



Université Claude Bernard



Lyon 1



HABILITATION À DIRIGER DES RECHERCHES

soutenue le 25 avril 2019
à l'Université Claude Bernard - LYON I
numéro d'ordre 013 2019

Ecotoxicologie des populations chez le crustacé d'eau douce *Gammarus sp.*

Arnaud Chaumot

Irstea
Unité de recherche RiverLy
Laboratoire d'écotoxicologie
Centre de Lyon – Villeurbanne

Jury :	Michel Auffret, Université de Bretagne Occidentale	Rapporteur
	Thierry Caquet, INRA	Examineur
	Marie-Agnès Coutellec, INRA	Rapporteuse
	Christophe Douady, Université Lyon 1	Examineur
	Sami Souissi, Université de Lille	Rapporteur

Avant-propos

Je tiens tout d'abord à remercier Marie-Agnès Coutellec, Michel Auffret et Sami Souissi d'avoir accepté avec enthousiasme d'être rapporteurs de ce mémoire rédigé pour l'obtention de l'Habilitation à Diriger des Recherches. Je remercie également Thierry Caquet et Christophe Douady de venir poser leur regard en tant qu'examineurs sur les travaux et pistes de recherche qui y sont synthétisés et discutés.

Evidemment ces travaux qui s'étendent sur plus d'une dizaine d'années de recherche ne peuvent être que le fruit d'une aventure scientifique et humaine collective. Je remercie tout d'abord le Cemagref devenu Irstea, institut qui m'a offert un cadre propice au développement d'activités de recherche dans la continuité, épargné à mes débuts de l'urgence de la rentabilité de publication. Cet environnement qui se fait rare aujourd'hui nous a permis de faire le choix de stratégies de recherche construites sur le long terme pour traiter d'enjeux scientifiques, je l'espère ambitieux. Je dis « nous » car on comprendra aisément à la lecture de ce mémoire que je n'ai pas opté pour un parcours solitaire mais pour une épopée en duo avec mon collègue Olivier. Faisant peu de cas des incantations à la visibilité scientifique, acceptant les compromis thématiques, la modification de nos agendas de recherche, je crois que nous avons fait jouer à plein la complémentarité de nos profils de formation, de compétences et de caractère dans ce domaine de l'écotoxicologie. Je remercie sincèrement mon labo, les vieux brisquards qui m'accompagnent depuis un bon bout de temps maintenant, et les arrivés depuis peu. Merci de votre confiance collective et individuelle dans les directions scientifiques que nous avons suivies au cours de ces années. Aujourd'hui, j'ai la chance rare d'être un chercheur qui est fier d'appartenir à son laboratoire. Naturellement, l'ensemble des travaux présentés ici s'appuie sur l'adhésion enthousiaste, précieuse et infaillible de toute une lignée d'étudiants plus que de passage dans mon parcours ; ces « gammarid bastards » (comme se sont baptisés certains d'entre eux) reconnaîtront chacun ici la pierre qu'ils ont amenée à l'histoire scientifique que je retrace dans ce mémoire.

Ecotoxicologie des populations chez le crustacé d'eau douce *Gammarus sp.*

SOMMAIRE

Introduction	9
Modèles de dynamique de population et sensibilité démographique	15
Développements méthodologiques autour des modèles de Leslie	17
Phénologie des espèces et sensibilité populationnelle.....	33
Evaluation de la toxicité des milieux pour les niveaux populationnels	45
Revenir aux individus.....	45
Extrapoler.....	55
Diversité des populations de gammaridés et vulnérabilité à la pression toxique.....	63
Variabilité inter/intra-spécifique de la sensibilité chez <i>Gammarus</i>	64
Capacités d'adaptation des populations et effets long terme	76
Perspectives.....	89
Se tourner vers les mécanismes	89
Une écotoxicologie des milieux pour mieux appréhender le risque écologique	95
Références bibliographiques	105
Annexes	111
Curriculum vitae	111
Publications choisies	123

INTRODUCTION

Positionnement

« Ecotoxicologie des populations » - j'ai longtemps hésité à intituler ce mémoire par cette formulation qui pour le plus averti des écotoxicologues doit apparaître comme étant proche d'un pléonasme. En effet, comme définie par Chapman (2002) dans son célèbre « putting the 'eco' into ecotoxicology », l'écotoxicologie poursuit l'objectif d'une compréhension ou d'une prédiction des effets des contaminations chimiques sur les populations et communautés biologiques naturelles. Les études sur les effets des contaminants qui ne s'inscrivent pas dans un objectif tourné vers ces niveaux d'organisation biologique supérieurs relèvent quant à elles de la toxicologie environnementale. Toute approche qui se veut éco-toxicologique relève donc implicitement d'une « Ecotoxicologie des populations ». Pourtant j'ai envie de promouvoir cette formulation qui souligne au mieux l'angle général que j'ai adopté au cours de mes travaux de recherche dans le domaine de l'étude des effets biologiques des contaminants dans les milieux aquatiques. J'ai hérité ce « positionnement populationnel » de mes années de formation en écologie et biologie évolutive à l'université Claude Bernard Lyon 1, où sous l'imprégnation de l'ex laboratoire de Biométrie Génétique & Biologie des Populations, j'ai été enthousiasmé par une vision quantitative de la biologie qui choisit la population comme cadre de lecture du vivant. Cette écologie des populations^a recourt à la modélisation mathématique dynamique ou statistique, se rapprochant ainsi avec des méthodes développées en démographie^b ou en agronomie^c, domaines de prédilection initiaux de la biométrie qui a fait le liant des diverses facettes de ma formation et des travaux que j'ai pu mener au cours de ma carrière. Choisir l'angle populationnel permet d'appréhender dans un même cadre les phénomènes biologiques du maintien, du développement, de la reproduction des êtres vivants dans leur environnement, de leurs interactions, mais aussi de la génétique et de l'hérédité de leurs caractères. A la base notamment de la théorie synthétique de l'évolution néodarwiniste, c'est notamment via cet angle populationnel et quantitatif que l'on appréhende aujourd'hui les questions du maintien des espèces, de leur diversité, de leur évolution, de leur adaptation aux conditions de milieux, allant jusqu'à la prédiction de leur devenir dans un contexte de fortes variations environnementales liées aux activités humaines.

Quand je suis amené à positionner succinctement mes activités de recherche, je déclare que j'étudie les effets populationnels des contaminations chimiques aquatiques. Il s'agit en fait d'un raccourci, peut-être même un peu abusif car on s'apercevra à la lecture de ce mémoire que je n'ai

^a L'ouvrage « *Ecologie des peuplements – structure et dynamique de la biodiversité* » de Robert Barbault que j'avais acheté et dévoré étant étudiant traîne encore sur mes étagères.

^b J'avais été amusé de retrouver Thomas Malthus dans mes cours d'écologie sur les modèles de dynamique des populations alors que je l'avais perdu de vue ce pasteur démographe depuis mes cours d'histoire-géo du lycée sur l'évolution démographique mondiale. J'ai aussi mis quelques années à découvrir le démographe Pierre-François Verhulst qui se cachait derrière le modèle logistique et les fameux r et K de l'écologie. C'est encore par hasard en révisant mes cours de génét⁷ des pops que je suis tombé sur l'ouvrage d'Albert Jacquard « *Concepts en génétique des populations* » au rayon démographie humaine d'une BU, et c'est avec délectation qu'à sa lecture, j'ai pu avoir le sentiment de partager un cadre de pensée, un dialecte commun avec cet humaniste dont je buvais par ailleurs les paroles dans les médias.

^c Je me souviens des séances de TP de mesure de cocons de vers à soie chers à Jean-Marie Legay pour illustrer la régression linéaire, l'analyse de variance, ...

en réalité que peu regardé les populations en milieu contaminé, en tout cas peu à une échelle réellement populationnelle (mesure de densité, structure de population, espérance de vie, polymorphisme, ...). Pour être donc plus précis, les travaux que je développe ont pour point commun de replacer dans un cadre populationnel, les éléments de la démarche d'évaluation de la toxicité de la contamination chimique des milieux aquatiques pour les espèces animales. Avec l'œil de la dynamique des populations, de la biologie comparative, voire de la biologie évolutive, je m'attache à pointer quels effets toxiques sont les plus prépondérants pour le devenir des populations une fois intégrés dans leur fonctionnement démographique, ou encore quelles sont les incertitudes dans l'évaluation du danger toxique induites par le choix de travailler sur une population modèle au regard de la diversité des populations des milieux et notamment de leur capacité à évoluer dans le temps. C'est en cela que la formulation « Ecotoxicologie des populations » traduit bien la nature de mes travaux. J'avais initialement pensé lors de mon recrutement au laboratoire d'écotoxicologie (du Cemagref à l'époque) que j'y développerai des travaux d'écologie, de biologie des populations en choisissant le stress toxique comme un simple cas d'étude de contrainte environnementale. En fait, je conduis aujourd'hui une recherche qui relève intrinsèquement de l'écotoxicologie – je m'intéresse à la notion de sensibilité, j'aborde les domaines de l'évaluation du danger toxique, du risque lié à la contamination chimique, de diagnostic, de surveillance – avec comme première intention de rendre cette écotoxicologie « écologiquement pertinente » pour reprendre un anglicisme très utilisé dans la littérature.

Mes travaux de recherche visent ainsi à apporter des éléments de compréhension du danger toxique au regard de la sensibilité des espèces, en posant comme hypothèse qu'il faut étendre cette notion de sensibilité spécifique au-delà de la simple réponse des individus, en y intégrant grâce au cadre de la population des déterminismes de la sensibilité relevant d'un autre niveau d'organisation biologique ou d'autres échelles temporelles.

Contexte

Se pose alors la question du choix du modèle biologique pour s'attaquer à cette problématique d'une extension de la notion de sensibilité des espèces au-delà de l'échelle individuelle. Après avoir développé des approches méthodologiques théoriques dans le cadre de mes travaux de thèse en modélisation des dynamiques de population, j'ai abordé ces questions populationnelles de façon plus expérimentales depuis mon recrutement au laboratoire d'écotoxicologie du Cemagref en 2006. Le laboratoire dirigé à l'époque par Jeanne Garric avait déjà fait le choix d'une inflexion forte vers l'étude ciblée de quelques espèces de macro-invertébrés aquatiques choisies parmi les communautés naturelles présentes dans nos cours d'eau. Au-delà de la position clé occupée par les invertébrés dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques lotiques, de la disponibilité de nombreuses connaissances sur leur écologie, sur les assemblages de leurs communautés, ce choix avait été dicté par la volonté d'être en capacité de mener des démarches expérimentales aussi bien au laboratoire que sur le terrain, et surtout de pouvoir mettre en regard des réponses toxicologiques relevées aux échelles individuelles avec des patrons de réponses au niveau des populations. C'est ainsi que j'ai pu développer ma problématique de recherche sur la notion de sensibilité populationnelle en m'appuyant et en contribuant aux travaux menés au niveau individuel en écotoxicologie et écophysiologie chez les espèces modèles de mon laboratoire. Parmi celles-ci, une forte synergie s'est mise en place autour du gammare, crustacé choisi comme modèle d'étude par

Olivier Geffard dans le cadre du développement d'approches d'écotoxicologie notamment pour la surveillance des milieux^d. Les Gammaridés du genre *Gammarus* ont constitué pour moi des espèces propices pour travailler à cette interface entre écotoxicologie et écologie. En effet, ces espèces d'amphipodes sont très étudiées en écologie du fait qu'elles sont omniprésentes et qu'elles jouent un rôle clé dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques lotiques, avec une action importante dans le processus de décomposition de la matière et constituent un élément essentiel des réseaux trophiques. Par ailleurs, les Gammaridés sont connus pour être extrêmement sensibles aux contaminants chimiques. Ce sont des espèces aujourd'hui largement utilisées en écotoxicologie, que ce soit au laboratoire ou sur le terrain, et mon laboratoire est aujourd'hui reconnu pour avoir contribué à promouvoir l'utilisation de ces espèces à des fins de surveillance des milieux. Enfin, du fait de la large répartition géographique de ces espèces, présentes dans une grande diversité d'habitats, ou encore de la forte diversité phylogénétique au sein du genre *Gammarus*, mon intérêt pour les Gammaridés a été renforcé car ils me permettent d'aborder les questions de variabilité entre populations de la sensibilité aux contaminations chimiques en développant des approches de biologie comparative au cœur de cette diversité.

Cadre conceptuel

Le premier aspect auquel se sont attachés mes travaux de recherche a donc été le développement et l'utilisation de modèles de dynamique de population pour traiter de la problématique du changement de niveau d'organisation biologique individu / population en écotoxicologie. L'idée générale (assez classique dans le domaine de la modélisation des systèmes dynamiques) est que lors de l'étude des effets d'une perturbation (*e.g.* la toxicité d'une contamination), on ne peut pas comprendre totalement les réponses d'un niveau intégré (*e.g.* les effets sur la démographie d'une population) en ne s'appuyant que sur une description dissociée de la perturbation des niveaux élémentaires sous-jacents (*e.g.* les effets sur les performances reproductives, sur la survie, sur la croissance des individus). Cette émergence des impacts au niveau intégré s'explique par des interactions entre processus dynamiques qui aboutissent à des phénomènes d'amplification relative des différentes perturbations élémentaires ou encore d'amortissement de celles-ci. Dans le domaine de l'écotoxicologie, van Straalen (1994) a ainsi proposé que la vulnérabilité des espèces vis-à-vis du stress toxique ne peut se comprendre ou être prédite si on ne met pas en regard de la sensibilité toxicologique des espèces, une notion de capacité à « encaisser » démographiquement la perturbation au niveau populationnel, en lien principalement avec l'histoire de vie des espèces. S'inspirant de ce modèle, Rubach et al (2011) ont formalisé un cadre conceptuel mécaniste proche de la vision de van Straalen, où les caractéristiques biologiques des populations expliquant leur vulnérabilité face à la contamination, s'organisent en trois dimensions (Figure 1). D'un côté, on trouve les éléments conditionnant l'exposition aux contaminants dans le milieu de vie (comportement, mode de vie, phénologie, ...). Ensuite, viennent ceux explicatifs d'une sensibilité intrinsèque des individus en lien d'une part avec leurs facultés à accumuler et gérer les contaminants et en lien d'autre part avec les processus de toxicité moléculaire et les effets physiologiques associés. Enfin sont regroupées dans une troisième dimension les

^d Ce choix d'espèce avait été pour moi une réminiscence joyeuse des séances de travaux pratiques d'hydrobiologie d'Henri Tachet que j'avais suivies au cours de ma formation à Lyon 1 et au cours desquelles j'avais été frappé par l'existence d'une telle biodiversité cachée sous les cailloux et les mousses des petits cours d'eau dans lesquels j'avais pataugé plus jeune dans le Berry, en Dordogne, en Auvergne ou encore en Ardèche.

caractéristiques de cycle de vie, de stratégie reproductive qui se traduisent en une capacité plus ou moins grande à soutenir, à amortir démographiquement les perturbations des processus de survie, de production et de recrutement d'individus dans la population. Débordant du cadre strictement populationnel, ces auteurs influencés par une vision batave du milieu aquatique (réseaux de canaux interconnectés) ont également adjoint à cette dimension démographique, les caractéristiques de dispersion pouvant soutenir des dynamiques d'extinction / recolonisation de type métapopulation. Comme souligné par van Straalen (1994) ces processus relèvent plus du maintien de l'espèce à une échelle régionale que de celui de la population *s.s.* Sur la Figure 1, j'ai souligné dans ce schéma mécaniste de la vulnérabilité des populations, deux ensembles distincts, sensibilité individuelle et sensibilité démographique, qui une fois combinées constituent pour moi ce que j'appellerai par la suite la sensibilité populationnelle dans ce mémoire. C'est autour de cette notion et avec en tête ce découpage en deux facettes, que j'ai conduit les différents travaux qui seront exposés ici.

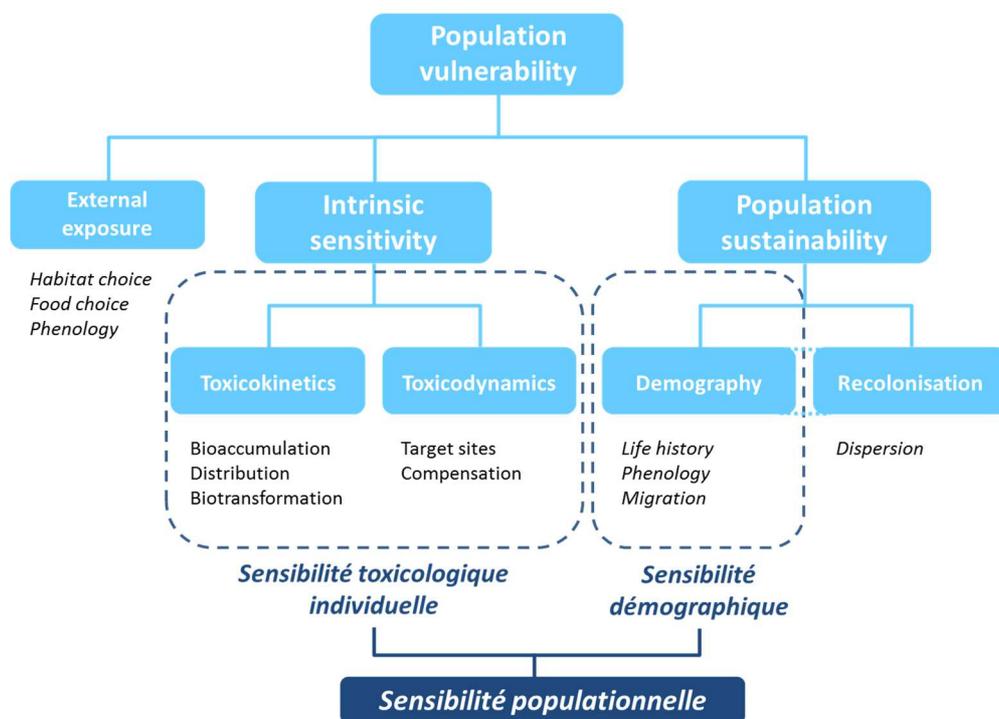


Figure 1. Modèle conceptuel des déterminants de la vulnérabilité des populations vis à vis du stress toxique adapté du modèle proposé par Rubach et al (2011). Les modifications apportées (en italique et pointillés) permettent de mettre en avant les notions de sensibilités individuelle et démographique qui sous-tendent la notion de sensibilité populationnelle telle que je la définis dans mes travaux.

^o Cette extension de la définition de la vulnérabilité populationnelle hors du cadre populationnel *s.s.* s'explique en partie par le fait que ces auteurs étudient principalement les effets de courts pics de traitements pesticides dans des paysages agricoles hollandais abritant des populations d'invertébrés aquatiques pour lesquelles les processus démographiques se font aux mêmes échelles de temps que celles des dynamiques de dispersion entre habitats très fortement connectés.

Contenu

Dans ce mémoire, je présenterai dans un premier temps les travaux de modélisation que j'ai menés en dynamique de populations et qui ont visé à expliciter la notion de **sensibilité démographique** des populations. Au-delà de considérer des espèces modèles de laboratoire, je me suis attaché à développer cette approche spécifiquement chez des espèces d'invertébrés d'intérêt environnemental comme le gammare dont j'ai pu décrire les dynamiques démographiques *in situ*. C'est ce qui m'a poussé à proposer des modèles de population particuliers qui tiennent compte de la **phénologie** des espèces dans leur environnement, intégration qui est apparue comme essentielle pour l'évaluation de l'impact démographique de la toxicité des milieux pour les populations naturelles.

Dans un deuxième temps, soulignant ma contribution au sein de mon laboratoire au développement d'une méthodologie de **biosurveillance active** utilisant l'espèce *Gammarus fossarum*, je montrerai comment ces modèles d'extrapolation des effets individuels au niveau populationnel peuvent s'intégrer dans une démarche d'évaluation *in situ* de la toxicité des milieux. Ces travaux recentrés autour de l'étude de réponses individuelles et proches de l'écophysiologie, se sont mis en place dans mon parcours du fait que j'ai eu recours aux méthodologies d'encagement et de mesures de traits d'histoire de vie pour l'étude des dynamiques de population chez cette espèce, méthodologies développées initialement par Olivier Geffard dans l'objectif d'une mise en œuvre de bioessais *in situ* pour l'évaluation de la toxicité des milieux. Venant de la biométrie, j'ai contribué en retour à améliorer l'interprétation et l'opérationnalité de ces protocoles de bioessais *in situ* en modélisant l'effet de la variabilité environnementale sur les réponses biologiques individuelles utilisées comme marqueurs de toxicité. Ce « diverticule » dans mes activités de recherche m'a même embarqué dans l'aventure Biomæ dans le cadre d'un transfert de ces connaissances vers la sphère opérationnelle^f.

Dans un troisième temps, je présenterai comment par une approche comparative, j'ai abordé la notion de **variabilité entre populations** de la sensibilité au contaminant, bénéficiant pour cela de la grande **diversité** écologique et phylogénétique du genre *Gammarus*. Rattrapé par mon penchant pour la biologie évolutive^g, cet examen des différences de sensibilité entre populations m'a amené à développer également des travaux traitant des effets à long terme et des **capacités d'adaptation** à la contamination métallique des populations de gammares. Alors que van Straalen (1994) avait déjà identifié que cette capacité adaptative devait être prise en compte dans les déterminants de la vulnérabilité des espèces, la problématique générale traitée ici est de savoir si comme le propose implicitement le schéma de Rubach et al (2011) (Figure 1) ou comme c'est le cas dans les démarches actuelles d'évaluation du risque pour les écosystèmes, on peut ignorer totalement la dimension évolutive dans l'examen de la vulnérabilité des populations face au stress chimique. Des modifications des caractéristiques biologiques ou des processus sous-jacents à la sensibilité toxicologique et/ou démographique peuvent-elles potentiellement s'opérer lors d'expositions prolongées aux contaminants sur plusieurs générations, et ainsi fortement altérer l'évaluation de cette vulnérabilité des populations au stress toxique ?

^f <http://www.biomae.com>

^g J'ai réalisé un post-doc de 2 ans au sein de l'équipe de zoologie moléculaire de Vincent Laudet à l'Institut de Génétique Fonctionnelle de Lyon, où j'ai travaillé avec François Bonneton sur l'évolution moléculaire des récepteurs d'hormones chez les insectes en recourant à des approches de modélisation en phylogénie.

Introduction

Enfin dans une dernière partie plus prospective, je ferai état de ma réflexion et des premiers travaux engagés toujours chez les Gammaridés pour confronter les patrons de réponses à la toxicité des cours d'eaux nationaux, observés aux échelles individuelles (indicateurs écotoxicologiques) à l'observation de l'état des populations au sein des communautés écologiques en place. En ayant comme point de convergence le niveau populationnel, cette démarche qui vise à avancer dans les capacités prédictives des approches d'écotoxicologie vis-à-vis des impacts à des niveaux d'organisation supérieurs doit à mon sens permettre de faire se rejoindre les démarches d'évaluation *a priori* du risque écologique encouru du fait de la contamination chimique environnementale et les approches de diagnostic des impacts de la toxicité de cette contamination au sein des milieux aquatiques.

Pourquoi des modèles de populations en écotoxicologie ?

Dans les années 2000s, l'écotoxicologie a affiché clairement devoir changer de nature et d'objectifs en se questionnant sur la pertinence écologique de l'évaluation du risque qu'elle propose (Chapman 2002, Van Straalen 2003, Relyea & Hoverman 2006). La question posée à l'écotoxicologie ne se limite alors plus uniquement au classement des substances retrouvées dans l'environnement sur une échelle de dangerosité en fonction de résultats de tests de toxicité sur des individus isolés au laboratoire. Identifier, comprendre et prédire les effets actuels ou potentiels de la contamination chimique des milieux sur les populations des biocénoses est devenu un enjeu de la discipline. En écho, on peut noter que les grandes réglementations cadrant la gestion du risque environnemental lié à l'émission des composés chimiques par les activités anthropiques (*e.g.* réglementation REACH et Directive Cadre sur l'Eau (DCE) en Europe) ont posé alors comme objets de protection au sein des écosystèmes, non pas la santé des individus qui y résident (à l'exception de quelques espèces d'intérêt patrimonial) mais celle des populations ou communautés biologiques et des fonctions écologiques qu'elles y réalisent. Pourtant, l'écotoxicologie a principalement développé et développe encore majoritairement des connaissances au laboratoire sur des espèces modèles, connaissances relatives aux effets des contaminants à des niveaux subindividuels et individuels (effets sur la survie, la reproduction, la croissance des organismes). Ce type de données permet de caractériser la sensibilité toxicologique des espèces pour chaque substance étudiée (notion de distribution de sensibilité des espèces SSD), ou de façon plus absolue pour des groupes de contaminants (*e.g.* von der Ohe & Liess 2004). Dans ce nouveau cadre plus écologique, ces connaissances relatives à la sensibilité au laboratoire permettent dans un certain nombre de cas d'expliquer pour partie les patrons de réponses des communautés biologiques à la contamination chimique observés dans les milieux aquatiques. Un bel exemple est la sensibilité de l'outil SPEAR vis-à-vis de la contamination aux insecticides (Liess & von der Ohe 2005). Cet outil de bioindication écologique se base sur un classement *a priori* d'espèces de macro-invertébrés A Risque, classement établi à partir des bases de données écotoxicologiques de l'agence états-unienne de protection de l'environnement (EPA). Dans cette étude de 2005, il apparaît que les espèces les plus sensibles aux « contaminants organiques » au regard des résultats de tests de laboratoire bancarisés par l'EPA, sont bien celles dont les densités diminuent dans les rivières contaminées au sein des agrosystèmes étudiés.

Cependant, cette approche qui ne tient compte que de la sensibilité toxicologique des espèces semble le plus souvent incomplète quant à la compréhension des effets populationnels. Comme introduit précédemment (Figure 1), différents auteurs ont identifié dès les années 90s le rôle majeur que peut jouer l'histoire de vie des espèces dans la traduction démographique des effets toxiques (van Straalen 1994). Cette proposition a été étayée par des premiers travaux de simulation mathématique en écotoxicologie (Schaaf et al 1993, Kammenga & Riksen 1996, Kammenga et al 1996), mais elle a également été appuyée par de rares études expérimentales (Sherratt et al 1999). Le fait de devoir prendre en compte les caractéristiques de la dynamique du cycle de vie des espèces pour décrire la sensibilité des populations au stress toxique est aussi illustré empiriquement *in situ* dans l'exemple de l'outil SPEAR cité plus haut. En effet, dans l'étude de Liess & von der Ohe

(2005) menée dans le contexte d'un paysage agricole allemand, les auteurs ont dû prendre en compte certaines caractéristiques de la dynamique populationnelle en plus des sensibilités toxicologiques dans leur classification des espèces de macro-invertébrés « à risque » et « non à risque » vis-à-vis du stress insecticide - notamment le temps de génération. C'est ainsi que le gammare qui fait partie des espèces les plus sensibles aux insecticides a dû être écarté des espèces à risque dans le contexte de cette étude du fait de sa forte capacité de récupération démographique.

Les écotoxicologues se sont penchés sur ces relations entre altération des traits d'histoire de vie par les contaminants et réduction de la dynamique populationnelle, afin d'évaluer le pouvoir prédictif des sorties de tests de toxicité réalisés sur les traits de survie, reproduction, croissance, vis-à-vis des impacts aux niveaux écologiques et en premier lieu la population. La situation s'est révélée être complexe - « *the extrapolation problem* » d'après Forbes et al (2008). Entre espèces ou entre populations, les mêmes effets individuels peuvent conduire à des effets populationnels différents. Et ceci est vrai même dans des situations théoriques caricaturalement simples. Par exemple dans l'étude de Stark et al (2004), imposer une simple mortalité de 50% dans la démographie de sept espèces d'arthropodes modélisée par une dynamique populationnelle exponentielle, aboutit à des retards de la croissance populationnelle pouvant varier d'un ordre de 1 à 5 en fonction de l'espèce considérée. Dans leur revue de la littérature écotoxicologique, Forbes et Calow (1999) ont aussi trouvé des corrélations relativement faibles entre la variation des taux de fécondité, du temps nécessaire à la maturité sexuelle, ou de la survie et la modification du taux de croissance de la population. Cette analyse qui s'est appuyée sur des études couvrant une diversité d'espèces et de substances a montré en effet qu'un pourcentage donné de réduction de la fécondité mesurée lors de l'exposition à un contaminant ne peut pas prédire le pourcentage de diminution du taux de croissance de la population (choisi comme indicateur de « santé démographique »). Ce lien dépend de l'espèce et du contaminant - en fait de la « géométrie » du cycle de vie de chaque espèce et des modifications relatives de l'ensemble des caractéristiques du cycle de vie induites par le contaminant. Aussi, cette revue ne révèle globalement aucun patron commun d'une étude à l'autre quant aux caractères individuels les plus influents sur la démographie populationnelle en cas d'exposition au contaminant. Cette complexité des liens quantitatifs existant entre réponses au niveau individuel à l'exposition aux substances toxiques (altération des traits d'histoire de vie) et impact démographique au niveau de la population peut s'expliquer. Mathématiquement, même dans les modèles démographiques les plus simples, les relations entre variations des traits d'histoire de vie et indicateurs populationnels apparaissent comme non linéaires. Sur la Figure 2, on peut voir cette non-linéarité dans le cas de trois modèles de population développés au cours de mes travaux chez la truite, le gastéropode *Potamopyrgus* et le gammare (A2, A27, A30). Ces relations mathématiques sont en plus dépendantes du type de cycle de vie. Par exemple, Calow et al (1997) prédisent via une approche de modélisation générique qu'un contaminant qui réduit la survie des juvéniles doit avoir un impact plus important sur la dynamique de population des espèces semelpares par rapport aux espèces itéropares. Par ailleurs, les effets relatifs d'un contaminant sur chacun des traits d'histoire de vie (survie, taux de fécondité, âge de première reproduction, ...) sont susceptibles de varier selon les espèces ou populations et les substances toxiques en raison des différences dans la physiologie des organismes et dans le mode d'action des substances. Comme l'influence de la variation d'un trait d'histoire de vie sur l'indicateur démographique d'une population dépend du niveau-même de cet indicateur (*e.g.* courbes non linéaires sur la Figure 2), le

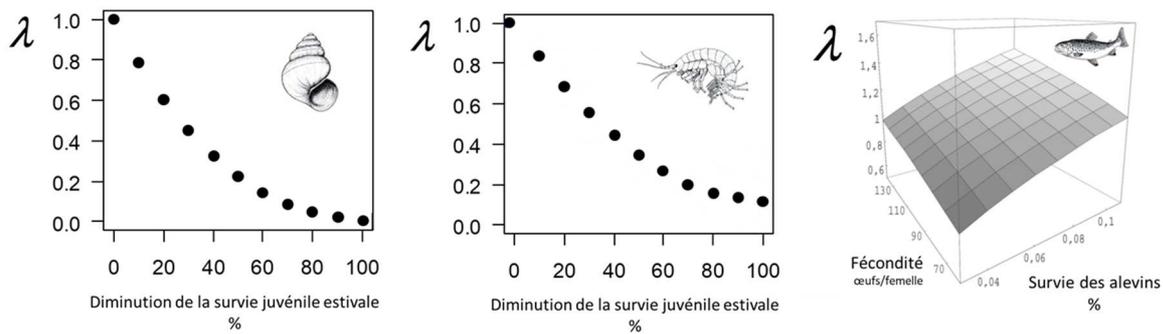


Figure 2. Illustrations de la non-linéarité de la relation entre variation des traits d'histoire de vie (niveau individuel) et variation du potentiel de croissance démographique (niveau populationnel) chez trois espèces : le gastéropode *Potamopyrgus antipodarum*, l'amphipode *Gammarus fossarum* et le poisson *Salmo trutta*. Le taux d'accroissement asymptotique populationnel λ est calculé à partir de modèles matriciels de Leslie (A2, A27, A30) dont on a modifié la valeur de survie des jeunes stades ou du taux de fécondité. La valeur de λ pour les deux invertébrés est normalisée par rapport à la valeur calculée pour le jeu de paramètres estimés pour des populations de référence, cette valeur étant de 1.1 chez la truite.

patron de la réponse populationnelle à la réduction de ce trait est alors à redéfinir pour chacune des espèces ou populations en fonction de son cycle de vie et chaque type de substances ou stress toxiques.

L'extrapolation des réponses individuelles à l'exposition toxique en termes de danger pour les populations n'est donc pas triviale (même dans des cas d'étude mono substance sur des dynamiques de populations en conditions contrôlées). Les relations entre ces réponses situées à deux niveaux d'organisation biologique dépendent du cycle de vie et par conséquent diffèrent d'une espèce à l'autre. Une solution à ce problème est d'utiliser des modèles mécanistes permettant d'intégrer les réponses du cycle de vie dans un impact global sur le taux de croissance de la population. C'est pourquoi il existe aujourd'hui un large consensus sur le fait que les modèles de dynamique de populations doivent être mis en œuvre pour améliorer l'évaluation des risques écologiques des contaminants (Forbes et al 2008, Galic et al 2010, Kramer et al 2011). C'est dans ce cadre que le point de départ de mes activités de recherche a été le développement méthodologique de modèles de dynamique de populations qui tiennent compte de l'histoire de vie des espèces aquatiques animales pour permettre de traduire les réponses mesurées sur les traits d'histoire de vie en termes d'impact démographique potentiel.

Développements méthodologiques autour des modèles de Leslie

L'approche démographique en écotoxicologie

Différentes grandes catégories de modèles de population sont décrites dans la littérature faisant l'inventaire des modèles utilisés dans le cadre du changement « individu / population » en écotoxicologie (Forbes et al 2008, Galic et al 2010). Les modèles que j'ai développés relèvent des modèles dits démographiques. L'idée assez simple exposée par Caswell (1996) est d'utiliser comme

en écologie des populations, des modèles démographiques qui font le lien entre des taux vitaux^h comme la survie, la fertilité, et des descripteurs de la dynamique et de la structure de population (taux d'accroissement, pyramide d'âges, sex-ratio...). Ces modèles décrivent les individus en fonction de leur contribution au recrutement et de leur survie au cours du temps et donc l'évolution des effectifs de la population au cours du temps. A titre illustratif, un des modèles démographiques les plus basiques est le modèle de croissance exponentielle de Malthus (1798), qui permet de calculer un taux intrinsèque de population r . Ce paramètre correspond au coefficient de proportionnalité entre le nombre d'individus supplémentaires dans une population au cours d'une unité de temps et le nombre d'individus présents dans la population à un instant t . Ce modèle fait l'hypothèse que ce coefficient est constant quel que soit l'effectif de la population. Trivialement, si r est positif la population croît, s'il est négatif elle s'éteint. Ce paramètre peut s'estimer directement à partir de suivis de populations en croissance (*e.g.* populations bactériennes), mais il peut aussi être calculé comme la différence entre taux de natalité et taux de mortalité au sein de la population. On peut donc intégrer des valeurs de survie, fertilité, croissance, *i.e.* des « taux vitaux » pour le démographe, des « traits d'histoire de vie » pour le biologiste des populations, sous la forme d'un indicateur qui informe du comportement de la dynamique de population à long terme (ici son taux d'accroissement intrinsèque). Dans le cas d'une exposition à la contamination, on peut ainsi intégrer les niveaux de différents traits d'histoire de vie en un indicateur populationnel, la variation de celui-ci par rapport à un niveau calculé en condition de référence permettant d'évaluer l'effet global sur la démographie populationnelle (Figure 3).

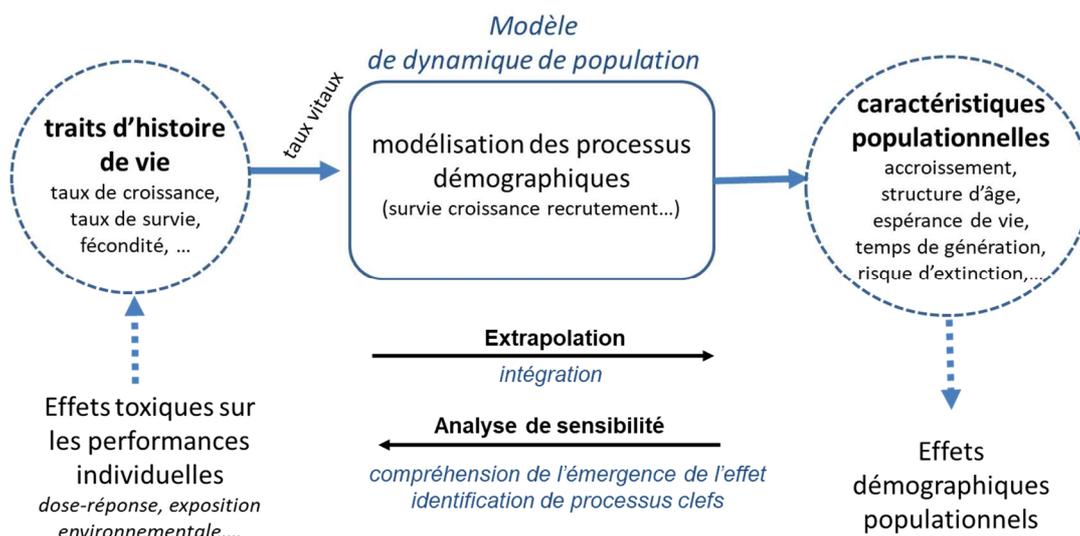


Figure 3. Démarche démographique en écotoxicologie.

^h selon la terminologie des démographes.

Caswell (1996) a baptisé de « démographique » cette méthodologie qui recourt à l'utilisation de modèles mécanistes de dynamique de population et permet d'appréhender au niveau de la population l'impact de la pollution à partir de données d'altération des performances individuelles (fertilité, survie, croissance, ...). Ce mode opératoire qui permet d'atteindre le niveau de réponse de la population à l'exposition se retrouve par exemple dans la méthodologie LTRE, "Life Table Response Experiments" introduite notamment au début des années 1980 (Daniels & Allan 1981). Lors de bioessais au laboratoire, les auteurs mesurent l'ensemble des variables du cycle biologique d'une espèce pour différentes concentrations toxiques, les intègrent dans un modèle de dynamique de population assez simple et obtiennent alors une variable de population qui est fonction de la concentration d'exposition (par exemple le taux de croissance intrinsèque de la population).

