approche observationnelle et expérimentale, nous avons quantifié l'importance de la diversité génétique pour prédire le fonctionnement des écosystèmes, par rapport à la diversité spécifique. Dans les milieux naturels, nous avons observé des patrons de distribution de la biodiversité uniques à chaque niveau trophique et chaque facette (spécifique et génétique) de biodiversité. Les liens entre la diversité génétique et spécifique étaient globalement neutres à travers les niveaux trophiques et les facettes de biodiversité. Cependant, la diversité génétique impactait positivement les fonctions écosystémiques de même niveau, tandis que la diversité spécifique les impactait négativement (et ce à tous les niveaux trophiques). Nous avons ensuite développé une méthode pour quantifier la biodiversité génétique à l'échelle des communautés et sortir de cette opposition gènes/espèces. En utilisant des gènes phylogénétiquement conservés mais variables entre les individus, nous avons mesuré la biodiversité génétique *inclusive* dans une communauté de crustacés décomposeurs. Cette preuve de concept ouvre la voie à la découverte de nouveaux patrons de biodiversité *inclusifs* dans les milieux naturels. Finalement, nous avons essayé de comprendre les moteurs du lien entre les gènes et les écosystèmes et nous avons constaté que les effets forts de quelques SNPs semblent en être l'origine. Ce travail a permis

de mieux comprendre la distribution de la biodiversité à de multiples niveaux trophiques dans la nature, de développer une méthode pour quantifier la biodiversité à l'échelle des communautés avec des outils moléculaires, et de comprendre les mécanismes sous-jacents aux liens gènes-écosystèmes. Cette étude mène à une réflexion théorique sur l'effet positif des gènes sur les performances, des individus aux écosystèmes.

RÉFÉRENCES

- Abrams, A.N., McDaneld, T.G., Keele, J.W., Chitko-McKown, C.G., Kuehn, L.A. & Gonda, M.G. (2021). Evaluating Accuracy of DNA Pool Construction Based on White Blood Cell Counts. *Front. Genet.*, 12, 635846.
- Adje, G., Wojcik, L.A. & Gaedke, U. (2022). Functional diversity increases the resistance of a tritrophic food web to environmental changes (preprint). *Ecology*.
- Alsammar, H.F., Naseeb, S., Brancia, L.B., Gilman, R.T., Wang, P. & Delneri, D. (2019). Targeted metagenomics approach to capture the biodiversity of *Saccharomyces* genus in wild environments. *Environmental Microbiology Reports*, 11, 206–214.
- Altermatt, F. (2013). Diversity in riverine metacommunities: a network perspective. *Aquat Ecol*, 13.
- Andreoli, A., Chiaradia, E.A., Cislighi, A., Bischetti, G.B. & Comiti, F. (2020). Roots reinforcement by riparian trees in restored rivers. *Geomorphology*, 370, 107389.
- Anreiter, I. & Sokolowski, M.B. (2019). The foraging Gene and Its Behavioral Effects: Pleiotropy and Plasticity. *Annu. Rev. Genet.*, 53, 373–392.
- Antonovics, J. (1976). The Input from Population Genetics: “The New Ecological Genetics.” *Systematic Botany*, 1, 233.
- Ashburner, M., Ball, C.A., Blake, J.A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J.M., *et al.* (2000). Gene Ontology: tool for the unification of biology. *Nat Genet*, 25, 25–29.
- Aubree, F., David, P., Jarne, P., Loreau, M., Mouquet, N. & Calcagno, V. (2020). How community adaptation affects biodiversity–ecosystem functioning relationships. *Ecol Lett*, 23, 1263–1275.
- Badano, E.I. & Marquet, P.A. (2008). Ecosystem engineering affects ecosystem functioning in high-Andean landscapes. *Oecologia*, 155, 821–829.
- Bailey, J.K. (2011). From genes to ecosystems: a genetic basis to ecosystem services. *Population Ecology*, 53, 47–52.
- Bailey, J.K., Wooley, S.C., Lindroth, R.L. & Whitham, T.G. (2005). Importance of species interactions to community heritability: a genetic basis to trophic-level interactions. *Ecol Letters*, 0, 051122062725008.
- Balvanera, P., Pfisterer, A.B., Buchmann, N., He, J.-S., Nakashizuka, T., Raffaelli, D., *et al.* (2006). Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services: Biodiversity and ecosystem functioning/services. *Ecology Letters*, 9, 1146–1156.
- Barbour, M.A., Kliebenstein, D.J. & Bascombe, J. (2022). A keystone gene underlies the persistence of an experimental food web. *Science*, 376, 70–73.
- Barbour, R.C., O'Reilly-Wapstra, J.M., Little, D.W.D., Jordan, G.J., Steane, D.A., Humphreys, J.R., *et al.* (2009). A geographic mosaic of genetic variation within a foundation tree species and its community-level consequences. *Ecology*, 90, 1762–1772.
- Barker, H.L., Riehl, J.F., Bernhardsson, C., Rubert-Nason, K.F., Holeski, L.M., Ingvarsson, P.K., *et al.* (2019). Linking plant genes to insect communities: Identifying the genetic bases of plant traits and community composition. *Mol Ecol*, 28, 4404–4421.

- Barlow, J., Gardner, T.A., Araujo, I.S., Ávila-Pires, T.C., Bonaldo, A.B., Costa, J.E., *et al.* (2007). Quantifying the biodiversity value of tropical primary, secondary, and plantation forests. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 104, 18555–18560.
- Barnosky, A.D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G.O.U., Swartz, B., Quental, T.B., *et al.* (2011). Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature*, 471, 51–57.
- Barrett, R. & Schluter, D. (2008). Adaptation from standing genetic variation. *Trends in Ecology & Evolution*, 23, 38–44.
- Bauer, S. & Hoyer, B.J. (2014). Migratory Animals Couple Biodiversity and Ecosystem Functioning Worldwide. *Science*, 344, 1242552.
- Baumgärtner, S. (2008). The insurance value of biodiversity in the provision of ecosystem services. *Natural Resource Modeling*, 20, 87–127.
- Baxter, I. (2020). We aren't good at picking candidate genes, and it's slowing us down. *Current Opinion in Plant Biology*, 54, 57–60.
- Benda, L., Poff, N.L., Miller, D., Dunne, T., Reeves, G., Pess, G., *et al.* (2004). The Network Dynamics Hypothesis: How Channel Networks Structure Riverine Habitats. *BioScience*, 54, 413.
- Bertrand, K.N. & Gido, K.B. (2007). Effects of the herbivorous minnow, southern redbelly dace (*Phoxinus erythrogaster*), on stream productivity and ecosystem structure. *Oecologia*, 151, 69–81.
- Bestion, E., Haegeman, B., Alvarez Codesal, S., Garreau, A., Huet, M., Barton, S., *et al.* (2021). Phytoplankton biodiversity is more important for ecosystem functioning in highly variable thermal environments. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 118, e2019591118.
- Biggs, C.R., Yeager, L.A., Bolser, D.G., Bonsell, C., Dichiera, A.M., Hou, Z., *et al.* (2020). Does functional redundancy affect ecological stability and resilience? A review and meta-analysis. *Ecosphere*, 11.
- Bolnick, D.I., Amarasekare, P., Araújo, M.S., Bürger, R., Levine, J.M., Novak, M., *et al.* (2011). Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 26, 183–192.
- Bolnick, D.I., Svanbäck, R., Fordyce, J.A., Yang, L.H., Davis, J.M., Hulseley, C.D., *et al.* (2003). The Ecology of Individuals: Incidence and Implications of Individual Specialization. *The American Naturalist*, 161, 1–28.
- Booth, R.E. & Grime, J.P. (2003). Effects of genetic impoverishment on plant community diversity: *Effects of genetic impoverishment*. *Journal of Ecology*, 91, 721–730.
- Brose, U. & Hillebrand, H. (2016). Biodiversity and ecosystem functioning in dynamic landscapes. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 371, 20150267.
- Brown, C.R. & Bomberger Brown, M. (2013). Where has all the road kill gone? *Current Biology*, 23, R233–R234.
- Brown, J.H., Gillooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M. & West, G.B. (2004). Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 85, 1771–1789.
- Brown, T.C., Bergstrp, J.C. & Loomis, J.B. (2007). Defining, Valuing, and Providing Ecosystem Goods and Services. *Natural resources journal*, 47, 329–376.
- Brun, P., Violle, C., Mouillot, D., Mouquet, N., Enquist, B.J., Munoz, F., *et al.* (2022). Plant community impact on productivity: Trait diversity or key(stone) species effects? *Ecology Letters*, 25, 913–925.
- Bruno, J.F., Stachowicz, J.J. & Bertness, M.D. (2003). Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*, 18, 119–125.
- Byers, J.E. (2022). Using ecosystem engineers to enhance multiple ecosystem processes. *Functional Ecology*, 1365-2435.14130.
- Cardillo, M. (2003). Biological determinants of extinction risk: why are smaller species less vulnerable? *Animal Conservation*, 6, 63–69.
- Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., *et al.* (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486, 59–67.