La pertinence de cette approche réside donc dans le fait qu'elle permet de prendre en compte simultanément la variété des effets de la contamination sur les divers processus physiologiques (survie, croissance, développement, maturation, reproduction) et ceci en s'appuyant sur la structure du cycle de vie de l'espèce. Elle permet donc de pondérer ces effets par le poids de chacun des traits d'histoire de vie dans le maintien de la dynamique de population. Très vite se pose alors la question pour l'écotoxicologue du caractère âge ou stade-spécifique de ces effets de la contamination : les stades juvéniles sont souvent plus sensibles que les stades adultes, les modes de vie peuvent varier entre stades de développement (*e.g.* larves, nymphes, imagos) et faire varier l'exposition et donc les niveaux d'effets au cours du cycle de vie, ... Ceci explique le succès des modèles démographiques qui permettent de décrire explicitement une structure dans la population modélisée, c'est-à-dire où les individus sont séparés en classes de taille, en stades de développement ou classes d'âge. Ce sont les travaux de Patrick Leslie (Leslie 1945, 1948) qui font notamment référence aujourd'hui dans ce cadre. En particulier, on parle de modèles de Leslie *s.s.*, lorsque l'on étudie la dynamique d'une population structurée en classes d'âge (Caswell 2001). Leonard Lefkovitch, une autre figure du développement de ces modèles de population de type matriciels introduisit l'idée d'une classification des individus par stades de développement plutôt que par âge (Lefkovitch 1965). Très vite (dès mon cursus universitaireⁱ) j'ai été séduit par le formalisme de ces modèles. Ce sont des modèles en temps discret, c'est-à-dire qu'ils décrivent l'évolution des sous-effectifs de la population entre différentes dates d'observation, différents recensements. J'ai choisi de travailler sur ces modèles car ce formalisme correspond bien au type de données issues de suivis de populations sur le terrain que j'ai pu utiliser pour développer et calibrer ces modèles sur les espèces qui m'ont intéressé : truite (A1, A2, A3), gastéropode (A27), crustacé (A30) notamment. Mais une des raisons de ce choix est beaucoup plus subjective^j : c'est l'esthétique de ces modèles qui s'écrivent sous forme de matrices, « carrés magiques » qui couplés à des graphes de cycle de vie permettent de visualiser le cycle de vie des espèces. En plus, leur étude relève de l'algèbre linéaire, un domaine des mathématiques que j'ai toujours trouvé assez ludique comparé à l'analyse rébarbative des équations différentielles auxquelles on s'intéresse dans le cadre des modèles en temps continu ; ce recours à l'algèbre permet en plus de s'affranchir d'analyses recourant à de

ⁱ Ma première rencontre avec les modèles de Leslie a eu lieu en licence, autour d'un exemple chez l'Hirondelle de cheminée dans les TDs de dynamique de population enseignés par Dominique Pontier à Lyon 1. J'utilise encore cet exemple dans mes cours ; j'apprécie toujours autant l'exercice qui conduit à passer du naturalisme de terrain au calcul théorique de valeurs et vecteurs propres de l'algèbre linéaire.

^j Suite à une question posée lors de ma soutenance de thèse autour de la justification du choix des modèles de Leslie, Jean-Dominique Lebreton qui était rapporteur dans mon jury avait eu une phrase qui me trotte souvent dans la tête : « il n'y pas de science appliquée qui ne soit de science impliquée ».

besogneuses simulations numériques qui souvent séduisent des profils beaucoup plus informaticiens que le mien chez les modélisateurs en biologie (*e.g.* modèles IBM).

Je rappelle ici très grossièrement le principe de construction de ces modèles matriciels de Leslie. L'idée est de pour pouvoir m'appuyer ensuite sur quelques termes spécifiques à ce type de modélisation dans mon exposé. Je ne fournis pas ici l'ensemble des détails mathématiques de développements que j'ai pu mener ou sur lesquels j'ai pu m'appuyer. Pour une réelle description exhaustive de la théorie de Leslie, il faut se rapporter à la « bible » de Caswell (2001) qui fait référence en la matière. J'ai contribué également à un chapitre d'ouvrage de synthèse sur l'utilisation de ce type de modèles en écotoxicologie, qui peut constituer un condensé assez précis et rapide pour se familiariser avec cette méthodologie de modélisation (Ch2). Dans le cadre d'une description de populations structurées en classes d'âge, Leslie retraduit assez simplement les « flux » d'individus entre les classes d'âge (toutes de même durée) par des relations de proportionnalité entre les effectifs présents dans la population à chaque date d'observation (dates séparées entre elles d'une durée égale à celle fixée pour les classes d'âge). Ces coefficients correspondent en première approximation à des taux de survie des différentes classes d'âge (*e.g.* 10% des individus de la première classe d'âge survivent et deviennent des individus de la classe d'âge 2 du recensement suivant) et à des taux de fécondité pour les classes d'âge qui se reproduisent et contribuent à l'apparition de nouveaux individus entre chaque recensement^k. Replacé dans un formalisme matriciel (Figure 4), on obtient une matrice carrée \mathbf{L} (matrice de Leslie) dont les différents éléments l_{ij} (ligne i ; colonne j) sont soit nuls soit des taux de survie ou de fécondité. Dans la théorie de Leslie,

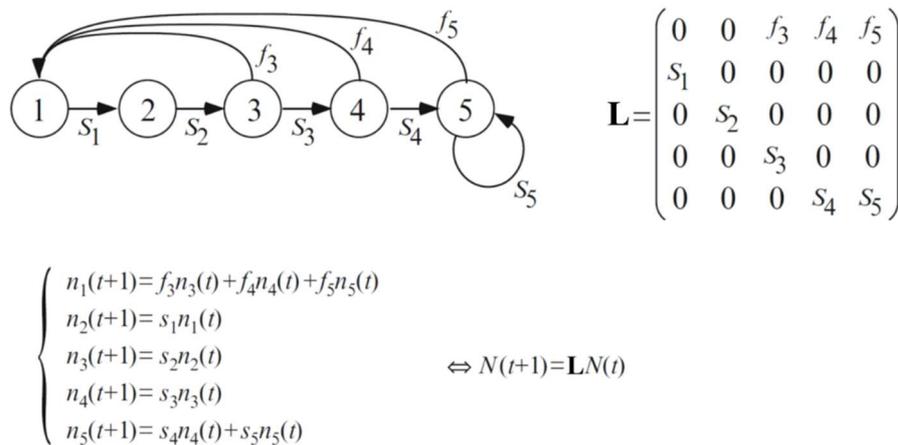


Figure 4. Exemple d'un cycle de vie décrit via une structuration des individus de la population en cinq classes d'âge. Les effectifs de chaque classe n_i varient au cours du temps en fonction des taux de survie s_i et de fécondité f_i qui sont âge-spécifiques. Ces effectifs réunis sous la forme d'un vecteur population N peuvent être reliés d'un pas de temps à l'autre via une matrice de transition \mathbf{L} selon le formalisme de Leslie. Les éléments l_{ij} de celle-ci sont alors des taux de survie et de fécondité.

^k En première approximation seulement, car le lien entre classes de reproducteurs et la 1^{ère} classe d'âge devrait tenir compte de la survie des individus pendant le pas de temps qui sépare les deux dates de recensement (survie des classes d'âge reproductrices si la date de recensement est choisie juste après l'événement de reproduction, *i.e.* « postbreeding census » ; survie des jeunes stades si le modèle est construit en « prebreeding census » et dans ce cas elle est souvent intégrée par défaut dans le paramètre de fécondité). C'est un oubli extrêmement répandu dans la littérature, qui pose problème notamment quand on aspire à projeter les effets du contaminant sur le cycle de vie de la population.

si la structure du graphe de cycle de vie respecte quelques conditions, on montre sous l'hypothèse que l'on ne modifie pas les taux vitaux au cours du temps, que la dynamique de population tend vers un comportement de croissance (ou décroissance) exponentielle, en atteignant une stabilité de l'équilibre des effectifs entre classes d'âge (structure stable). Le taux d'accroissement dit « asymptotique » noté λ , se calcule facilement à partir de la matrice \mathbf{L} ; il s'agit de sa première valeur propre et le vecteur propre associé correspond à la structure stable. D'autres indicateurs de la dynamique populationnelle peuvent être également calculés facilement (temps de génération, taux net de renouvellement, valeurs reproductives ...).

Pour pouvoir appliquer les taux vitaux aux différents individus, il n'est pas toujours pertinent de décrire la population en classes d'âge et il est souvent avantageux de s'appuyer sur une description de la population en termes d'effectifs présents dans différents stades développement, ou différentes classes de taille. Ceci implique le plus souvent que le temps passé au cours de la vie des individus n'est pas le même dans les différentes classes choisies pour décrire la population. J'ai eu recours à ce type de modèles (dit de Lefkovich) pour modéliser la démographie de différents macro-invertébrés. Dans le cadre de la thèse de Romain Coulaud (T1), je me suis intéressé au gastéropode *Potamopyrgus antipodarum* (A27) et au gammare (A30), pour qui les traits d'histoire de vie (fertilité, taux de croissance, survie) sont corrélés à la taille et peu à l'âge, notamment en conditions naturelles ; lors d'une collaboration avec le LECA de Grenoble, j'ai pu également me frotter à la dynamique de population du moustique *Aedes aegypti* en décrivant larves, pupes et imagos dans un modèle matriciel de ce type (A52). Comme illustré avec cet insecte (Figure 5), la difficulté (notamment pour la paramétrisation) est que du fait des différences de durée entre stades on doit

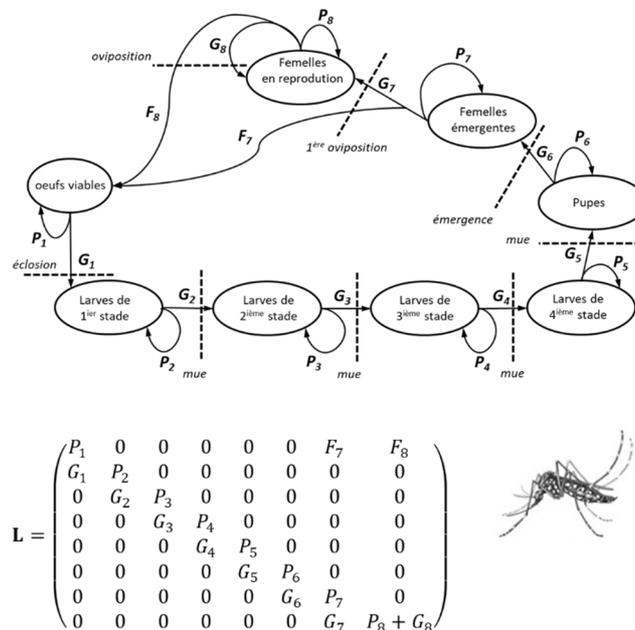


Figure 5. Formalisation matricielle du cycle de vie du moustique *Aedes aegypti* structuré en huit stades de développement (modèle de type Lefkovich) (publication A52). Entre deux pas de temps, la redistribution des individus entre les stades de développement successifs se fait selon des taux de passage (P_i et G_i) qui tiennent compte des taux de survie, mais aussi des taux de croissance et de développement au cours des différents stades. Les F_i correspondent aux taux de fécondité des femelles.

tenir compte d'une proportion d'individus qui restent dans leur stade entre deux dates de recensement. Ces « taux de passage » ou « taux de transition » présents dans la matrice \mathbf{L} intègrent ainsi à la fois les taux de survie et les taux de croissance (ou taux de développement) des différents stades. Les éléments l_{ij} ne sont alors plus directement des taux vitaux (taux de survie, de croissance), mais des fonctions composites de ceux-ci.

On peut aller encore plus loin dans une description affinée des populations. Par exemple, une structure spatiale qui différencie les performances individuelles en fonction de différentes localisations dans l'aire de répartition de la population peut être considérée. Les effectifs des classes d'âge ou de taille sont alors subdivisés en effectifs présents dans différentes régions, appelées souvent « patch ». Dans ce type de modèle matriciel, des flux d'individus liés aux liens migratoires entre les différents patchs s'ajoutent alors aux processus démographiques (survie, recrutement, croissance) qui se déroulent sur chaque patch. Dans le cadre de ma thèse (principalement orientée sur une contribution méthodologique), j'ai pu développer ce type de modèles de Leslie dits multirégionaux (ou encore modèles de métapopulations ou de populations fragmentées) avec pour cas d'étude les effets de pollution d'un réseau hydrographique sur la dynamique d'une population de truites (A1, A2, A3, Ch1). La « magie » de la théorie de Leslie est que malgré toute cette complexification de la description de la population et de la matrice de transition \mathbf{L} qui en découle, on retombe si on respecte quelques hypothèses sur la géométrie du graphe de cycle de vie sur le même type de dynamique de croissance exponentielle tendant vers une structure stable. Cette dynamique peut être rapidement caractérisée en termes de taux d'accroissement asymptotique λ et de structure stable grâce au simple calcul des valeurs propres et vecteurs propres de la matrice \mathbf{L} .

L'utilisation de ces modèles mathématiques permet ainsi de caractériser la dynamique démographique sous forme d'indicateurs quantitatifs reflétant différents aspects du fonctionnement des populations, indicateurs calculés à partir des traits d'histoire de vie de la population. Par exemple, le taux de croissance asymptotique λ fournit des informations sur le potentiel de croissance ou le maintien de la population. Le temps de génération et la structure stable de la population donnent des informations sur sa composition et le taux de renouvellement de ses individus. Ces indicateurs ne sont pas des valeurs biologiques mesurables en tant que telles, mais ils permettent de décrire l'état des populations et aussi on le verra, leur vulnérabilité aux perturbations. Il est essentiel de souligner que les résultats de ces modèles ne sont pas utilisés pour prédire la taille ou la structure de futures des populations, mais comme des indicateurs intégrés de leur état à un moment présent. Caswell (1996, 2001) introduit le terme de **projection** en lieu et place de la notion de prédiction qui fait trop écho pour lui à la notion de prévision d'états futurs. Par ces modèles, on utilise les informations d'un état donné pour projeter ce qui arriverait à une population si on suppose que les conditions futures restent inchangées, ce qui est évidemment irréaliste. Caswell fait l'analogie avec un compteur automobile qui indique de façon ponctuelle une certaine vitesse (50 km/h). Cette indication n'informe que peu sur la distance qui sera parcourue pendant la prochaine heure mais donne une information sur l'état présent en projetant les données actuelles dans le futur. Cette information même si elle n'est pas nécessairement prédictive en tant que telle, permet une évaluation du danger d'accident par exemple, peut permettre aussi une prise de décision ou la mise en place de réglementation. Je montrerai plus loin que l'intérêt essentiel de ces modèles ne réside ainsi pas dans la valeur des indicateurs qu'ils produisent en tant que tels, mais principalement dans leur utilisation dans un but cognitif via l'analyse de la modulation de ces indicateurs en fonction de la variation des conditions environnementales.

Dans le cadre de l'écotoxicologie, différentes conditions environnementales correspondent le plus souvent à une mesure des traits d'histoire de vie dans différentes conditions d'exposition au contaminant. C'est ce qui est fait dans le cadre des Life Table Response Experiments (*e.g.* Daniels & Allan 1981). Dans ces protocoles, on peut alors calculer une valeur de λ pour chaque niveau de concentration expérimenté en intégrant les valeurs des différents traits d'histoire de vie mesurées dans chaque condition. Pour aller plus loin, le résultat de ces essais biologiques qui rendent compte des effets d'un produit toxique sur divers paramètres biologiques tels que le taux de survie, le taux de fertilité ou le taux de croissance peuvent même être généralement formalisés sous la forme de courbes dites "dose-réponse" qui font correspondre de façon continue niveaux de concentration d'exposition et réduction de chacun des traits d'histoire de vie étudiés. J'ai pu ainsi aller plus loin que l'approche LTRE en introduisant ces courbes dose-réponse dans des modèles de dynamique de population au niveau de l'entrée des différents traits d'histoire de vie dans les matrices \mathbf{L} (A2, A5, A52 truite, diptère, moustique). Caswell (1996) parle dans ce cas de *regression designs*. Les sorties du modèle comme le taux d'accroissement asymptotique λ sont alors fonction de la concentration et on peut caractériser ainsi une fonction dose-réponse au niveau populationnel. Celle-ci intègre donc l'effet du contaminant sur chacun des traits d'histoire de vie et leurs interactions au sein du cycle de vie de la population. Une illustration simple de cette intégration est donnée sur la Figure 6 dans un cas d'étude considérant un modèle matriciel développé chez le chironome exposé à l'insecticide méthiocarbe dans le cadre d'une étude menée en 2005 par Christelle Lopes (A5). Dans cette étude, une mortalité de certains stades de développement induite par le carbamate a été considérée via l'introduction de courbes dose réponse sur les paramètres de survie de cet insecte. Ces taux de survie apparaissent alors dans la matrice \mathbf{L} comme des fonctions de la concentration d'exposition. La première valeur propre de \mathbf{L} est alors elle-aussi fonction de cette concentration. On constate une décroissance de λ avec l'augmentation de la concentration de l'insecticide via son effet sur la survie des différents stades larvaires et pupal. On passe d'une population potentiellement en croissance ($\lambda > 1$) à une population qui s'éteint ($\lambda < 1$).

En évaluation du risque écologique, certains auteurs proposent une mise en œuvre de l'évaluation du danger des substances intégrant ces courbes dose-réponse populationnelles. L'avantage avancé est la prise en compte simultanée de l'ensemble des effets sur les différents traits d'histoire de vie pour qualifier l'impact du contaminant sur l'espèce étudiée, ceci en tenant compte d'une pondération fonction du poids de chacun dans la détermination de la dynamique de population. Une question très pragmatique peu résolue à mon sens, est de déterminer un seuil d'effet populationnel, un seuil décisionnel. Un raccourci est souvent fait en s'intéressant à la valeur de concentration qui fait basculer la population dans une dynamique d'extinction ($\lambda = 1$ en temps discret ; $r = 0$ en temps continu). Au vu des éléments discutés plus haut sur la distinction entre projection et prédiction, des réserves que l'on peut formuler sur le réalisme de ces modèles, sur l'exhaustivité des effets et des processus biologiques qu'ils prennent en compte, cette approche est peu convaincante. Une autre approche revient à une comparaison à la valeur témoin, soit statistiquement en considérant successivement les différents niveaux d'exposition expérimentés (on retrouve la philosophie de la définition d'une plus forte concentration observée sans effets ou NOEC), soit plus quantitativement en fixant arbitrairement un pourcentage de réduction

acceptable (*e.g.* 5%), comme ce qui peut être fait en biologie de la conservation¹. Une critique de fond est faite sur le caractère sous-protecteur de la démarche d'extrapolation^m. On comprend en effet assez facilement que dans ce cadre de modélisation aucun effet populationnel ne peut se mettre en place tant qu'aucun trait d'histoire de vie n'est affecté. La prise en compte du fonctionnement démographique ne vient au mieux que tamponner la traduction démographique de ces effets. Toutefois, comme le montrent Forbes & Calow (1999), avec le bruit d'observation, les erreurs de mesures, de petits changements statistiquement indétectables dans un certain nombre de paramètres peuvent parfois conduire à des changements significatifs sur l'indicateur de croissance populationnelle à une concentration avec effet plus faible que celle définie avec n'importe lequel des traits d'histoire de vie (5% des cas dans leur revue). Ils montrent également sur une centaine d'études que la concentration sans effet basée sur l'indicateur de croissance populationnelle est la même que celle basée sur le plus sensible des traits d'histoire de vie dans deux tiers des cas.

Au cours de mes travaux, je me suis assez peu confronté jusqu'alors à ces aspects de mise en œuvre des indicateurs populationnels dans un cadre décisionnel qui pourrait s'appuyer pour moi sur une approche pragmatique pour proposer une interprétation en terme de gravité du danger toxique. Je reviendrai sur ce point dans la dernière partie de ce mémoire où j'évoquerai notamment certains travaux de terrain réalisés sur les réseaux de surveillance qui ouvrent la voie d'une telle approche. Dans ce processus d'extrapolation des effets individu/population, c'est à des fins plus cognitives que j'ai proposé une utilisation de ces modèles et des indicateurs qu'ils produisent. Et c'est à mon sens sur ce mode de raisonnement que ce type de modèles a aujourd'hui le plus à apporter en termes d'amélioration de l'évaluation du risque écologique lié à la contamination environnementale. Pour comprendre l'émergence des réponses populationnelles et caractériser ainsi les déterminismes démographiques de leur sensibilité au stress toxique, je me suis intéressé aux méthodologies qui permettent de refaire le chemin inverse à celui de l'intégration, celui des analyses de sensibilité qui permettent de décortiquer le signal populationnel (Figure 3).

¹ Ceci pose tout de même un problème pratique dans le cadre des modèles discrets, difficulté non évoquée dans la littérature : la valeur de λ dépend géométriquement de la durée choisie arbitrairement pour le pas de temps de référence du modèle (si on multiplie par 2 le pas de temps, λ est mis au carré ; *e.g.* une population qui voit son effectif doubler en un an, voit son effectif quadrupler en 2 ans). Donc le pourcentage de réduction de la valeur absolue de λ entre deux conditions est totalement dépendant de la durée choisie pour le pas de temps.

^m On peut noter au passage que de grands groupes industriels de la chimie au sens large sont très représentés au sein des groupes de réflexion qui poussent au développement d'une évaluation du risque qui s'appuie sur l'évaluation du danger toxique en premier lieu au niveau populationnel (approche modélisation, approche mésocosmes).

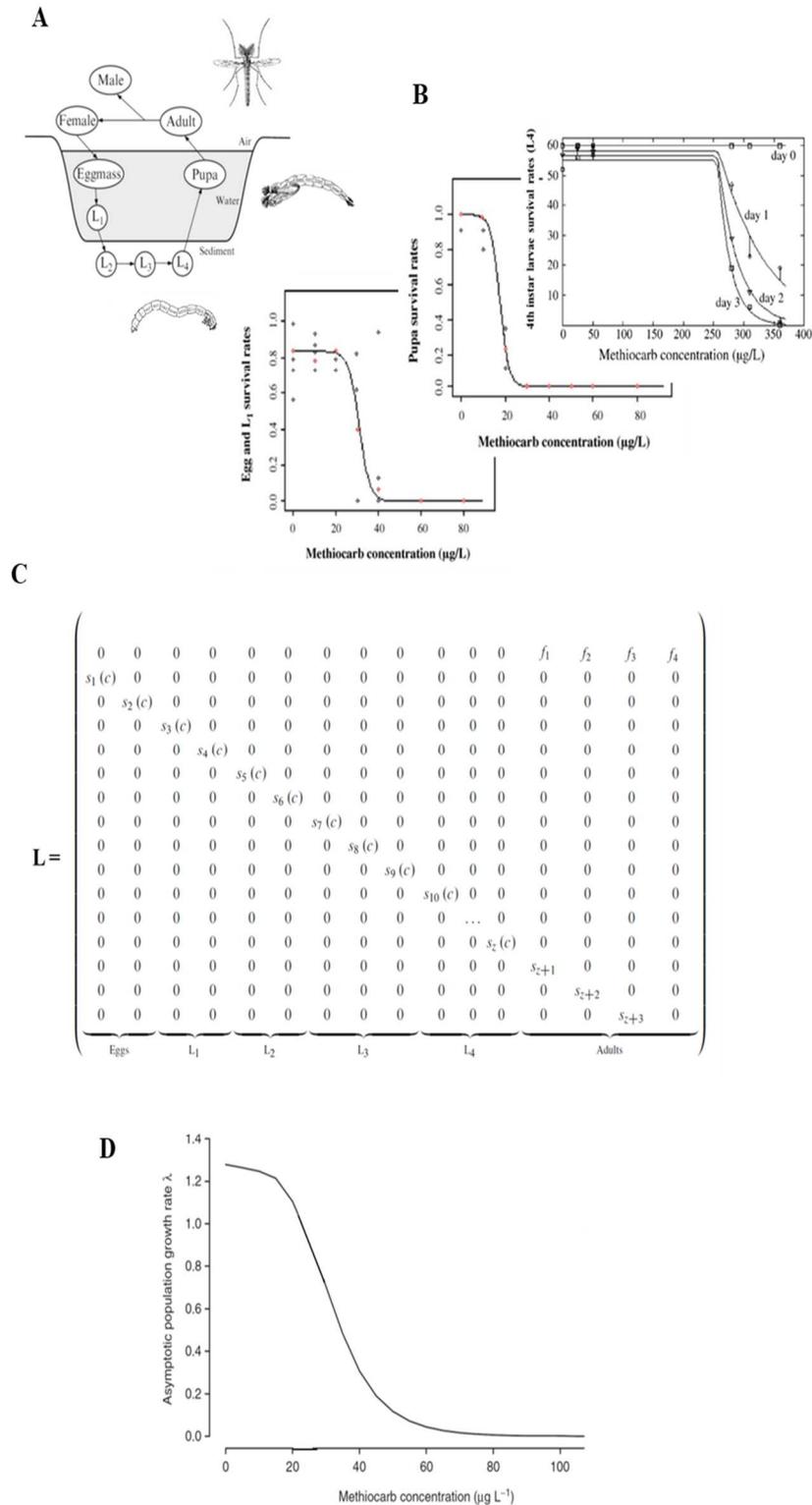


Figure 6. Intégration de courbes dose-réponse dans un modèle de dynamique de population (*i.e.* *regression design*) : exemple des effets d'un carbamate sur la survie de *Chironomus riparius* au cours du développement (publication A5). **(A)** cycle de vie ; **(B)** exemples de courbes de mortalité de différents stades (pupe, œufs, quatrième stade larvaire) en fonction de la concentration c d'exposition en méthiocarbe ; **(C)** matrice de Lefkovich L intégrant les effets dose-réponse de l'insecticide sur les taux de survie ; **(D)** taux d'accroissement asymptotique de la population λ calculé en fonction de la concentration.

Formalisation de la sensibilité démographique

La méthode démographique d'extrapolation des effets individuels au niveau populationnel est souvent complétée par la mise en œuvre de techniques d'analyses de sensibilité, plus génériquement dénommée analyses de perturbation (Caswell 2001). Celles-ci permettent de faire le va-et-vient entre variables populationnelles de sortie et paramètres d'entrée du modèle. Ainsi l'extrapolation d'un niveau à un niveau supérieur est non seulement possible grâce à un processus d'intégration, mais le lien entre les paramètres des différents niveaux peut être explicité, en soulignant par exemple certaines transitions du cycle de vie qui sont critiques pour la viabilité de la population, ceci expliquant une vulnérabilité plus ou moins forte face à une perturbation des paramètres individuels par le contaminant. Deux cadres interprétatifs peuvent être adoptés. Dans une première vision prospective, l'objectif est de déterminer à partir d'un état initial de la population, quelles seraient les conséquences d'une modification futures des traits d'histoire de vie sur les indicateurs démographiques. On recherche à décrire par exemple la sensibilité du taux d'accroissement asymptotique de la population λ à la variation de chacun des traits d'histoire de vie. On parle d'élasticité quand on raisonne en variations relatives (coefficient de proportionnalité entre le pourcentage de réduction d'un trait d'histoire de vie et le pourcentage de réduction de λ induite par cette modification du trait d'histoire de vie). Reposant sur les mêmes outils mathématiques, on peut adopter une vision rétrospective pour l'utilisation de ce type d'analyses quand on cherche à déterminer la contribution de chacun des effets sur les traits d'histoire de vie à l'effet global observé ou calculé sur la dynamique d'une population, par exemple quand on compare une condition contrôle et une condition perturbée (e.g. LTRE). On parle d'analyse de décomposition dans ce cas (Caswell 1996).

J'ai adopté la première optique dans le cadre des travaux de thèse de Romain Coulaud (T1) pour définir le profil de sensibilité démographique de deux espèces de macro-invertébrés présentant des cycles de vie contrastés : d'un côté le gammare, crustacé benthique ubiquiste et souvent dominant dans les peuplements des cours d'eau nationaux, à reproduction continue au cours de l'année, et dont la dynamique de croissance et de reproduction est marquée par le phénomène de mue ; de l'autre côté le gastéropode *Potamopyrgus antipodarum*, invasif néozélandais à reproduction parthénogénétique en Europe (uniquement des clones de femelles), avec une population d'étude rhodanienne marquée par une forte explosion d'effectifs à l'automne et une quasi disparition des individus adultes au printemps. En nous basant sur un couplage expérimentations *in situ*, suivis démographiques sur le terrain et expériences au laboratoire, nous avons développé un modèle de population de type Lefkovitch pour chacune des espèces (A27, A30). Ces modèles décrivent la population par deux classes de taille juvéniles et trois classes de taille adultes. Je reviendrai par la suite sur le détail de ces modèles car nous avons développé un formalisme particulier pour tenir compte de la forte saisonnalité de la dynamique de ces deux espèces (prise en compte de la phénologie des espèces). A partir de ces modèles, la sensibilité du taux d'accroissement annuel asymptotique λ peut être établie par simulation en constatant la réduction de λ quand on applique un pourcentage de réduction (ici 10%) indépendamment à chacun des paramètres biologiques qui ont permis de calculer les entrées de la matrice **L** (Figure 7).

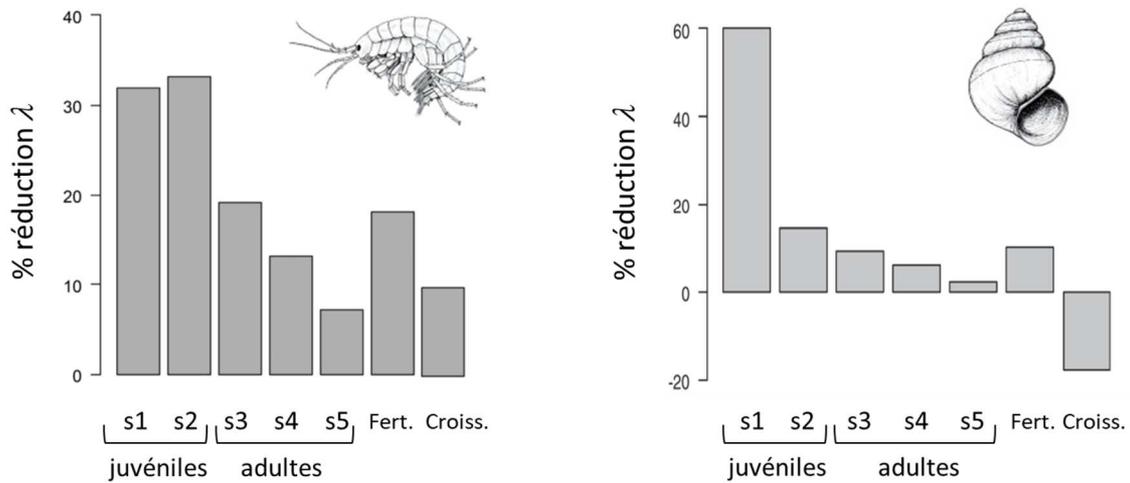


Figure 7. Comparaison des sensibilités démographiques de deux espèces de macroinvertébrés. Ces sensibilités sont évaluées en calculant la réduction du taux d'accroissement asymptotique λ causée par une diminution de 10% de chacun des taux vitaux (taux de survie de cinq classes de taille, fertilité, taux de croissance). Les modèles de population pris pour référence sont ceux présentés dans les publications [A30](#) pour le gammare et [A27](#) pour *Potamopyrgus*.

Il apparaît alors que les deux espèces présentent des profils de sensibilité démographique très différents. Chez le gammare, le profil est assez homogène quand on compare la sensibilité de λ aux variations des différents traits d'histoire de vie (survie, reproduction, croissance), avec tout de même une sensibilité moindre à la réduction de la survie des adultes de plus grande taille. Le profil est bien différent pour le gastéropode qui montre une forte sensibilité à la variation de la survie de la première classe de juvéniles en comparaison à celle des autres traits d'histoire de vie. On observe également chez ce mollusque un patron contre-intuitif très particulier pour la croissance : une augmentation du taux de croissance à un effet négatif sur λ , ce que l'on a pu expliquer par un phénomène de déphasage entre la date d'atteinte de la taille de reproduction et la période favorable à la survie des nouveaux nés au cours de l'année ([A27](#)).

La sensibilité à la variation d'un trait d'histoire de vie peut se définir mathématiquement comme le rapport entre variation de λ et variation de la valeur du trait, c'est-à-dire une dérivée. Dans le cadre de la théorie de Leslie, les valeurs de sensibilité (et d'élasticité) peuvent se calculer analytiquement à partir de la matrice de \mathbf{L} ([Caswell 2001](#)), dépassant alors l'approche par simulation présentée ci-dessus. Plus précisément les vecteurs propres à droite \mathbf{w} et à gauche \mathbf{v} , associés à λ permettent ce calcul selon la formule :

$$\frac{\partial \lambda}{\partial l_{ij}} = \frac{v_i w_j}{\langle \mathbf{w}, \mathbf{v} \rangle}$$

où l_{ij} est l'élément de \mathbf{L} à la $i^{\text{ème}}$ ligne et $j^{\text{ème}}$ colonne, v_i le $i^{\text{ème}}$ coordonnée de \mathbf{v} et w_j le $j^{\text{ème}}$ coordonnée de \mathbf{w} . Comme vu précédemment, pour une matrice de Leslie *s.s.*, les l_{ij} non nuls sont des taux de survie ou de fécondité. Ainsi, $\frac{\partial \lambda}{\partial l_{ij}}$ représente directement le poids, l'influence de chacun de ces traits d'histoire de vie sur le taux d'accroissement asymptotique de la population, ce qui formalise

mathématiquement le concept de sensibilité démographique telle que discutée dans le modèle de van Straalen (Figure 1). Souvent l'exercice est un peu plus complexe. Comme vu précédemment pour les matrices de Lefkovitch, les éléments de la matrice \mathbf{L} ne sont pas toujours directement les taux vitaux, mais des fonctions de ceux-ci. Pour solutionner ce problème du calcul de la sensibilité à un paramètre d'ordre inférieur (*i.e.* qui se retrouve dans différents éléments l_{ij} de la matrice \mathbf{L}), Caswell (2001) a proposé une démarche de décomposition où la sensibilité de λ à la variation à ce paramètre x est calculée en faisant la somme de la sensibilité des différents l_{ij} à ce paramètre x , pondérée par la sensibilité de λ à chacun de ces éléments l_{ij} (calculée grâce aux vecteurs propres) :

$$\frac{\partial \lambda}{\partial x} = \sum_{i,j} \frac{\partial \lambda}{\partial l_{ij}} \frac{\partial l_{ij}}{\partial x}$$

Je me suis confronté à cette situation dans le cadre de modèles de type Lefkovitch (A30, A27, A52), de modèles de type Leslie multirégionaux (A1, A2), ou encore lors de la nécessaire prise en compte d'un terme de survie dans le coefficient de recrutement pour des modèles en post-breeding census (A52).

La formalisation matricielle des cycles de vie populationnels permet donc d'établir des profils de sensibilité démographique traduisant l'influence relative que peuvent avoir de futures variations des taux vitaux et des différents traits d'histoire de vie qui les influencent. En écotoxicologie, certains auteurs (Calow et al 1997, Forbes et al 2008) ont proposé de prendre en compte la description *a priori* de ces vulnérabilités démographiques des espèces dans les approches d'évaluation du risque en recourant à la modélisation des dynamiques de populations et aux techniques d'analyses de perturbation. Calow et al (1997) ont élaboré une approche qui utilise des modèles simplifiés du cycle de vie pour établir des liens explicites et écologiquement pertinents entre les résultats des tests écotoxicologiques et leurs implications pour la dynamique des populations. Ils soulignent eux aussi que ces modèles font un certain nombre d'hypothèses simplificatrices, mais en étant explicites, ils sont susceptibles d'être remis en question et améliorés dans un cadre qui se veut protecteur des espèces. D'autres auteurs proposent même des classifications des espèces en termes de vulnérabilité démographique en fonction de grands types d'histoire de vie. Ceci a été fait chez les poissons par exemple (Spromberg & Birge 2005). Raimondo et al (2006) dans une vision inversée, centrée sur une espèce de crustacé, classifient différentes substances chimiques en terme de dangerosité au regard des traits d'histoire de vie qu'elles affectent et du poids de chacun de ces traits dans la dynamique de population de l'espèce visée.

Cette approche prospective peut toutefois trouver ses limites car elle considère les variations des traits d'histoire de vie indépendamment les unes des autres. Or l'influence de la variation de l'un des traits d'histoire de vie dépend du niveau des autres traits d'histoire de vie. Dans le cadre écotoxicologique, le contaminant influence les traits d'histoire de vie selon des dose-réponses spécifiques à chacun. Par exemple, la mortalité émerge le plus souvent pour des niveaux de concentrations supérieures à ceux affectant la reproduction. Pour anticiper l'impact populationnel de la toxicité d'un contaminant, la sensibilité démographique aux variations de survie devrait donc être analysée pour des niveaux de reproduction bas, loin des niveaux de reproduction en conditions non contaminées. L'examen de cette sensibilité aux variations de la survie sur un cycle de vie où la reproduction est non perturbée semble ainsi peu pertinente. Sur la Figure 8 est présentée l'analyse d'un modèle de dynamique de population de truites développé au cours de ma thèse (A2), modèle qui tient compte d'une structuration spatiale (réseau de rivières) et des flux migratoires au cours du

cycle de vie de ces Salmonidés (modèle de type Leslie multirégional). L'analyse par simulation de la sensibilité de λ (cf courbes de niveaux Figure 8B) montre que cette dynamique de population en

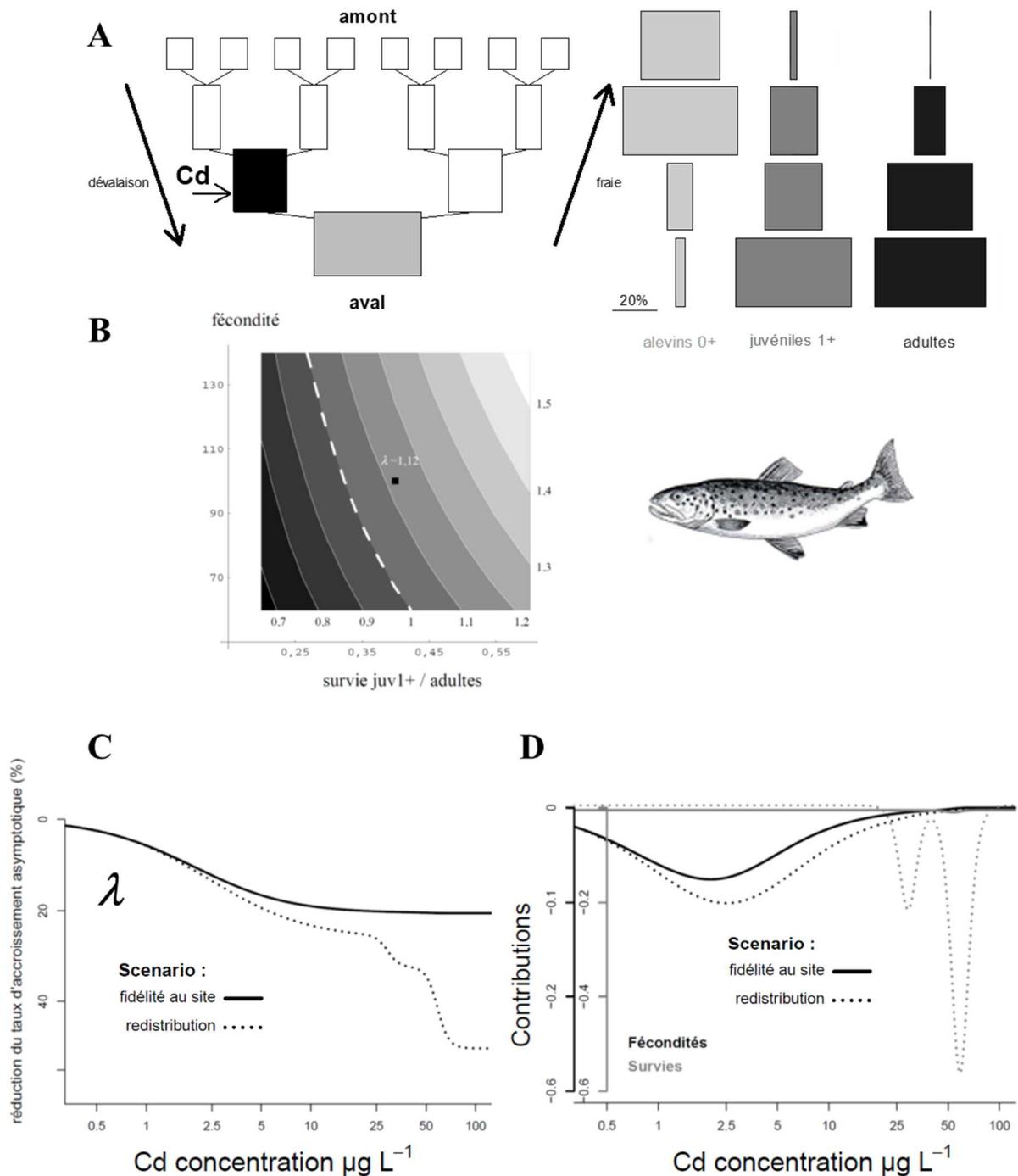


Figure 8. Modélisation des effets démographiques de l'exposition au cadmium d'une population théorique de truites vivant dans un réseau hydrographique (publication A2). (A) Répartition spatiale des 3 classes d'âge considérées (alevins 0+, juvéniles 1+, adultes) et scénario spatial de pollution simulé (2 patchs contaminés en aval du réseau); (B) analyse *a priori* (sans contamination) de la sensibilité de λ aux variations de la survie des 2 classes les plus âgées et de la fécondité (courbes de niveaux); (C) réduction de λ pour des concentrations croissantes de cadmium selon 2 comportements migratoires des adultes en reproduction (fidélité au site *en trait plein* ou redistribution aléatoire *en pointillés*); (D) analyse de décomposition des effets.

conditions initiales est plus sensible aux variations de la survie des individus âgés de plus d'un an qu'à celle de la fécondité. Pourtant quand on simule les effets d'une contamination au cadmium dans ce réseau de rivières, on obtient une « dose-réponse populationnelle », où λ présente une réduction pour des niveaux de concentration de l'ordre de 3 $\mu\text{g/L}$ correspondant aux seuls effets sur la fécondité (Figure 8C) et on ne retrace pas d'influence populationnelle de la mortalité des individus attendue à des niveaux de l'ordre de 30 $\mu\text{g/L}$. Il apparaît donc que la sensibilité aux changements des taux de survie dans la population devient nulle quand la reproduction est affectée, rendant peu pertinente l'information obtenue sur la sensibilité *a priori* du cycle de vie. Dans la suite de ces travaux sur ce modèle truite, j'ai pu constater que ces effets liés aux impacts sur la survie deviennent par contre prépondérants si on change une des hypothèses migratoires relative à la fidélité aux sites des reproducteurs (courbes en pointillés sur la Figure 8C).

Comment comprendre rétrospectivement l'émergence de l'effet populationnel, *i.e.* comprendre quels sont les traits d'histoire de vie qui expliquent les changements du λ constatés aux différents niveaux de concentrations (*regression design*) ou lorsqu'on compare deux situations référence *vs* perturbée (LTRE) ? L'analyse de décomposition permet de répondre à cette question (Caswell 1996, 2001). Celle-ci permet en effet de prendre en compte l'évolution de la sensibilité aux variations des différents traits d'histoire de vie tout au long de la modification du cycle de vie qui s'opère. Il s'agit de décomposer les effets du traitement sur λ en contributions attribuables à chacun des taux vitaux affectés (Caswell 1996). Dans le cas d'un *regression design*, il suffit en fait d'appliquer le raisonnement exposé plus haut sur le calcul de la sensibilité aux variations d'un paramètre x d'ordre inférieur, en considérant ici la concentration c comme étant ce paramètre. On peut formaliser cette décomposition en contributions qui correspondent aux différents termes d'une somme :

$$\frac{\partial \lambda}{\partial c} = \sum_{i,j} \frac{\partial \lambda}{\partial l_{ij}} \frac{\partial l_{ij}}{\partial c}$$

Si on reformule littéralement cette équation : pour un niveau de concentration donné, la variation de λ induite par l'augmentation de la concentration ($\frac{\partial \lambda}{\partial c}$) est la résultante (la somme) des variations liées aux changements des différents traits d'histoire de vie l_{ij} causés par cette augmentation de la concentration ($\frac{\partial l_{ij}}{\partial c}$). Ces changements peuvent être décrits notamment en dérivant les courbes dose-réponse classiques de l'écotoxicologie, par exemple survie en fonction de la concentration d'exposition. Ces changements sont ensuite « convertis » en variation de λ , en les multipliant par le coefficient de proportionnalité existant entre effet de la modification du trait considéré et effet sur λ , c'est-à-dire la sensibilité démographique vue plus haut ($\frac{\partial \lambda}{\partial l_{ij}}$) que l'on peut calculer grâce aux vecteurs propres de la matrice \mathbf{L} . Dans cette équation, on retrouve donc sous une forme mathématique exactement le modèle conceptuel proposé en introduction (Figure 1) : la sensibilité populationnelle à la contamination $\frac{\partial \lambda}{\partial c}$ est la résultante du croisement entre sensibilités toxicologiques $\frac{\partial l_{ij}}{\partial c}$ et sensibilités démographiques $\frac{\partial \lambda}{\partial l_{ij}}$.

Pour illustrer la démarche, je reprends sur la Figure 9 l'exemple simple de la réponse populationnelle du chironome à l'exposition au méthiocarbe (A5). Dans cette étude, il est apparu

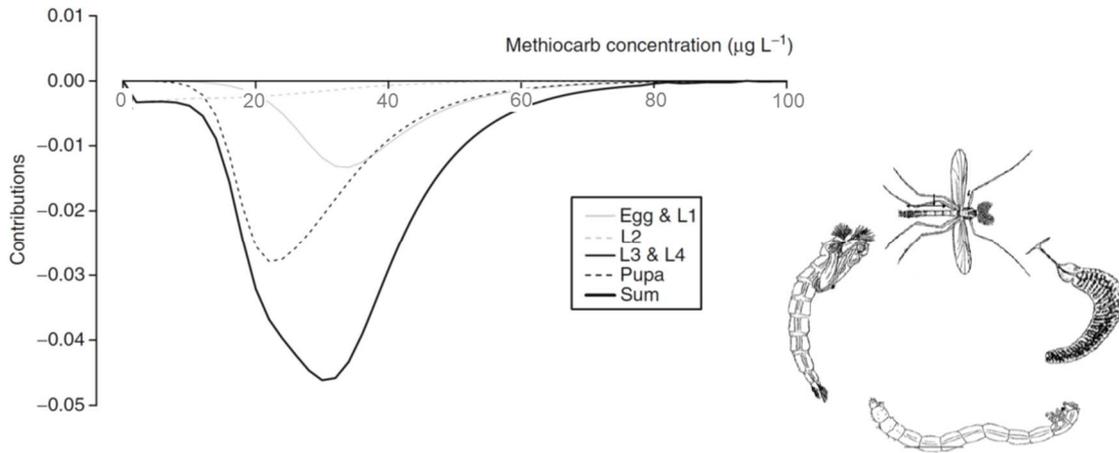


Figure 9. Décomposition de l'effet démographique du méthiocarbe induit par la mortalité des différents stades de vie chez *Chironomus riparius* présenté sur la Figure 6.

que l'effet populationnel constaté était principalement lié à la mortalité lors de l'émergence (stade pupal) et à l'éclosion. Les mortalités larvaires, pourtant plus sensibles si on regarde les niveaux de concentrations qui induisent ces effets, ne contribuent que très peu à l'impact démographique de l'insecticide. Dans l'exemple de la truite (Figure 8), où la réponse de la population à différents scénarios spatiaux de contamination apparaît comme complexe, l'analyse de sensibilité par décomposition m'a permis de « décortiquer » les patrons de réponse et de mettre à jour des sites et des classes d'âge critiques pour la population (A1, A2, Ch2). Dans cette situation où on prend en compte la dimension spatiale de la dynamique populationnelle, les comportements spatiaux d'occupation de l'habitat ont une influence sur la réponse de la population à la pollution du fait de l'hétérogénéité spatiale de celle-ci. Par exemple, l'impact de la contamination est globalement plus important sous l'hypothèse d'un mélange migratoire par rapport à une hypothèse de fidélité au site des reproducteurs. L'analyse par décomposition a permis de comprendre ce résultat contre-intuitif : au lieu de « diluer » l'effet de la pollution sur l'ensemble des individus de la population, ce brassage migratoire empêche l'émergence d'une sous-population épargnée dans une zone refuge du réseau. Ce changement de sensibilité populationnelle passe par une modification de la sensibilité démographique vis-à-vis des variations des taux de survie des individus reproducteurs (Figure 8D).

On voit donc que la théorie de Leslie offre un cadre permettant de formaliser le concept de sensibilité démographique et de décrire des profils de cette sensibilité en fonction des cycles de vie des populations ou espèces d'intérêt. Une des questions qui se pose alors est la robustesse de ces patrons de sensibilité vis-à-vis de la paramétrisation possible des cycles de vie. En effet, la description fine et quantifiée des flux démographiques, migratoires est souvent compliquée sur les espèces environnementales. Se pose également la question de la généralité des patrons décrits. Est-ce que le profil de sensibilités décrit à partir d'un modèle établi pour une population d'étude peut être étendu à l'ensemble de l'espèce ? Mon expérience à travers la diversité d'espèces que j'ai pu traiter est que ces patrons sont extrêmement robustes vis-à-vis de la paramétrisation des modèles. Sur la Figure 10, je donne l'exemple de la comparaison du profil de sensibilité démographique chez le gammare entre trois jeux de paramètres que nous avons testés au cours de la thèse de R. Coulaud qui visait une description de terrain des dynamiques populationnelles de ce crustacé. Nous avons

en effet été confrontés à la difficulté de l'estimation des paramètres de survie *in situ* (T1). On s'aperçoit que le profil est relativement peu sensible à ces changements de paramétrisation pourtant très contrastés. J'ai pu faire ce même constat de robustesse vis-à-vis de la paramétrisation des modèles chez la truite, ou encore pour le gastéropode *Potamopyrgus* et le moustique *Aedes aegypti* en comparant les profils de sensibilités que j'obtenais sur mes populations avec celles décrites dans la littérature. Mon sentiment global est que ce patron des sensibilités démographiques relatives à l'altération des différents traits d'histoire de vie est en fait extrêmement contraint par la forme du graphe de cycle de vie. Ceci va dans le sens d'une possibilité de prise en compte relativement systématique de la sensibilité démographique des espèces dans les schémas d'évaluation du risque (Stark et al 2004, Forbes et al 2008) et rejoint le point de vue des auteurs qui proposent des classifications assez génériques de la vulnérabilité des espèces basées sur les grands types d'histoire de vie (e.g. Calow et al 1997, Spromberg & Birge 2005).

Néanmoins, bien que les modèles de population soient actuellement de plus en plus appelés à être employés dans les approches prédictives, le réalisme écologique des modèles de population utilisés doit être encore amélioré dans la perspective d'évaluer la vulnérabilité des populations exposées aux contaminations dans les milieux aquatiques. Dans la majorité des études, les modèles de population sont en effet basés sur des données de laboratoire dont les espèces ne sont pas représentatives des écosystèmes. Par conséquent, certaines caractéristiques du cycle de vie des espèces en lien avec la variabilité des conditions environnementales restent non prises en compte dans les études de laboratoire, alors qu'elles peuvent potentiellement contraindre fortement la démographie des espèces dans les milieux et donc moduler leur sensibilité aux perturbations.

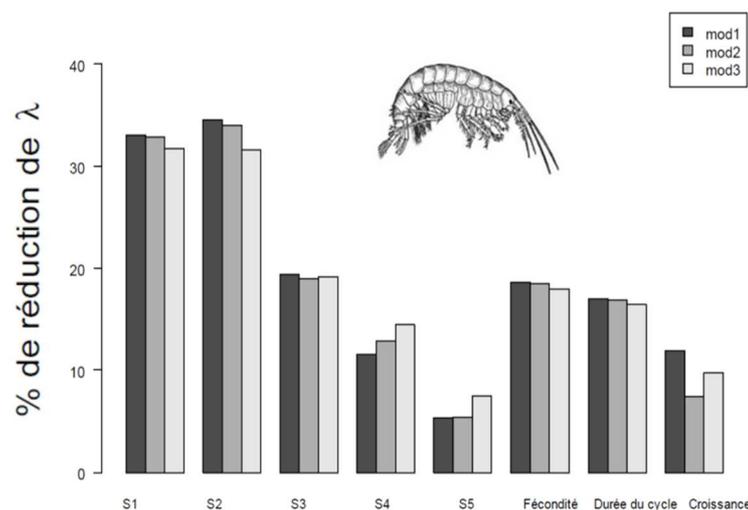


Figure 10. Profil de sensibilité démographique obtenu pour trois jeux de paramètres (mod1, mod2, mod3) pour l'estimation des taux de survies tirés des données de terrain de suivi d'une population naturelle de *Gammarus fossarum* (publication A30, thèse R. Coulaud T1). Les sensibilités de λ sont évaluées en simulant une réduction de 10% de chacun des traits d'histoire de vie (survie de 5 classes de tailles, fécondité, durée d'inter-ponte, taux de croissance des individus).

Phénologie des espèces et sensibilité populationnelle

Il existe en effet de nombreuses influences environnementales qui agissent et contraignent les dynamiques des populations naturelles. Certaines variables environnementales fluctuent tout au long de l'année se traduisant par une saisonnalité forte des milieux aquatiques lotiques, entraînant par la même occasion une évolution périodique des traits d'histoire de vie des organismes qui y vivent. Celle-ci se traduit dans la phénologie des espèces (période de reproduction, de croissance, de dormance...). Pour de nombreuses espèces d'invertébrés, en tant qu'ectothermes, la température est par exemple un des principaux facteurs abiotiques à l'origine de la variabilité des taux de croissance ou de reproduction au cours de l'année. Partant de ce constat, je me suis intéressé dans le cadre de la thèse de Romain Coulaud (T1) au développement de modèles adaptés à la description de la dynamique de population de deux espèces présentes dans nos milieux, fortement marquée par un rythme saisonnier, le gastéropode *Potamopyrgus antipodarum* (A27) et le crustacé *Gammarus fossarum* (A30). L'objectif a été la prise en compte de la variabilité saisonnière de ces dynamiques populationnelles et des conséquences sur la sensibilité démographique de ces espèces replacée dans leur contexte naturel. Dans ces deux cas d'étude, la modélisation a ainsi eu pour but d'identifier les processus démographiques clefs au sein des différents cycles de vie des deux espèces, les fenêtres temporelles critiques vis-à-vis de l'impact potentiel de l'exposition de ces espèces aux contaminations environnementales. Je me focaliserai dans un premier temps sur le modèle gammare pour expliciter ces développements méthodologiques.

Gammarus...

Le choix de ce modèle biologique au sein de mon laboratoire a été guidé par le fait que le crustacé *Gammarus fossarum* et plus largement les Gammaridés sont reconnus comme des organismes d'intérêt pour la biosurveillance de la qualité de l'eau (Kienle et al 2010, Gerhardt et al 2011). Nous avons contribué au développement de l'utilisation de cette espèce sentinelle dans ce cadre (Ch5), développement que je documenterai notamment dans la deuxième section de ce mémoire. J'ai pu ainsi mettre en œuvre une approche de modélisation des populations adaptée au cycle biologique et à la phénologie de cette espèce de crustacés. Nous avons paramétré des modèles matriciels périodiques de population basés sur des études tout au long de l'année de différentes populations de *G. fossarum* dans différents cours d'eaux de la région lyonnaise, notamment deux dans le Beaujolais (l'Ardières aux Ardillats, le ru de Pramenoux à Baculy) et une dans le Dauphiné (la Bourbre à la Tour du Pin), suivis réalisés dans le cadre de la thèse de Romain Coulaud (T1), d'Amandine Vigneron (T3) ou encore du stage ingénieur d'Emma Lejay (M4). Etant donné la généralité de la méthodologie et du modèle obtenu, je ne présente ici l'approche qu'avec la paramétrisation relative à la population de l'Ardières. Les aspects de biologie comparative traitant de la divergence entre populations seront abordés dans la 3^{ème} section du mémoire. L'originalité de l'approche a été l'utilisation d'une combinaison d'expériences en laboratoire et *in situ* afin de caractériser avec précision l'évolution des traits d'histoire de vie et la dynamique du cycle biologique tout au long de l'année. *Gammarus fossarum* est une espèce dont les dynamiques de population sont de type birth-flow - les organismes se reproduisent toute l'année - mais leurs taux de fécondité et de croissance dépendent de la température ce qui induit une variabilité saisonnière des processus démographiques, notamment de recrutement. De même, les taux de survie des individus varient en fonction des conditions abiotiques (température, débit, oxygénation, ...) et de ressources

trophiques très variables au cours de l'année. Pour représenter au mieux la dynamique annuelle de la population dépendante de cette saisonnalité, un modèle matriciel périodique m'a semblé bien approprié. Une matrice démographique de type Lefkovitch intégrant les valeurs des différents traits d'histoire de vie est paramétrée pour chacun des mois de l'année, prenant en compte les changements de taux de croissance, de reproduction et de survie. En nous basant sur la littérature, nous avons fait l'hypothèse forte que la température de l'eau nous permettrait de prédire les taux de croissance et les taux de reproduction mensuels moyens chez cette espèce.

Suivi démographique. Un suivi démographique a été effectué de novembre 2008 à novembre 2009. Chaque mois, des gammares ont été échantillonnés le long d'une même section de rivière de 50 m en tenant compte de la diversité des substrats de la rivière et en optimisant l'échantillonnage vis-à-vis de l'existence de substrats favorables aux gammares (bryophytes, feuilles) et de substrats dominants (gravier). Sur chaque catégorie de substrat, les densités et distributions en taille des juvéniles, adultes mâles, femelles gravides et femelles non gravides ont été déterminées. En tenant compte de la variabilité des recouvrements des différents substrats au cours de l'année, ces relevés nous ont permis d'estimer la densité mensuelle de la population, la distribution en taille, le sexe ratio et le pourcentage de femelles gravides. Nous avons également pu déterminer la taille à la naissance, la taille à la puberté et la taille maximale des individus à partir de ces données. L'évolution des densités et de la structure de la population décrite à partir de ce suivi démographique est présentée sur la Figure 11. Les densités les plus élevées ont été observées en automne, tandis que les densités les plus faibles ont été observées en sortie d'hiver.

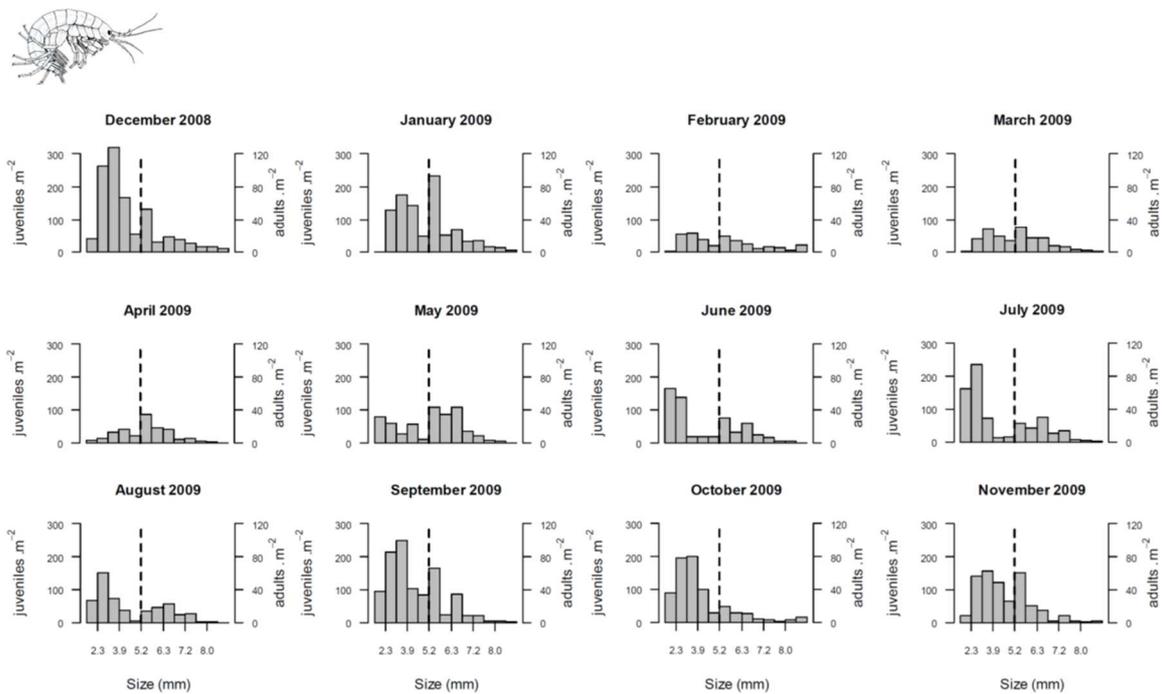


Figure 11. Evolution des densités et de la structure en taille d'une population de *Gammarus fossarum* suivie mensuellement au cours d'un an sur une station amont de l'Ardières (Beaujolais). La ligne pointillée (taille à la maturité) délimite les classes de tailles juvéniles des classes d'adultes. Ne sont considérées ici que les individus femelles.

Nous avons également observé une variabilité importante du pourcentage de femelles en reproduction entre les différents mois (pourcentages maximum au printemps et en été). De plus, en nous appuyant sur l'étude descriptive du cycle de mue et de reproduction chez *G. fossarum* (A16), nous avons mesuré à chaque mois la taille et la fécondité (nombre d'embryons dans le marsupium) de 60 femelles gravides couvrant une large gamme de tailles échantillonnées au hasard dans le secteur de la rivière. Une forte relation positive a pu être décrite entre la taille des femelles et leur fécondité sans influence du mois de prélèvement (A30).

Quantification de la variabilité mensuelle des taux de croissance et de la fréquence de ponte. Nous avons supposé que la variabilité des taux de croissance et de la fréquence de ponte s'expliqueraient principalement par la variabilité de la température de l'eau durant l'année. Par conséquent, nous avons étudié dans un premier temps au laboratoire l'influence de la température de l'eau sur la croissance et l'intervalle de temps entre deux mues (chez les amphipodes, la ponte est synchronisée à la mue). Ces résultats d'expériences de 3 mois à 3 températures (7°C, 12°C et 16°C) ont été formalisés sous la forme de modèles (Figure 12). Dans un deuxième temps, nous avons confirmé que les prédictions de ces modèles permettaient d'appréhender le gain de taille et la durée d'intermue lors d'essais *in situ* via l'encagement d'organismes au cours de quatre campagnes à différentes saisons sur le site d'étude de la population. L'encagement d'organismes permet en effet de sélectionner des individus de taille homogène et de stade mue également déterminé, autorisant un suivi longitudinal des organismes.

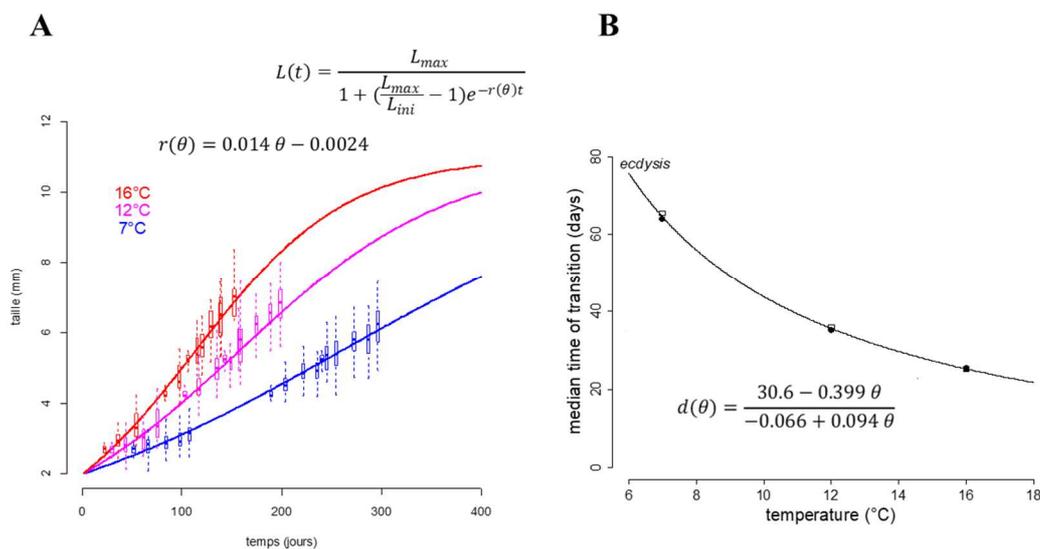


Figure 12. Quantification de l'influence de la température (A) sur la croissance et (B) la durée d'intermue (=inter-ponte) chez *Gammarus fossarum*. Trois températures ont été testées lors d'expérimentations au laboratoire. L longueur corporelle (mm), L_{max} taille maximale, L_{ini} taille initiale, r taux de croissance, t temps (jours), θ température (°C), d durée d'intermue.

Les résultats sur la croissance au laboratoire montrent que comme attendu les individus grandissent plus rapidement lorsque la température augmente (Figure 12A). A l'aide de modèles logistiques, nous avons décrit une relation linéaire entre taux de croissance et température de l'eau. Pendant les essais *in situ* effectués à différentes saisons, nous avons observé une variabilité importante du gain quotidien en taille (entre 0.01 et 0.05 mm par jour selon la saison et la taille), variabilité des gains de croissance bien expliquée par le modèle température (A30). Au laboratoire, le suivi de la mue et de la reproduction de 700 femelles mises en couple a permis de proposer une relation hyperbolique entre durée d'inter-ponte (ou inter-mue) et température de l'eau (Figure 12B). Ce modèle a permis de prévoir avec une bonne précision (+/- 1 jour) la durée du cycle de mue chez les organismes de la population engagés *in situ* au printemps et à l'été. Il a par ailleurs été affiné et validé par de multiples expérimentations réalisées dans un cadre de biosurveillance mais avec des individus issus de trois autres populations. Je reviendrai plus en détail sur ce modèle mue/température dans la deuxième section consacrée à l'intérêt de la modélisation pour la réalisation et l'interprétation de tests *in situ* chez le gammare. L'ensemble de ces résultats a confirmé notre hypothèse selon laquelle la température est un bon prédicteur des taux de croissance et de la fréquence de ponte dans cette population.

Élaboration du modèle de population. Nous avons utilisé un modèle périodique de population composé de matrices de Lefkovich, décrivant les individus de la population avec cinq classes de taille. Nous avons utilisé une structuration en classes de taille plutôt qu'en classes d'âge parce qu'il existe dans notre cas d'espèce une forte corrélation entre la taille des individus et les traits d'histoire de vie, notamment taux de croissance, fécondité. Par ailleurs, le déroulé de l'histoire de vie des individus de ces populations vivant dans des environnements très variables (caractère saisonnier) dépend fortement de leur date de naissance dans l'année, ce qui fait que l'âge n'est que peu corrélé à la taille et donc à la fécondité ou encore au taux de croissance ou au taux de survie. Classiquement, le modèle ne décrit que les femelles et distingue deux classes de juvéniles J1 (individus d'une taille allant jusqu'à 3,5 mm) et J2 (de 3,5 mm à la taille à maturité) et trois classes d'adultes A1 (de la taille à maturité à 6 mm), A2 (de 6 à 7 mm) et A3 (supérieure à 7 mm). Ce modèle peut donc intégrer l'hétérogénéité des taux vitaux (survie, croissance et fécondité) entre les classes de taille tout au long de l'année. On définit 12 matrices démographiques mensuelles \mathbf{M}_k , chacune liant les vecteurs de population entre les mois k et $k+1$:

$$\mathbf{M}_k = \begin{bmatrix} s_1(k)(1 - \sum_{j>1} g_{1,j}(k)) & 0 & f_3(k)\sqrt{s_1(k)}\sqrt{s_3(k)} & f_4(k)\sqrt{s_1(k)}\sqrt{s_4(k)} & f_5(k)\sqrt{s_1(k)}\sqrt{s_5(k)} \\ s_1(k)g_{1,2}(k) & s_2(k)(1 - \sum_{j>2} g_{2,j}(k)) & 0 & 0 & 0 \\ s_1(k)g_{1,3}(k) & s_2(k)g_{2,3}(k) & s_3(k)(1 - \sum_{j>3} g_{3,j}(k)) & 0 & 0 \\ s_1(k)g_{1,4}(k) & s_2(k)g_{2,4}(k) & s_3(k)g_{3,4}(k) & s_4(k)(1 - g_{4,5}(k)) & 0 \\ s_1(k)g_{1,5}(k) & s_2(k)g_{2,5}(k) & s_3(k)g_{3,5}(k) & s_4(k)g_{4,5}(k) & s_5(k) \end{bmatrix}$$

où $s_i(k)$ est le taux de survie de la classe de taille i au mois k , $g_{ij}(k)$ est le taux de passage entre les classes de taille i et j au mois k (proportion déterminée par le gain de croissance au cours du mois de la classe i), et $f_i(k)$ est le taux de reproduction de la classe de taille i au mois k (nombre moyen de jeunes produits par individu au cours du mois). Ce taux de reproduction moyen tient compte

du pourcentage de femelles en reproduction, de la fécondité des femelles de la classe de taille considérée, de la durée inter-ponte et du sexe ratio. Le produit des douze matrices mensuelles M_k conduit à une matrice périodique annuelle L qui relie le vecteur population n de l'année t à l'année $t+1$ comme suit :

$$n(t+1) = \left(\prod_{k=1}^{12} M_k \right) n(t) = Ln(t)$$

Si les taux de croissance et de fécondité au cours des différents mois se calculent directement à partir de la température mesurée grâce aux relations établies au laboratoire, nous avons dû adopter une autre stratégie pour estimer les taux de survie des différentes classes de tailles en nous appuyant sur le suivi démographique (Figure 13). Les taux de survie ont été calculés par différence en confrontant la structure de population (densités des différentes classes de taille) observée à une

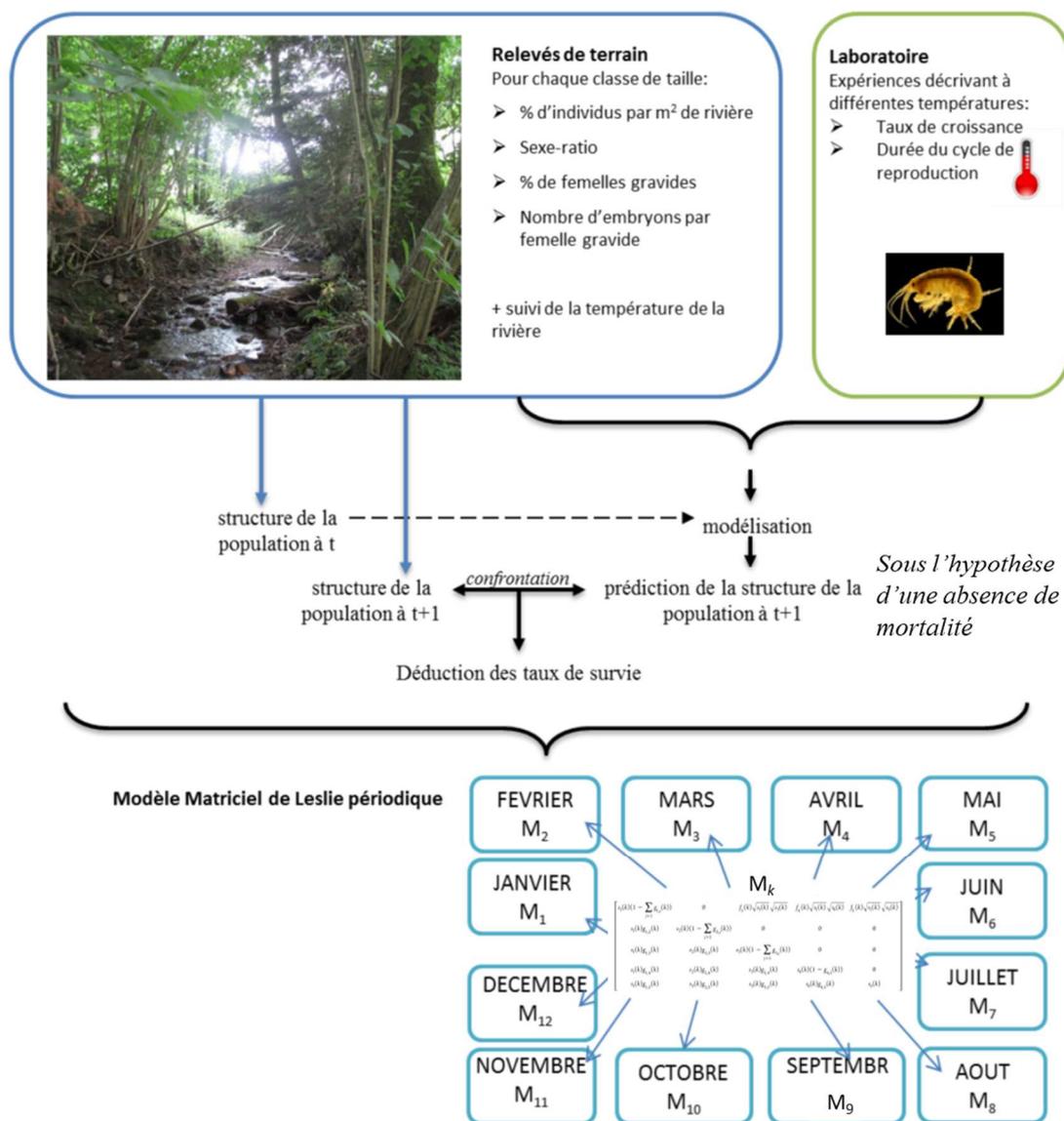


Figure 13. Couplage de suivi terrain et expérimentation laboratoire adopté pour la détermination des taux de survie mensuels de chaque classe de taille pour la paramétrisation d'un modèle de dynamique de population périodique chez *Gammarus fossarum*.

date donnée avec les densités attendues au regard des densités du mois précédent une fois modifiée par les taux de croissance et de reproduction de ce mois (*i.e.*, on applique la matrice \mathbf{M}_k mais avec des taux de survie de 1 pour toutes les classes de taille). Les taux de survie des adultes calculés montrent une variabilité saisonnière importante : de faibles taux de survie en été, et des taux de survie élevés en hiver et au printemps. Différentes paramétrisation de ces taux de survie ont été testée au cours de la thèse de Romain Coulaud (T1) ; l'exercice a conclu à une robustesse des patrons de réponse décrits au niveau populationnel (cf Figure 10).

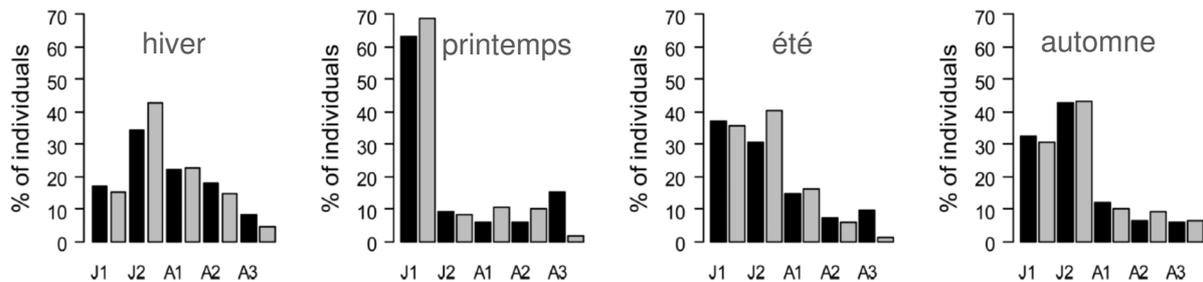


Figure 14. Comparaison des structures de taille de la population de *G. fossarum* de l'Ardennes estimées (*en noir*) par le modèle périodique (structures stables asymptotiques) et observées (*en gris*) au cours de l'année (publication A30). Sont figurées ici cinq classes de taille, correspondant à deux classes juvéniles et trois classes adultes ordonnées par ordre de taille croissante. Seules les individus femelles sont pris en compte.

La première valeur propre dominante de la matrice \mathbf{L} , λ correspond là encore dans le cas de matrices périodiques au taux de croissance asymptotique de la population (Caswell 2001). λ a été estimé ici à 1.07, mais cette valeur n'a que peu d'intérêt en tant que telle. Le vecteur propre associé à λ correspond à la structure de taille stable. Selon le mois utilisé comme point de départ pour calculer la matrice \mathbf{L} (produit des 12 matrices mensuelles \mathbf{M}_k), nous obtenons la structure stable observée à un mois différent de l'année. Nous avons calculé la distribution de taille stable correspondant à la structure de la population à la fin novembre, février, mai et août. Nous avons observé une bonne cohérence avec les données de l'échantillonnage démographique (Figure 14). Ceci met en évidence que l'approche de modélisation choisie réussit à capter la dynamique de cette population de *G. fossarum* au cours de l'année. Dans le cadre du stage d'Emma Lejay (ingénieur INSA M4), nous nous sommes amusés à partir de ce modèle de population à obtenir d'autres descripteurs de la population, une fois l'état asymptotique atteint. Par exemple, nous avons pu tirer

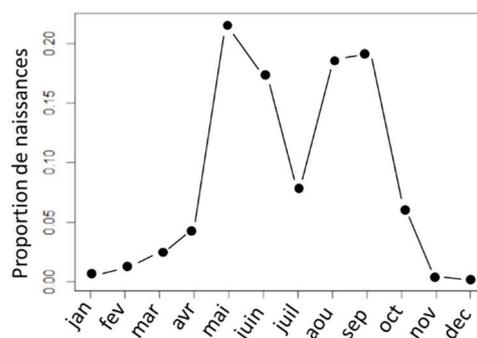


Figure 15. Répartition des naissances entre les différents mois de l'année dans le régime asymptotique atteint par la dynamique de population de *G. fossarum* de l'Ardennes.

une information sur la répartition des naissances au cours de l'année (Figure 15). On s'aperçoit que la population connaît deux périodes distinctes de naissances massives, une en fin de printemps et l'autre en fin d'été.