- Cardinale, B.J., Matulich, K.L., Hooper, D.U., Byrnes, J.E., Duffy, E., Gamfeldt, L., *et al.* (2011). The functional role of producer diversity in ecosystems. *American Journal of Botany*, 98, 572–592.
- Cardinale, B.J., Palmer, M.A. & Collins, S.L. (2002). Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation, 415, 4.
- Cardinale, B.J., Srivastava, D.S., Emmett Duffy, J., Wright, J.P., Downing, A.L., Sankaran, M., *et al.* (2006). Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature*, 443, 989–992.
- Cardinale, B.J., Wright, J.P., Cadotte, M.W., Carroll, I.T., Hector, A., Srivastava, D.S., *et al.* (2007). Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 104, 18123–18128.
- Carrara, F., Altermatt, F., Rodriguez-Iturbe, I. & Rinaldo, A. (2012). Dendritic connectivity controls biodiversity patterns in experimental metacommunities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 109, 5761–5766.
- Catford, J.A., Wilson, J.R.U., Pyšek, P., Hulme, P.E. & Duncan, R.P. (2022). Addressing context dependence in ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 37, 158–170.
- Chapman, J.R., Nakagawa, S., Coltman, D.W., Slate, J. & Sheldon, B.C. (2009). A quantitative review of heterozygosity-fitness correlations in animal populations. *Molecular Ecology*, 18, 2746–2765.
- Christensen, N.L., Bartuska, A.M., Brown, J.H., Carpenter, S., D'Antonio, C., Francis, R., *et al.* (1996). The Report of the Ecological Society of America Committee on the Scientific Basis for Ecosystem Management. *Ecological Applications*, 6, 665–691.
- Comeault, A.A., Flaxman, S.M., Riesch, R., Curran, E., Soria-Carrasco, V., Gompert, Z., *et al.* (2015). Selection on a Genetic Polymorphism Counteracts Ecological Speciation in a Stick Insect. *Current Biology*, 25, 1975–1981.
- Cook-Patton, S.C., McArt, S.H., Parachnowitsch, A.L., Thaler, J.S. & Agrawal, A.A. (2011). A direct comparison of the consequences of plant genotypic and species diversity on communities and ecosystem function. *Ecology*, 92, 915–923.
- Costa, H.H. (1967). Responses of *Gammarus Pulex* (L.) To Modified Environment Iii. Reactions To Low Oxygen Tensions. *Crustac*, 13, 175–189.
- Craven, D., Eisenhauer, N., Pearse, W.D., Hautier, Y., Isbell, F., Roscher, C., *et al.* (2018). Multiple facets of biodiversity drive the diversity–stability relationship. *Nat Ecol Evol*, 2, 1579–1587.
- Crawford, K.M. & Rudgers, J.A. (2013). Genetic diversity within a dominant plant outweighs plant species diversity in structuring an arthropod community. *Ecology*, 94, 1025–1035.
- Crutsinger, G.M. (2006). Plant Genotypic Diversity Predicts Community Structure and Governs an Ecosystem Process. *Science*, 313, 966–968.
- Crutsinger, G.M., Rodriguez-Cabal, M.A., Roddy, A.B., Peay, K.G., Bastow, J.L., Kidder, A.G., *et al.* (2014). Genetic variation within a dominant shrub structures green and brown community assemblages. *Ecology*, 95, 387–398.
- Dangles, O. & Malmqvist, B. (2004). Species richness-decomposition relationships depend on species dominance: Biodiversity and dominance in ecosystems. *Ecology Letters*, 7, 395–402.
- Darwin, C.R. (1859). L'origine des espèces par le moyen de la sélection naturelle, ou la préservation des races favorisées dans la lutte pour la vie. *Classiques essais. Essais. Champion classiques.*
- De Andrade, R.B., Barlow, J., Louzada, J., Mestre, L., Silveira, J., Vaz-de-Mello, F.Z., *et al.* (2014). Biotic congruence in humid tropical forests: A multi-taxa examination of spatial distribution and responses to forest disturbance. *Ecological Indicators*, 36, 572–581.
- De Kort, H., Prunier, J.G., Ducatez, S., Honnay, O., Baguette, M., Stevens, V.M., *et al.* (2021). Life history, climate and biogeography interactively affect worldwide genetic diversity of plant and animal populations. *Nat Commun*, 12, 516.