Des analyses de sensibilité de λ ont pu être menées à partir de la matrice annuelle **L**. Comme montré plus haut (Figures 7-10), λ est globalement plus sensible aux changements des taux de survie des juvéniles qu'aux changements des autres paramètres du cycle biologique. Ce résultat est en accord avec l'étude de Forbes et al (2001) qui conclut que les espèces macro-invertébrées benthiques montrent généralement une sensibilité élevée à la réduction du taux de survie des stades juvéniles. Toutefois, lorsque nous avons appliqué successivement sur chaque matrice mensuelle une réduction des taux de survie des juvéniles, des adultes ou des taux de fécondité, nous avons observé une forte variabilité de la sensibilité du λ au cours de l'année à ces perturbations et des patrons très différenciés en fonction du trait d'histoire de vie affecté se sont dégagés (Figure 16). La réduction des taux de survie des juvéniles entraîne les impacts les plus importants en juin, puis à l'automne. En ce qui concerne la survie des adultes, nous avons noté les impacts les plus élevés en hiver avec une réduction de plus de 20% sur λ lorsque la réduction de la survie a lieu en janvier, février ou mars. Enfin, en ce qui concerne la fécondité, nous observons un schéma bimodal avec les impacts les plus importants en avril et en juillet-août, en antiphase avec le signal de la survie juvénile.

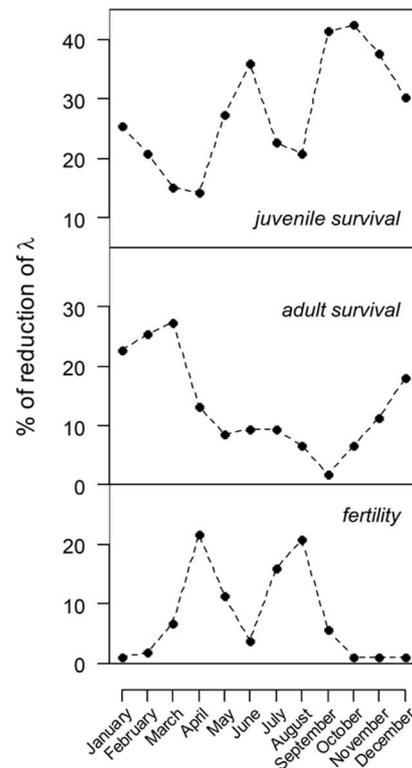


Figure 16. Sensibilité démographique et phénologie chez *G. fossarum*. Est représentée ici la réduction du taux d'accroissement asymptotique annuel λ causée par une réduction de 50% des taux de survie juvénile, des taux de survie adulte, ou des taux de fécondité au cours d'un mois dans l'année (A30).

Ainsi il apparaît que la sensibilité démographique de la population de *Gammarus* étudiée varie considérablement d'un mois à l'autre. La dynamique de population semble très sensible aux réductions de la survie des adultes en hiver, alors qu'elle est plus sensible aux inhibitions de fécondité en avril, juillet et août. McGee & Spencer (2001), Spencer & McGee (2001) ont également conclu à une variabilité mensuelle élevée de la sensibilité de population de crustacés, mais le profil de sensibilité mensuelle diffère chez leur espèce d'amphipode *Leptocheirus plumulosus*. Ces tendances contrastées mettent en évidence le rôle des histoires de vie et de la phénologie des espèces dans la modulation des impacts démographiques. Le profil saisonnier de la sensibilité démographique ainsi révélé chez *G. fossarum* nous apparaît ici très cohérent *a posteriori* avec la biologie de la population que nous avons pu décrire. Nous observons un fonctionnement de la population avec deux périodes de recrutement dans l'année. Au printemps, un stock hivernal d'adultes survivants assure principalement le renouvellement de la population, ce qui explique la grande sensibilité au taux de survie des adultes en hiver et le pic de sensibilité de la fécondité en avril. Les juvéniles produits par ces reproducteurs survivants au début du printemps arrivent à maturité en été et contribuent à leur tour à la production de nouveaux individus dans la population. Il en résulte un deuxième pic de sensibilité aux inhibitions de fécondité en juillet et août, précédé d'un pic de sensibilité aux réductions du taux de survie des juvéniles en avril et mai. Par la suite, une forte sensibilité à la réduction de la survie des juvéniles apparaît à l'automne, car les survivants de cette deuxième vague de nouveaux individus constituent le stock hivernal des adultes, ce qui assure principalement le redémarrage de la population l'année suivante. L'analyse du modèle de dynamique de population obtenu chez le gammare permet ainsi de décrire la sensibilité démographique de la population au cours du cycle annuel, soulignant des fenêtres de sensibilité pour les différents processus biologiques. Une telle description et compréhension de la biologie de cette population a été rendue possible par le recours à la modélisation.

Et les autres

Pour confirmer que les modèles matriciels périodiques de population structurés en classes de taille peuvent être des outils très utiles permettant de saisir la dynamique des espèces d'invertébrés

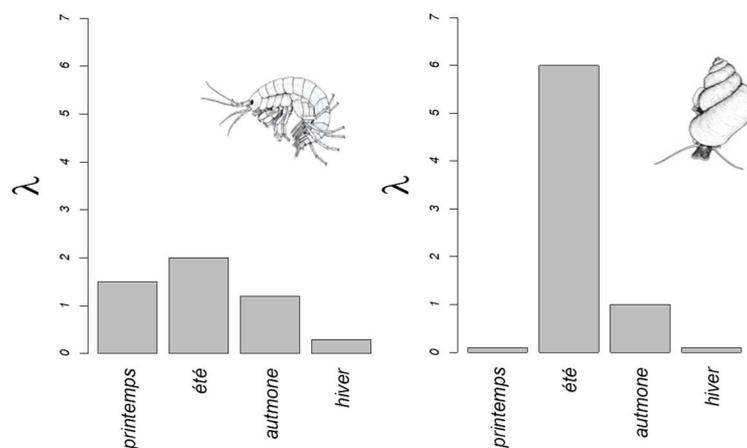


Figure 17. Taux d'accroissement asymptotique populationnel chez *G. fossarum* (A) et *P. antipodarum* (B) estimés pour des dynamiques démographiques théoriques qui se dérouleraient au cours de « saisons éternelles ».

aquatiques, l'approche de modélisation développée chez le gammare a également été employée pour décrire la dynamique de population d'une autre espèce avec un cycle de vie bien différencié : le gastéropode invasif *Potamopyrgus antipodarum* présent sur le Rhône au niveau de Crey-Malville dans le Bugey (A27). Cette espèce est clonale, avec des individus femelles se reproduisant par parthénogenèse. Par rapport à d'autres populations de *P. antipodarum*, les températures dans ce site sont très faibles jusqu'au début de l'été en raison des apports importants d'eau froide lors de la période de fonte des neiges alpines. La comparaison des résultats sur les deux espèces a permis de souligner l'importance de la phénologie dans les différences interspécifiques qui existent en termes de sensibilité démographique, et donc son influence potentiellement majeure sur la sensibilité des populations à la perturbation liée à la toxicité des milieux et sa dynamique temporelle.

Pour faire ici rapidement cette comparaison entre les deux espèces, je m'appuie sur une approche peu orthodoxe que j'ai proposée pour l'analyse de ces modèles (A27). Poussant un peu plus loin le caractère irréaliste des modèles de Leslie qui s'appuient sur une notion de projection pour le calcul d'indicateurs démographiques, nous avons considéré les dynamiques de population attendues (*i.e.* projetées) quand on fait l'hypothèse de « saisons éternelles » en nous appuyant sur les différentes matrices mensuelles \mathbf{M}_k que nous avons pu paramétrer pour nos populations de terrain. Nous pouvons ainsi comparer la dynamique de la population si elle ne vit qu'en été, qu'en hiver ... Sur la Figure 17, on retrouve pour le gammare des dynamiques fortes en printemps, été et en décroissance en hiver. Pour le gastéropode, le contraste entre saisons est extrême avec une capacité d'explosion démographique en période estivale en accord avec le caractère invasif de l'espèce. La forte variabilité de λ s'explique par le fonctionnement assez particulier de la population de *P. antipodarum*. En effet, durant les périodes froides (hiver printemps), la population est composée quasiment uniquement de petits juvéniles enfouis dans la vase, avec une très nette disparition des adultes, traduisant une forte mortalité de ces individus. Pour aller plus loin dans l'analyse démographique, je montre sur la Figure 18 le résultat d'une analyse de sensibilité du taux d'accroissement asymptotique λ des différentes matrices saisonnières à la perturbation des

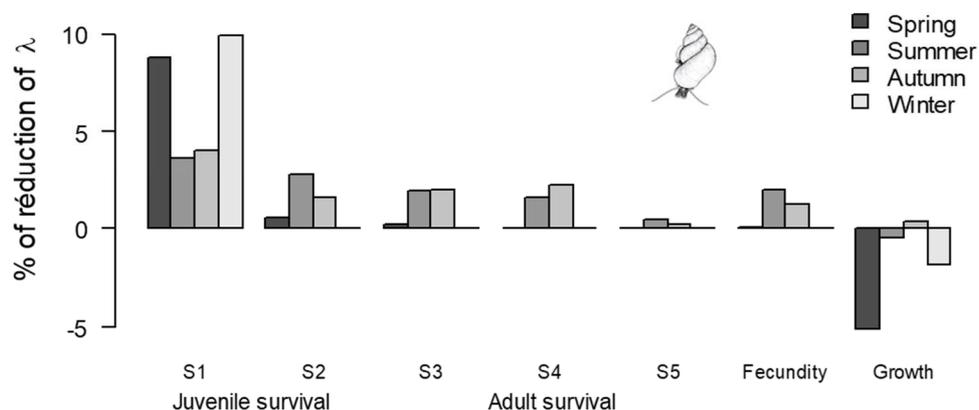


Figure 18. Analyse du profil de sensibilités démographiques saisonnières chez *P. antipodarum*. Sont figurées ici les réductions du taux d'accroissement asymptotique saisonnier induites par une diminution de 10% des taux de survie, de la fécondité ou du taux de croissance.

différents paramètres du cycle biologique. Là encore, il existe une variabilité saisonnière importante. On peut identifier deux périodes contrastées. Au printemps et en hiver, la population est surtout sensible à la réduction de la survie des juvéniles, tandis qu'en été et en automne, la sensibilité de λ à la réduction de la survie des juvéniles est considérablement réduite et la démographie de la population devient plus sensible à la modification d'autres traits. Cette forte variabilité saisonnière de la sensibilité démographique de la population s'explique là encore par la phénologie de la population : en hiver et au printemps, le maintien de la population est assuré par un stock de juvéniles (pas de reproduction, mortalité adulte élevée), alors qu'en été et en automne, les individus juvéniles grandissent, deviennent adultes et se reproduisent. Du fait du rôle prépondérant du stock de juvéniles permettant ce passage de la mauvaise saison, on comprend que durant cette période froide, la population soit très sensible à la survie de la première classe de taille et peu voire pas du tout aux autres paramètres. Ce profil singulier explique aussi pourquoi lors de ces deux saisons, nous observons une augmentation du taux de croissance asymptotique de la population avec la réduction de la croissance individuelle. Ce résultat démographique inattendu s'explique par les très faibles taux de survie des dernières classes d'adultes pendant plusieurs mois au printemps et en hiver. Ainsi, lorsque le taux de croissance quotidien diminue, les individus restent plus longtemps dans la première classe d'adultes avec des taux de survie plus élevés, ce qui augmente leur valeur reproductive pour la population. Cet avantage pour les organismes à faible taux de croissance est par exemple documenté par certaines études sur les populations de poissons sous pression de pêche, où des taux de mortalité plus élevés mènent à la sélection d'individus à faible capacité de croissance [63,64].

A l'aide de ces études, nous avons donc montré l'importance de prendre en compte la phénologie de ces espèces de macro-invertébrés dans l'extrapolation des effets potentiels des contaminants au niveau populationnel. En effet, il apparaît grâce à la modélisation que la sensibilité démographique des populations face aux perturbations des traits d'histoire de vie potentiellement induites par l'exposition à la contamination chimique est fortement marquée par une variabilité saisonnière, pouvant remettre fortement en question les conclusions de modèles classiques construits le plus souvent au laboratoire pour appréhender la dynamique de populations d'espèces modèles. L'amélioration du réalisme écologique des modèles de population doit donc être une préoccupation pour l'évaluation des risques écologiques. L'intégration de la phénologie des espèces est réalisable par les approches de modélisation. L'approche de modélisation développée à l'aide de modèles matriciels périodiques de population est une solution adaptée pour comprendre mécaniquement la complexité des processus démographiques se produisant dans les populations présentes dans nos milieux marqués par une forte influence de la saison. Ce type d'approches peut permettre d'avancer dans la compréhension des déterminismes de la sensibilité des populations et par exemple de proposer une évaluation de cette sensibilité en fonction des histoires de vie des espèces, particulièrement leur phénologie. Ceci a une valeur particulière dans nos contextes aquatiques continentaux dont le fonctionnement est marqué par une forte variabilité saisonnière. Au-delà de pouvoir caractériser l'impact potentiel de l'exposition à la toxicité dans des contextes de pollution chronique persistante, la structure périodique de ces modèles permet d'anticiper plus précisément l'impact d'expositions ponctuelles aux contaminants (pics de pesticides, contaminations à variabilité saisonnière dues au débit, aux dynamiques de ruissellement ou à la gestion des effluents) en tenant compte des fenêtres de sensibilités démographiques des

populations potentiellement exposées. Ces éléments pourraient venir en miroir d'éléments qui qualifient la variabilité temporelle de l'exposition déjà utilisées dans certaines approches d'évaluation du risque. Par exemple dans l'étude SPEAR de Liess & von der Ohe (2005) qui s'intéresse à la vulnérabilité des espèces d'invertébrés aquatiques face aux traitements insecticides printaniers, certaines espèces d'insectes toxicologiquement sensibles sont tout de même classées comme non à risque du fait que leurs stades larvaires aquatiques émergent avant la période de traitement. Dans le schéma conceptuel proposé en introduction pour décomposer la vulnérabilité des populations aux contaminations (Figure 1), on peut ainsi imaginer mieux appréhender la dimension temporelle du lien exposition/danger dans le contexte de la variabilité environnementale, en proposant de nourrir plus finement le volet sensibilité avec des descripteurs qui qualifieraient eux aussi la variabilité temporelle de la sensibilité démographique des espèces.

Revenir aux individus

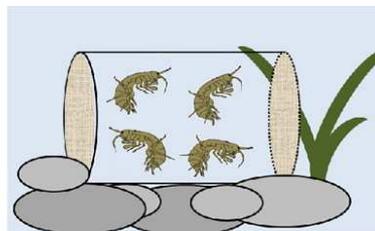
Les populations et les communautés constituent les niveaux cibles de protection dans l'évaluation du risque écologique. Cependant les échelles spatiales et temporelles rendent difficile l'évaluation des effets toxiques des contaminations de l'environnement directement à ces niveaux intégrés. Les études de terrain qui permettent d'évaluer directement les réponses populationnelles à la pression chimique sont ainsi relativement rares. Une méthode parfois employée consiste à comparer les densités d'individus en amont et en aval de sources de pollution dans le cas de rejets bien identifiés. Par exemple, Hickey & Clements (1998) montrent une importante diminution des densités de populations de plusieurs espèces d'invertébrés aquatiques en aval de points de rejet de contaminations métalliques. Bien que ces observations d'abondance puissent donner des indications sur la santé des populations et sur les facteurs qui les affectent, elles sont souvent complexes à obtenir, à analyser, et les conclusions en termes de devenir, de maintien populationnel sont hasardeuses. En effet, ces études requièrent des suivis réguliers de population pour couvrir la variabilité temporelle de la démographie suivie ; ces suivis sont souvent difficiles à obtenir et la plupart du temps peu concluants vis-à-vis de l'impact d'une source polluante même clairement identifiée notamment du fait de la délimitation spatiale des populations vis-à-vis de cette source (dispersion des individus, colonisation...). La deuxième difficulté pour diagnostiquer les impacts écologiques liés à l'exposition aux contaminants provient du fait que l'état des populations et des communautés résultent de multiples influences environnementales (variabilité naturelle et perturbations anthropiques). Ces niveaux constituent en effet des niveaux intégrés d'organisation biologique. Dans le cadre des approches de diagnostic, de surveillance de l'état écologique des cours d'eau, cela conduit à un manque de spécificité des réponses mesurées au niveau des populations et des communautés vis-à-vis de la pression toxique (influences biotiques, modification des habitats, changements de température ou d'autres conditions environnementales abiotiques, etc.). Par exemple, dans le cadre de la directive européenne cadre sur l'eau (DCE) qui exige la détermination de la qualité écologique des milieux aquatiques et le retour à un bon état des systèmes aquatiques classés comme perturbés, les approches actuelles de bioindication écologique ne répondent encore pas pleinement à ces exigences : elles ne permettent pas aujourd'hui d'identifier de façon univoque les sources de perturbation (ex. habitat vs contamination) et les sources de polluants en cas de stress chimique, identification pourtant pré-requise pour les programmes de restauration. Identifier les causes des perturbations observées sur les communautés / populations et révéler le rôle des pressions chimiques nécessite en effet l'établissement et la quantification des relations exposition / effet existant sur le terrain.

En réponse, van Straalen & van Gestel (2008) soulignent l'intérêt de développer une approche multi-échelle (intégrant plusieurs niveaux biologiques) pour discriminer les effets des polluants d'autres agents stressseurs qu'ils soient d'origine naturelle et anthropique. De même, dans une démarche du « poids de la preuve », Chapman (2007) soutient qu'il est essentiel d'intégrer des tests (en laboratoire et/ou sur le terrain) utilisant des niveaux d'organisation biologique moins intégrés (sub-individuels et individuels) afin d'établir de façon la plus fiable possible une évidence des impacts de la toxicité des contaminants dans les écosystèmes exposés. Il apparaît en effet nécessaire

de réduire la complexité du système biologique utilisé pour mesurer les impacts biologiques, ce qui peut se faire en recourant à un " système biologique " de niveau d'organisation inférieur : l'organisme.

Biotest in situ chez Gammarus : encagement, mesure de traits d'histoire de vie et modélisation

Dans le cadre de l'évaluation de la toxicité des milieux aquatiques marins et continentaux, une approche d'écotoxicologie de terrain s'est fortement développée depuis une vingtaine d'années aux côtés des approches classiques de surveillance qui recourent le plus souvent à la mesure de biomarqueurs sur des organismes collectés dans les milieux. Cette approche de biosurveillance active se base sur l'utilisation d'organismes provenant d'une population source contrôlée, organismes qui sont transplantés sur les sites d'étude en recourant à l'encagement pendant des périodes contrôlées d'exposition (expérimentation *in situ*). Dans le but d'établir des liens de causalités entre exposition et effets pour révéler la toxicité du milieu, l'approche permet à la fois (i) de réduire les sources de variabilité liées aux facteurs biotiques ou d'historique d'exposition des organismes (*e.g.* âge, genre, état physiologique, reproduction, population) qui peuvent compliquer l'interprétation des réponses biologiques en termes d'effets toxiques, et (ii) de permettre une exposition réaliste à la contamination environnementale en intégrant notamment l'effet de nombreux facteurs (température, pH, conductivité, variations de contamination dans le temps) qui peuvent influencer la toxicité des systèmes aquatiques en contrôlant par exemple la biodisponibilité des contaminants (Maltby & Burton 2006, Crane et al 2007, Liber et al 2007). De plus, au-delà de permettre une évaluation dans les stations où les espèces sentinelles d'intérêt ne sont pas ou plus présentes du fait de la pression chimique ou de l'altération d'autres paramètres d'habitat, cette approche offre l'avantage de pouvoir utiliser comme marqueurs de toxicité les traits d'histoire de vie comme la croissance, la survie, la production de jeunes, ou encore d'autres activités physiologiques en lien clair avec à la dynamique des populations (*e.g.* taux d'alimentation). Ces mesures ne sont généralement pas réalisables par prélèvement d'organismes indigènes. Par conséquent, les expérimentations *in situ* au niveau individuel apparaissent aujourd'hui comme des moyens possibles d'améliorer le diagnostic des causes de la dégradation de l'environnement.



Depuis une dizaine d'années environ, j'ai contribué au développement d'une méthodologie de biosurveillance active chez *Gammarus fossarum*. Le genre *Gammarus* est un groupe de crustacés amphipodes très diversifié avec plus de 200 espèces que l'on rencontre dans l'ensemble des milieux aquatiques continentaux et côtiers et qui représente les espèces de macro-invertébrés dominantes en termes de biomasse dans de nombreux écosystèmes d'eau douce (MacNeil et al 1997). Les Gammaridés sont connus pour être très sensibles à la fois aux composés toxiques métalliques mais également organiques (von der Ohe & Liess 2004). Ce sont des espèces largement utilisées en écotoxicologie, que ce soit au laboratoire ou sur le terrain (Kunz et al 2010). De nombreux biotests

ont été proposés pour étudier l'impact de sédiments, naturels ou dopés (Costa et al 2005, Gaskell et al 2007), d'effluents de stations d'épuration (Gross et al. 2001, Schirling et al 2005) ou des eaux de surface notamment via l'encagement (Crane & Maltby 1991, Maltby et al 2002, Bloor & Banks 2006, Baird et al 2007). Les travaux de mon laboratoire ont conduit au cours de ces 15 dernières années à la proposition de méthodologies robustes pour la mesure de biomarqueurs (Xuereb et al 2007, Dedourge-Geffard et al 2009, Lacaze et al 2010, A15, A18, A26, A29, A50) et de traits d'histoire de vie (notamment en lien avec la reproduction ; A16, Ch5) dans le but de proposer des outils de diagnostic de la qualité des milieux recourant à l'encagement *in situ* d'organismes. Comme vu dans le chapitre précédent, je me suis appuyé sur ces méthodes de mesure de traits d'histoire de vie pour le développement des modèles de population chez cette espèce, et j'ai dû décrire pour cela l'effet des paramètres comme la température sur ces traits d'histoire de vie. Aussi, ma contribution principale au développement de l'approche active a consisté tout naturellement à intégrer la variabilité des conditions environnementales dans la lecture des réponses biologiques. Solutionnant ainsi en partie la question de l'impact des paramètres physico-chimiques non contrôlés lors de l'exposition *in situ* sur la réponse des marqueurs de toxicité, ces travaux ont notamment permis de proposer des **valeurs de référence** pour l'interprétation de ces biotests *in situ* pour lesquels la notion de condition témoin est délicate pour ne pas dire controversée (Liber et al 2007).

De nombreuses études ont montré en effet que les facteurs abiotiques autres que la présence de contaminants peuvent influencer le niveau de base de nombreux biomarqueurs et traits d'histoire de vie. Ceci constitue une limite forte pour les interpréter de façon fiable en termes de toxicité chez les organismes encagés. Pour la majorité des tests *in situ* réalisés, l'impact des facteurs de confusion ne sont le plus souvent pas clairement pris en compte, ce qui conduit à une utilisation restreinte de l'approche limitée à la comparaison de sites présumés de référence et impactés et présentant des paramètres physico-chimiques *a priori* similaires (*e.g.* amont et aval d'une source de contamination identifiée). Cette stratégie interdit les études à des échelles plus larges (réseau de stations de surveillance, étude de bassin versant, ...) et ne permet pas de s'affranchir complètement du biais lié à l'influence de facteurs de confusion, même à une petite échelle spatiale. C'est ce que nous avons pu démontrer avec l'exemple de l'influence forte de la température sur le tests d'inhibition alimentaire chez le gammare (A30). Nous avons montré dans cette étude qu'une différence de 1°C induit une variation de 15% du taux d'alimentation ; les différences thermiques amont-aval de bassins versants ou de rejets masquent ainsi dans la plupart des cas les inhibitions alimentaires potentiellement induites par la contamination. Hanson et al (2010) proposent que la compréhension et la quantification de la variabilité naturelle des marqueurs biologiques utilisés en écotoxicologie peuvent améliorer leur fiabilité en limitant la possibilité d'interprétation erronée de la modulation naturelle d'une réponse en tant qu'impact toxique. Permettant de s'affranchir d'une mesure témoin, l'utilisation de valeurs de référence et de seuils intégrant l'influence des paramètres physico-chimiques des milieux, peut également offrir la possibilité d'évaluer la qualité toxique de l'eau sur des stations isolées, déconnectées et réparties sur une large échelle géographique. Ceci garantit également de pouvoir les comparer et les prioriser vis-à-vis du danger toxique. En considérant cette notion de variabilité naturelle des marqueurs de toxicité, j'ai développé différentes stratégies pour définir ces valeurs seuils chez *Gammarus*. Je présente ici rapidement les différentes approches que j'ai pu adopter.

Approche empirique – Une des approches les plus intuitives permettant de limiter les faux positifs induits par l'influence des facteurs de confusion environnementaux consiste à définir des gammes de valeurs de référence des marqueurs (niveaux de base) en intégrant leur variabilité spatiale et temporelle telles qu'observées sur des sites témoins déclarés *a priori* comme de référence (Hanson et al 2010). J'ai pu appliquer cette première stratégie (définition d'une distribution des valeurs de référence, seuils de décision défini au 95^{ème} percentile de cette distribution) dans le cas de biomarqueurs subindividuels chez le gammare (et contribuer récemment à un transfert de la démarche chez l'espèce de crevette marine *Palaemon serratus*; A57). En effet, chez *G. fossarum*, l'influence des principaux facteurs environnementaux (température, dureté) sur l'activité acétylcholinestérase (A15), les niveaux de dommages à l'ADN des spermatozoïdes (test des comètes; Lacaze et al 2011a) ou encore les enzymes digestives (A26), s'est révélée être très faible. Les résultats obtenus sur des sites choisis *a priori* comme 'de référence', appartenant à divers bassins et au cours des quatre saisons, sont venus confirmer une très faible variabilité de ces réponses. Dans ces études, une distribution normale des niveaux de ces biomarqueurs a été proposée comme référentiel, celle-ci étant établie de façon empirique en compilant les valeurs observées pour différentes stations de référence, pour différentes saisons et/ou différentes années. Un seuil de décision est fixé en respectant par exemple un taux de faux positifs de 5% en prenant le 95^{ème}

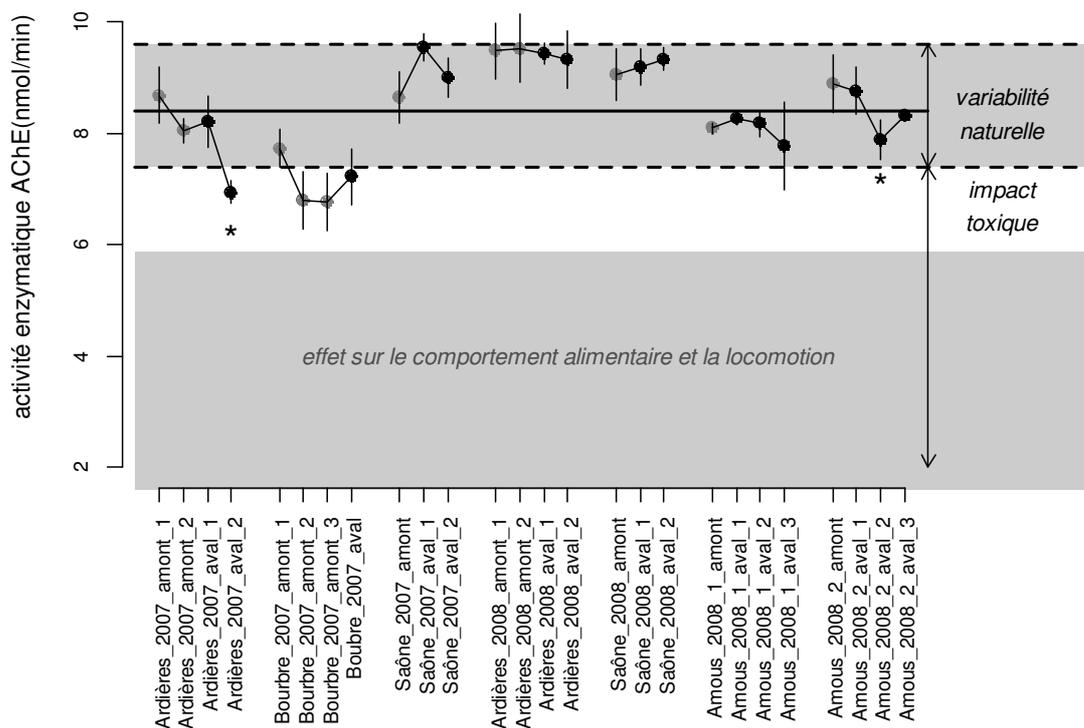


Figure 19. Utilisation de valeurs seuils pour l'interprétation des mesures du biomarqueur AChE chez *Gammarus* en biosurveillance. Sept campagnes d'encagement *in situ* (deux semaines) dans des stations en amont (gris) en aval (noir) de sources de pollution sont présentées. Les étoiles indiquent des différences significatives entre les mesures en amont et en aval. La gamme de variabilité de la mesure de l'AChE hors contamination (pointillés) a été établie par Xuereb et al (A15). Les niveaux d'inhibition influant sur alimentation et locomotion sont évalués à partir de l'étude de Xuereb et al (2009).

percentile de cette distribution de référence comme seuil. A titre d'exemple d'application, les résultats de neurotoxicité (activité AChE) obtenus chez des gammares encagés 2 semaines en amont et aval de rejets sources de contamination sont présentés sur la Figure 19. Ces résultats offrent une belle illustration de l'intérêt de disposer de ces valeurs seuil pour éviter les faux positifs et négatifs dans l'interprétation des valeurs enregistrées *in situ* en termes d'état de toxicité des stations. Sur le site de l'Ardières en 2007, une approche classique comparant stations amont et aval du bassin conduit à la même conclusion que l'utilisation de la valeur seuil : une inhibition significative sur la station aval 2. En revanche, sur le site de la Bourbre toujours en 2007, aucune différence statistique entre l'amont et l'aval du rejet n'a été observée, alors que 3 des 4 stations étudiées présentent en réalité une inhibition de l'activité AChE au regard du seuil d'impact toxique. Cette situation de faux négatif est liée au fait que les stations amont 2 et 3 sur la Bourbre sont *a priori* déjà impactées par une contamination neurotoxique. Enfin, sur le bassin de l'Amous 2008 en 2^{ème} campagne, bien que statistiquement significative en regard des niveaux sur la station amont, la diminution de l'activité sur la station aval 1 reste dans une gamme de variabilité naturelle du marqueur. Par conséquent on ne peut pas conclure à une neurotoxicité liée à la présence de contaminants sur cette station.

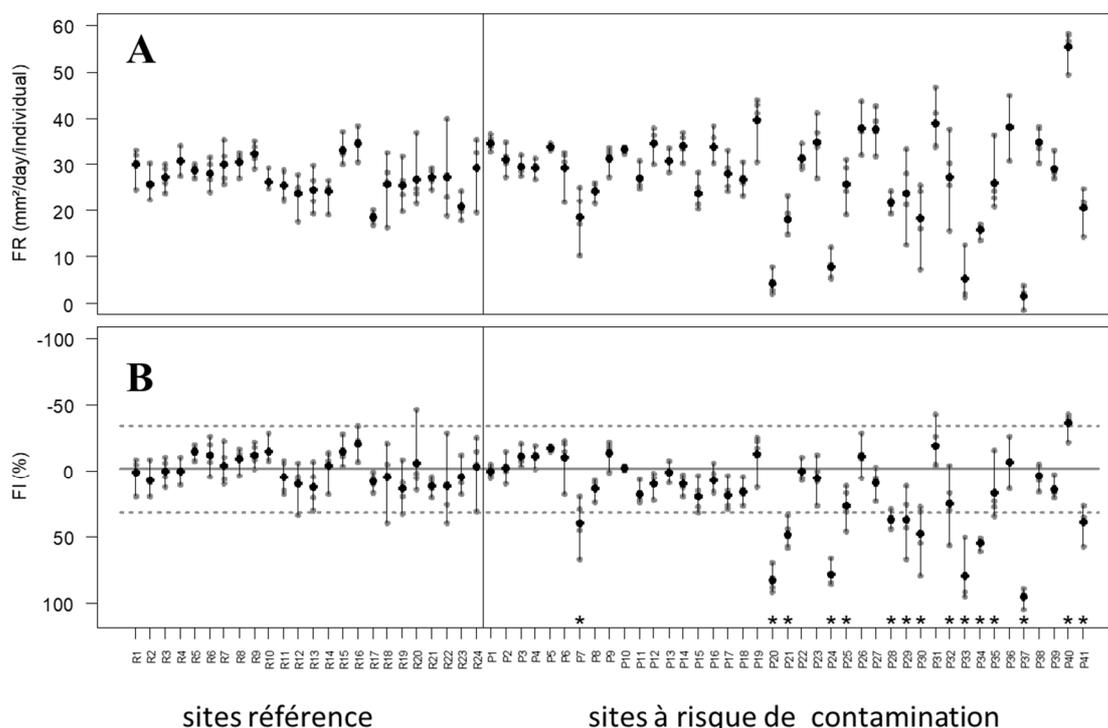


Figure 20. Mesures du taux d'alimentation (FR feeding rate) de gammares encagés *in situ* dans une trentaine de stations du bassin du Rhône (stations agence RMC), de référence ou à risque de contamination (publication [A18](#)). (A) valeurs brutes mesurées de consommation foliaire ; (B) valeurs corrigées vis-à-vis de l'effet de la température évalué au laboratoire (exprimées comme un taux d'inhibition FI par rapport à la valeur attendue). Les pointillés délimitent une gamme normale des valeurs de référence.

Modélisation – La définition empirique de valeurs de référence basée sur l’observation directe de la variabilité naturelle est problématique pour un grand nombre de réponses individuelles. Chez le gammare, c’est ce que j’ai constaté par exemple pour la croissance, la durée du cycle de mue (équivalent à la durée d’inter-ponte chez cet amphipode) ou le taux d’alimentation étant donné leur lien fort avec la température. J’ai pu faire le même type de constat sur d’autres espèces utilisées au sein de mon laboratoire (*Potamopyrgus antipodarum*, *Chironomus riparius*). La variance des mesures de ces marqueurs physiologiques expliquée par les variations de température (entre sites, entre dates) égale ou dépasse souvent la modulation de ces marqueurs d’effet par l’exposition aux contaminants. C’est ce qui est apparu par exemple lors du premier programme de déploiement *in situ* du biotest alimentation chez le gammare que nous avons pu mettre en place pour la première fois en 2009-2010 à large échelle (déploiement sur Rhône -Alpes) (Figure 20A). Modéliser l’influence des facteurs abiotiques (ici la température) devient alors nécessaire pour gommer l’effet de ces facteurs de confusion et permettre de comparer la modulation des marqueurs quelles que soient les conditions environnementales. Au cours de la thèse de Romain Coulaud (T1), c’est ce que nous avons proposé pour l’interprétation des valeurs d’alimentation en nous appuyant sur des expérimentations au laboratoire pour définir l’effet de la température et les valeurs attendues de taux alimentaire dans une gamme allant de 7°C à 16°C (A18). Sur le panneau B de la Figure 20, on voit que lorsqu’on rapporte les taux d’alimentation mesurés *in situ* à la valeur attendue (*i.e.* modélisée) pour la température de chacun des sites, l’ensemble des mesures réalisées en stations non contaminées forme un groupe homogène de valeurs permettant alors comme précédemment la définition d’une distribution normale de référence. On discrimine grâce à celle-ci de façon spécifique les inhibitions liées à l’impact des contaminations rencontrées dans les stations classées *a priori* à risque de contamination.

L’influence de la température sur le cycle de mue-reproduction chez la femelle de *G. fossarum* a également fait l’objet de cet effort de formalisation via une approche de modélisation (Ch5). Des expérimentations au laboratoire (Figure 21) ont permis d’écarter la dureté de l’eau comme un

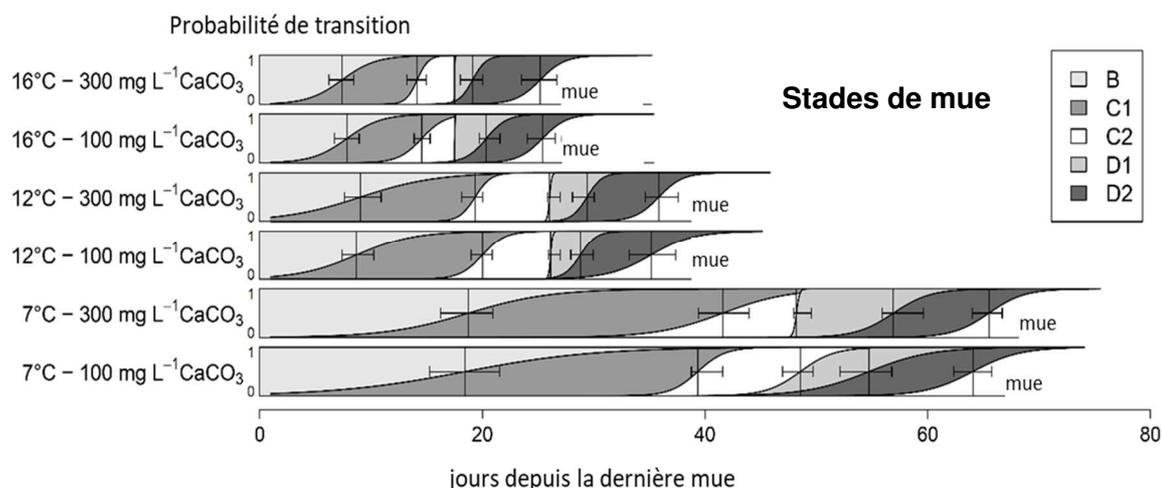


Figure 21. Dynamique du cycle de mue de la femelle chez *G. fossarum*. Evolution dans le temps de la probabilité que les femelles réalisent chacune des cinq transitions entre stades de mue (B/C1, C1/C2, C2/D1, D1/D2, mue finale), modélisée par glm logistiques ajustés indépendamment pour les six traitements température-dureté de l’eau expérimentés au laboratoire.

facteur influençant la dynamique de mue dans le cadre du protocole du test de reprotoxicité proposé chez cette espèce. Elles ont permis de quantifier dans un cadre probabiliste l'influence de la température sur la durée des différents stades de mue de la femelle. Nous avons montré que le modèle développé permet de prédire la distribution des stades de mue chez les femelles après leur exposition à des températures variables et pour différentes durées sur des sites de référence.