- Dee, L.E., Ferraro, P.J., Severen, C.N., Kimmel, K.A., Borer, E.T., Byrnes, J.E.K., *et al.* (2023). Clarifying the effect of biodiversity on productivity in natural ecosystems with longitudinal data and methods for causal inference. *Nat Commun*, 14, 2607.
- DeLong, D.C. (1996). Defining Biodiversity. *Wildlife Society Bulletin*, 24, 738–749.
- Delong, M.D. (2010). Food webs and the Upper Mississippi River: contributions to our understanding of ecosystem function in large rivers. *Hydrobiologia*, 640, 89–101.
- Des Roches, S., Post, D.M., Turley, N.E., Bailey, J.K., Hendry, A.P., Kinnison, M.T., *et al.* (2018). The ecological importance of intraspecific variation. *Nature Ecology & Evolution*, 2, 57–64.
- Díaz, S., Settele, J., Brondízio, E.S., Ngo, H.T., Agard, J., Arneeth, A., *et al.* (2019). Pervasive human-driven decline of life on Earth points to the need for transformative change. *Science*, 366, eaax3100.
- Díaz, S. & Cabido, M. (2001). Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, 16, 646–655.
- Doretto, A., Piano, E. & Larson, C.E. (2020). The River Continuum Concept: lessons from the past and perspectives for the future. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 77, 1853–1864.
- Duffy, J.E., Godwin, C.M. & Cardinale, B.J. (2017). Biodiversity effects in the wild are common and as strong as key drivers of productivity. *Nature*, 549, 261–264.
- Duffy, J.E., Lefcheck, J.S., Stuart-Smith, R.D., Navarrete, S.A. & Edgar, G.J. (2016). Biodiversity enhances reef fish biomass and resistance to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113, 6230–6235.
- Ebert, D., Feuermann, M., Gaudet, P., Harris, N.L., Hill, D.P., Lee, R., *et al.* (2023). The Gene Ontology knowledgebase in 2023. *Genetics*, 224, iyad031.
- Ehlers, A., Worm, B. & Reusch, T. (2008). Importance of genetic diversity in eelgrass *Zostera marina* for its resilience to global warming. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 355, 1–7.
- Eisenhauer, N., Schielzeth, H., Barnes, A.D., Barry, K.E., Bonn, A., Brose, U., *et al.* (2019). A multitrophic perspective on biodiversity–ecosystem functioning research. In: *Advances in Ecological Research*. Elsevier, pp. 1–54.
- Ellis, E.C., Gauthier, N., Klein Goldewijk, K., Bliege Bird, R., Boivin, N., Díaz, S., *et al.* (2021). People have shaped most of terrestrial nature for at least 12,000 years. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 118, e2023483118.
- Ellison, A.M., Bank, M.S., Clinton, B.D., Colburn, E.A., Elliott, K., Ford, C.R., *et al.* (2005). Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3, 479–486.
- Emmerson, M.C., Solan, M., Emes, C., Paterson, D.M. & Raffaelli, D. (2001). Consistent patterns and the idiosyncratic effects of biodiversity in marine ecosystems. *Nature*, 411, 73–77.
- Faircloth, B.C. (2017). Identifying conserved genomic elements and designing universal bait sets to enrich them. *Methods Ecol Evol*, 8, 1103–1112.
- Fernández-Martínez, M. (2022). From atoms to ecosystems: elementome diversity meets ecosystem functioning. *New Phytologist*, 234, 35–42.
- Flynn, D.F.B., Mirotnick, N., Jain, M., Palmer, M.I. & Naeem, S. (2011). Functional and phylogenetic diversity as predictors of biodiversity–ecosystem-function relationships. *Ecology*, 92, 1573–1581.
- Fourtnone, L., Paz-Vinas, I., Loot, G., Prunier, J.G. & Blanchet, S. (2016). Lessons from the fish: a multi-species analysis reveals common processes underlying similar species-genetic diversity correlations. *Freshwater Biology*, 61, 1830–1845.
- Frankel, O.H. & Soulé, M.E. (1981). *Conservation and evolution*. CUP archive.
- Frankham, R. (2005). Genetics and extinction. *Biological Conservation*, 126, 131–140.
- Fraser, C., Alm, E.J., Polz, M.F., Spratt, B.G. & Hanage, W.P. (2009). The Bacterial Species Challenge: Making Sense of Genetic and Ecological Diversity. *Science*, 323, 741–746.

- Fridley, J.D. (2001). The influence of species diversity on ecosystem productivity: how, where, and why? *Oikos*, 93, 514–526.
- Fridley, J.D. & Grime, J.P. (2010). Community and ecosystem effects of intraspecific genetic diversity in grassland microcosms of varying species diversity. *Ecology*, 91, 2272–2283.
- Gagic, V., Bartomeus, I., Jonsson, T., Taylor, A., Winqvist, C., Fischer, C., *et al.* (2015). Functional identity and diversity of animals predict ecosystem functioning better than species-based indices. *Proc. R. Soc. B.*, 282, 20142620.
- Galic, N. & Forbes, V.E. (2017). Effects of temperature on the performance of a freshwater amphipod. *Hydrobiologia*, 785, 35–46.
- García, F.C., Bestion, E., Warfield, R. & Yvon-Durocher, G. (2018). Changes in temperature alter the relationship between biodiversity and ecosystem functioning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 115, 10989–10994.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Debussche, M., *et al.* (2004). Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, 85, 2630–2637.
- Gaston, K.J. & Spicer, J.I. (2004). *Biodiversity: an introduction*. 2nd ed. Blackwell Pub, Malden, MA.
- Gates, K., Sandoval-Castillo, J., Brauer, C.J., Unmack, P.J., Laporte, M., Bernatchez, L., *et al.* (2023). Environmental selection, rather than neutral processes, best explain regional patterns of diversity in a tropical rainforest fish. *Heredity*, 130, 368–380.
- Gillooly, J., Brown, J., West, G., Savage, V. & Charnov, E. (2001). Effects of Size and Temperature on Metabolic Rate.
- Giolai, M., Paajanen, P., Verweij, W., Percival-Alwyn, L., Baker, D., Witek, K., *et al.* (2016). Targeted capture and sequencing of gene-sized DNA molecules. *BioTechniques*, 61, 315–322.
- Gnrirke, A., Melnikov, A., Maguire, J., Rogov, P., LeProust, E.M., Brockman, W., *et al.* (2009). Solution hybrid selection with ultra-long oligonucleotides for massively parallel targeted sequencing. *Nat Biotechnol*, 27, 182–189.
- Godbout, J., Gros-Louis, M., Lamothe, M. & Isabel, N. (2020). Going with the flow: Intraspecific variation may act as a natural ally to counterbalance the impacts of global change for the riparian species *Populus deltoides*. *Evol Appl*, 13, 176–194.
- Godoy, O., Gómez-Aparicio, L., Matías, L., Pérez-Ramos, I.M. & Allan, E. (2020). An excess of niche differences maximizes ecosystem functioning. *Nat Commun*, 11, 4180.
- Gonzalez, A., Germain, R.M., Srivastava, D.S., Filotas, E., Dee, L.E., Gravel, D., *et al.* (2020). Scaling-up biodiversity-ecosystem functioning research. *Ecol Lett*, 23, 757–776.
- Graur, D. & Li, W.-H. (1991). *Fundamentals of Molecular Evolution*. Massachusetts, USA.
- Hagan, J.G., Vanschoenwinkel, B. & Gamfeldt, L. (2021). We should not necessarily expect positive relationships between biodiversity and ecosystem functioning in observational field data. *Ecology Letters*, 24, 2537–2548.
- Hahn, C.Z., Niklaus, P.A., Bruelheide, H., Michalski, S.G., Shi, M., Yang, X., *et al.* (2017). Opposing intraspecific vs. interspecific diversity effects on herbivory and growth in subtropical experimental tree assemblages. *Journal of Plant Ecology*, 10, 242–251.
- Hale, H., Gardner, E.M., Viruel, J., Pokorny, L. & Johnson, M.G. (2020). Strategies for reducing per-sample costs in target capture sequencing for phylogenomics and population genomics in plants. *Appl Plant Sci*, 8.
- Hale, S.L. & Koprowski, J.L. (2018). Ecosystem-level effects of keystone species reintroduction: a literature review: Effects of keystone species reintroduction. *Restor Ecol*, 26, 439–445.
- Hamilton, A.J. (2005). Species diversity or biodiversity? *Journal of Environmental Management*, 75, 89–92.