Ainsi, le modèle développé permet de prédire à partir de la chronique de températures enregistrées lors d'une exposition *in situ*, la distribution en stades de mue des femelles attendue en fin d'expérimentation sous l'hypothèse qu'aucune perturbation toxique ne vienne perturber le déroulement du cycle. Ce modèleⁿ nous a permis d'appliquer sur le terrain le test de reproduction développé initialement au laboratoire (A16) sans expérimenter en parallèle des stations définies *a priori* comme référence pour les stations d'étude. Ce sont les prédictions du modèle qui jouent le rôle de témoin de l'expérimentation. L'étude de cas illustrée dans la Figure 22 montre comment l'utilisation du modèle développé comme témoin permet de conclure si le retard de mue observé entre deux stations étudiées doit être imputé à l'effet d'une contamination ou simplement lié à la différence de température enregistrée entre stations. Dans l'exemple présenté, les différences dans la progression de la mue observée entre les rivières du Nord de la France Sensée et Deule (Figure 22A) s'expliquent par la différence de températures entre les stations au cours de

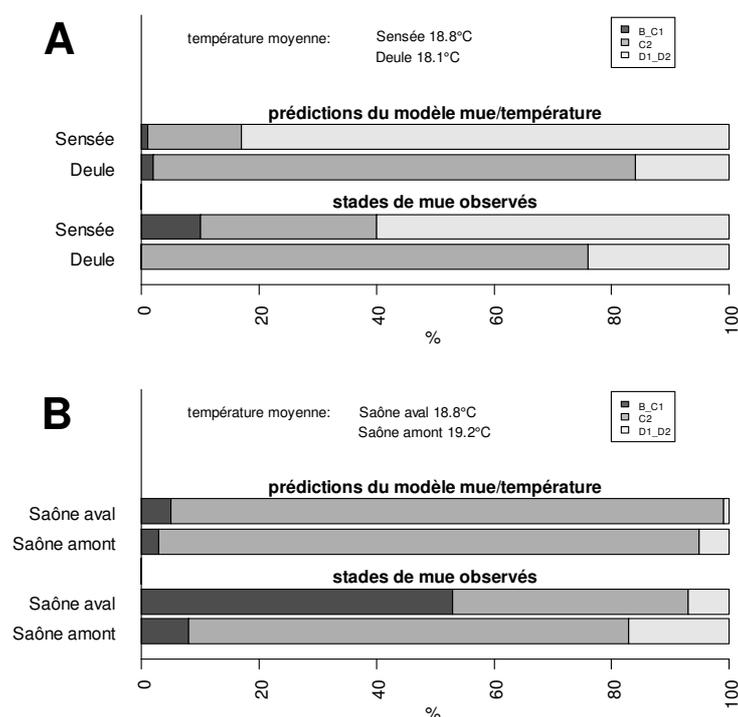


Figure 22. : Distribution des stades de mue chez des femelles encagées durant 15 jours sur deux rivières du Nord de la France (A) (Sensée et Deule) et en amont et aval d'un rejet de station d'épuration sur la Saône (B). Pour chaque site étudié, est donnée la distribution observée chez les femelles exposées de façon synchrone en post-mue en début d'exposition, et prédite par modélisation.

ⁿ L'approche a fait l'objet d'un dépôt de brevet (Br1) et a constitué un des supports du transfert de l'outil vers la sphère opérationnelle.

l'exposition. En revanche, le retard enregistré sur la station aval de la Saône (Figure 22B), par rapport à la station amont, est manifestement un impact de la qualité de l'eau dégradée dans cette station. Aujourd'hui, nous avons montré sur des centaines de stations (études de mon laboratoire ou études des agences de l'eau qui recourent à cet outil depuis son transfert opérationnel) que le recours à cette modélisation pour l'implémentation du biotest permet notamment la détermination de durée d'exposition optimales pour la détection des effets toxiques sur la reproduction en permettant d'adapter la durée des tests en fonction de la température (arrêt de l'exposition quand les femelles sont attendues au stade d'inter-mue C2). On peut ainsi envisager le déploiement de ces tests à différentes saisons ou dans différents types d'hydrosystèmes, tout en maintenant une capacité de comparaison du diagnostic entre stations et campagnes d'étude. Grâce au recours à la modélisation de valeurs de référence, l'utilisation à large échelle de biotests basés sur des réponses biologiques influencées par la physico-chimie du milieu comme le processus de mue, devient alors possible et interprétable en termes d'impact toxique.

Comment procéder sans information a priori sur le "statut" des stations sélectionnées comme référence - Pour la définition de valeurs de référence et de valeurs seuil, une limite forte reste la sélection *a priori* de sites dits de référence sur lesquels les réponses « normales » sont calibrées. Cette sélection de sites est problématique car (i) il est parfois difficile d'obtenir de l'information fiable et exhaustive sur les niveaux de contamination des stations, niveaux qui peuvent évoluer au cours du temps ; (ii) la pertinence de ce type d'information pour prédire la toxicité des milieux est très questionnée (biodisponibilité, effet mélanges...). Par ailleurs, la contrainte d'utiliser des sites non contaminés interdit de bénéficier d'une large quantité de données correspondant à des situations où la contamination mesurée qui disqualifie chacun des sites n'a pas d'influence sur la réponse suivie, ce qui amène souvent à restreindre le jeu de référence à des situations aux caractéristiques très marginales par rapport aux stations à investiguer. Ce choix de qualification des sites *a priori* (à partir de l'état de contamination ou à dire d'experts) interdit donc l'utilisation de données obtenues pour des sites identifiés comme potentiellement soumis à une pression chimique mais sur lesquels les biomarqueurs / marqueurs n'ont pas été modulés. Pour gagner en puissance statistique, en représentativité spatiale et temporelle du référentiel et s'affranchir du « dire d'experts » pour le choix des sites de référence, j'ai proposé une approche statistique sans *a priori* basée sur l'ensemble des données obtenues pour la définition de valeurs de base. Cette approche permet de définir dans le jeu de données un ensemble homogène de valeurs (suivant une loi normale dans les situations que j'ai pu rencontrer), et de proposer cet ensemble comme jeu de mesures pour définir la distribution de référence du marqueur. Pour « isoler » cet ensemble homogène de référence, l'ensemble des valeurs est ordonné de façon croissante ou décroissante selon les cas (inhibitions ou inductions). On procède ensuite par troncature progressive du jeu de données jusqu'à obtenir une distribution normale des valeurs conservées.

Cette stratégie a vu le jour initialement non pas sur des réponses biologiques, mais sur des données de contamination (A25). Celles-ci correspondaient à des données de concentrations accumulées de différentes substances métalliques et organiques persistantes par des gammars encagés 7 jours sur une trentaine de stations de la région Rhône-Alpes. En effet, dans cette étude, les sites classés *a priori* comme non contaminés par l'Agence de l'eau nous ont réservé quelques surprises. Pour certains éléments métalliques, la teneur accumulée par les gammars s'est trouvée être maximale dans des sites sur substrat cristallin situés dans des zones très peu anthropisées (ex :

parc naturel du Pilat), ceci en raison certainement de la présence de fonds géochimiques naturels. A l'inverse, les teneurs pour certains éléments (notamment organiques persistants) sont restées très basses sur la majorité des stations, y compris sur des stations *a priori* sous pression, les stations présentant les valeurs les plus hautes n'étant pas toujours les mêmes en fonction des substances. A partir de la méthodologie sans *a priori* décrite ci-dessus, nous avons pu définir à l'échelle régionale des niveaux de bases des concentrations de notre sonde gammare pour différents éléments, ainsi que des valeurs seuils de contamination nommées BBAC pour bioavailable background assessment concentration (95^{ème} percentile de la distribution de référence) (A25). Par la suite, soutenus par l'intérêt des gestionnaires publics vis-à-vis de cette sonde « gammare » de la contamination biodisponible des milieux, nous avons pu valider dans divers travaux ces seuils également à l'échelle nationale sur des centaines de stations des réseaux des agences de l'eau (Pr10, A48).

Cette approche sans *a priori* peut être proposée également pour les marqueurs biologiques. Je reprends dans la Figure 23, l'exemple du taux d'alimentation de l'étude régionale déjà présentée sur la Figure 20. Les panneaux A et B synthétisent ce qui a été discuté plus haut : sans correction de l'effet température, on ne peut identifier que peu de situations qui s'écartent de la distribution des valeurs observées dans les milieux de référence ; une fois corrigées vis-à-vis de l'effet température, on améliore l'interprétation des données en terme d'impact toxique en réduisant notamment la variance des données de référence et en révélant de nombreux faux négatifs liés à des températures plus fortes dans les stations contaminées. Sur le panneau C (classement décroissant de l'ensemble des valeurs d'alimentation), on constate que l'approche sans *a priori* sur le statut des stations aboutit à l'identification d'un groupe de valeurs homogènes qui retombent dans la même gamme que la

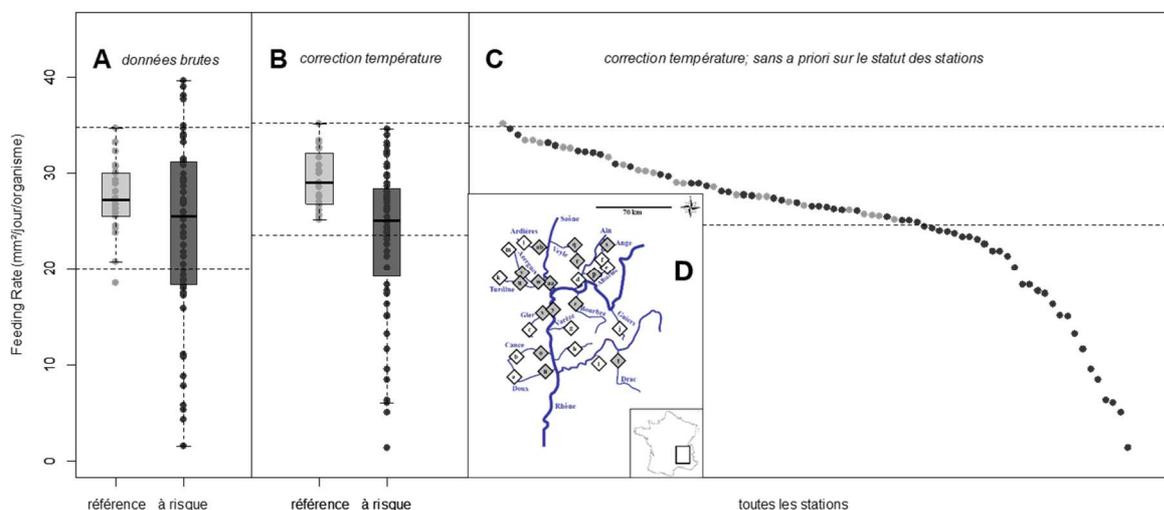


Figure 23. Méthodologies pour la définition des valeurs de référence en biosurveillance. L'exemple s'appuie sur les mesures du taux d'alimentation chez *Gammarus* réalisées lors de 80 tests d'encagement *in situ* (A18) sur des stations de référence (gris clair) ou sur des stations sous l'influence de diverses sources de contaminations (gris foncé) et sélectionnées par l'Agence de l'eau RMC (D). Le taux d'alimentation est évalué par la consommation de feuilles d'aulne sur une semaine. (A) Seule une faible discrimination des deux types de stations est possible lorsque les mesures brutes sont utilisées, avec des valeurs particulièrement variables dans les stations à risque ; (B) la correction de l'effet de confusion lié à l'influence de la température permet de mieux discriminer des inhibitions dans les stations à risque ; (C) une définition de valeur seuil sans *a priori* sur le type de stations est possible grâce à une délimitation statistique réalisée sur l'ensemble des données - méthodologie présentée dans (A25) ; elle aboutit à une gamme de référence proche de la première approche.

distribution définie sur les sites de référence, mais qui inclut cette fois des stations identifiées à dire d'experts comme à risque de contamination (sur la base de l'état des pressions, ou d'une surveillance long terme de l'état chimique). Il apparaît alors que l'on peut s'affranchir dans ce cas d'une classification des stations à partir d'informations extérieures à l'étude, souvent critiquables, et de bénéficier de l'ensemble du signal de variabilité du marqueur pour le « calibrer » en définissant une valeur seuil d'évaluation de la toxicité et permettre son utilisation dans un cadre diagnostique, à large échelle notamment. La Figure 24 présente le même exercice de définition de valeurs seuils sans *a priori* qui a pu être réalisé cette fois-ci à l'échelle nationale pour le biotest d'alimentation aujourd'hui utilisé par les agences de l'eau présentes dans les différents bassins français.

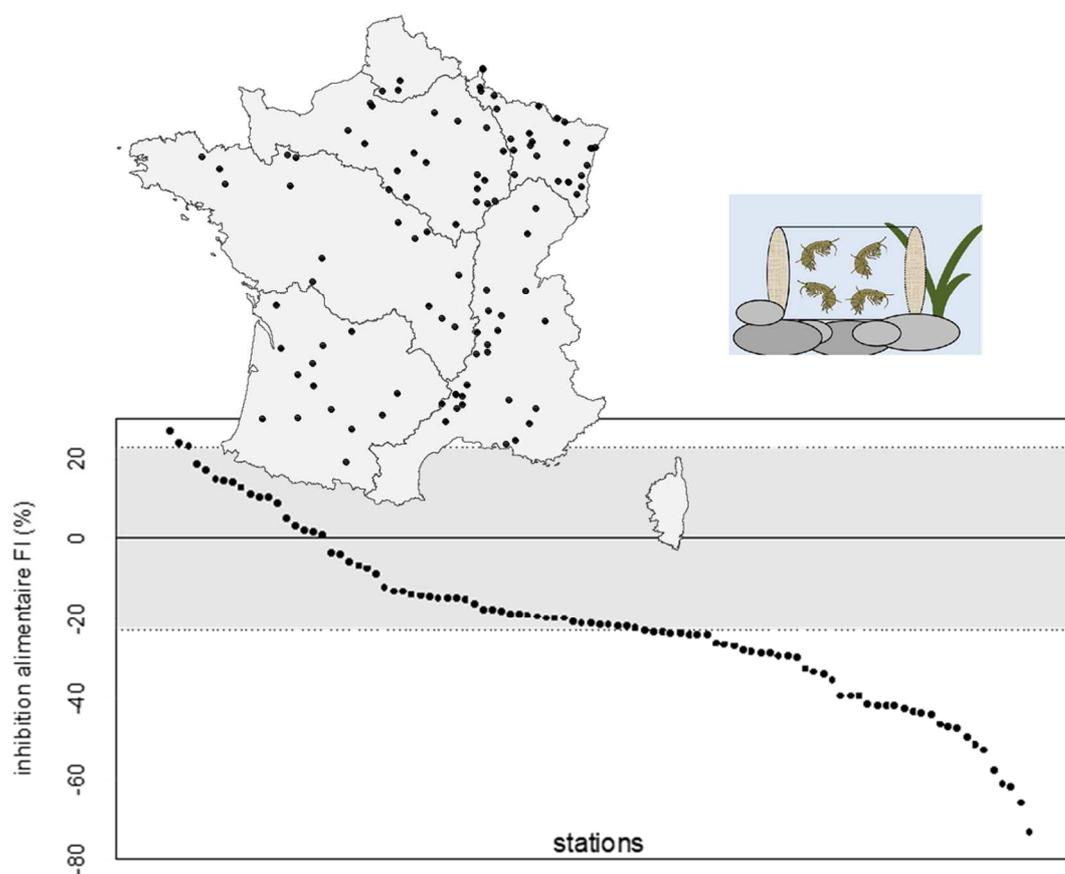


Figure 24. Définition d'une distribution de référence des valeurs d'inhibition alimentaire (*zone grisée*) à l'échelle nationale. Des encagements de 7 jours ont été mis en place en 2017-2018 sur plus d'une centaine de stations des réseaux de surveillance des agences de l'eau et à plusieurs dates.

Extrapoler

La surveillance de la qualité chimique des écosystèmes aquatiques à l'aide d'indicateurs biologiques vise notamment à mettre en évidence les effets de la pression chimique sur les communautés biologiques, et donc *a minima* sur les populations. Comme discuté plus haut, l'évaluation des impacts des contaminants à ces niveaux supérieurs d'organisation biologique dans les milieux est limitée par la difficulté d'observer ou de détecter les effets induits par la toxicité des contaminants directement à ces niveaux intégrés. Quant aux informations renseignant sur la toxicité des milieux centrées sur de faibles niveaux d'organisation biologique (biomarqueurs), elles ne sont pertinentes dans ce cadre du risque écologique que si elles peuvent être reliées à des effets sur ces niveaux plus élevés des populations, des communautés et des écosystèmes (Forbes et al 2006). Dans ce cadre, l'approche active décrite ci-dessus permet d'évaluer la toxicité des milieux au travers des effets de la contamination sur les traits d'histoire de vie d'une espèce sentinelle. Ces marqueurs sont donc extrêmement pertinents dans le sens qu'ils peuvent être mis en lien avec des impacts potentiels sur les populations, en termes d'altération de la dynamique démographique (Baird et al 2007). En effet, comme illustré dans le chapitre précédent, la modélisation mécaniste des dynamiques de population permet de faire le lien entre l'altération des traits d'histoire de vie et indicateurs de la dynamique populationnelle (approche démographique). Bien que ces modèles de population soient de plus en plus utilisés dans les démarches prédictives (Galic et al 2010, Kramer et al 2011), leur utilisation dans le cadre diagnostique de la biosurveillance des milieux est néanmoins inexistante. Avec l'exemple du gammare, j'ai proposé de compléter la démarche diagnostique basée sur l'observation des effets toxiques au niveau individuel (encagement *in situ*) en inférant à partir de ceux-ci les impacts potentiels de la contamination au niveau de la population grâce à l'utilisation de modèles démographiques (A30). Finalement, ce couplage modèles de population / biotests *in situ* a constitué le fil rouge des travaux menés pendant la première phase de mes recherches au laboratoire d'écotoxicologie, tel que retracé dans les deux premiers chapitres de ce mémoire. Chez notre espèce sentinelle, nous pouvons proposer aujourd'hui une avancée méthodologique qui consiste à coupler des approches expérimentales *in situ* pour l'évaluation de la toxicité et la modélisation de la population afin de produire cette évaluation à un niveau écologique pertinent.

Cette démarche a pu être réalisée concrètement dans le cadre d'une étude à large échelle spatiale qui s'est appuyée sur la réalisation de biotests *in situ* par encagement de gammares sur 23 sites des réseaux de surveillance et de contrôle opérationnel de l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse (Pr13). Lors de ces expositions de 3 semaines environ, différentes perturbations de la prise alimentaire, de la réalisation du cycle de mue et donc de la ponte chez les femelles, ainsi que la mortalité au cours du développement embryonnaire ont été suivies sur les organismes encagés dans ces sites identifiés comme étant sous l'influence d'une pression chimique par l'Agence de l'eau (Figure 25). Ces marqueurs sont interprétés en regard des valeurs de référence définies pour ces biotests, références qui tiennent compte de la variabilité environnementale notamment les températures lors de l'exposition. Alors que certains sites montrent une forte toxicité marquée sur un seul type de ces processus (ex : perturbation de la mue sur le site n°19, inhibition alimentaire sur les sites n°14, n°15 ou n°23) d'autres sites présentent une perturbation plus faible mais significative de plusieurs de ces processus simultanément (ex site n°8, site n°18). A l'opposé, les sites n°2 ou n°10 présentent une perturbation assez modérée du développement embryonnaire. La question posée en termes de gestion des impacts écologiques potentiels est de

	site 1	site 2	site 3	site 4	site 5	site 6	site 7	site 8	site 9	site 10	site 11	site 12
inhibition alimentaire (%)	5	15	32	12	0	54	23	20	8	0	39	60
échec à la mue (%)	7	0	0	0	69	0	0	0	0	0	9	0
mortalité embryonnaire (%)	1	11	0	5	33	0	0	23	6	15	2	22
	site 13	site 14	site 15	site 16	site 17	site 18	site 19	site 20	site 21	site 22	site 23	
inhibition alimentaire (%)	42	71	46	47	57	19	0	49	51	6	68	
échec à la mue (%)	0	0	0	0	0	14	43	0	0	0	0	
mortalité embryonnaire (%)	39	1	1	16	14	32	8	19	17	9	4	

Effets individuels

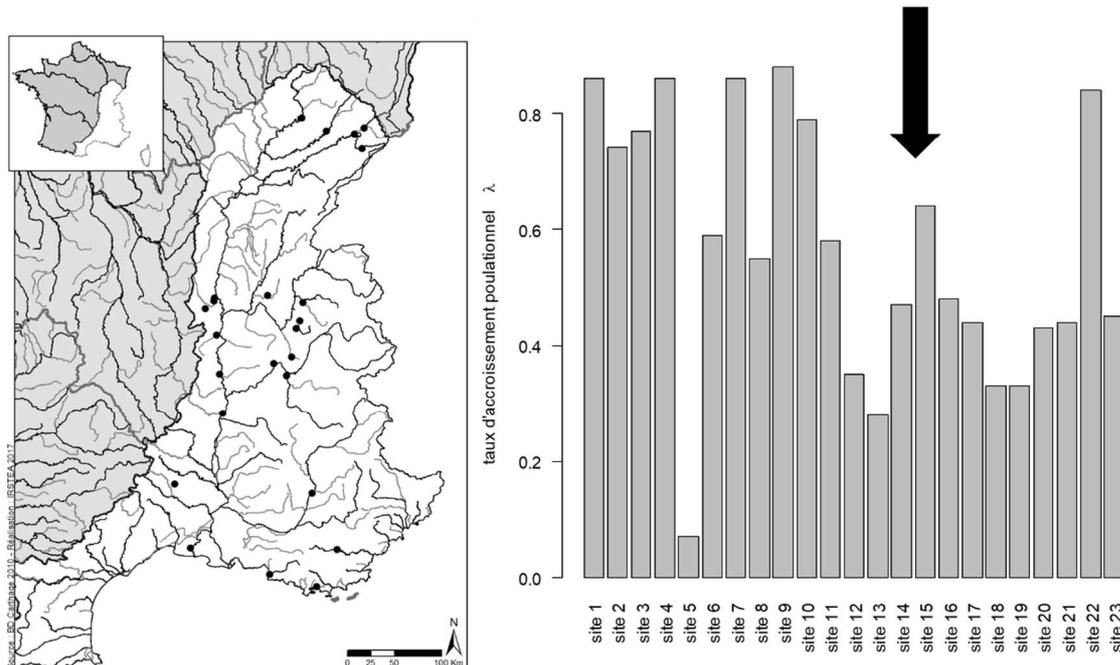


Figure 25. Extrapolation populationnelle des effets toxiques mesurés lors de l’encagement de gammarus dans 23 sites du réseau de surveillance de l’agence de l’eau Rhône Méditerranée Corse. Les inhibitions de la prise alimentaire, la perturbation du déroulement du cycle de mue des femelles, la mortalité au cours du développement embryonnaire (tableau) sont intégrés et projetés en terme de capacité de croissance démographique de la population (λ) à l’aide du modèle de dynamique de population développé chez *Gammarus fossarum* (A30).

savoir comment intégrer l’ensemble de ces réponses en pondérant le niveau de perturbation de chacun de ces processus par le poids que chacun joue potentiellement dans le maintien des populations. Pour cela, l’utilisation du modèle de population développé chez *G. fossarum* (A30) a permis de projeter les niveaux d’altération des différents traits d’histoire de vie mesurés dans chacun des 23 sites en termes de taux de croissance populationnelle potentielle. Pour la prise alimentaire, en travail particulier que je présente dans le paragraphe suivant a été conduit pour pouvoir intégrer cette réponse dans le modèle démographique. En effet, il a fallu traduire l’inhibition du taux d’alimentation en termes d’altération des traits d’histoire de vie, ici le niveau de reproduction des femelles. A partir du modèle de dynamique de population de référence, on peut alors « projeter » les conséquences des modifications des traits d’histoire de vie en termes d’impact populationnel potentiel en calculant pour chacun des sites le taux d’accroissement asymptotique λ .

Quand on compare les valeurs obtenues, il apparaît par exemple que l'embryotoxicité observée dans les sites n°2 ou n°10 (11% et 15% de mortalité des embryons) engendre un effet populationnel un peu plus important que la perturbation alimentaire observée dans le site n°7 (20% d'inhibition), mais beaucoup moins fort que la seule perturbation de la mue dans le site n°19. Autre exemple, l'impact populationnel extrapolé de la toxicité observée sur le site n°5 (perturbation de la mue et mortalité embryonnaire) est extrêmement important et bien supérieur à celui du site n°13 qui présente pourtant une forte inhibition alimentaire et une forte mortalité embryonnaire). L'indicateur de santé populationnelle ainsi calculé sur chacun des sites permet d'évaluer de façon intégrée et sur une même échelle de gravité les impacts toxiques du milieu en termes d'impact populationnel potentiel. Au-delà de cet avantage d'une lecture intégrée, et bien qu'étant basée sur une seule espèce choisie comme sentinelle parmi la grande diversité des espèces des milieux, cette évaluation d'un risque populationnel en lien avec la toxicité du milieu voit sa portée être élargie au-delà du seul cas des Gammaridés, étant donné la place écologique clef que ces espèces (ou que des espèces fonctionnellement proches) occupent au sein des écosystèmes aquatiques continentaux.

... et les biomarqueurs ?

L'utilisation combinée des tests de toxicité *in situ* et de la modélisation peut clairement augmenter la pertinence écologique de l'évaluation environnementale basée sur des outils écotoxicologiques (Baird et al 2007). Un des enjeux identifiés est de pouvoir inclure dans ce schéma les informations plus spécifiques, plus mécanistes, offertes par l'utilisation de réponses subindividuelles (physiologiques, cellulaires, biochimiques, moléculaires), que je rassemble ici sous le terme biomarqueurs. La pertinence des biomarqueurs en écotoxicologie notamment pour l'évaluation du risque écologique est liée à leur capacité à être des indicateurs sensibles et spécifiques de la toxicité des contaminants, mais elle est très questionnée quant à leur capacité à informer d'effets populationnels, communautaires et écosystémiques (Forbes et al 2006). Les Gammaridés sont de bons candidats pour illustrer comment il est possible de répondre à cette question de la pertinence écologique de marqueurs subindividuels. En effet, en se focalisant sur des espèces et des processus clés du fonctionnement écosystémique, la mise en place de mesures de biomarqueurs chez ces espèces peut permettre de mieux comprendre les effets de stress et de perturbations sur les écosystèmes. Maltby et al (2002) ont montré par exemple que l'inhibition du taux d'alimentation chez *Gammarus pulex* engagé sur un temps court pouvait être fortement corrélée à une réduction du processus de décomposition globale de la matière organique dans les cours d'eau ou à la diminution des densités des communautés de macroinvertébrés. Pour dépasser ces approches corrélatives, le niveau de réponse des biomarqueurs à la contamination doit être traduit en termes de gravité sur les performances physiologiques de l'organisme dans un premier temps. Plusieurs études menées chez *Gammarus* se sont focalisées sur ce verrou scientifique au sein de mon laboratoire pour différents biomarqueurs d'intérêt (Figure 26). Par exemple concernant la neurotoxicité, des relations quantitatives entre l'inhibition de l'activité AChE et le comportement alimentaire ou la locomotion ont été établies chez *G. fossarum* lors d'exposition à des insecticides modèles (Xuereb et al 2009). Les effets sur le taux d'alimentation et la locomotion ont pu être corrélés aux niveaux d'inhibition de l'activité AChE (Figure 26A). Ces travaux montrent qu'une inhibition d'activité AChE au-delà de 40% conduit à une réduction significative du taux d'alimentation et de la locomotion. Cette information permet par exemple de relativiser les niveaux d'inhibition constatés dans nos différentes études de terrain (comme reporté sur la Figure 19). Un autre exemple a

concerné la génotoxicité en collaboration avec Alain Devaux et Sylvie Bony (INRA-ENTPE) et sa traduction sur la viabilité de la descendance (Lacaze et al 2011b). Suite à une exposition de géniteurs à une contamination au laboratoire, une corrélation significative entre le niveau de dommages à l'ADN des spermatozoïdes et le taux d'anomalies embryonnaires chez les descendants a pu en effet être établie (Figure 26B). Là aussi, il est apparu que les niveaux de dommages à l'ADN mesurés dans les études de terrain chez les organismes engagés dans les milieux atteignent rarement le seuil au-dessus duquel des effets à court terme sur la reproduction sont attendus (Lacaze et al 2011a, 2011b). Dans la même problématique, j'ai également participé aux travaux de thèse de Laetitia Charron (collaboration avec Alain Geffard et Odile Dedourge SEBIO Université de Reims) (A33) : au cours d'une expérience de restriction alimentaire, nous avons mis en lien la modulation de l'activité de certaines enzymes digestives à court terme, ou encore de réserves énergétiques et la modification à plus long terme du succès reproducteur de femelles (Figure 26C).

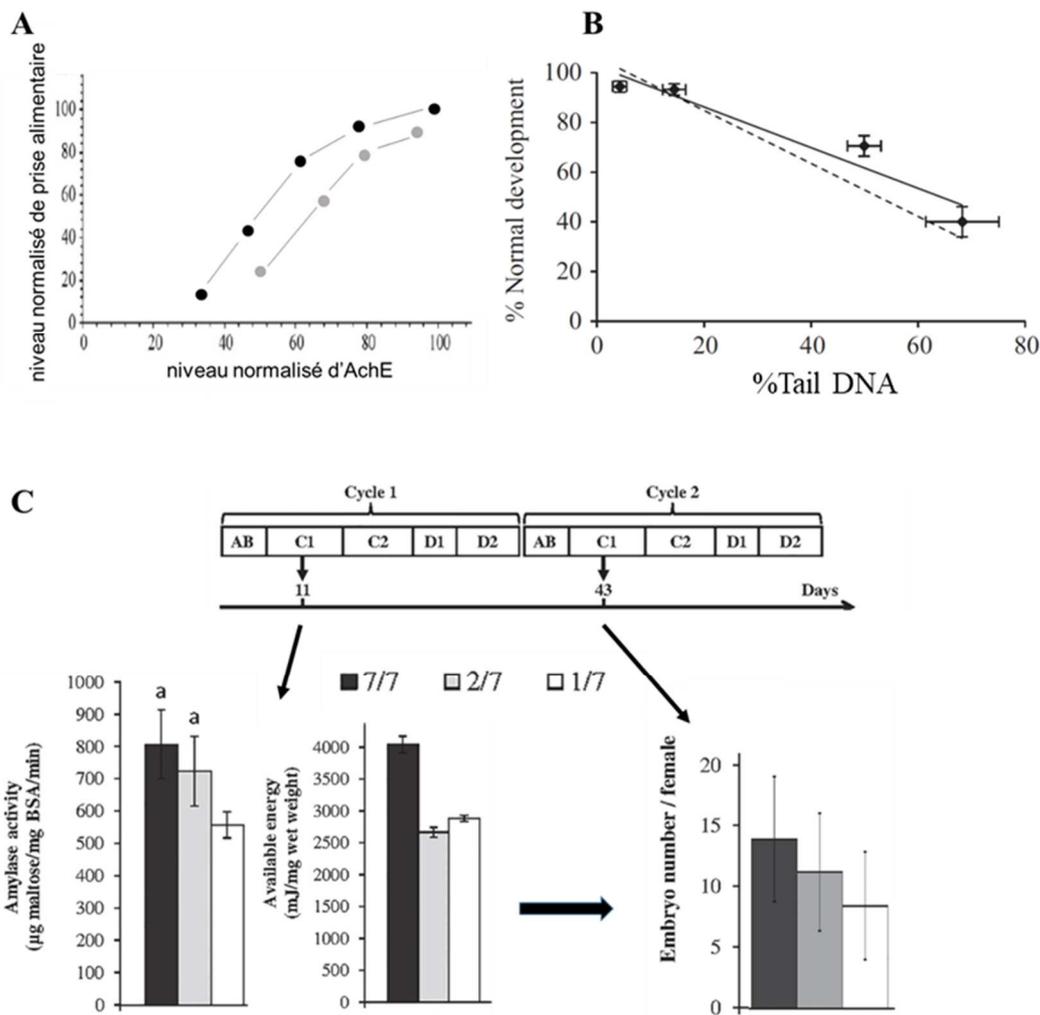


Figure 26. Relations entre biomarqueurs et traits d'histoire de vie chez *G. fossarum*. (A) Corrélation entre inhibition AChE et inhibition alimentaire lors d'expositions à deux insecticides (Xuereb et al 2009) ; (B) Corrélation entre taux de dommage à l'ADN spermatique et taux d'anomalies au cours du développement embryonnaire lors d'expositions au MMS (Lacaze et al 2011) ; (C) Effets de la privation alimentaire des femelles sur l'activité de l'amylase (enzyme digestive), les réserves énergétiques à court terme (11 jours) et diminution de la fécondité à long terme (43 jours) (A33) ; 7/7 nourriture *ad libitum*, 2/7 deux jours par semaine d'accès à la nourriture, 1/7 un jour par semaine d'accès à la nourriture.

Les marqueurs physiologiques liés au métabolisme énergétique et la nutrition sont des entrées d'intérêt pour établir des liens entre réponses subindividuelles et performances individuelles. L'acquisition de l'énergie détermine le taux de développement, le taux de croissance, la fécondité et la survie, variables jouant un rôle clé dans le maintien et la structure des populations. Dans ce contexte, la mesure d'inhibition de la prise alimentaire chez le gammare a présenté très vite pour moi un intérêt fort pour la construction d'une évaluation multi-échelles dans cette continuité entre moléculaire / physiologique / traits d'histoire de vie / population. En effet, ces mesures de prise alimentaire devaient pouvoir être reliées aux altérations des traits d'histoire de vie comme la croissance ou la capacité reproductive chez les femelles, et comme montré ci-dessus, le taux d'alimentation peut être corrélé à la modulation de biomarqueurs moléculaires spécifiques de certains modes d'actions comme l'ACHé (Xuereb et al 2009). Par ailleurs, l'inhibition de la prise alimentaire représente l'une des premières réponses observables lors de l'exposition à un facteur de stress toxique. Le taux d'alimentation des gammarès peut être inhibé par une large gamme de contaminants tels que des métaux lourds, des insecticides, des fongicides, des herbicides, des médicaments ou encore certains composés organiques, que ce soit lors d'exposition au laboratoire ou *in situ*. Aujourd'hui, les biotests «gammare / alimentation» sont proposés de façon opérationnelle, en France grâce au transfert opéré Irstea / Biomæ, mais également en Suisse (Ganser et al 2019). Il restait cependant encore difficile d'interpréter les inhibitions observées sur le taux d'alimentation en termes de conséquences sur des niveaux d'organisation biologique plus pertinents d'un point de vue écologique tels que les populations ou les écosystèmes. L'un des principaux obstacles réside dans le fait que l'alimentation ne constitue pas un trait démographique tels que peuvent l'être les traits de reproduction, la survie ou la croissance. Les modèles de dynamique de population ne permettent ainsi pas de prendre en compte directement les données d'inhibitions alimentaires pour les projeter en termes d'impact populationnel potentiel. Dans le cadre du post-doctorat de Romain Coulaud, nous avons mis en place une série d'expérimentations au laboratoire chez le gammare pour établir ces liens entre inhibition alimentaire et réduction de la capacité reproductive des femelles pour contribuer à lever ce verrou (A34). L'expérimentation principale a consisté à analyser en conditions contrôlées, l'effet de trois niveaux de privation alimentaire sur les capacités reproductives de femelles (exposées en couple) durant deux cycles successifs de reproduction. Les marqueurs de reproduction suivis ont été ceux du test développé par notre laboratoire (A16), à savoir l'évolution du stade de mue (comme vu précédemment la ponte chez les amphipodes est synchrone avec la mue), le nombre d'ovocytes (fertilité), le nombre d'embryons présents dans la poche marsupiale (fécondité), ou encore la taille apparente des ovocytes (surface folliculaire).

Parmi les principaux résultats de cette étude, nous avons constaté que la privation de nourriture durant un cycle de reproduction entraîne un ralentissement du processus de mue et une réduction de la fertilité, mais aucune altération de l'investissement dans les œufs ou du développement embryonnaire (Figure 27). Ces déficiences reproductives sont apparues pour des valeurs d'inhibition de l'alimentation couramment enregistrées lors de nos études de terrain sur l'ensemble des masses d'eau nationales, renforçant alors la pertinence de cette information relative à la toxicité *in situ*. À l'aide du modèle matriciel de population développé chez *Gammarus*, nous avons prédit que ces niveaux d'altération potentielle de la reproduction induits par la réduction alimentaire peuvent engendrer un impact important sur la dynamique de la population. En effet, nous avons décrit une forte dégradation du taux de croissance asymptotique de la population λ à

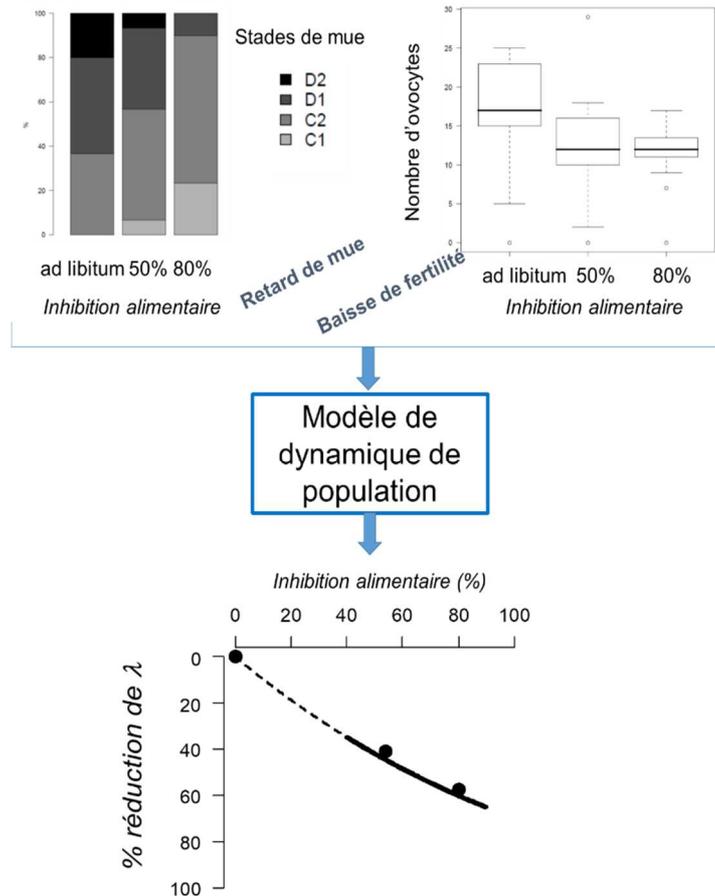


Figure 27. Extrapolation des niveaux d'inhibition de l'activité alimentaire en termes d'effet sur le taux d'accroissement asymptotique populationnel λ chez *G. fossarum*. Une expérimentation de privation alimentaire au laboratoire de deux mois a permis (A34) de relier activité alimentaire et retard dans le cycle de ponte ainsi que baisse de la fertilité des femelles. Ces relations ont été ensuite couplées avec le modèle de dynamique de population développé chez cette espèce (A30).

mesure que l'inhibition alimentaire augmente, ceci selon un ratio un pour un, c.-à-d. qu'une réduction de 10 % du taux d'alimentation entraîne une réduction de 10 % de λ (Figure 27). Ce rapport est assez étonnant en ce sens que l'effet sur le ralentissement du cycle de mue reste faible et que l'effet sur la fertilité suit une tendance deux pour un (une réduction de 10 % de la prise alimentaire entraîne une réduction de la fécondité de 5 % environ). Ce patron d'effet populationnel se dégage donc du fait des caractéristiques du cycle de vie du gammare, qui conduit à un fonctionnement démographique marqué par une élasticité non négligeable aux paramètres reproductifs. Autrement dit, l'effet relatif sur l'alimentation est tamponné en termes de réduction relative de la fertilité, mais est « ré-amplifié » lorsqu'il est projeté sur la dynamique de population. Ce lien direct entre l'altération de l'alimentation et les effets néfastes sur la population nous ont permis d'asseoir la pertinence écologique des essais d'alimentation pour cette espèce (A34).