- Hargrave, C.W., Hambricht, K.D. & Weider, L.J. (2011). Variation in resource consumption across a gradient of increasing intra- and interspecific richness. *Ecology*, 92, 1226–1235.
- Harvey, M.G., Smith, B.T., Glenn, T.C., Faircloth, B.C. & Brumfield, R.T. (2016). Sequence Capture versus Restriction Site Associated DNA Sequencing for Shallow Systematics. *Syst Biol*, 65, 910–924.
- Hassani-Pak, K. & Rawlings, C. (2017). Knowledge Discovery in Biological Databases for Revealing Candidate Genes Linked to Complex Phenotypes. *Journal of Integrative Bioinformatics*, 14.
- Hawkins, M.T.R., Hofman, C.A., Callicrate, T., McDonough, M.M., Tsuchiya, M.T.N., Gutiérrez, E.E., *et al.* (2016). In-solution hybridization for mammalian mitogenome enrichment: pros, cons and challenges associated with multiplexing degraded DNA. *Mol Ecol Resour*, 16, 1173–1188.
- Hazard, C., Kruitbos, L., Davidson, H., Taylor, A.F.S. & Johnson, D. (2017). Contrasting effects of intra- and interspecific identity and richness of ectomycorrhizal fungi on host plants, nutrient retention and multifunctionality. *New Phytol*, 213, 852–863.
- Hébert, M.-P., Beisner, B.E. & Maranger, R. (2016). A meta-analysis of zooplankton functional traits influencing ecosystem function. *Ecology*, 97, 1069–1080.
- Hébert, M.-P., Beisner, B.E. & Maranger, R. (2017). Linking zooplankton communities to ecosystem functioning: toward an effect-trait framework. *J. Plankton Res.*, 39, 3–12.
- Hector, A. & Bagchi, R. (2007). Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature*, 448, 188–190.
- Hector, A., Hautier, Y., Saner, P., Wacker, L., Bagchi, R., Joshi, J., *et al.* (2010). General stabilizing effects of plant diversity on grassland productivity through population asynchrony and overyielding. *Ecology*, 91, 2213–2220.
- Hendry, A.P. (2019). A critique for eco-evolutionary dynamics. *Funct Ecol*, 33, 84–94.
- Hersch-Green, E.I., Turley, N.E. & Johnson, M.T.J. (2011). Community genetics: what have we accomplished and where should we be going? *Phil. Trans. R. Soc. B*, 366, 1453–1460.
- Hillebrand, H., Bennett, D.M. & Cadotte, M.W. (2008). Consequences of dominance: a review of evenness effects on local and regional ecosystem processes. *Ecology*, 89, 1510–1520.
- Hillebrand, H. & Matthiessen, B. (2009). Biodiversity in a complex world: consolidation and progress in functional biodiversity research: Consolidation and progress in BDEF research. *Ecology Letters*, 12, 1405–1419.
- Hochwender, C.G. & Fritz, R.S. (2004). Plant genetic differences influence herbivore community structure: evidence from a hybrid willow system. *Oecologia*, 138, 547–557.
- Hooper, D.U., Adair, E.C., Cardinale, B.J., Byrnes, J.E.K., Hungate, B.A., Matulich, K.L., *et al.* (2012). A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. *Nature*, 486, 105–108.
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., *et al.* (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75, 3–35.
- Howe, G.T., Aitken, S.N., Neale, D.B., Jermstad, K.D., Wheeler, N.C. & Chen, T.H. (2003). From genotype to phenotype: unraveling the complexities of cold adaptation in forest trees. *Can. J. Bot.*, 81, 1247–1266.
- Hughes, A., Best, R. & Stachowicz, J. (2010). Genotypic diversity and grazer identity interactively influence seagrass and grazer biomass. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 403, 43–51.
- Hughes, A.R., Inouye, B.D., Johnson, M.T.J., Underwood, N. & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity: Ecological effects of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11, 609–623.

- Hughes, A.R. & Stachowicz, J.J. (2004). Genetic diversity enhances the resistance of a seagrass ecosystem to disturbance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101, 8998–9002.
- Hughes, J.B., Daily, G.C. & Ehrlich, P.R. (1997). Population Diversity: Its Extent and Extinction. *Science*, 278, 689–692.
- Humbert, J.-F. & Dorigo, U. (2005). Biodiversity and aquatic ecosystem functioning: A mini-review. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 8, 367–374.
- Huryn, A.D. (1998). Ecosystem-level evidence for top-down and bottom-up control of production in a grassland stream system. *Oecologia*, 115, 173–183.
- IPBES. (2019). Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services. Zenodo.
- Isbell, F., Craven, D., Connolly, J., Loreau, M., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., *et al.* (2015). Biodiversity increases the resistance of ecosystem productivity to climate extremes. *Nature*, 526, 574–577.
- Jackson, M.C., Pawar, S. & Woodward, G. (2021). The Temporal Dynamics of Multiple Stressor Effects: From Individuals to Ecosystems. *Trends in Ecology & Evolution*, 36, 402–410.
- Jahnke, M., Olsen, J.L. & Procaccini, G. (2015). A meta-analysis reveals a positive correlation between genetic diversity metrics and environmental status in the long-lived seagrass *Posidonia oceanica*. *Mol Ecol*, 24, 2336–2348.
- Jiménez-Mena, B., Flávio, H., Henriques, R., Manuzzi, A., Ramos, M., Meldrup, D., *et al.* (2022). Fishing for DNA? Designing baits for population genetics in target enrichment experiments: Guidelines, considerations and the new tool supeRbaits. *Molecular Ecology Resources*, 22, 2105–2119.
- Jing, X., Sanders, N.J., Shi, Y., Chu, H., Classen, A.T., Zhao, K., *et al.* (2015). The links between ecosystem multifunctionality and above- and belowground biodiversity are mediated by climate. *Nat Commun*, 6, 8159.
- Jones, M.R. & Good, J.M. (2016). Targeted capture in evolutionary and ecological genomics. *Mol Ecol*, 25, 185–202.
- Jouquet, P., Blanchart, E. & Capowiez, Y. (2014). Utilization of earthworms and termites for the restoration of ecosystem functioning. *Applied Soil Ecology*, 73, 34–40.
- Jump, A.S., Marchant, R. & Peñuelas, J. (2009). Environmental change and the option value of genetic diversity. *Trends in Plant Science*, 14, 51–58.
- Jung, H., Lyons, R.E., Hurwood, D.A. & Mather, P.B. (2013). Genes and growth performance in crustacean species: a review of relevant genomic studies in crustaceans and other taxa. *Reviews in Aquaculture*, 5, 77–110.
- Kahilainen, A., Puurtinen, M. & Kotiaho, J.S. (2014). Conservation implications of species–genetic diversity correlations. *Global Ecology and Conservation*, 2, 315–323.
- Khan, N., Jhariya, M.K., Banerjee, A., Meena, R.S., Raj, A. & Yadav, S.K. (2022). Riparian conservation and restoration for ecological sustainability. In: *Natural Resources Conservation and Advances for Sustainability*. Elsevier, pp. 195–216.
- Kimura, M. (1979). The Neutral Theory of Molecular Evolution. *Scientific american*, 241, 98–129.
- Kirwan, L., Connolly, J., Finn, J.A., Brophy, C., Lüscher, A., Nyfeler, D., *et al.* (2009). Diversity–interaction modeling: estimating contributions of species identities and interactions to ecosystem function. *Ecology*, 90, 2032–2038.
- Koetsier, P., Tuckett, Q. & White, J. (2007). Present effects of past wildfires on the diets of stream fish. *Western North American Naturalist*, 67, 429–438.
- Kortsch, S., Frelat, R., Pecuchet, L., Olivier, P., Putnis, I., Bonsdorff, E., *et al.* (2021). Disentangling temporal food web dynamics facilitates understanding of ecosystem functioning. *J Anim Ecol*, 90, 1205–1216.

- Kotowska, A.M., Cahill Jr, J.F. & Keddie, B.A. (2010). Plant genetic diversity yields increased plant productivity and herbivore performance: Genotypic diversity and insect performance. *Journal of Ecology*, 98, 237–245.
- Kremen, C. (2005). Managing ecosystem services: what do we need to know about their ecology?: Ecology of ecosystem services. *Ecology Letters*, 8, 468–479.
- Kremen, C. & Ostfeld, R.S. (2005). A call to ecologists: measuring, analyzing, and managing ecosystem services. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3, 540–548.
- Kyriazis, C.C., Wayne, R.K. & Lohmueller, K.E. (2021). Strongly deleterious mutations are a primary determinant of extinction risk due to inbreeding depression. *Evolution Letters*, 5, 33–47.
- Lamy, T., Laroche, F., David, P., Massol, F. & Jarne, P. (2017). The contribution of species-genetic diversity correlations to the understanding of community assembly rules. *Oikos*, 126, 759–771.
- Lavelle, P. & Spain, A.V. (2001). Soil organisms. In: *Soil ecology*. pp. 201–356.
- Lawton, J.H. (1994). What Do Species Do in Ecosystems? *Oikos*, 71, 367.
- Lefcheck, J.S., Byrnes, J.E.K., Isbell, F., Gamfeldt, L., Griffin, J.N., Eisenhauer, N., *et al.* (2015). Biodiversity enhances ecosystem multifunctionality across trophic levels and habitats. *Nat Commun*, 6, 6936.
- Lekevičius, E. & Loreau, M. (2013). Adaptability and functional stability in forest ecosystems: a hierarchical conceptual framework. *Ekologija*, 58.
- Lewin, H.A., Richards, S., Lieberman Aiden, E., Allende, M.L., Archibald, J.M., Bálint, M., *et al.* (2022). The Earth BioGenome Project 2020: Starting the clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 119, e2115635118.
- Lewin, H.A., Robinson, G.E., Kress, W.J., Baker, W.J., Coddington, J., Crandall, K.A., *et al.* (2018). Earth BioGenome Project: Sequencing life for the future of life. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 115, 4325–4333.
- Li, J., Liao, Y., Li, J. & He, L. (2020). The complete mitochondrial genome of the deep-sea amphipod *Eurythenes magellanicus* (Crustacea: Amphipoda: Lysianassidae). *Mitochondrial DNA Part B*, 5, 337–339.
- Li, X., Zhou, Z., Ding, J., Wu, Y., Zhou, B., Wang, R., *et al.* (2016). Combined Linkage and Association Mapping Reveals QTL and Candidate Genes for Plant and Ear Height in Maize. *Front. Plant Sci.*, 7.
- Loreau, M., Barbier, M., Filotas, E., Gravel, D., Isbell, F., Miller, S.J., *et al.* (2021). Biodiversity as insurance: from concept to measurement and application. *Biological Reviews*, 96, 2333–2354.
- Loreau, M. & Hector, A. (2001). Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, 412, 72–76.
- Loreau, M., Jarne, P. & Martiny, J.B.H. (2023). Opportunities to advance the synthesis of ecology and evolution. *Ecology Letters*, ele.14175.
- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., *et al.* (2001). Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current Knowledge and Future Challenges. *Science*, 294, 804–808.
- Lundberg, J. & Moberg, F. (2003). Mobile Link Organisms and Ecosystem Functioning: Implications for Ecosystem Resilience and Management. *Ecosystems*, 6, 0087–0098.
- Maestre, F.T., Quero, J.L., Gotelli, N.J., Escudero, A., Ochoa, V., Delgado-Baquerizo, M., *et al.* (2012). Plant Species Richness and Ecosystem Multifunctionality in Global Drylands. *Science*, 335, 214–218.
- Maltby, L., Clayton, S.A., Wood, R.M. & McLoughlin, N. (2002). Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: Robustness, responsiveness, and relevance. *Environ Toxicol Chem*, 21, 361–368.

- Marchiori, A.B., Bartholomei-Santos, M.L. & Santos, S. (2014). Intraspecific variation in *Aegla longirostri* (Crustacea: Decapoda: Anomura) revealed by geometric morphometrics: evidence for ongoing speciation? *Biol J Linn Soc Lond*, 112, 31–39.
- Markovic, D., Carrizo, S., Freyhof, J., Cid, N., Lengyel, S., Scholz, M., *et al.* (2014). Europe's freshwater biodiversity under climate change: distribution shifts and conservation needs. *Diversity Distrib.*, 20, 1097–1107.
- Martin, P.R. & MCKay, J.K. (2004). Latitudinal variation in genetic divergence of populations and the potential for future speciation. *Evolution*, 58, 938–945.
- Maurer, B.A. & McGill, B.J. (2011). Measurement of species diversity. *Biological diversity: frontiers in measurement and assessment*, 55–65.
- Meaney, M.J. (2010). Epigenetics and the Biological Definition of Gene × Environment Interactions. *Child Development*, 81, 41–79.
- Mertes, F., ElSharawy, A., Sauer, S., van Helvoort, J.M.L.M., van der Zaag, P.J., Franke, A., *et al.* (2011). Targeted enrichment of genomic DNA regions for next-generation sequencing. *Briefings in Functional Genomics*, 10, 374–386.
- Milner, A.M. & Gloyne-Phillips, I.T. (2005). The role of riparian vegetation and woody debris in the development of macroinvertebrate assemblages in streams. *River Res. Applic.*, 21, 403–420.
- Miró, A., Sabás, I. & Ventura, M. (2018). Large negative effect of non-native trout and minnows on Pyrenean lake amphibians. *Biological Conservation*, 218, 144–153.
- Mitton, J.B. (2003). The Union of Ecology and Evolution: Extended Phenotypes and Community Genetics. *BioScience*, 53, 208.
- Moore, A.J., Brodie, E.D. & Wolf, J.B. (1997). Interacting phenotypes and the evolutionary process: i. Direct and indirect genetic effects of social interactions. *Evolution*, 51, 1352–1362.
- Moorsel, S.J., Schmid, M.W., Wagemaker, N.C.A.M., Gulp, T., Schmid, B. & Vergeer, P. (2019). Evidence for rapid evolution in a grassland biodiversity experiment. *Mol Ecol*, 28, 4097–4117.
- Naeem, S. (Ed.). (2009). Biodiversity, ecosystem functioning, and human wellbeing: an ecological and economic perspective. Oxford biology. Oxford University Press, Oxford ; New York.
- Naeem, S., Thompson, L.J., Lawler, S.P., Lawton, J.H. & Woodfin, R.M. (1995). Empirical evidence that declining species diversity may alter the performance of terrestrial ecosystems. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 347, 249–262.
- Naeem, S. & Wright, J.P. (2003). Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: deriving solutions to a seemingly insurmountable problem. *Ecol Letters*, 6, 567–579.
- Neuhauser, C., Andow, D.A., Heimpel, G.E., May, G., Shaw, R.G. & Wagenius, S. (2003). Community genetics: expanding the synthesis of ecology and genetics. *Ecology*, 84, 545–558.
- Norberg, J., Urban, M.C., Vellend, M., Klausmeier, C.A. & Loeuille, N. (2012). Eco-evolutionary responses of biodiversity to climate change. *Nature Clim Change*, 2, 747–751.
- Nosil, P., Feder, J.L. & Gompert, Z. (2021). Biodiversity, resilience and the stability of evolutionary systems. *Current Biology*, 31, R1149–R1153.
- O'Connor, M.I., Gonzalez, A., Byrnes, J.E.K., Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gamfeldt, L., *et al.* (2017). A general biodiversity-function relationship is mediated by trophic level. *Oikos*, 126, 18–31.
- Otto, S.P. (2018). Adaptation, speciation and extinction in the Anthropocene. *Proc. R. Soc. B.*, 285, 20182047.
- Papadopoulou, A., Anastasiou, I., Spagopoulou, F., Stalimerou, M., Terzopoulou, S., Legakis, A., *et al.* (2011). Testing the Species–Genetic Diversity Correlation in the Aegean Archipelago: Toward a Haplotype-Based Macroecology? *The American Naturalist*, 178, 241–255.