L'ensemble des travaux décrits ici chez une espèce sentinelle, le gammare, montre pour moi comment on peut imaginer intégrer la démarche d'extrapolation populationnelle dans un cadre d'évaluation diagnostique de la qualité toxique des milieux aquatiques, en s'appuyant pour cela sur la robustesse de la démarche de biosurveillance active. Résumé dans la Figure 28, ce couplage entre mesures de biomarqueurs, mesures de traits d'histoire de vie et modélisation populationnelle aboutit à la définition d'un schéma d'extrapolation en termes de niveaux d'organisation biologique et d'intégration temporelle. Ce schéma à la frontière entre évaluation diagnostic et prédictive du risque toxique peut être proposé (i) sur la base d'hypothèses mécanistes de liens entre les réponses des biomarqueurs et les altérations des performances individuelles (déterminant plusieurs « voies d'impact populationnel »), (ii) en s'appuyant sur une quantification expérimentale de ces liens, et (iii) en recourant à la modélisation de la démographie de l'espèce sentinelle choisie. Dans le cadre de la gestion environnementale, une telle démarche permet de combiner la sensibilité, la précocité et la spécificité des outils écotoxicologiques de terrain avec la pertinence écologique d'un diagnostic de toxicité projeté au niveau de la population.

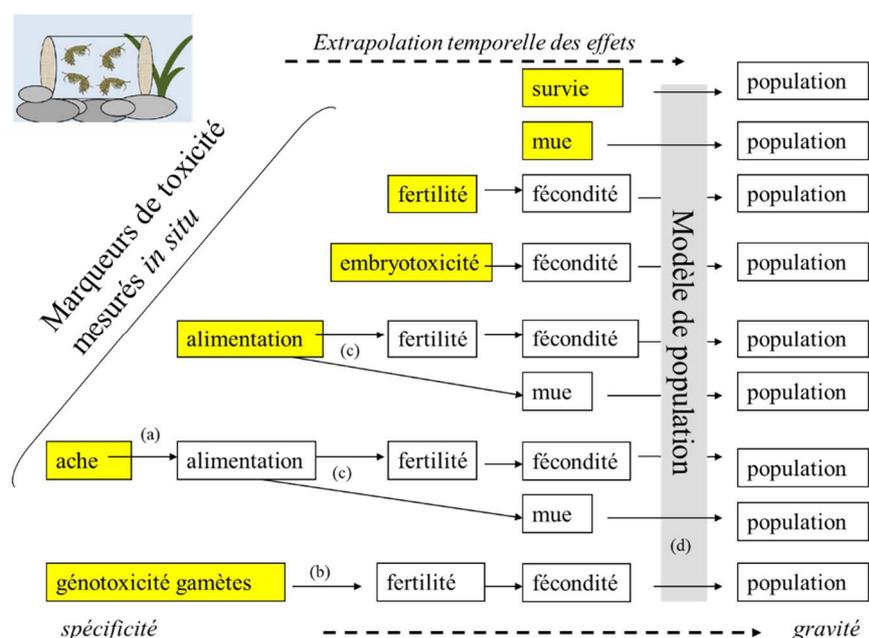


Figure 28. Proposition d'une approche multi-échelle d'évaluation de la toxicité des milieux à l'aide de la méthodologie d'encagement chez *G. fossarum*. En jaune, mesures réalisées lors de biotests *in situ* (intégrant une comparaison à un niveau de référence). En blanc, effets extrapolés, grâce aux relations établies dans les études de (a) Xuereb et al 2009, (b) Lacaze et al 2011b ; (c) A34 et (d) A30.

Comme exposé jusqu'ici, le réductionnisme inhérent à l'approche écotoxicologique (retour à l'individu pour l'examen de la toxicité des contaminants) peut être révisé en considérant une démarche de modélisation qui permet d'extrapoler le diagnostic des effets toxiques à des niveaux populationnels, ceci afin de garantir la pertinence de l'approche aux regards des effets écologiques. Considérant cette réduction de la complexité biologique, la démarche expérimentale adoptée en écotoxicologie (notamment celle de la biosurveillance active) peut également être questionnée sur le fait qu'elle s'appuie sur l'utilisation d'organismes calibrés issus de populations contrôlées. Se pose alors la question de la représentativité des organismes tests utilisés vis-à-vis des sensibilités des populations naturelles ? Dans une deuxième phase de mes travaux de recherche, j'ai ainsi abordé la notion de variabilité entre populations de la sensibilité au contaminant, bénéficiant pour cela de la grande diversité écologique et phylogénétique du genre *Gammarus* et de la large répartition géographique des espèces du complexe *G. pulex-fossarum*. J'applique depuis plusieurs années une approche de **biologie comparative** pour étudier cette variabilité entre populations de Gammaridés, ainsi que leur capacité d'adaptation à la contamination chronique des milieux (thèse d'Amandine Vigneron T3, projet ANR Gamma Pr1, projet ANR Multistress Pr2, Programme Onema-AFB Pr10-Pr12, projet ANR Proteogam Pr3, ...).

En effet, l'évaluation de la dangerosité des produits chimiques, des échantillons environnementaux ou des milieux naturels reposent en partie sur la réalisation de biotests plus ou moins normalisés en laboratoire ou même *in situ* (encagement d'organismes). L'évaluation prédictive du danger écotoxicologique associé aux substances chimiques potentiellement émises dans l'environnement est ainsi principalement basée sur des données de toxicité obtenues lors d'expérimentations sur des organismes génétiquement standards, appartenant à des espèces modèles choisies comme proxy des communautés biologiques à préserver (par exemple au laboratoire on utilise des clones de daphnies, des souches de poissons modèles comme le poisson zèbre, ...). Il en résulte des données générées dans le cadre de la normalisation des essais biologiques permettant la quantification de la toxicité des composés chimiques. Toutefois, l'évaluation du danger écotoxique doit être pertinente pour les communautés des écosystèmes. Ainsi, l'évaluation de la toxicité doit être indicatrice des effets sur un ensemble d'individus vivant dans des conditions et des habitats physico-chimiques variés, issus de populations diverses ayant leur propre histoire et appartenant à un ensemble d'espèces multiples pour lesquelles les espèces modèles sont choisies comme proxy. Dans les schémas d'évaluation du risque actuels, les effets enregistrés sur des organismes standards sont traduits en effets potentiels sur les populations naturelles par une série d'hypothèses et de facteurs de sécurité assez empiriques. Afin de mieux calibrer ces facteurs et plus globalement évaluer la pertinence de la démarche d'évaluation, il semble nécessaire d'examiner les différences pouvant exister entre populations de la sensibilité des marqueurs biologiques sélectionnés pour retracer la sensibilité des espèces. Pour cela, il faut décrire et éventuellement comprendre la variabilité de leur sensibilité à l'exposition entre les populations et les espèces. Les mêmes questions peuvent se poser dans le cadre du diagnostic de la qualité des milieux aquatiques et de l'évaluation de l'impact des contaminants sur l'état écologique de ces milieux. En effet lors de la mise en place d'approches de biosurveillance active, la représentativité de la population de

L'espèce sentinelle choisie comme source d'organismes est à questionner de la même manière que pour les approches prédictives d'évaluation de la toxicité des substances au laboratoire.

La divergence possible des caractéristiques de la sensibilité à l'exposition aux contaminants entre la population d'origine de l'organisme choisi comme modèle expérimental et les populations naturelles résidentes des écosystèmes peut être le résultat de processus neutres de dérive ou de processus déterministes d'adaptation aux conditions locales. La compréhension de cette source d'incertitude dans l'évaluation écotoxicologique est un enjeu majeur pour la pertinence de l'évaluation proposée. Cette pertinence devient d'autant plus critique si le processus de divergence entre les populations est directement induit par la présence de contaminants eux-mêmes en cas de phénomènes d'**adaptation** à la pression chimique toxique. Des changements dans les sensibilités toxicologiques et dans les caractéristiques des cycles biologiques peuvent en effet être observés dans des populations historiquement exposées à diverses typologies de contaminations (Johnston 2011). Ces processus évolutifs peuvent à la fois accroître la tolérance vis-à-vis du stress chimique, et/ou à l'inverse, entraîner des coûts indirects sur les performances physiologiques des organismes sélectionnés *in situ* (e.g. modification de l'allocation d'énergie), ou une érosion de la diversité génétique au fil des générations, et accroître ainsi la vulnérabilité des populations « adaptées » vis-à-vis d'autres perturbations environnementales. L'occurrence et la généralité de tels phénomènes évolutifs au sein des populations ne sont encore que peu documentées sur le terrain, en particulier pour les espèces animales aquatiques (Klerks & Weiss 1987, Coutellec & Barata 2013).

Variabilité inter/intra-spécifique de la sensibilité chez *Gammarus*

Plusieurs études ont montré depuis longtemps chez les crustacés que des différences de sensibilité aux substances toxiques existent potentiellement entre les populations d'une même espèce ou entre espèces phylogénétiquement proches, notamment chez *Daphnia magna* (Baird et al 1991, Soares et al 1992, Barata et al 1998). Chez les Gammaridés, Sroda & Cossu-Leguille (2011) ont rapporté des réponses différentes au cuivre en suivant la modulation de biomarqueurs chez les deux espèces de Gammaridés *Gammarus roeseli* et *Dikerogammarus villosus*. Au sein du genre *Gammarus*, Alonso et al (2010) ont avancé que *Gammarus pulex* est moins tolérant à l'ivermectine et plus tolérant au cadmium que son « espèce sœur » *G. fossarum*. Feckler et al (2012) ont également mis en avant des différences de sensibilité à un fongicide entre deux populations appartenant à deux lignées phylogénétiques de *G. fossarum* présentes en Allemagne (deux espèces cryptiques). Cependant, ces études n'utilisent le plus souvent que des designs « 1 contre 1 », où seule une population de chaque espèce ou lignée n'est considérée. Ainsi, la variabilité entre les populations et entre les espèces des marqueurs de toxicité n'est pas réellement caractérisée et quantifiée.

Approche empirique comparative

C'est tout d'abord dans le cadre du projet ANR Gamma (Variabilité-adaptation-diversité et Ecotoxicologie des Gammaridés, 2012-2015 ; Pr1) que j'ai questionné l'existence de différences de sensibilité écotoxicologique entre populations et espèces de Gammaridés de rivière. En me démarquant des designs d'étude les plus souvent rencontrés en écotoxicologie qui s'intéressent à la comparaison de la sensibilité entre espèces relativement distantes phylogénétiquement (concept SSD, e.g. Posthuma et al 2002), la question qui m'a le plus occupé a été de considérer l'importance des sources de diversité biologique dans de petites distances phylogénétiques, à des niveaux

taxonomiques bas (intra-genre, intra-spécifique, intra-population). Ceci peut rejoindre une tendance de l'écologie fonctionnelle de ces dix dernières années qui interroge de plus en plus le rôle de la variabilité intra-spécifique dans le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes (e.g. Des Roches et al 2018). Les travaux que j'ai mis en place dans ce cadre (2013 Master Rémi Recoura-Massaquant M2 ; 2015 Thèse Amandine Vigneron T3 ; 2016 Master Laurent Guillet-Revol M3 ; 2017 Master Maxime Allibert M6) ont consisté en des études comparatives avec une volonté d'inclure un grand nombre de populations dans les designs d'étude. Les études que j'ai conduites ont ainsi considéré *a minima* cinq et jusqu'à une vingtaine de rivières pour échantillonner les lots d'organismes à comparer pour établir les gammes de variabilité des sensibilités toxicologiques au sein et entre les espèces de Gammaridés. Mes études se sont concentrées principalement sur des populations de l'espèce *G. fossarum*^o, en adjoignant une ou deux populations d'autres espèces comme outgroup pour ces études : souvent une ou deux populations de *G. pulex* (espèce proche de *fossarum*) et plus rarement l'espèce (ex)invasive *G. roeseli* (qui est un peu plus éloignée phylogénétiquement et écologiquement de *fossarum* que *pulex*). Bénéficiant d'un terrain de jeu dans les Cévennes (bassin de l'Amous), j'ai également travaillé quelque fois avec une population de *G. orinos*, espèce locale des marges méridionales du Massif Central affiliée à *G. fossarum* (Piscart & Bollache 2012). Dans un premier temps, les espèces ont été distinguées au regard de critères morphologiques, permettant une classification des populations en terme de morpho-espèces « *fossarum* / *orinos* / *pulex* / *roeseli* ». Je reviendrai dans la section suivante sur les « surprises » que nous ont révélé par la suite le barcoding moléculaire de ces populations (projet ANR Multistress Pr2).

L'ensemble de ces populations a donc été sélectionné géographiquement en se focalisant sur la répartition de l'espèce *G. fossarum*, largement répartie sur la moitié Est de la France. Ainsi, au regard d'un travail important de prospection (plus d'une centaine de stations), les « stations à gammares » retenues dans ces différentes études se distribuent sur une grande échelle géographique (Vosges, Alsace, Haute-Saône, Morvan, Dijonnais, Beaujolais, Bresse, Bugey, Chartreuse, Vercors, Vallée du Rhône, Pilat, Cévennes), en couvrant une diversité de types de cours d'eau (ruisseaux de montagne, rivières à truites, grandes rivières de plaine, cours d'eau méditerranéens) et de contextes géologiques (substrats cristallins, argileux, calcaires ...). Ces stations ont été choisies dans un premier temps comme n'étant *a priori* pas ou peu exposées à la pression chimique anthropique (en lien avec les classifications des agences de l'eau, ou à partir d'informations issues d'études précédentes du laboratoire, ou encore au regard de l'occupation des sols)^p. La caractérisation de l'exposition chimique *in situ* des populations a été conduite grâce à l'approche expérimentale que nous avons développées au sein de l'équipe en nous basant sur la bioaccumulation d'organismes transplantés (A25, A48). Là aussi, nous avons pu avoir quelques surprises sur l'état de contamination de certaines stations amont des cours d'eau en tête de bassin (écartées ici de nos études) mais qui nous ont amenés à pouvoir poser la question de l'adaptation à l'exposition historique au contaminant chez *Gammarus* dans ces terrains de jeu inattendus (travaux présentés dans la section suivante).

^o Actuellement, j'élargis cet examen à une plus large échelle, en étudiant par exemple des populations des lacs aquitains, ou encore en étendant l'approche comparative à des espèces d'eaux douces et marines du genre *Echinogammarus*.

^p à deux exceptions près : « Ange » et « Jame » sont deux populations sur des stations connues pour être contaminées par différentes substances organiques (données agence de l'eau notamment) mais qui ont été conservées dans les jeux de populations relatifs aux études sur les différences de sensibilité à l'exposition métallique.

Station	Morpho-espèce	Code	Localité	Rivière	Département	Zone géographique
tour	<i>G. fossarum</i>	F1	La Tour du Pin	la Bourbre	Isère	Bas Dauphiné
bois	<i>G. fossarum</i>	F2	Bois du Blanc	ruisseau de Courbière	Isère	Chartreuse
bacu	<i>G. fossarum</i>	F3	Baculy	ruisseau de Pramenoux	Rhône	Beaujolais
moul	<i>G. fossarum</i>	F4	Huilly-sur-Seille	ruisseau du Moulin du Roi	Saône-et-Loire	Bresse
ouch	<i>G. fossarum</i>	F5	Lusigny-sur-Ouche	affluent de l'Ouche	Côte-d'Or	Beaunois
bast	<i>G. fossarum</i>	F6	Bastide	ruisseau de la Bastide	Gard	Cévennes
ain	<i>G. fossarum</i>	F7	St Jean de Niost	l'Ain	Ain	Plaine de l'Ain
alba	<i>G. fossarum</i>	F8	Chaley	l'Albarine	Ain	Bugey
ange	<i>G. fossarum</i>	F9	Brion	l'Ange	Ain	Jura
comb	<i>G. fossarum</i>	F10	Chateauvilain	l'Agy	Isère	Bas Dauphiné
gala	<i>G. fossarum</i>	F11	Le Grand-Serre	le Galaveyson	Drôme	Bas Dauphiné
jame	<i>G. fossarum</i>	F12	Jamezieu	la Bourbre	Isère	Lyonnais
mand	<i>G. fossarum</i>	F13	Oncieu	la Mandorne	Ain	Bugey
morc	<i>G. fossarum</i>	F14	Villié-Morgon	la Morcille	Rhône	Beaujolais
sera	<i>G. fossarum</i>	F15	Béon	le Séran	Ain	Bugey
gris	<i>G. fossarum</i>	F16	La chapelle-sous-Brancion	le Grison	Saône-et-Loire	Charolais
moug	<i>G. fossarum & pulex</i>	FP1	Azé	la Mouge	Saône-et-Loire	Mâconnais
vare	<i>G. fossarum & pulex</i>	FP2	Cour-et-Buis	la Varèze	Isère	Bas Dauphiné
tanc	<i>G. pulex</i>	P1	La Vieille-Loye	ruisseau de la Tanche	Jura	Jura
char	<i>G. pulex</i>	P2	Reullée	la Chargeolle	Côte-d'Or	Beaunois
cime	<i>G. roeseli</i>	O1	Le Temple	affluent de l'Amous	Gard	Cévennes
char	<i>G. roeseli</i>	R1	Reullée	la Chargeolle	Côte-d'Or	Beaunois
gris	<i>G. roeseli</i>	R2	La chapelle sous Brancion	le Grison	Saône-et-Loire	Charolais

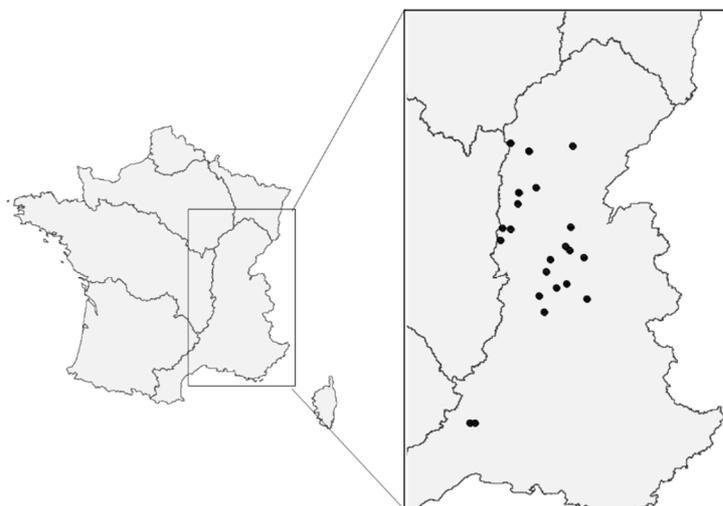


Figure 29. Jeu de populations de *Gammarus* considéré dans le projet ANR Gamma (Pr1) pour l'étude la variabilité intra-spécifique et intra-genre de la sensibilité au contaminant.

Ainsi, en considérant des panels de populations construits dans cette volonté de représentativité, ou en tout cas de couverture de la diversité naturelle des populations en termes d'habitats, de conditions environnementales (dureté, régime hydrique, richesse en matière organique...) et de phylogéographie du complexe d'espèces *Gammarus fossarum-pulex* (Figure 29), nous avons évalué tout d'abord au laboratoire la variabilité inter-population de la sensibilité à l'exposition à des composés chimiques modèles. Intégrant ainsi empiriquement la variabilité naturelle des peuplements de gammarus non liée à l'influence de pressions chimiques d'origine anthropique, les résultats ont révélé des réponses très similaires entre la plupart des populations testées (Figure 30).

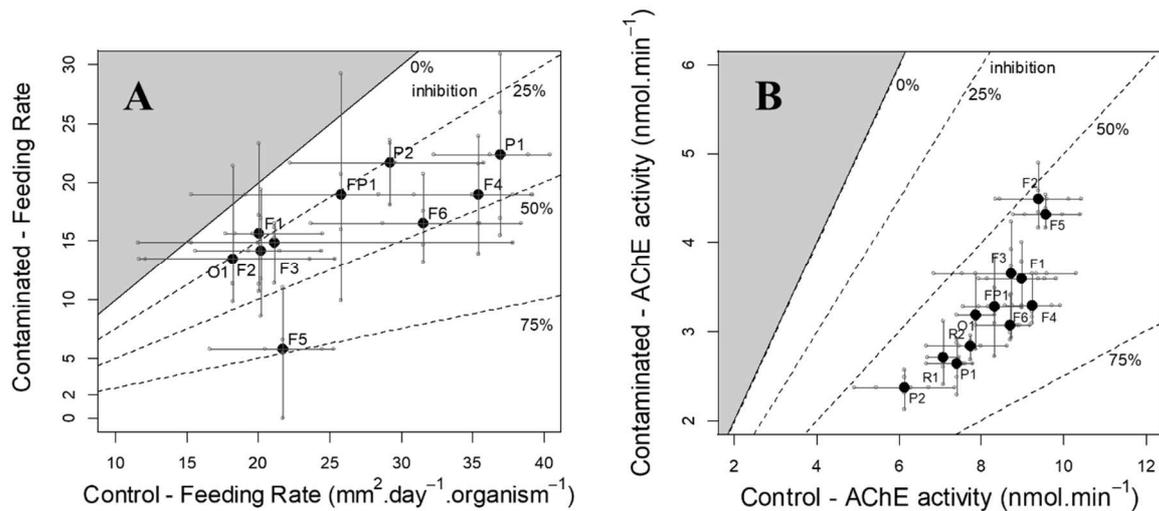


Figure 30. Comparaison de la sensibilité des populations du genre *Gammarus* : inhibition du taux d'alimentation (consommation foliaire) (A) et de l'activité AChE (B) chez des mâles témoins et exposés au laboratoire pendant 4 jours à l'insecticide méthomyl ($80\mu\text{g/L}$). Moyenne en noir ; répliques en gris. Les populations sont présentées dans la Figure 29. F: *G. fossarum* ; P: *G. pulex* ; O: *G. orinos* ; R: *G. roeseli*.

Par exemple en 2012, des organismes mâles provenant d'une dizaine de stations de prélèvement ont été acclimatés au laboratoire pour une quinzaine de jours, calibrés en taille et exposés à l'insecticide méthomyl en suivant le protocole utilisé dans une précédente étude (Xuerb et al 2009). Cette étude avait établi pour une population de référence qu'une exposition à $80\mu\text{g/L}$ pendant 96h au méthomyl, insecticide neurotoxique de la famille des carbamates, inhibe l'activité acétylcholinestérasique (AChE) ainsi que le comportement alimentaire chez *G. fossarum*. La Figure 30A présente les niveaux d'inhibition des taux d'alimentation pour la dizaine de lots d'organismes étudiés (le protocole de mesure du taux d'alimentation par consommation de feuilles est le même que celui de l'étude dans A18). Les résultats sont présentés en regard des niveaux témoins non exposés. On remarque tout d'abord que les organismes provenant d'une des stations se démarquent avec un impact fort du méthomyl (inhibition supérieure à 70 %). Les organismes prélevés dans cette station F5 se sont toujours montrés très difficiles à maintenir au laboratoire lors des diverses études ultérieures menées au laboratoire, traduisant ainsi une vulnérabilité inexpliquée vis-à-vis de la manipulation expérimentale. En revanche, pour l'ensemble des neuf autres stations de prélèvement, les niveaux d'inhibition de l'activité alimentaire des lots d'organismes étudiés restent dans une gamme relativement restreinte de valeurs (entre 25% et 45%). Au niveau moléculaire, les résultats sur l'activité AChE ont également révélé une sensibilité similaire entre les populations (entre 54 et 64 % d'inhibition quelle que soit la station d'origine des organismes) (Figure 30B). Ces résultats montrent que l'impact du méthomyl a bien été détecté pour l'ensemble des populations, et qu'une sensibilité globalement très similaire à ce composé existe entre les populations de *Gammarus* considérées.

Dans le cadre de la thèse d'Amandine Vigneron (T3), nous avons également évalué la réponse à l'exposition aiguë au cadmium (suivi de mortalité au laboratoire) d'individus provenant d'une vingtaine de stations largement distribuées géographiquement (Figure 31). Toujours en suivant le protocole de transplantation active de gammars proposé par notre laboratoire pour l'évaluation

de la contamination des systèmes aquatiques (A25), nous avons établi qu'aucune contamination cadmique biodisponible n'affecte les peuplements sur ces cours d'eau. Au laboratoire, pour chaque lot prélevé, des mâles calibrés en taille ont été exposés simultanément à 6 niveaux de concentrations (0, 20, 40, 80, 160 et 320 $\mu\text{g/L}$). Un suivi journalier de la mortalité a été réalisé pendant 7 jours. Ceci a permis d'établir des courbes dose-réponse à différents temps d'exposition.

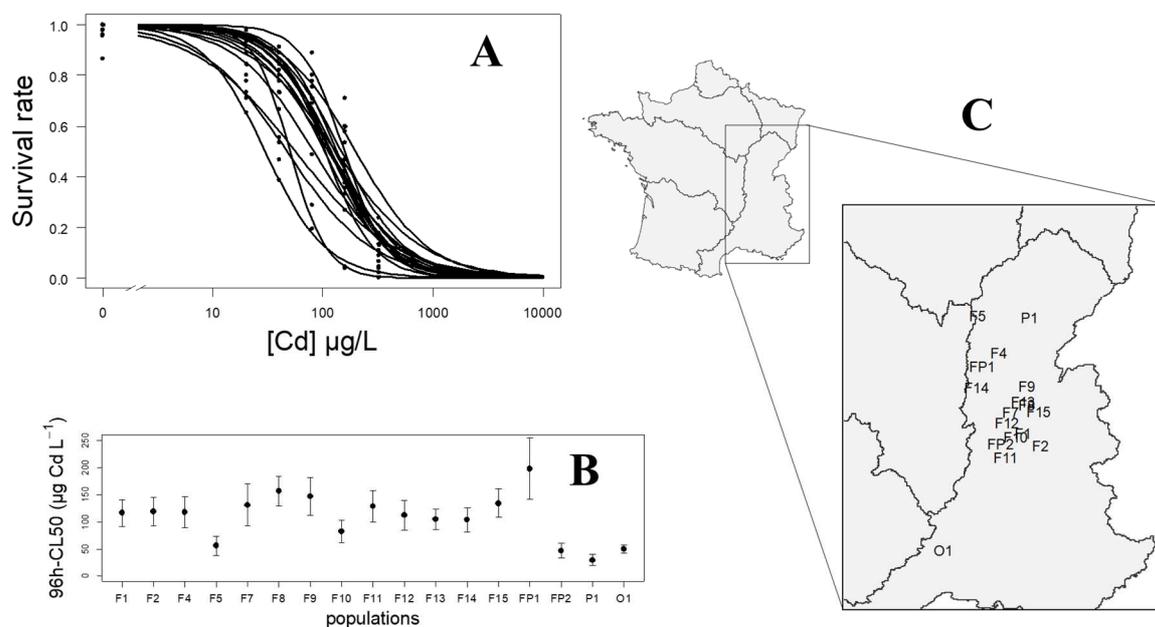


Figure 31. Comparaison entre populations de la sensibilité au cadmium. (A) courbes dose-réponse de mortalité à 96h d'exposition au laboratoire (une courbe par population). (B) CL50 (concentration létale pour 50% des organismes) après 4 jours d'exposition au Cd (moyenne \pm intervalle de confiance à 95%). (C) Les gammarès mâles testés ont été prélevés dans 17 populations non contaminées par le cadmium (présentées sur la Figure 29). F: *G. fossarum* ; P: *G. pulex* ; O: *G. orinos*.

La Figure 31 présente par exemple les CL50 à 4 jours (concentrations létales pour 50% des organismes exposés) obtenues pour le Cd avec les lots d'organismes prélevés sur les différentes stations. Les résultats montrent une différence de sensibilité n'excédant pas un facteur 10 entre les lots d'organismes provenant des différentes rivières. Si on considère uniquement la dizaine de populations ne comportant que des organismes classés comme appartenant à la morpho-espèce *G. fossarum*, la gamme de variabilité se réduit fortement, ne présentant plus qu'un facteur 2 (CL50 entre 80 et 160 $\mu\text{g/L}$). La déviation (toute relative) des lots d'organismes provenant des autres stations est plus difficilement descriptible : parmi les plus sensibles, on trouve des populations d'organismes identifiés comme *pulex*, ou *orinos* ; des lots d'organismes qui se sont avérés être des mixtes *pulex/fossarum* sont à la fois au-dessus ou en-dessous de la gamme décrite pour les lots de *fossarum* purs. Ces premiers résultats m'ont poussé par la suite à questionner l'existence d'un signal phylogénétique de la sensibilité au Cd chez *Gammarus* (travaux exposés dans la section suivante).

Parallèlement à ces expositions à des substances modèles au laboratoire, la même approche comparative d'étude de la sensibilité entre populations a été mise en œuvre via l'encagement simultané dans des « stations modèles », stations connues lors de nos précédents travaux comme

étant contaminées – contaminants métalliques et rejet minier sur le bassin de l'Amous (Cévennes), pesticides et viticulture sur l'Ardières (Beaujolais), pression urbaine et industrielle sur la Turdine et sur le Giers (région lyonnaise) - et dont la toxicité avait induit de manière répétée la modulation de certains marqueurs biologiques (taux d'alimentation, reproduction) chez notre population de référence (F1). Les organismes prélevés dans 6 populations différentes, une fois acclimatés deux semaines au laboratoire, ont été ensuite encagés dans ces 4 stations potentiellement toxiques en appliquant le protocole de biosurveillance active développé initialement sur la population de référence du laboratoire (F1) (Figure 32).

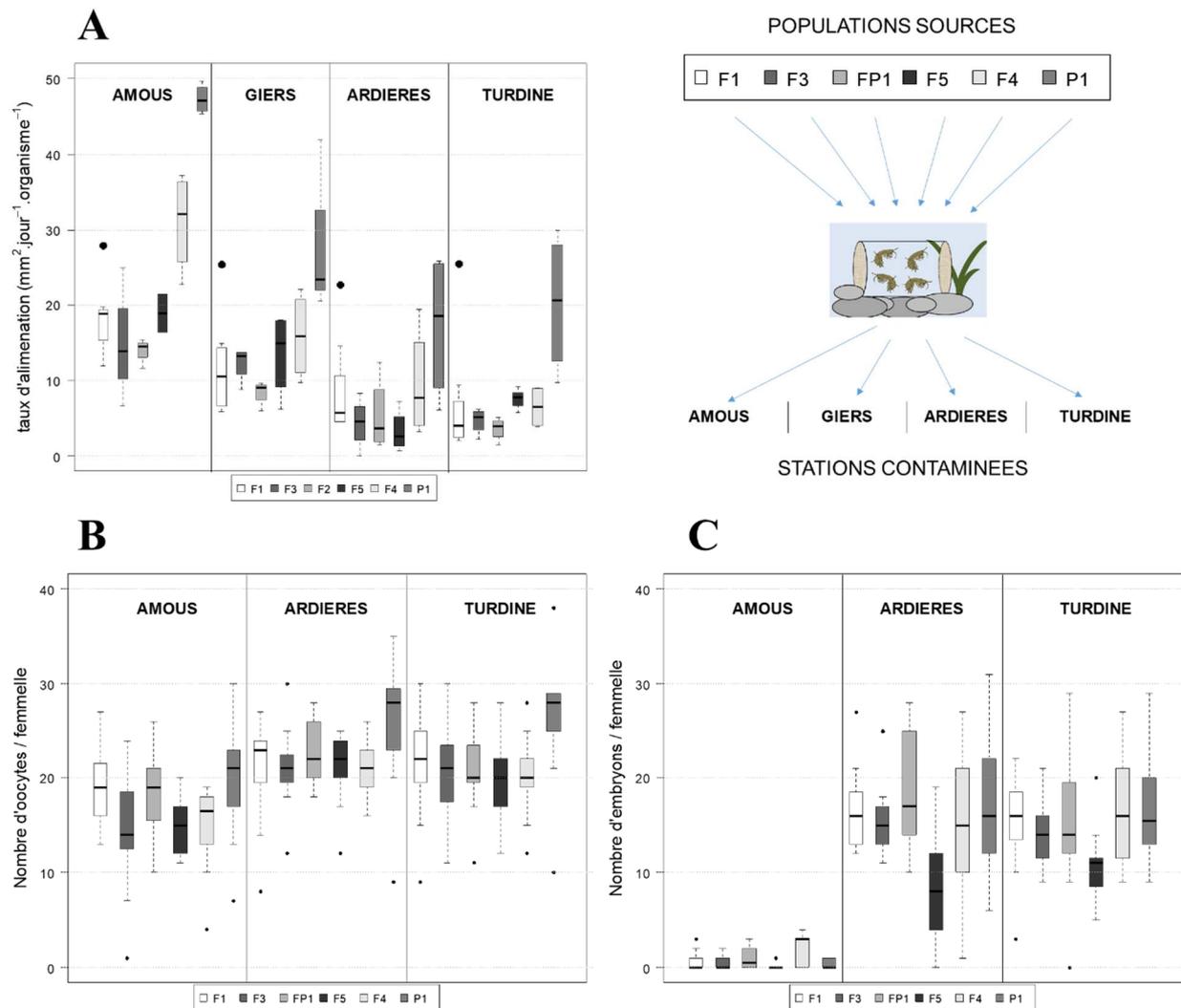


Figure 32. Comparaison entre populations de la sensibilité à la contamination des milieux chez *Gammarus*. Des organismes provenant de six populations (cf Figure 29) ont été encagés dans quatre stations contaminées. (A) taux d'alimentation de mâles pendant 7 jours d'exposition ; les points noirs représentent les valeurs de référence attendues pour la population F1 suivant le modèle température-taille de Coulaud et al (A18). (B) Nombre d'ovocytes et (C) nombre d'embryons chez les femelles en stade de mue C2-D1 après trois semaines d'exposition.

Là encore, nous avons conclu à une relative homogénéité des réponses entre les lots d'organismes transplantés et donc à une similarité de la sensibilité toxicologique des différentes populations sources. C'est le cas par exemple pour l'inhibition alimentaire (Figure 32A). En se basant sur la première population (F1) pour laquelle nous disposons de valeurs de référence qui intègrent l'effet de la température (voir la section précédente ; A18), nous avons pu conclure que l'exposition dans les stations choisies avaient bien provoqué une inhibition de la prise alimentaire chez ces organismes lors de la période d'encagement (entre 30% d'inhibition sur l'Amous et jusqu'à 80% sur la Turdine). Globalement, des écarts entre niveaux de taux d'alimentation existent entre les six populations. Ces écarts relatifs entre populations sont relativement constants sur les six stations et s'expliquent par les différences de taille entre les lots d'organismes des six populations échantillonnées. On s'aperçoit par contre que l'effet relatif de la contamination de chaque station sur le taux d'alimentation ne dépend que très peu de la population d'origine des organismes encagés. Le même type de résultats a été observé sur la production d'ovocytes des femelles encagées pendant 3 semaines (tendance à une légère baisse sur la station de l'Amous pour les six populations ; Figure 32B). Idem, les résultats sur la mortalité des embryons dans la poche marsupiale de ces mêmes femelles (Figure 32C) permettent de conclure à une forte embryotoxicité de la station de l'Amous quelle que soit la population source considérée. On peut noter qu'une population semble tout de même décrocher en termes de nombre d'embryons sur l'ensemble des stations ; il s'agit de la même population qui s'était avérée sensible à la manipulation expérimentale lors des expositions au laboratoire.

Globalement, les différentes études que j'ai pu mener sur ces comparaisons de populations de gammarus sélectionnées sur une large échelle géographique indiquent que les informations obtenues sur la toxicité d'une substance ou d'un milieu aquatique via l'exposition d'organismes issus d'une population particulière sont représentatives de la toxicité pour les populations de gammarus du groupe *fossarum/pulex* des cours d'eaux français. Il apparaît en effet que la sensibilité toxicologique est très similaire pour ces populations choisies comme peu exposées à la contamination chimique dans leur milieu d'origine ; en tout cas elle est très homogène au sein de la morpho-espèce *G. fossarum*. Comme souligné dans l'exemple du cadmium, l'hypothèse d'une légère hétérogénéité de la sensibilité entre les deux morpho-espèces *fossarum* et *pulex* pouvait être avancée et certaines hétérogénéités semblent pouvoir exister pour quelques rares populations au sein même de ces espèces. Ces observations m'ont poussé à questionner dans la suite de mes travaux l'existence d'un signal phylogénétique de la sensibilité toxicologique au sein de ce complexe d'espèces *fossarum/pulex*.

Signal phylogénétique de la sensibilité au contaminant, cryptisme

Les informations sur la délimitation des espèces chez le genre *Gammarus* sont complexes, tout comme l'information sur les liens entre la variation génétique sous-jacente et la sensibilité aux facteurs de stress dont la toxicité des contaminants chimiques. Au sein du groupe *pulex*, deux morpho-espèces majoritaires ont été décrites en Europe de l'Ouest, *G. pulex* et *G. fossarum*. L'identification des espèces du groupe *pulex-fossarum* sur la seule base de critères morphologiques n'est pas tout à fait robuste. Certains caractères taxonomiques peuvent en effet être très variables au sein d'une même population ainsi qu'entre populations (Karaman & Pinkster 1977), rendant parfois l'identification difficile. Ceci est particulièrement le cas pour *G. fossarum* pour qui il existe une forte variabilité géographique (Meyran et al 1997, Piscart & Bollache 2012). Les caractéristiques

morphologiques classiquement utilisés pour distinguer *G. fossarum* de *G. pulex* n'ont par exemple pas permis à Lagrue et al (2014) une discrimination fiable entre ces deux espèces au regard de l'utilisation d'une approche moléculaire de barcoding pour l'identification taxonomique. Il est également difficile de distinguer *G. fossarum* et *G. wautieri*, espèce sœur décrite localement dans le Dauphiné (Karaman & Pinkster 1977). Pour compliquer cette situation, l'existence de lignées d'ADN mitochondrial très divergentes au sein de chaque morpho-espèce *pulex* et *fossarum* suggère également une possible diversité cryptique (Meyran et al. 1997, Müller et al. 2000, Westram et al. 2011, Lagrue et al. 2014, Weiss et al 2014). Ces lignées présentent des divergences génétiques pouvant être de l'ordre de grandeur de celles observées entre morpho-espèces, ce qui pousse à faire l'hypothèse de l'existence d'espèces non-identifiables par le biais de critères morphologiques, qualifiées alors d'espèces cryptiques. Il a été suspecté que des différences de sensibilités aux contaminants pouvaient exister entre ces lignées ou espèces cryptiques notamment chez *G. fossarum* (Feckler et al. 2013).