- Paz-Vinas, I. & Blanchet, S. (2015). Dendritic connectivity shapes spatial patterns of genetic diversity: a simulation-based study. *J. Evol. Biol.*, 28, 986–994.
- Paz-Vinas, I., Loot, G., Stevens, V.M. & Blanchet, S. (2015). Evolutionary processes driving spatial patterns of intraspecific genetic diversity in river ecosystems. *Molecular Ecology*, 24, 4586–4604.
- Peet, R.K. (1974). The Measurement of Species Diversity. *Annual review of ecology and systematics*, 5, 285–307.
- Pennekamp, F., Pontarp, M., Tabi, A., Altermatt, F., Alther, R., Choffat, Y., *et al.* (2018). Biodiversity increases and decreases ecosystem stability. *Nature*, 563, 109–112.
- Pérez, J., Basaguren, A., López-Rojo, N., Tonin, A.M., Correa-Araneda, F. & Boyero, L. (2021). The Role of Key Plant Species on Litter Decomposition in Streams: Alder as Experimental Model. In: *The Ecology of Plant Litter Decomposition in Stream Ecosystems* (eds. Swan, C.M., Boyero, L. & Canhoto, C.). Springer International Publishing, Cham, pp. 143–161.
- Petchey, O.L., Evans, K.L., Fishburn, I.S. & Gaston, K.J. (2007). Low functional diversity and no redundancy in British avian assemblages. *J Anim Ecology*, 76, 977–985.
- Philippe, H. & Telford, M.J. (2006). Large-scale sequencing and the new animal phylogeny. *Trends in Ecology & Evolution*, 21, 614–620.
- van der Plas, F. (2019). Biodiversity and ecosystem functioning in naturally assembled communities. *Biol Rev*, brv.12499.
- Poisot, T., Mouquet, N. & Gravel, D. (2013). Trophic complementarity drives the biodiversity-ecosystem functioning relationship in food webs. *Ecol Lett*, 16, 853–861.
- Polechová, J. & Storch, D. (2008). Ecological niche. *Encyclopedia of ecology*, 2, 1088–1097.
- Power, M.E. (1992). Top-Down and Bottom-Up Forces in Food Webs: Do Plants Have Primacy. *Ecology*, 73, 733–746.
- Prieto, I., Violle, C., Barre, P., Durand, J.-L., Ghesquiere, M. & Litrico, I. (2015). Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. *Nature Plants*, 1, 15033.
- Prinzing, A., Reiffers, R., Braakhekke, W.G., Hennekens, S.M., Tackenberg, O., Ozinga, W.A., *et al.* (2008). Less lineages more trait variation: phylogenetically clustered plant communities are functionally more diverse. *Ecology Letters*, 11, 809–819.
- Prunier, J.G., Chevalier, M., Raffard, A., Loot, G., Poulet, N. & Blanchet, S. (2023). Genetic erosion reduces biomass temporal stability in wild fish populations. *Nat Commun*, 14, 4362.
- Quijas, S., Schmid, B. & Balvanera, P. (2010). Plant diversity enhances provision of ecosystem services: A new synthesis. *Basic and Applied Ecology*, 11, 582–593.
- Raffard, A., Cucherousset, J., Montoya, J.M., Richard, M., Acoca-Pidolle, S., Poésy, C., *et al.* (2021). Intraspecific diversity loss in a predator species alters prey community structure and ecosystem functions. *PLoS Biol*, 19, e3001145.
- Raffard, A., Santoul, F., Cucherousset, J. & Blanchet, S. (2019). The community and ecosystem consequences of intraspecific diversity: a meta-analysis: The ecological effects of intraspecific diversity. *Biological Reviews*, 94, 648–661.
- Reed, D.H. & Frankham, R. (2001). How closely correlated are molecular and quantitative measures of genetic variation? A meta-analysis. *Evolution*, 55, 1095–1103.
- Reich, P.B., Tilman, D., Isbell, F., Mueller, K., Hobbie, S.E., Flynn, D.F.B., *et al.* (2012). Impacts of Biodiversity Loss Escalate Through Time as Redundancy Fades. *Science*, 336, 589–592.
- Reiss, J., Bridle, J.R., Montoya, J.M. & Woodward, G. (2009). Emerging horizons in biodiversity and ecosystem functioning research. *Trends in Ecology & Evolution*, 24, 505–514.
- Reusch, T.B.H., Ehlers, A., Hämmerli, A. & Worm, B. (2005). Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 2826–2831.

- Rilov, G., Mant, R., Lyons, D., Bulleri, F., Benedetti-Cecchi, L., Kotta, J., *et al.* (2012). How strong is the effect of invasive ecosystem engineers on the distribution patterns of local species, the local and regional biodiversity and ecosystem functions? *Environ Evid*, 1, 10.
- Robinson, J.D., Diaz-Ferguson, E., Poelchau, M.F., Pennings, S., Bishop, T.D. & Wares, J. (2010). Multiscale Diversity in the Marshes of the Georgia Coastal Ecosystems LTER. *Estuaries and Coasts*, 33, 865–877.
- Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F.S., Lambin, E.F., *et al.* (2009a). A safe operating space for humanity. *Nature*, 461, 472–475.
- Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F.S.I., Lambin, E., *et al.* (2009b). Planetary Boundaries: Exploring the Safe Operating Space for Humanity. *E&S*, 14, art32.
- Roque, F.O., Corrêa, E.C., Valente-Neto, F., Stefan, G., Schulz, G., Barbosa Souza, P.R., *et al.* (2017). Idiosyncratic responses of aquatic and terrestrial insects to different levels of environmental integrity in riparian zones in a karst tropical dry forest region: Insect response to karst tropical dry forests. *Austral Entomology*, 56, 459–465.
- Rota, T., Jabiol, J., Chauvet, E. & Lecerf, A. (2018). Phenotypic determinants of inter-individual variability of litter consumption rate in a detritivore population. *Oikos*, 127, 1670–1678.
- Rudman, S.M., Barbour, M.A., Csilléry, K., Gienapp, P., Guillaume, F., Hairston Jr, N.G., *et al.* (2017). What genomic data can reveal about eco-evolutionary dynamics. *Nat Ecol Evol*, 2, 9–15.
- Schilling, S., Pan, S., Kennedy, A. & Melzer, R. (2018). MADS-box genes and crop domestication: the jack of all traits. *Journal of Experimental Botany*, 69, 1447–1469.
- Schleuning, M., García, D. & Tobias, J.A. (2023). Animal functional traits: Towards a trait-based ecology for whole ecosystems. *Functional Ecology*, 37, 4–12.
- Schlötterer, C., Tobler, R., Kofler, R. & Nolte, V. (2014). Sequencing pools of individuals — mining genome-wide polymorphism data without big funding. *Nat Rev Genet*, 15, 749–763.
- Schmid, B., Balvanera, P., Cardinale, B.J., Godbold, J., Pfisterer, A.B., Raffaelli, D., *et al.* (2009). Consequences of species loss for ecosystem functioning: meta-analyses of data from biodiversity experiments. In: *Biodiversity, Ecosystem Functioning, and Human Wellbeing* (eds. Naeem, S., Bunker, D.E., Hector, A., Loreau, M. & Perrings, C.). Oxford University Press Oxford, pp. 14–29.
- Schmidt, C., Dray, S. & Garroway, C.J. (2022). Genetic and species-level biodiversity patterns are linked by demography and ecological opportunity. *Evolution*, 76, 86–100.
- Schöb, C., Kerle, S., Karley, A.J., Morcillo, L., Pakeman, R.J., Newton, A.C., *et al.* (2015). Intraspecific genetic diversity and composition modify species-level diversity–productivity relationships. *New Phytol*, 205, 720–730.
- Schoener, T.W. (2011). The Newest Synthesis: Understanding the Interplay of Evolutionary and Ecological Dynamics. *Science*, 331, 426–429.
- Seibold, S., Cadotte, M.W., Maclvor, J.S., Thorn, S. & Müller, J. (2018). The Necessity of Multitrophic Approaches in Community Ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 33, 754–764.
- Shokralla, S., Gibson, J., King, I., Baird, D., Janzen, D., Hallwachs, W., *et al.* (2016). Environmental DNA Barcode Sequence Capture: Targeted, PCR-free Sequence Capture for Biodiversity Analysis from Bulk Environmental Samples (preprint). Genomics.
- Siefert, A., Violle, C., Chalmandrier, L., Albert, C.H., Taudiere, A., Fajardo, A., *et al.* (2015). A global meta-analysis of the relative extent of intraspecific trait variation in plant communities. *Ecology Letters*, 18, 1406–1419.
- Skovmand, L.H., Xu, C.C.Y., Servedio, M.R., Nosil, P., Barrett, R.D.H. & Hendry, A.P. (2018). Keystone Genes. *Trends in Ecology & Evolution*, 33, 689–700.

- Small, R.L., Cronn, R.C. & Wendel, J.F. (2004). Use of nuclear genes for phylogeny reconstruction in plants. *Aust. Systematic Bot.*, 17, 145.
- Sobral, M. (2021). All Traits Are Functional: An Evolutionary Viewpoint. *Trends in Plant Science*, 26, 674–676.
- Soliveres, S., van der Plas, F., Manning, P., Prati, D., Gossner, M.M., Renner, S.C., *et al.* (2016). Biodiversity at multiple trophic levels is needed for ecosystem multifunctionality. *Nature*, 536, 456–459.
- Spielman, D., Brook, B.W. & Frankham, R. (2004). Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101, 15261–15264.
- Srivastava, D.S., Cadotte, M.W., MacDonald, A.A.M., Marushia, R.G. & Mirotchnick, N. (2012). Phylogenetic diversity and the functioning of ecosystems. *Ecology Letters*, 15, 637–648.
- Stange, M., Barrett, R.D.H. & Hendry, A.P. (2021). The importance of genomic variation for biodiversity, ecosystems and people. *Nat Rev Genet*, 22, 89–105.
- Start, D. & Gilbert, B. (2017). Predator personality structures prey communities and trophic cascades. *Ecol Lett*, 20, 366–374.
- Steffen, W., Crutzen, P.J. & McNeill, J.R. (2007). The Anthropocene: are humans now overwhelming the great forces of nature. *Ambio-Journal of Human Environment Research and Management*, 36, 614–621.
- Stringer, D.N., Bertozzi, T., Meusemann, K., Delean, S., Guzik, M.T., Tierney, S.M., *et al.* (2021). Development and evaluation of a custom bait design based on 469 single-copy protein-coding genes for exon capture of isopods (Philosciidae: Haloniscus). *PLoS ONE*, 16, e0256861.
- Strong, J.A., Andonegi, E., Bizsel, K.C., Danovaro, R., Elliott, M., Franco, A., *et al.* (2015). Marine biodiversity and ecosystem function relationships: The potential for practical monitoring applications. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 161, 46–64.
- Struk, A.A., Mugon, J., Huston, A., Scholer, A.A., Stadler, G., Higgins, E.T., *et al.* (2019). Self-regulation and the foraging gene (PRKG1) in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 116, 4434–4439.
- Swart, R.C., Samways, M.J. & Roets, F. (2020). Tree canopy arthropods have idiosyncratic responses to plant ecophysiological traits in a warm temperate forest complex. *Sci Rep*, 10, 19905.
- Szulkin, M., Bierne, N. & David, P. (2010). HETEROZYGOSITY-FITNESS CORRELATIONS: A TIME FOR REAPPRAISAL. *Evolution*.
- Taberlet, P., Zimmermann, N.E., Englisch, T., Tribsch, A., Holderegger, R., Alvarez, N., *et al.* (2012). Genetic diversity in widespread species is not congruent with species richness in alpine plant communities. *Ecol Lett*, 15, 1439–1448.
- Tagg, N., Innes, D.J. & Doncaster, C.P. (2005). Outcomes of reciprocal invasions between genetically diverse and genetically uniform populations of *Daphnia obtusa* (Kurz). *Oecologia*, 143, 527–536.
- Tang, T., Zhang, N., Bongers, F.J., Staab, M., Schuldt, A., Fornoff, F., *et al.* (2022). Tree species and genetic diversity increase productivity via functional diversity and trophic feedbacks. *eLife*, 11, e78703.
- Thébault, E. & Loreau, M. (2003). Food-web constraints on biodiversity–ecosystem functioning relationships. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100, 14949–14954.
- Thébault, E. & Loreau, M. (2005). Trophic Interactions and the Relationship between Species Diversity and Ecosystem Stability. *The American Naturalist*, 166, E95–E114.
- Thompson, P.L., Davies, T.J. & Gonzalez, A. (2015). Ecosystem Functions across Trophic Levels Are Linked to Functional and Phylogenetic Diversity. *PLoS ONE*, 10, e0117595.
- Thompson, P.L., Isbell, F., Loreau, M., O'Connor, M.I. & Gonzalez, A. (2018). The strength of the biodiversity–ecosystem function relationship depends on spatial scale. *Proc. R. Soc. B.*, 285, 20180038.