L'existence de lignées génétiquement très divergentes au sein de *G. fossarum* est bien documentée aujourd'hui. Se centrant sur une zone géographique Suisse / Sud de l'Allemagne / Est de la France, plusieurs études ont clairement établi l'existence de 3 lignées de *fossarum*, dits de types A, B et C de Müller (Müller 2000, Westram et al 2011). La diversité au sein de *G. fossarum* pourrait néanmoins être bien plus grande, car des lignées supplémentaires ont été mises en évidence par Weiss et al. (2014) qui ont étendu leur zone d'étude aux Balkans. En France, huit lignées différentes au sein de *G. fossarum*, avec une divergence génétique entre lignées pouvant aller jusqu'à 18% en termes de dissimilarité de la séquence du cytochrome c oxydase sous-unité I (COI), ont par ailleurs été décrites par le laboratoire de Biogéosciences de Dijon (Lagrue et al 2014). Cette dernière étude a montré l'existence d'un isolement reproducteur pré-zygotique entre certaines de ces lignées de *G. fossarum*, plusieurs lignées cryptiques pouvant être sympatriques dans les cours d'eau (Müller 2000, Westram et al 2011, Lagrue et al. 2014).

Depuis 2013, j'ai pu collaborer sur ces aspects avec Rémi Wattier et Thierry Rigaud de l'équipe d'Ecologie Evolutive du laboratoire Biogéosciences de l'université de Bourgogne à Dijon, dans le cadre de différents projets (Phylopol INRA-Onema Pr12, ANR Blanc Multistress Pr2). Grâce à leur expertise sur la phylogéographie des Gammaridés, la première idée a été de caractériser les populations dont nous avons étudiées la sensibilité (insecticide, cadmium), au regard de la diversité haplotypique du groupe *pulex-fossarum* décrite en termes de divergence de séquences COI. Nous posons alors la question : l'homogénéité de sensibilité observée sur la vingtaine de populations considérées jusqu'alors dans nos travaux, définies comme appartenant aux morpho-espèces *fossarum* et *pulex*, et qui contredit la plupart des études de la littérature, est-elle liée à un échantillonnage « géographique » qui ne couvre qu'une faible part de la diversité de ce complexe d'espèces, ou encore à une mauvaise identification des espèces ? Notre hypothèse de départ a été que les 20 populations (sites de prélèvement distribués de la région dijonnaise à la région lyonnaise et grenobloise, avec deux populations également dans les Cévennes ; Figure 29) devait *a priori* couvrir à la fois une variabilité inter-spécifique (*pulex vs fossarum*), mais aussi potentiellement les différentes lignées cryptiques de *G. fossarum* (A, B, C). Pour cela, l'ADN de mâles prélevés dans ces populations a été extrait et un fragment de 710 paires de bases du gène COI aujourd'hui classiquement utilisé dans les approches de barcoding moléculaire des espèces a été amplifié avec les amorces définies par Folmer et al (1994). Les séquences COI obtenues ont permis d'établir un

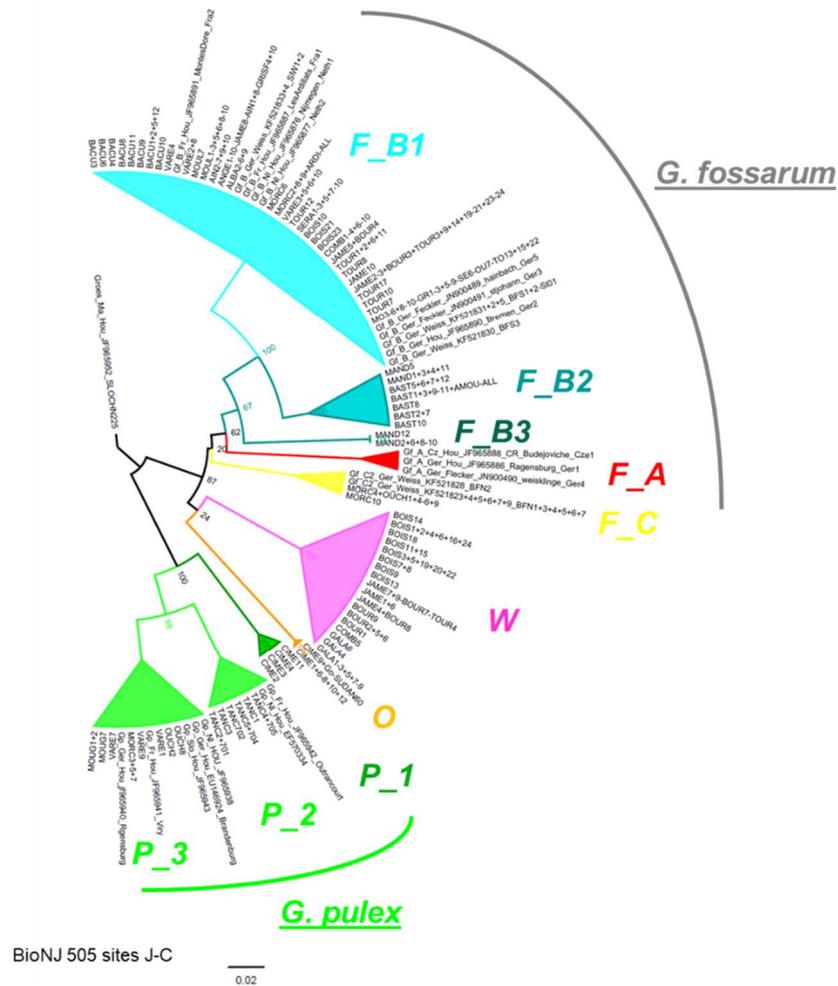


Figure 33. Positionnement phylogénétique des 20 populations d'étude identifiées comme hébergeant les morpho-espèces *G. fossarum* et/ou *G. pulex* (Figure 29). L'arbre est construit à partir du gène COI séquencé chez 213 individus. Des séquences de la littérature ont également été incluses : pour *G. roeseli* (outgroup), pour *G. pulex*, pour *G. orinos* et pour chacune des 3 sous-lignées cryptiques de *G. fossarum* (type de Müller A, B et C). Les valeurs de bootstrap sont figurées sur les branches.

arbre phylogénétique (Figure 33), remplaçant ainsi les individus des différentes stations d'étude au regard de la diversité connue au sein du genre *Gammarus*. Sur l'arbre de la Figure 33 on constate qu'il existe une forte diversité haplotypique COI sur l'ensemble des 20 stations choisies sur les bassins de la Saône et du Rhône comme sources d'organismes de nos précédentes études. Cette diversité couvre l'ensemble de la diversité décrite au sein du groupe *Gammarus pulex-fossarum*, avec des individus clairement des groupes *pulex* et *fossarum* référencés dans la littérature, et des représentants de différentes lignées cryptiques connues chez *fossarum*, à l'exception de la lignée A. La lignée A de *G. fossarum* n'est pas représentée dans nos populations probablement du fait de la zone géographique couverte. Cette lignée apparaît en effet comme étant plutôt distribuée en Suisse et en Allemagne (Westram et al 2011), plus à l'Est et au Nord de notre zone d'échantillonnage (Figure 29). Globalement, la diversité des individus génotypés se structure en 3 lignées de *pulex*, quelques individus *fossarum* de la lignée C, la majorité des individus *fossarum* étant de la lignée B (avec 3 sous-groupes notés ici F_B1, F_B2 et F_B3). S'ajoutent deux lignées sœurs de *G. fossarum*, avec d'une part l'espèce précédemment décrite *G. orinos* (O) dans une station des Cévennes, et

d'autre part des individus des populations du Dauphiné formant un groupe très discriminé correspondant vraisemblablement à l'espèce *G. nautieri* (W), espèce sœur de *G. fossarum* décrite dans cette région (Piscart & Bollache 2012). Certains des groupes décrits ici sont venus complétés (par exemple la lignée F_B3 présente uniquement dans le Bugey, ou F_B2 dans des cours d'eau proches de résurgences en zone karstique dans les Cévennes ou dans le Bugey), voire redéfinir des lignées identifiées dans la précédente publication de Lagrue et al (2014). Il ressort également qu'il existe un fort taux de sympatrie au sein des cours d'eau puisque la moitié des stations hébergent en fait des

Population	code morpho-espèce	Nombre d'individus analysés	Nombre d'individus génotypés	Lignées (%)										
				F_A	F_B1	F_B2	F_B3	F_C	W	O	P_1	P_2	P_3	
tour	F1	24	21	0	95	0	0	0	0	5	0	0	0	0
bois	F2	24	22	0	14	0	0	0	86	0	0	0	0	0
bacu	F3	12	11	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
moul	F4	10	9	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ouch	F5	10	7	0	0	0	0	71	0	0	0	0	0	29
bast	F6	12	11	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
ain	F7	10	10	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
alba	F8	10	6	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ange	F9	10	10	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
comb	F10	10	10	0	90	0	0	0	10	0	0	0	0	0
gala	F11	10	9	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
jame	F12	10	10	0	50	0	0	0	50	0	0	0	0	0
mand	F13	12	11	0	0	45	55	0	0	0	0	0	0	0
morc	F14	10	9	0	45	0	0	22	0	0	0	0	0	33
sera	F15	10	9	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
gris	F16	10	8	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
moug	FP1	10	10	0	70	0	0	0	0	0	0	0	0	30
vare	FP2	10	10	0	70	0	0	0	0	0	0	0	0	30
tanc	P1	10	9	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
cime	O1	12	11	0	0	0	0	0	0	64	36	0	0	0

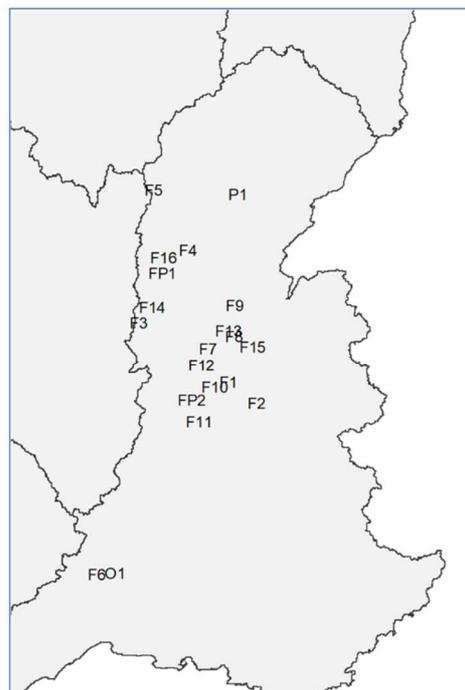


Figure 34. Bilan par station d'étude de la composition en lignées COI telles que définies sur l'arbre présenté sur la Figure 33, pour les 20 stations identifiées comme abritant des populations des morpho-espèces *G. fossarum* et/ou *G. pulex*. En gras sont surlignées les populations homogènes en termes de composition de lignées.

Population	Lignées	LC50 90h (µg/L)			
		LC50	std.error	lower	upper
ain	F_B1	131.29	19.53	93.02	169.57
alba	F_B1	156.90	13.81	129.83	183.97
ange	F_B1	146.99	17.51	112.67	181.31
bacu	F_B1	117.34	11.83	94.16	140.52
comb	F_B1	82.37	10.41	61.96	102.78
sera	F_B1	134.74	13.68	107.93	161.55
moul	F_B1	117.68	14.40	89.47	145.90
tour	F_B1	116.55	12.47	92.11	141.00
mand	F_B2 & F_B3	104.93	9.66	85.98	123.87
bois	W	119.20	13.10	93.53	144.87
gala	W	128.79	14.64	100.09	157.48
jame	F_B1 & W	112.06	14.15	84.32	139.79
tanc	P_2	29.88	5.10	19.88	39.88
cime	O & P_1	50.24	3.92	42.56	57.93
moug	F_B1 & P_3	198.28	29.03	141.39	255.17
vare	F_B1 & P_3	47.14	6.89	33.63	60.65
ouch	F_C & P_3	56.23	9.03	38.53	73.92
morc	F_B1 & F_C & P_3	103.38	11.22	81.39	125.37

Table 1. Correspondance entre lignées COI déterminées sur les sites de prélèvement et les CL50 évaluées lors de tests d'exposition aiguë au cadmium (dose réponse présentées sur la Figure 31).

mélanges inter-spécifiques ou des mélanges des différentes lignées cryptiques de *G. fossarum* (Figure 34). Ceci est en accord avec les observations de Lagrue et al (2014). Ici, pour neuf stations tout de même, seuls des individus appartenant à la même unité de *G. fossarum* B (F_B1) sont identifiés. Une seule population ne présente que des individus *G. pulex*. Deux autres populations sont très homogènes et constituées d'individus *G. wautieri*. Six « populations » sont en fait des mélanges sympatriques regroupant pour cinq d'entre elles des individus *pulex* (~30%) et *fossarum* ou *orinos*.

Cette composition constatée *a posteriori* des organismes présents sur les différentes stations n'est donc pas optimale pour tester clairement le lien entre appartenance à un groupe phylogénétique et sensibilité aux contaminants. Toutefois, concernant les résultats de sensibilité à l'insecticide méthomyl, l'homogénéité des réponses (Figure 30) et la couverture phylogénétique des individus présents sur les stations d'échantillonnage nous permettent de conclure qu'il existe vraisemblablement que peu de différence de sensibilité entre les espèces et populations sur l'ensemble du groupe *fossarum-pulex*. Concernant la sensibilité au cadmium, la Table 1 présente les CL₅₀ à 4 jours d'exposition pour les différents lots d'organismes au regard de leur composition génétique. On constate que si l'on restreint l'étude aux neufs stations hébergeant très majoritairement des *G. fossarum* de la lignée B, l'homogénéité de la sensibilité au cadmium est encore plus grande que celle à laquelle nous avons conclu au regard des critères de classification morphologiques (8 d'entre elles ont des CL₅₀ entre 100 et 160 µg/L). Les 2 populations de *G. wautieri* se fondent également dans cette même gamme de variabilité de sensibilité. La population de *G. pulex* « pure » est plus sensible avec une CL₅₀ environ 3 à 4 fois plus faible. Ces résultats nous permettent ainsi de conclure à une faible variabilité intra-spécifique de la sensibilité au Cd chez *G. fossarum* B, dans la large zone géographique testée. Cette conclusion ne peut être établie pour les autres espèces ou lignées du groupe *fossarum-pulex* vu l'échantillonnage phylogénétique de l'étude et le fort taux de sympatrie constaté. Toutefois, il semble que cette forte similarité de la sensibilité s'étende de *G. fossarum* B à l'espèce locale sœur *G. wautieri*. L'homogénéité pour l'ensemble du groupe d'espèces *G. fossarum* restait toutefois à valider sur d'autres populations des lignées

cryptiques A et C. Une légère hétérogénéité *fossarum* / *pulex* semble également possible, même si ce résultat ne s'appuie ici que sur l'observation d'une seule population. Cependant, dans 3 des 4 « populations » sympatriques incluant 30% d'individus *pulex*, on observe des CL₅₀ plus faibles que les valeurs obtenues chez *fossarum* B. Ceci serait en accord avec l'hypothèse d'une sensibilité légèrement plus forte chez *G. pulex*.

Pour valider ces hypothèses sur le lien entre sensibilité cadmique et phylogénie au sein du groupe *fossarum-pulex*, nous avons réalisé une nouvelle étude dans le cadre du Master de Maxime Alibert en 2017 (M6). Nous avons pour cela ciblé des stations dont nous avons pu obtenir au préalable des informations sur la composition génétique dans le cadre du projet ANR Multistress (Pr2) (données de géotypages COI et de contamination chimique biodisponible (encagement) sur une centaine de stations au niveau national). Ce nouveau jeu de populations de référence (*i.e.* non exposées au cadmium dans leur cours d'eau d'origine) couvre une zone géographique plus large incluant les bassins du Rhin et de la Seine (stations réparties depuis les Vosges à la région Rhône-Alpes) (Figure 35). Nous avons pu conclure à une homogénéité de la sensibilité au cadmium entre les types décrits chez *G. fossarum* (A, B et C) et une sensibilité effectivement légèrement plus forte de *G. pulex* vis-à-vis du cadmium, avec un rapport de 2 entre les temps médians de survie lors d'expositions aiguës à ce contaminant.

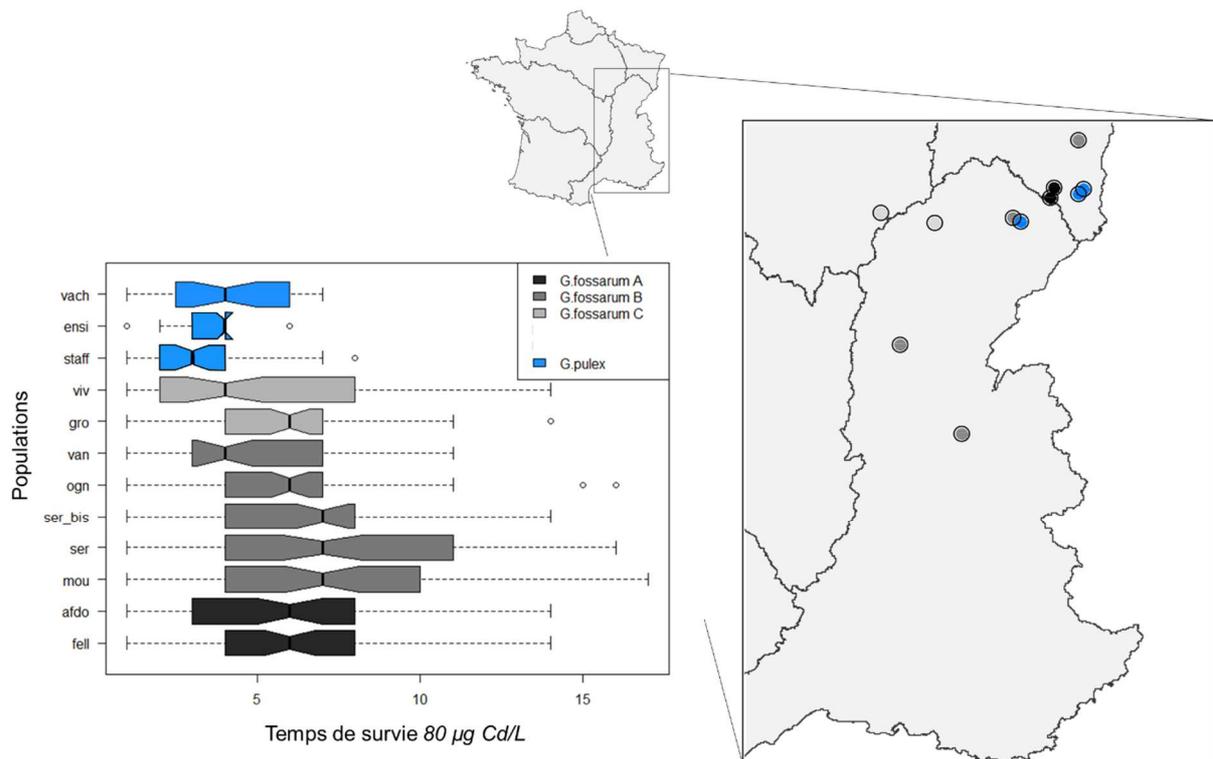


Figure 35. Signal phylogénétique de la sensibilité au cadmium chez *G. fossarum-pulex*. Temps de survie lors d'une exposition à 80 µg/L de mâles issus de trois populations de *G. pulex* et six populations de *G. fossarum* dont deux de la lignée cryptique A, quatre de lignée B et deux de lignée C (type de Müller).

En dressant le bilan de ces études comparatives, il me semble donc qu'il n'existe pas de fortes hétérogénéités en termes de sensibilité à la contamination si on considère des peuplements de Gammaridés non soumis à la contamination dans leur habitat naturel. On peut certainement retracer quelques différences en lien avec la phylogénie du groupe (cadmium *pulex* vs *fossarum*) mais ces écarts ne semblent pas majeurs au regard des facteurs d'incertitude de la sensibilité des espèces couramment considérés dans l'évaluation du risque écologique (Chapman 1998). Il faut tout de même garder à l'esprit ici que les réponses présentées (notamment mortalité) et les niveaux d'exposition testés (molécules modèles, stations très toxiques) sont certainement en décalage avec les processus de toxicité potentiellement en jeu lors des expositions chroniques environnementales. C'est pour cela que j'ai engagé le même type d'études comparatives (notamment dans le cadre du projet ANR Proteogam (Pr3) « Proteomics for novel biomarkers relevant in ecotoxicology from gammarids: challenging the biodiversity for diagnostic tools ») pour des réponses liées à la perturbation de la reproduction des femelles, du développement embryonnaire, de la spermatogenèse induites par des expositions chroniques à différents composés perturbateurs endocriniens (insecticides hormono-mimétiques comme le pyriproxyfène) (Master Laurent Guillet-Revol M3). Ces travaux sont encore à consolider car les difficultés expérimentales liées à ce type d'expositions sur le plus long terme freinent l'acquisition de ces données sur un grand nombre de populations, et la variabilité individuelle constatée pour ce type de réponses constitue un verrou pour la comparaison des résultats obtenus sur différentes populations ou espèces.

Capacités d'adaptation des populations et effets long terme

Pour compléter mes travaux traitant de la variabilité de la sensibilité entre populations, j'ai étudié les capacités des populations à s'adapter à la contamination des milieux. Pour cela, j'ai concentré ma réflexion sur les effets long terme des contaminations métalliques chez *G. fossarum* (Projet ANR Gamma Pr1 ; Projet ANR Multistress Pr2). En effet, l'attention à l'égard des processus évolutifs potentiellement induits par les contaminants demeure limitée dans le domaine de l'évaluation du risque écologique, alors qu'ils devraient être au cœur d'une compréhension globale des impacts du stress chimique sur l'environnement (De Coninck et al 2014). Pourtant, le fait que les expositions chimiques puissent induire sur le long terme des modifications de la sensibilité est maintenant bien documenté chez les populations animales aquatiques (Johnston 2011). Mais la prépondérance de ces phénomènes reste encore à évaluer, et la question de savoir si de tels phénomènes d'augmentation de la tolérance se produisent par le biais de processus d'adaptation génétique et/ou d'acclimatation physiologique n'est pas encore bien appréhendé, en particulier dans le cadre d'études de terrain impliquant des populations naturelles (Coutellec & Barata 2013). Ces questionnements s'accompagnent de la problématique des coûts indirects sur les performances individuelles des organismes tolérants et de la vulnérabilité des populations adaptées à la contamination vis-à-vis de stress additionnels ou de la variabilité environnementale (modification des allocations d'énergie, des traits d'histoire de vie, érosion de la diversité génétique...). Les études sur ces questions pour les populations animales aquatiques reposent encore principalement sur des expérimentations d'exposition multi-génération au laboratoire, et des études traitant des mécanismes populationnels d'adaptation aux contaminations environnementales sur le terrain manquent.

Mes travaux chez *G. fossarum* ont considéré principalement un contaminant métallique, le cadmium. Ce choix a été guidé par la découverte fortuite qu'il existait régionalement des populations de gammares naturellement exposées à cet élément dans des têtes de bassins peu anthropisées autour de Lyon. Comme précisé dans le deuxième chapitre, une de nos études avait visé à établir des niveaux de référence de la contamination biodisponible des cours d'eau régionaux (approche active ; [A25](#)). A cette occasion, la classification « référence » attribuée à certaines stations par l'agence de l'eau a été mise à mal pour certains éléments métalliques en termes de contamination des organismes transplantés : les niveaux accumulés en cadmium notamment ont été maximaux dans certaines stations au cœur de zones naturelles ou prairiales peu anthropisées (Parc Naturel du Pilat, Haut Beaujolais). Ces forts niveaux d'exposition s'expliquent probablement par l'existence de sources géochimiques naturelles, combinées à la faible teneur calcique des eaux rencontrées sur ces substrats cristallins qui maximise le transfert cadmique vers les organismes (Pellet et al 2009). Nous avons fait l'hypothèse que ce type de contextes devait constituer de véritables laboratoires *in natura* d'exposition historique des populations de Gammaridés au cadmium.

Dans la littérature, les études donnent des résultats très variés quant à l'effet de l'exposition métallique sur la sensibilité des populations du genre *Gammarus* historiquement contaminées. Khan et al (2011) ont mis en évidence la possibilité de l'acquisition de tolérance au cuivre et au zinc chez une population de *G. pulex* vivant dans une zone minière. Au contraire, aucune différence significative de sensibilité vis-à-vis du cadmium n'a été observée par Boets et al (2012) entre populations de *G. fossarum* provenant de sites historiquement pollués. Maltby & Crane (1994) ont quant à eux relaté une plus grande tolérance aux métaux dans une population de *G. pulex* provenant de quelque site contaminé, mais cette tolérance s'est avérée être éphémère dans le temps. L'absence de tendance claire vis-à-vis de l'adaptation *in situ* des populations de gammares aux métaux peut résulter notamment du fait qu'il manque souvent dans ces études une caractérisation rigoureuse de l'exposition des populations en termes de concentrations dans l'environnement, de biodisponibilité et de stabilité dans le temps. De plus, dans ces études portant sur des populations naturelles (Naylor et al 1990, Maltby & Crane 1994, Kahn et al 2011, Boets et al 2012), seulement deux populations sont comparées (une population exposée contre une population témoin). Ce type de designs ne permet pas d'isoler la contamination métallique comme seul facteur explicatif des différences de sensibilité observées entre les populations comparées.

Bénéficiant de notre méthodologie de biosurveillance active de caractérisation des niveaux d'exposition *in situ* ([A25](#), [A48](#)), j'ai pu mettre en place deux types d'approches qui ont considéré des populations sélectionnées dans des milieux présentant des niveaux d'exposition cadmique contrastés clairement caractérisés. D'un côté, j'ai mis en œuvre des approches de génétique quantitative sur des populations naïves (*i.e.* non exposées au cadmium) pour quantifier l'héritabilité de la sensibilité cadmique au sein des populations naturelles et donc leur potentiel à répondre à une sélection en cas d'exposition à ce métal (évaluation d'un « potentiel » d'adaptation génétique). D'un autre côté, j'ai mené la même approche comparative que celle présentée au paragraphe précédent pour l'étude de la variabilité inter et intra-spécifique de la sensibilité ; je me suis en premier lieu attaché ici à comparer au regard du panel de populations de référence considérées précédemment (Figure 29) la distribution des sensibilités individuelles au sein d'une population exposée historiquement au cadmium identifiée dans un ruisseau à l'amont de l'Ardières aux Ardillats (Beaujolais).

Héritabilité de la sensibilité cadmique et potentiel adaptatif des populations

L'examen des réponses évolutives potentielles à l'exposition aux contaminants est le plus souvent mené expérimentalement chez des espèces modèles adaptées à la conduite de protocoles d'exposition multi-génération en laboratoire (Coutellec & Barata 2013). Une approche plus prédictive se base sur l'identification des différences de tolérance génétiquement déterminées. Celles-ci conditionnent en effet la possibilité d'une sélection au sens darwinien au sein des populations exposées. L'évaluation de ce déterminisme génétique peut être réalisée en comparant les sensibilités de souches génétiquement homogènes ; les clones de daphnies, qui constituent l'un des taxons privilégiés de l'écotoxicologie aquatique, ont largement été utilisées dans ce contexte (e.g., Barata et al 1998, 2000, 2002a, 2002b, Messiaen et al 2010, 2012). Une méthodologie alternative cherchant la même quantification du déterminisme génétique de la tolérance chimique consiste à comparer les sensibilités d'individus apparentés et d'appliquer des modèles de génétique quantitative pour caractériser ce potentiel d'adaptation génétique (Falconer & Mackay 1996). Il s'agit par exemple de tester s'il existe une corrélation entre la sensibilité de parents et de leurs descendants (e.g. Klerks & Moreau 2001) ou encore entre fratries (Pease et al 2010) pour lesquelles on parle de *sib analyses*. Ainsi, l'application de la génétique quantitative dans un cadre écotoxicologique offre une stratégie alternative pour évaluer le potentiel de l'évolution de la tolérance aux contaminants dans les populations (Klerks et al 2011). L'idée est d'identifier le potentiel de réponse à la sélection en considérant au sein des populations les deux prérequis de la sélection darwinienne (variation et hérédité) à travers le concept d'héritabilité h^2 (Falconer & Mackay 1996). Très peu exploitée en écotoxicologie, cette approche est pourtant réalisable avec des espèces à cycle de vie long (dans le cas de *sib analyses*) et ne nécessite pas de lignées spécifiques d'organismes de laboratoire. Elle peut donc être menée pour des individus provenant de populations naturelles.

J'ai mis en place ce type d'expérimentations pour évaluer le potentiel des populations de *Gammarus* à s'adapter génétiquement au cadmium (2007 - Master Pierre Gos M1 ; 2015 - Thèse Amandine Vigneron T3). En combinant le contrôle de l'appariement de géniteurs et du cycle reproductif de cette espèce avec des protocoles d'exposition individuelle au cadmium, nous avons pu comparer entre frères ou demi-frères la sensibilité cadmique d'individus nouveau-nés pour établir le déterminisme génétique de la variabilité de la sensibilité au cadmium dans des populations naturelles (A13 ; A43). Ces protocoles de génétique quantitative (*full-sib, half-sib designs*) permettent en effet d'estimer l'héritabilité et de décomposer la variance du caractère « sensibilité au cadmium » entre composantes génétiques et environnementales, et ainsi d'évaluer le potentiel d'adaptation génétique de *G. fossarum* à la toxicité aigüe de ce métal. La Figure 36 présente pour exemple les résultats obtenus dans le cadre de la thèse d'Amandine Vigneron (T3) concernant la comparaison de la sensibilité (temps de survie en milieu cadmique – 20 µg/L) entre demi-fratries paternelles et maternelles de nouveau-nés issus de géniteurs échantillonnés dans une population vivant sur la Bourbre à la Tour-du-Pin, site non-contaminé par le cadmium.

Lors d'une première étude, il est apparu que de fortes différences existent entre fratries au sein de cette population de référence, avec un facteur 5 possible entre les temps de survie médians des différentes portées ; par contre, l'absence de corrélation entre demi-frères (paternels et maternels) démontrait une très faible héritabilité de la sensibilité au cadmium et donc l'absence d'un potentiel d'adaptation génétique (A13). Pour expliquer cet effet « portée », j'ai avancé alors principalement

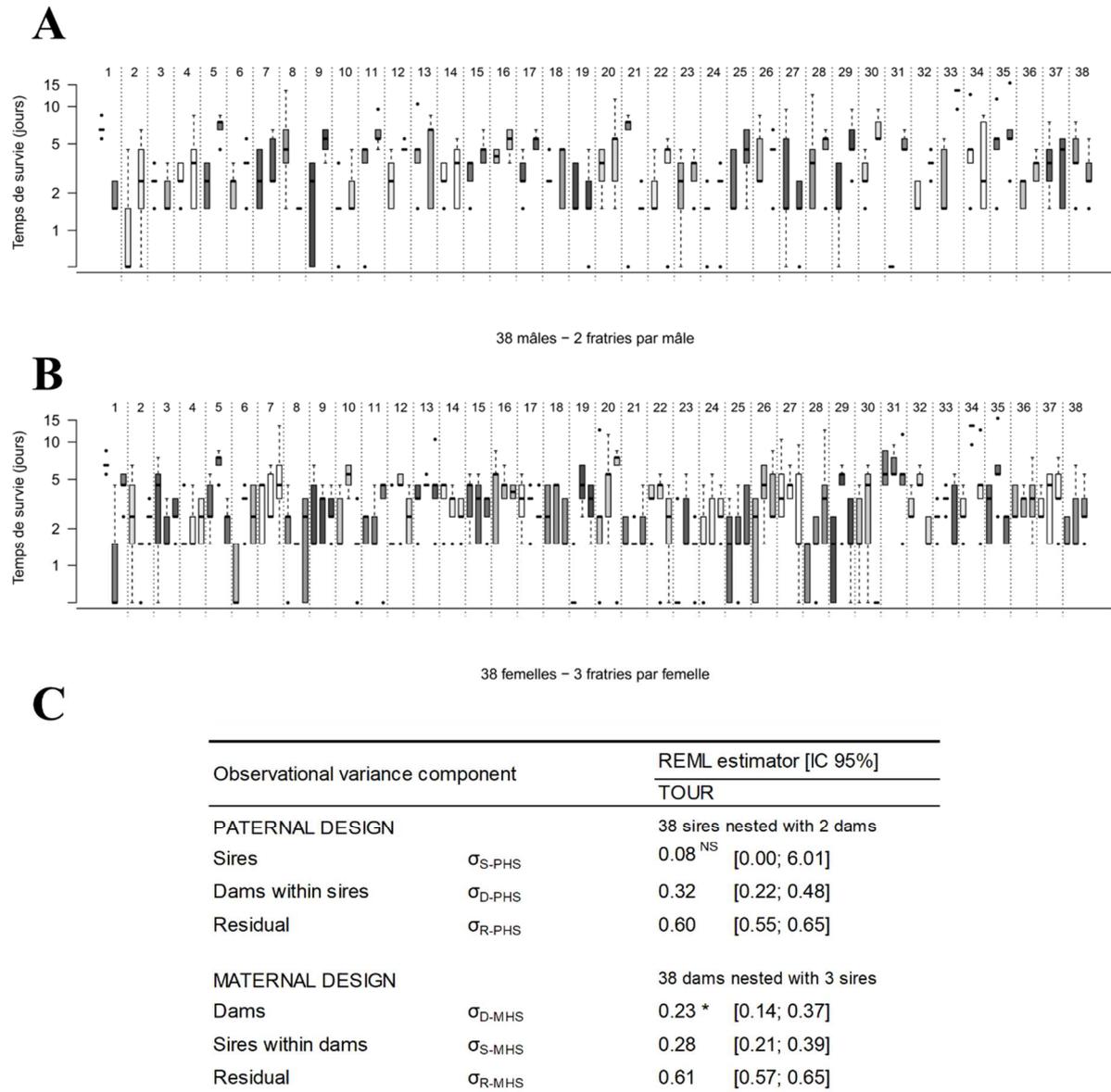


Figure 36. Génétique quantitative de la sensibilité cadmique. Analyse de la similarité des temps de survie des demi-fratries paternelles (A) et maternelles (B) de la population Tour exposées à 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd. Les boîtes représentent les temps de survie en jours de 5 nouveaux nés d'une même fratrie. Pour le design paternel (A) deux boîtes successives du même niveau de gris représentent les deux fratries d'un même père accouplé à deux mères différentes. Pour le design maternel (B) trois boîtes successives du même niveau de gris représentent les trois fratries d'une même mère accouplée à trois pères différents. (C) Décomposition de la variance : effet père « Sire », effet mère « Dam ».

l'hypothèse de l'existence d'une variance génétique non-additive de la sensibilité (car je n'avais que peu d'éléments allant en faveur d'un effet environnement commun, notamment en lien avec les caractéristiques de chaque portée comme la taille à la naissance ou la taille de la mère, ...). Sur cette même population, nous avons mis en œuvre dans une seconde étude le même protocole, mais optimisé en termes de design expérimental ce qui a permis d'accroître le nombre de fratries testées (A43). Comme présenté sur la Figure 36, les résultats ont corroboré l'existence de fortes hétérogénéités de la sensibilité entre fratries et l'absence d'une variance génétique additive au regard

de l'absence de covariation de cette sensibilité entre demi-frères paternels, d'où une héritabilité nulle dans cette population. Le même résultat a été retrouvé dans une deuxième population de référence de Chartreuse. Par contre, en suivant ce nouveau design, nous avons pu quantifier une similarité significative de la sensibilité entre demi-frères maternels. En d'autres termes, certaines mères donnent naissance à des descendants en moyenne plus sensibles ou en moyenne plus tolérants vis-à-vis du cadmium que la moyenne populationnelle. Cet effet mère explique environ 15% de la variance de la sensibilité des individus nouveau-nés. Ce résultat jette ainsi un éclairage nouveau sur l'importance des influences maternelles dans le déterminisme de la sensibilité aux contaminants au sein des populations naturelles. 20% sont ensuite expliqués par un effet portée, attribuable soit à une variance génétique non-additive (effets génétiques de dominance non partagés entre demi-frères) ou à un effet environnement commun lié à la phase de développement au sein du marsupium des femelles. Ces résultats qui concluent à l'absence de potentiel de sélection génétique d'individus tolérants au sein des populations de *Gammarus* (héritabilité de la sensibilité nulle) ont été corroborés par quelques expérimentations préliminaires de sélection artificielle que nous avons pu mener au laboratoire. Evidemment je garde à l'esprit que ce résultat d'une absence de potentiel d'adaptation génétique est un résultat négatif et donc non totalement conclusif. De plus, la sensibilité testée ici est uniquement une sensibilité à un stress aigu pour de fortes concentrations de cadmium, certainement difficilement extrapolable aux niveaux d'expositions environnementales. Aujourd'hui, nous sommes en capacité au laboratoire d'élever les individus de la naissance jusqu'à des stades adultes (*e.g.* protocoles actuellement mis en place dans la thèse de Pauline Crihiu (T6)), et je pense pouvoir reposer ces questions des déterminismes de la sensibilité individuelle en considérant les capacités reproductives d'individus apparentés étudié en milieu contaminé. Par ailleurs, la mise à en évidence d'un déterminisme maternel de la sensibilité individuelle au sein des populations ouvre des pistes de recherche quant aux mécanismes moléculaires sous-jacents, perspective que je discuterai dans la dernière partie de ce mémoire.

Les Ardillats, laboratoire in natura des effets de l'exposition long terme au Cd

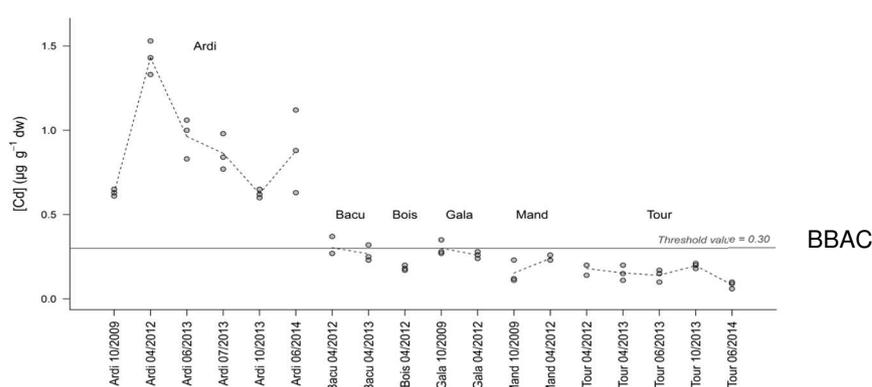


Figure 37. Evaluation de la contamination biodisponible en cadmium sur six stations d'étude de la région Rhône-Alpes dont la station des Ardillats (population Ardi). Sont présentées ici les concentrations accumulées par des gammarus mâles transplantés pendant 7 jours sur site (approche active [A25](#)) à différentes dates. Le niveau seuil de contamination national (BBAC) est tracé pour référence.