- Tilman, D. (2001). Functional Diversity. In: *Encyclopedia of Biodiversity*. Elsevier, pp. 587–596.
- Tilman, D., Isbell, F. & Cowles, J.M. (2014). Biodiversity and Ecosystem Functioning. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 45, 471–493.
- Tilman, D., Lehman, C.L. & Thomson, K.T. (1997). Plant diversity and ecosystem productivity: Theoretical considerations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 94, 1857–1861.
- Tilman, D., Reich, P.B. & Knops, J.M.H. (2006). Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature*, 441, 629–632.
- Tornwall, B., Sokol, E., Skelton, J. & Brown, B. (2015). Trends in Stream Biodiversity Research since the River Continuum Concept. *Diversity*, 7, 16–35.
- Turnbull, L.A., Isbell, F., Purves, D.W., Loreau, M. & Hector, A. (2016). Understanding the value of plant diversity for ecosystem functioning through niche theory. *Proc. R. Soc. B.*, 283, 20160536.
- Twomey, M., Brodte, E., Jacob, U., Brose, U., Crowe, T.P. & Emmerson, M.C. (2012). Idiosyncratic species effects confound size-based predictions of responses to climate change. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 367, 2971–2978.
- Van Der Lee, G.H., Kraak, M.H.S., Verdonschot, R.C.M., Vonk, J.A. & Verdonschot, P.F.M. (2017). Oxygen drives benthic-pelagic decomposition pathways in shallow wetlands. *Sci Rep*, 7, 15051.
- Vannote, R.L., Minshall, G.W., Cummins, K.W., Sedell, J.R. & Cushing, C.E. (1980). The River Continuum Concept. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37, 130–137.
- Vellend, M. (2005). Species Diversity and Genetic Diversity: Parallel Processes and Correlated Patterns. *The American Naturalist*, 166, 199–215.
- Vellend, M. & Geber, M.A. (2005). Connections between species diversity and genetic diversity: Species diversity and genetic diversity. *Ecology Letters*, 8, 767–781.
- Vellend, M. & Orrock, J.L. (2009). Ecological and genetic models of diversity: Lessons across disciplines. *The theory of island biogeography revisited*. Princeton University Press, Princeton, 439–461.
- Via, S. & Lande, R. (1985). Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution*, 39, 505–522.
- Vinson, M.R. & Hawkins, C.P. (1998). Biodiversity of Stream Insects: Variation at Local, Basin, and Regional Scales. *Annu. Rev. Entomol.*, 43, 271–293.
- Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., *et al.* (2007). Let the concept of trait be functional! *Oikos*, 116, 882–892.
- Voltaire, F., Gleason, S.M. & Delzon, S. (2020). What do you mean “functional” in ecology? Patterns versus processes. *Ecology and Evolution*, 10, 11875–11885.
- Wade, M.J. (2003). Community genetics and species interactions. *Ecology*, 84, 583–585.
- Walker, T.D. & Valentine, J.W. (1984). Equilibrium Models of Evolutionary Species Diversity and the Number of Empty Niches. *The American Naturalist*, 124, 887–899.
- Wallace, J.B. & Webster, J.R. (1996). The Role of Macroinvertebrates in Stream Ecosystem Function. *Annu. Rev. Entomol.*, 41, 115–139.
- Wang, S. & Brose, U. (2018). Biodiversity and ecosystem functioning in food webs: the vertical diversity hypothesis. *Ecol Lett*, 21, 9–20.
- Wang, X.Y., Shen, D.W., Jiao, J., Xu, N.N., Yu, S., Zhou, X.F., *et al.* (2012). Genotypic diversity enhances invasive ability of *Spartina alterniflora*. *Molecular Ecology*, 21, 2542–2551.
- Wardle, D.A. (2016). Do experiments exploring plant diversity-ecosystem functioning relationships inform how biodiversity loss impacts natural ecosystems? *J Veg Sci*, 27, 646–653.
- Webb, C.O., Ackerly, D.D., McPeck, M.A. & Donoghue, M.J. (2002). Phylogenies and Community Ecology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 33, 475–505.

- Westgate, M.J., Barton, P.S., Lane, P.W. & Lindenmayer, D.B. (2014). Global meta-analysis reveals low consistency of biodiversity congruence relationships. *Nat Commun*, 5, 3899.
- Whitham, T.G., Bailey, J.K., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., Bangert, R.K., LeRoy, C.J., *et al.* (2006). A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. *Nat Rev Genet*, 7, 510–523.
- Whitham, T.G., Young, W.P., Martinsen, G.D., Gehring, C.A., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., *et al.* (2003). Community and ecosystem genetics: a consequence of the extended phenotype. *Ecology*, 84, 559–573.
- Whitlock, R. (2014). Relationships between adaptive and neutral genetic diversity and ecological structure and functioning: a meta-analysis. *J Ecol*, 102, 857–872.
- Woods, T., Comte, L., Tedesco, P.A. & Giam, X. (2020). Testing the diversity–biomass relationship in riverine fish communities. *Global Ecol. Biogeogr.*, 29, 1743–1757.
- Woodward, G., Bonada, N., Brown, L.E., Death, R.G., Durance, I., Gray, C., *et al.* (2016). The effects of climatic fluctuations and extreme events on running water ecosystems. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 371, 20150274.
- Wu, D., Xu, C., Wang, S., Zhang, L. & Kortsch, S. (2023). Why are biodiversity–ecosystem functioning relationships so elusive? Trophic interactions may amplify ecosystem function variability. *Journal of Animal Ecology*, 92, 367–376.
- Wuest, S.E. & Niklaus, P.A. (2018). A plant biodiversity effect resolved to a single chromosomal region. *Nat Ecol Evol*, 2, 1933–1939.
- Wymore, A.S., Keeley, A.T.H., Yturralde, K.M., Schroer, M.L., Propper, C.R. & Whitham, T.G. (2011). Genes to ecosystems: exploring the frontiers of ecology with one of the smallest biological units. *New Phytologist*, 191, 19–36.
- Xie, L., Yang, Y., Li, Y., Chen, S., Feng, Y., Wang, N., *et al.* (2021). A Meta-Analysis Indicates Positive Correlation between Genetic Diversity and Species Diversity. *Biology*, 10, 1089.
- Yachi, S. & Loreau, M. (1999). Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 96, 1463–1468.
- Zhou, L. & Holliday, J.A. (2012). Targeted enrichment of the black cottonwood (*Populus trichocarpa*) gene space using sequence capture. *BMC Genomics*, 13, 703.
- Zouros, E. (1987). On the relation between heterozygosity and heterosis: an evaluation of the evidence from marine mollusks. *Isozymes*, 15, 255–270.