Les observations de terrain sont venues réinterroger l'ensemble de ces résultats. Comme précisé ci-dessus, je me suis intéressé particulièrement à une population située en amont de l'Ardières sur la commune des Ardillats après avoir constaté fortuitement que cette station présentait des niveaux de contamination cadmique biodisponible relativement importants. Il faut noter que j'avais sélectionné auparavant cette population pour le développement du modèle de dynamique de population lors de la thèse de Romain Coulaud, soulignant ainsi que cette population était bien installée de manière durable dans ce cours d'eau. Pour préciser le niveau d'exposition de cette population des Ardillats au regard de l'exposition des populations de *Gammarus* régionales, nous avons eu recours à l'approche d'encagement de gammares naïfs développés au sein de mon équipe (A25). Cette méthode de mesure de la contamination permet ainsi une caractérisation fiable et robuste de la contamination des stations abritant les populations d'étude en s'appuyant sur une comparaison à des niveaux de concentrations moyens nationaux et à des seuils de contamination (BBACs) établis sur un jeu de données d'une centaine de stations distribuées au niveau national (A48). Ainsi cette méthodologie permet d'obtenir une mesure indicatrice de la contamination biodisponible, cette mesure est d'autant plus pertinente pour la caractérisation de l'exposition des organismes dans nos travaux qu'elle est réalisée à partir d'encagement de *G. fossarum*. Elle permet de comparer de façon fiable les niveaux de contamination entre les différents sites et à différentes dates. Comme présenté sur la Figure 37, cette approche nous a permis de déterminer que des niveaux importants de cadmium étaient biodisponibles sur la station des Ardillats au cours de différentes années et aux différentes saisons. Les concentrations accumulées y sont en effet entre 2 et 5 fois supérieures au seuil de contamination cadmique national. Nous avons également validé l'absence de contamination biodisponible par le cadmium dans les cinq autres stations régionales abritant des populations de *Gammarus* qui ont servi alors de témoin pour tester les effets de cette exposition historique de la population des Ardillats. On peut noter que c'est grâce à cette méthodologie de caractérisation de l'exposition que nous avons pu identifier ce cas d'étude ; en effet, les données dans l'eau ne nous auraient pas permis de caractériser cette forte exposition, les concentrations en cadmium dissous dans l'eau du site restant toujours faibles (en moyenne $0,045 \mu\text{g L}^{-1}$) et inférieures à la norme européenne actuelle de qualité environnementale pour le cadmium des eaux de surface continentales (fixée à $0,08 \mu\text{g L}^{-1}$ dans les eaux douces).

Suivant un design de « mise en jardin commun », nous avons ensuite comparé au laboratoire la sensibilité de la population des Ardillats vis-à-vis du cadmium à celle de cinq populations de référence sélectionnées dans la même zone régionale. (A36). La comparaison des temps de survie lors d'exposition à $100 \mu\text{g Cd/L}$ de mâles calibrés en taille (Figure 38A) a révélé une tolérance plus élevée des individus des Ardillats au regard des cinq populations de référence (il existe environ un facteur 2 entre les temps médians de survie). Dans une autre série d'expérimentations suivant un design dose-réponse, il est apparu également que ces individus des Ardillats se démarquent clairement en termes de sensibilité cadmique de la gamme de variabilité que nous avons pu établir à plus large échelle géographique sur les populations de Gammaridés non-contaminées (Figure 38C). Cette population présente une tolérance au cadmium supérieure à toutes les autres populations, et ce quelle que soit leur composition phylogénétique (cf section précédente). Le génotypage COI de la population des Ardillats nous a indiqué qu'il s'agit d'une population pure de *G. fossarum* de type B, et la comparaison à la CL_{50} moyenne observée pour cette lignée souligne une tolérance d'un facteur 5 en termes de CL_{50} à 4 jours d'exposition. Nous pouvons remarquer que

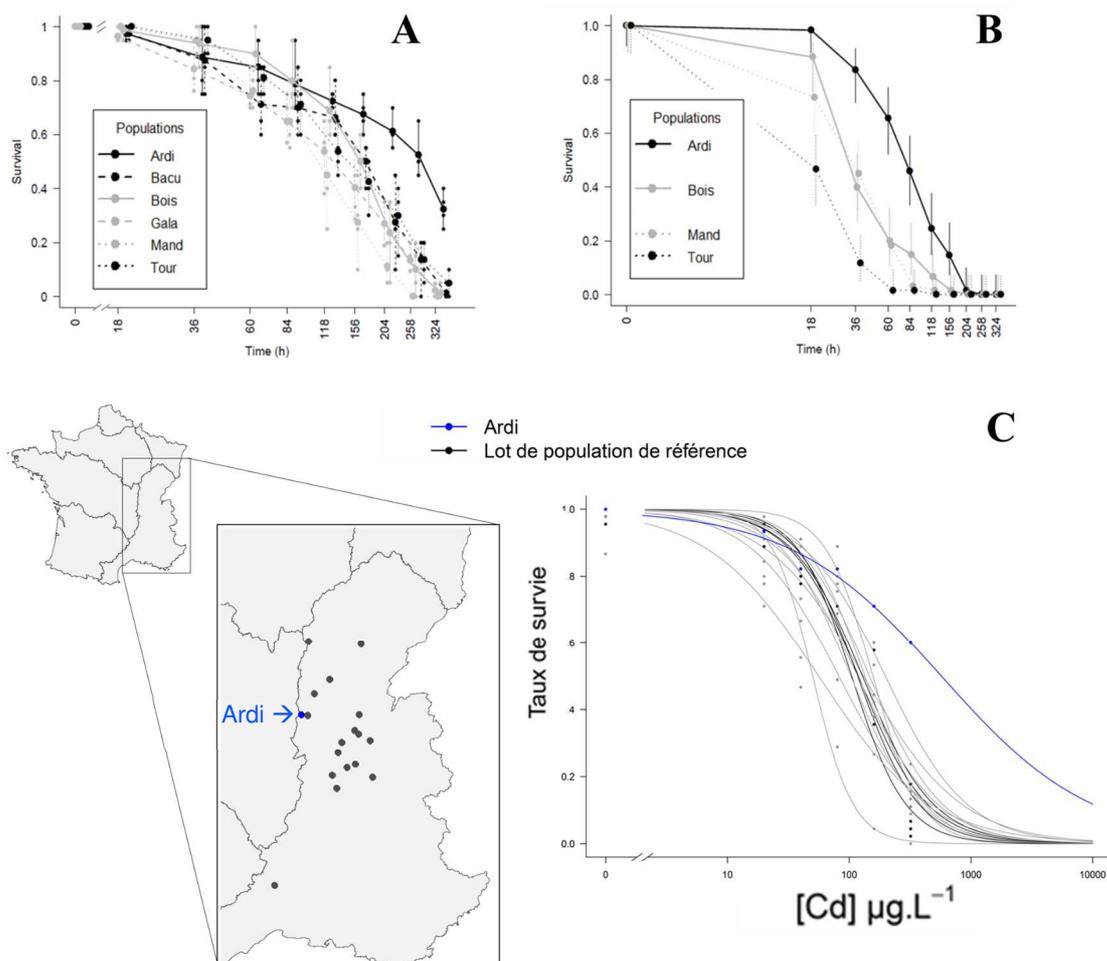


Figure 38. Mise en évidence d’une tolérance au cadmium chez les organismes des Ardillats (population Ardi). (A) Courbes de survie de mâles prélevés sur site et exposés au laboratoire à $100 \mu\text{g Cd L}^{-1}$ pour six populations de la région Rhône-Alpes, cinq référence et Ardi. (B) Courbes de survie de juvéniles F1 nés au laboratoire issus de géniteurs provenant de 4 de ces populations. (C) Courbes dose-réponse à 96h de 18 populations largement distribuées dans le quart sud-est de la France : 17 non contaminées par le cadmium *en grisé* (Figure 29) et Ardi (*bleu*).

ces facteurs sont loin des niveaux de modification de la sensibilité rapportés par exemple dans le cadre de résistance aux insecticides chez les arthropodes non-cibles comme l’amphipode *Hyalella* en Amérique du Nord (Weston et al 2013) ou cibles comme les moustiques (Mutero et al 1994) qui correspondent à la sélection de mutants génétiques dans les populations exposées. Avec une première idée d’évaluer la possibilité d’un déterminisme génétique de la tolérance acquise aux Ardillats, nous avons dans cette première série d’expériences examiner si la tolérance observée sur ces lots d’individus adultes pouvait se transmettre à leur progéniture. Les individus F1 ainsi produits au laboratoire ont présenté eux-aussi une sensibilité au cadmium plus faible que celles des juvéniles issus des géniteurs des populations de référence (Figure 38B).

Ces résultats sont ainsi venus questionner fortement les conclusions faites précédemment quant à l’héritabilité faible de la sensibilité au cadmium au sein des populations de gammarès. En effet, cette population des Ardillats documente que dans certaines conditions d’exposition long terme à ce métal, une tolérance (même si elle reste modérée) peut se développer sur le terrain et que celle-ci peut être transmissible à la descendance, même lorsque les géniteurs sont placés dans

un environnement non contaminé, ce dernier point interrogeant la possibilité d'un déterminisme génétique de ces modifications de la sensibilité. Nous sommes alors allés plus loin dans l'examen de la persistance et du caractère héritable de cette tolérance. La distribution intra-population de la sensibilité au cadmium chez les nouveau-nés de la population des Ardillats, ainsi que son évolution lors du maintien des géniteurs en conditions non contaminées ont été étudiées (A63). Nous avons considéré trois cohortes successives produites au laboratoire en condition non contaminées (Figure 39) ; étant donné le cycle reproductif de l'amphipode, les individus de première cohorte produite au laboratoire étaient présents dans les marsupiums des femelles collectées sur le terrain lors de leurs premiers stades de développement embryonnaire, ceux de deuxième cohorte sont simplement issus de gamètes différenciés *in situ*, et la troisième cohorte d'individus sont totalement naïfs vis-à-vis du terrain. Nous avons montré que comparativement à deux populations de référence, la tolérance au cadmium constatée chez les nouveau-nés de première cohorte résulte en fait d'une absence de fratries sensibles (Figure 40), ne correspondant *a priori* pas à une sélection au cours du développement embryonnaire (pas de modification de la taille de portée). Le niveau de tolérance de l'ensemble de ces fratries produites par les géniteurs collectés sur le site des Ardillats égale mais ne dépasse pas les niveaux maximums de tolérance enregistrés dans les populations de référence. L'augmentation de tolérance n'est apparente ainsi qu'en moyenne au niveau

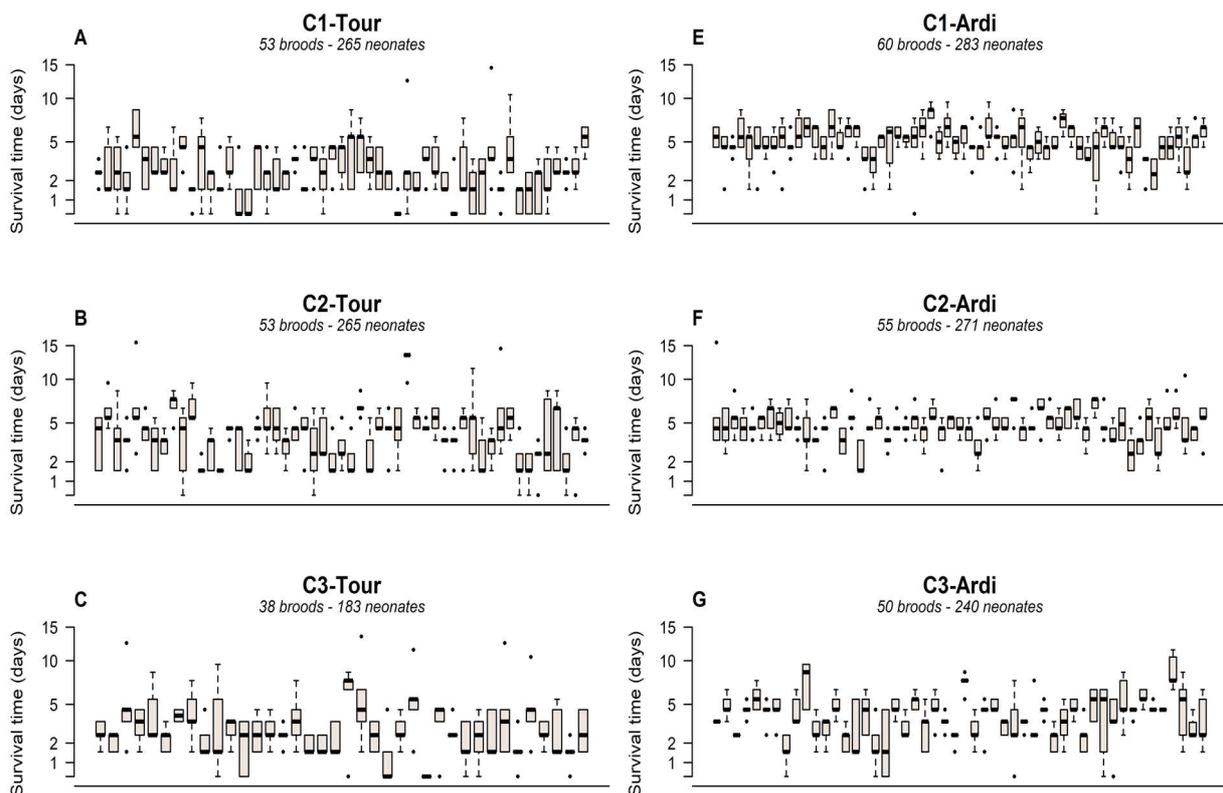


Figure 40. Distribution inter-fratries des sensibilités individuelles vis-à-vis du cadmium de trois cohortes successives de nouveaux nés produits en milieu non-contaminé au laboratoire à partir de géniteurs issus de la population de référence Tour et de la population contaminée au cadmium Ardi. Les sensibilités sont évaluées par le temps de survie lors d'exposition à $20 \mu\text{g L}^{-1}$; 5 individus par fratries (*broods*).

populationnel. Enfin, cette tolérance supérieure à celle des populations de référence disparaît pour la troisième cohorte dans laquelle des fratries sensibles « réapparaissent » présentant ainsi une distribution des sensibilités très proche de celle des références (Figure 40 C & G). Cette étude a ainsi conclu que l'observation du caractère transmissible de la tolérance au cadmium entre générations au sein de la population des Ardillats ne démontre pas une adaptation génétique, mais résulte d'un effet de l'exposition parentale (pendant la phase de gamétogenèse *a minima*) qui induit un phénomène de plasticité transgénérationnelle.

Ces travaux originaux sur une population naturelle ont clairement mis en évidence la possibilité chez *Gammarus* d'acquérir une tolérance modérée vis-à-vis du cadmium. Ils ont montré que celle-ci n'est pas associée à une sélection génétique bien qu'elle soit transmissible à la descendance du fait d'un effet transgénérationnel induit par l'exposition parentale. Ce phénomène de plasticité transgénérationnelle ouvre un ensemble de questions sur le type de mécanismes impliqués : acclimatation physiologique liée au transfert de facteurs physiologiques via la mère, possibilité de phénomènes épigénétiques, ...

Généralisation du cas d'étude

Ce cas d'étude des Ardillats appelle naturellement à évaluer s'il s'agit d'un cas très particulier ou si ce phénomène d'augmentation de la tolérance au cadmium en cas d'exposition long terme peut être généralisé. Dans le cadre du projet ANR Multistress (2014-2017, Pr2), en plus des populations présentées plus haut qui ont permis de tester le signal phylogénétique de la sensibilité chez *Gammarus fossarum* & *pulex*, nous avons orienté nos prospections dans la zone Vosges / Haute Saône / Morvan / Beaujolais / Pilat / Cévennes pour tenter d'identifier d'autres populations de Gammaridés soumises à de telles expositions métalliques historiques (régionalement dans les zones naturelles identifiées fortuitement comme présentant de fort taux de contamination métallique biodisponible ; ou encore dans des zones marquées par la présence d'activités minières, notamment archéologiques...). Au total, un ensemble d'une centaine de peuplements de Gammaridés a été caractérisée phylogénétiquement (barcoding COI) et la contamination métallique notamment de 70 de ces stations a été évaluée par l'approche d'encagement. Dans le cadre du master de Maxime Allibert en 2017 (M6), nous avons collecté des organismes dans une vingtaine de ces différents sites et évalué la sensibilité d'individus mâles lors d'expositions aiguës au cadmium au laboratoire. Pour écarter tout biais phylogénétique potentiel, nous avons tout d'abord considéré uniquement des populations pures de *fossarum* de type B. Nous avons ainsi identifié dans le Beaujolais, sur le même bassin que celui des Ardillats deux nouvelles populations exposées au cadmium situées sur des ruisseaux amont de l'Ardières, ainsi qu'une population non exposée (ou en tout cas moins exposée). Une situation analogue (station témoin / station contaminée) a été identifiée sur le bassin de la Liepvrette à Sainte-Marie-aux-Mines dans le massif des Vosges. D'autres populations de référence de l'Est de la France et de la région Rhône-Alpes sont venues compléter le design (Figure 41).

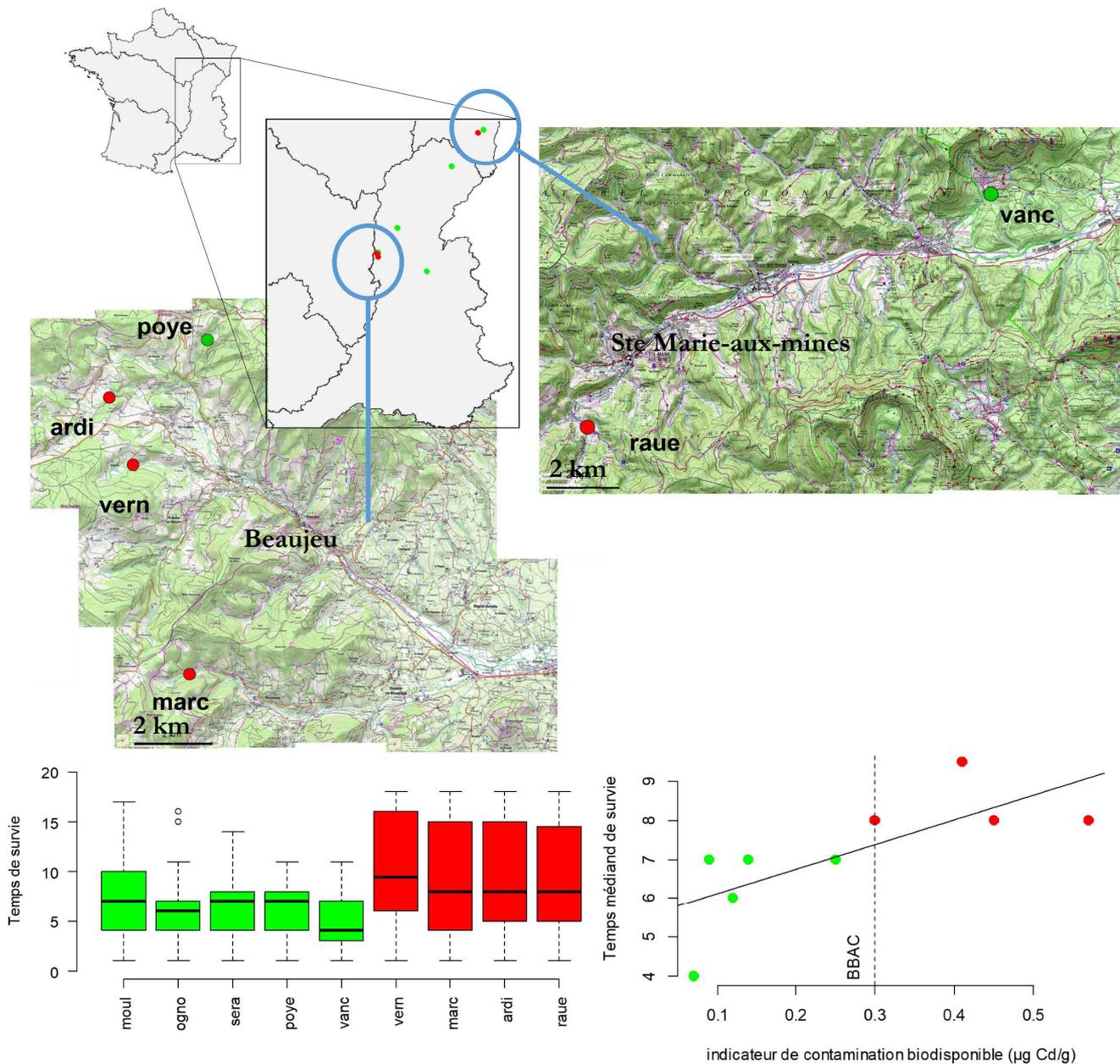


Figure 41. Sensibilité au cadmium de 9 populations en regard de la contamination biodisponible sur les stations d'origine. Le temps de survie de mâles calibrés exposés à 80 µg/L de cadmium est mis en regard de l'indicateur de contamination (concentration en cadmium accumulée en 7 jours par des organismes naïfs engagés sur site [A25 A48](#)). Le contraste de contamination a ainsi été testé à l'échelle de la façade Est de la France et à l'échelle locale sur deux petits bassins versants : l'Ardières (Beaujolais) et la Liepvrette (Vosges).

Nous avons alors constaté une relation positive entre le temps médian de survie au cadmium (ou le 3^{ème} quartile) et le niveau d'exposition *in situ* mesuré sur les stations d'origine des organismes par la méthode d'encagement de gammarels naïfs. La sensibilité des populations au cadmium diminue donc dans les habitats où les organismes sont exposés à cet élément. Ce patron se retrouve à la fois à l'échelle du bassin versant (Beaujolais ou Vosges) comme à l'échelle de l'ensemble de l'aire de

répartition sur la façade Est de la France de ces populations de *G. fossarum* B. Ceci permet de généraliser le cas d'étude d'acquisition de tolérance identifié aux Ardillats. Nous avons également examiné la situation pour des populations de *G. pulex*, mais celle-ci s'est avérée plus complexe avec certaines populations exposées à des sources plutôt industrielles clairement plus tolérantes, et l'absence de modification de la sensibilité cadmique dans la zone du massif du Pilat où l'ensemble des populations des différents ruisseaux de la zone sont clairement exposées notamment au cadmium. Ces contrastes de réponse entre espèces, entre lignées et entre zones de peuplement posent différentes questions à la fois sur la complexité des situations de contaminations environnementales (l'exposition dans certains cas n'est pas mono-contaminant par exemple), sur la dimension spatiale et temporelle de ces expositions au regard des dynamiques populationnelles, ou encore sur les différences de vulnérabilité en lien avec l'historique d'exposition et d'évolution des espèces ou des populations.

Coûts indirects et modification des traits d'histoire de vie

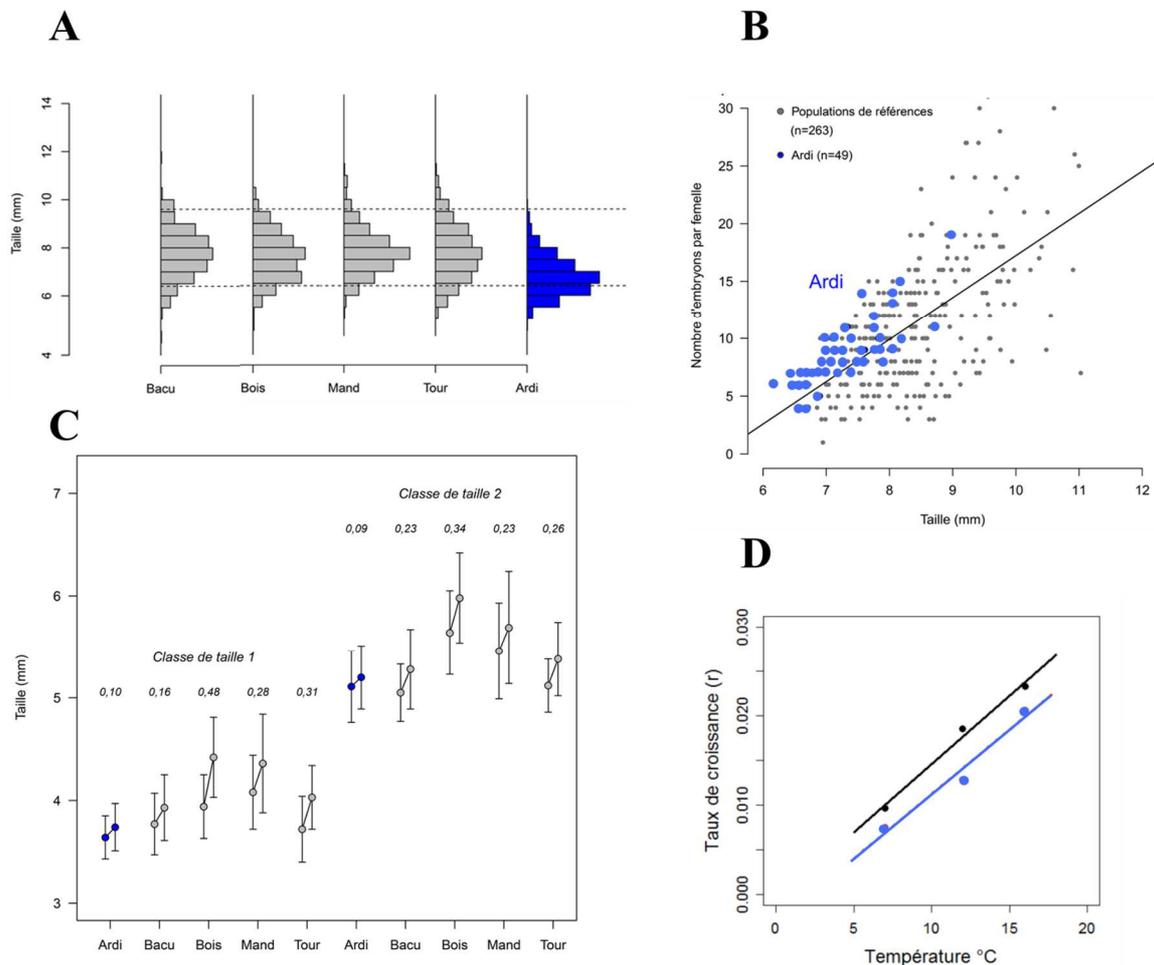


Figure 42. Modification des traits d'histoire de vie de la population des Ardillats en comparaison de quatre populations non contaminées de Rhône-Alpes. **(A)** Distribution en taille des femelles matures collectées pendant un an de suivi démographique. **(B)** Relation taille / fécondité des femelles. **(C)** Expérience de croissance au laboratoire de deux classes de taille d'individus à 12°C pendant 3 semaines (*gains de taille en mm*) (thèse A. Vigneron T3). **(D)** Taux de croissance modélisé à partir d'expérience à trois températures pour les populations de Tour (*noir*) et Ardi (*bleu*) (thèse R. Coulaud T1).

Au-delà des phénomènes de modification des sensibilités toxicologiques, la littérature invite à poser la question des effets indirects, des coûts associés à la tolérance pour les individus des populations soumises aux effets évolutifs induits par l'exposition aux contaminations environnementales (Van Straalen & Hoffmann 2000, Medina et al 2007). Même si les niveaux de tolérance que nous avons pu détecter chez les populations de *Gammarus* vis-à-vis du cadmium restent très modérés, la question des effets indirects de ces expositions métalliques sur les performances physiologiques et les traits d'histoire de vie reste pertinente. Nous avons ainsi interrogé ces aspects dans le cas d'étude de la population des Ardillats (A36). Tout d'abord, au cours des prospections et des échantillonnages des populations pour l'examen de la variabilité intra-spécifique de la sensibilité, il m'avait semblé que les individus de la population des Ardillats étaient relativement de petite taille au regard de l'ensemble du jeu de populations investiguées. Afin de tester cette hypothèse, un suivi spécifique de la structure démographique de plusieurs populations a été réalisé sur un an en suivant le protocole développé pour la paramétrisation du modèle de dynamique de population de la thèse de Romain Coulaud (T1 ; A18).

En comparant les distributions de taille des femelles en reproduction au cours d'un cycle annuel de différentes populations issues de la région, nous avons confirmé une taille inférieure des individus de la population des Ardillats (Figure 42A) et une maturité plus précoce des individus (*i.e.* pour une taille plus faible) tranchant avec l'homogénéité des distributions de taille des différentes populations non contaminées suivies. Un élevage d'individus issus de ces populations et nés au laboratoire a également corroboré cette observation d'une maturité plus précoce. L'interprétation de cette réduction de la taille des individus en termes d'effet spécifique de la contamination reste à être confirmée car de telles modifications pourraient être induites par d'autres facteurs, par exemple des différences d'habitat ; disposer de plus de populations de référence ou obtenir de telles données pour d'autres populations contaminées et non-contaminées sur des stations situées sur un même bassin versant permettrait de tester cette hypothèse. Par ailleurs, des expérimentations au laboratoire ont également mis en évidence des taux de croissance plus faibles des individus issus de la population des Ardillats, ceci à différentes températures et pour différentes classes de tailles (Figure 42 C-D). Enfin, une tendance à la modification de la fécondité des femelles est également suspectée : les femelles en reproduction qui sont en moyenne plus petites aux Ardillats semblent présenter des niveaux de fécondité (nombre d'embryons par femelle) supérieurs aux femelles de même taille dans les populations non exposées (Figure 42B). Ainsi, ces résultats indiquent que l'exposition long terme au cadmium de cette population des Ardillats, en plus d'une modification de la sensibilité des individus, semble induire des modifications des traits d'histoire de vie en lien avec la dynamique de population. Ces modifications (notamment réduction de la capacité de croissance) peuvent être le résultat de coûts associés à la tolérance (Van Straalen & Hoffmann 2000, Postma et al 1995, Jones & Hopkin 1998), tout comme être le signe d'une adaptation de l'histoire de vie au stress chimique (maturité précoce, investissement reproductif plus important), comme cela a été proposé pour l'isopode terrestre *Porcellio scaber* par Donker et al (1993) et l'isopode aquatique *Asellus aquaticus* par Maltby (1991) en milieu contaminé par les métaux. Je reviendrai sur cette hypothèse dans la dernière partie consacrée aux perspectives de mes travaux.

Les coûts physiologiques potentiels de la tolérance ont également été évalués au moyen d'un proxy, d'une mesure indicatrice de la santé individuelle : le taux d'alimentation (en laboratoire et *in situ*). Sur la Figure 43, les résultats de ces bioessais indiquent que dans leur milieu d'origine, les individus des Ardillats ont un niveau de consommation alimentaire du même ordre que celui d'une

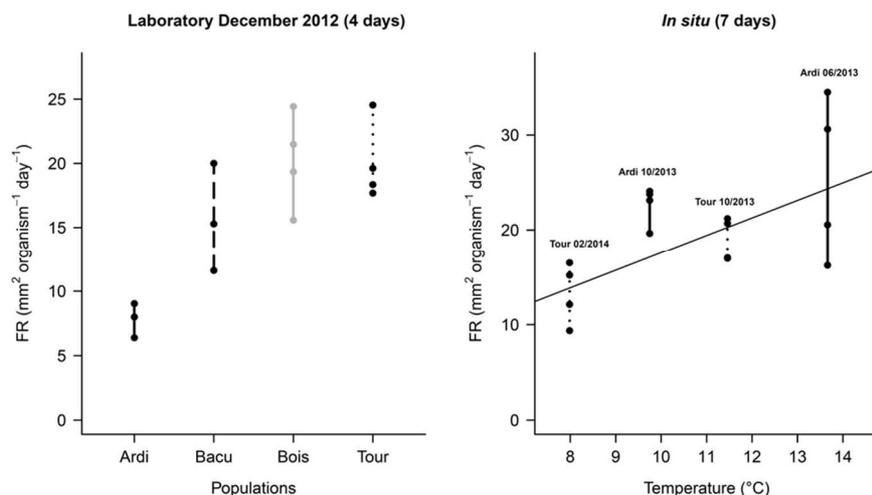


Figure 43. Comparaison de l'activité alimentaire de la population des Ardillats à celles de populations non contaminées, au laboratoire et *in situ*.

population de référence. Par contre, on montre qu'en conditions non-contaminées au laboratoire (*i.e.* en « jardin commun »), l'activité alimentaire des organismes des Ardillats est considérablement réduite contrairement à celle des individus issus de populations non-contaminées, ce qui indique potentiellement une sensibilité forte de la population des Ardillats aux changements des conditions environnementales. Ceci nous a amené à formuler là aussi l'hypothèse d'un coût associé à l'acquisition de la tolérance vis-à-vis du cadmium, se traduisant par une mal-adaptation de la population en cas de changement des conditions environnementales (A36).

Si je dresse aujourd'hui un bilan de l'ensemble des travaux que j'ai menés sur l'effet des expositions cadmiques long terme chez *G. fossarum*, il m'apparaît que les populations de *Gammarus* ne peuvent développer de résistance génétique dans un contexte de contamination persistante par cet élément. Des changements de sensibilité modérés peuvent néanmoins se mettre en place et le rôle des effets parentaux - notamment maternels - semble clef dans le déterminisme de cette plasticité de la sensibilité des populations. En termes de vulnérabilité des populations, il semble que ces modifications de la sensibilité puissent s'accompagner de modifications significatives des traits d'histoire de vie et de coûts sur les performances physiologiques des individus, posant la question d'une vulnérabilité accrue de ces populations face à la variabilité environnementale. L'ensemble de ces travaux jusqu'ici très empiriques viennent donc souligner le rôle potentiellement structurant des contaminations métalliques naturelles pour les populations aquatiques. La question de la transposition, de la généralisation de ces enseignements au contexte de contaminations multi-substances et en lien avec des sources de pollution anthropiques reste entière.

PERSPECTIVES

En considérant les sorties des différents volets de recherche exposés jusqu'ici, il me semble qu'au final ces travaux aboutissent essentiellement à la proposition d'hypothèses : que ce soit mes travaux en modélisation de dynamique de population - *hypothèse que la phénologie des populations structure fortement leur vulnérabilité à la pression chimique toxique* -, en génétique quantitative - *hypothèse du faible potentiel adaptatif des populations de gammaridés vis-à-vis de la contamination métallique* - ; ou encore les études empiriques comparatives que j'ai menées sur la variabilité intra et interspécifique de la sensibilité - *hypothèse d'une faible variation entre populations et une légère influence possible de la phylogénie à l'échelle du genre* - ou des effets à long terme des contaminations métalliques - *hypothèse d'une plasticité possible de la sensibilité impliquant les effets parentaux et des coûts indirects des faibles tolérances acquises sur la vulnérabilité des populations* ... Aujourd'hui, je compte adopter deux types de stratégies pour avancer sur ce corpus d'hypothèses. La première consiste à me tourner vers une description des **mécanismes** qui peuvent expliquer les patrons constatés jusqu'ici empiriquement ou révélés expérimentalement. Pour cela, je compte (ou plutôt « nous comptons » car étant pluridisciplinaire l'aventure devient alors encore plus collective qu'elle ne l'était déjà) m'appuyer sur les développements réalisés récemment en biologie moléculaire chez *Gammarus* ou encore sur nos capacités à expérimenter au laboratoire sur plusieurs générations. La seconde stratégie est de poursuivre l'effort déjà engagé de généralisation des résultats acquis par l'étude des populations et l'expérimentation des milieux. Pour mettre en œuvre cette écotoxicologie à **large échelle**, je compte tirer profit des développements méthodologiques et opérationnels en biosurveillance auxquels j'ai contribué. Cet examen à plus grande échelle du lien entre contamination, toxicité des milieux et état des populations doit permettre de tester la généralité des patrons décrits jusqu'ici sur quelques cas d'étude. J'en attends également de pouvoir tester les prédictions théoriques issues de mes travaux en modélisation, pour réinterroger le lien entre pression chimique et effets aux échelles écologiques des populations et des communautés.

Se tourner vers les mécanismes

Le moléculaire...

Avant mon recrutement dans le domaine de l'écotoxicologie, j'ai réalisé un post-doctorat entre 2004 et 2006 au sein de l'équipe de Vincent Laudet qui développait des approches de génomique comparative dans un environnement pourtant encore très marqué par une biologie moléculaire tournée vers l'homme et le médical (ENS Lyon). Dans ce domaine de l'évo-dévo, à l'époque où les génomes d'espèces issues de la biodiversité commençaient tout juste à être séquencés, j'ai mené des travaux d'analyse statistique de patrons d'expression transcriptomiques (A7) et de modélisation en évolution moléculaire, particulièrement sur l'évolution des récepteurs d'hormones chez les insectes dans une riche collaboration avec François Bonneton (A8, A9, A12, A14, A21), enseignant-chercheur à l'Institut de Génomique Fonctionnel de Lyon^a. En arrivant en écotoxicologie, j'avais

^a Je ne remercierai jamais assez François de m'avoir « invité » dans son sujet sur l'évolution du contrôle du développement au cours de l'histoire évolutive des insectes. Ce sont son érudition, sa connaissance extrême de la littérature du domaine, son travail méticuleux et résolu le poussant à redévelopper des sous-axes de recherches entiers

identifié que la génomique allait investir le domaine, mais n'ayant pas de spécialiste en biologie moléculaire dans l'équipe, et travaillant sur des espèces dites **non-modèles** pour cette biologie moléculaire, ce n'est que quelques années plus tard que le « moléculaire » est revenu dans mes activités.

Initialement, Olivier Geffard et moi avons été sollicités par Arnaud Salvador (chimiste analyticien en protéomique à l'Institut des Sciences Analytiques ; Lyon1) qui voulait appliquer dans le domaine de l'environnement les méthodologies de dosages de protéines par spectrométrie de masse (protéomique ciblée) déjà bien développées pour le dosage de biomarqueurs dans le domaine de la santé comme alternative au dosages par anticorps. Chez le gammare, nous disposions par chance d'une séquence de vitellogénine, protéine suivie classiquement en écotoxicologie comme biomarqueur de perturbation endocrine notamment chez le poisson mâle. Connaissant la séquence de cette protéine chez le gammare, nous connaissons la masse de certains peptides de celle-ci et donc un dosage spécifique et absolu pouvait être possible chez notre invertébré. Toute une série de travaux méthodologiques et applicatifs en a découlé dans le cadre de la thèse de Guillaume Jubeaux (2012 T2) (A17, A23, A24). Etant donné mon passif en évolution moléculaire, j'ai très vite imaginé dans le cadre de cette thèse que le polymorphisme de séquences entre espèces pouvait être

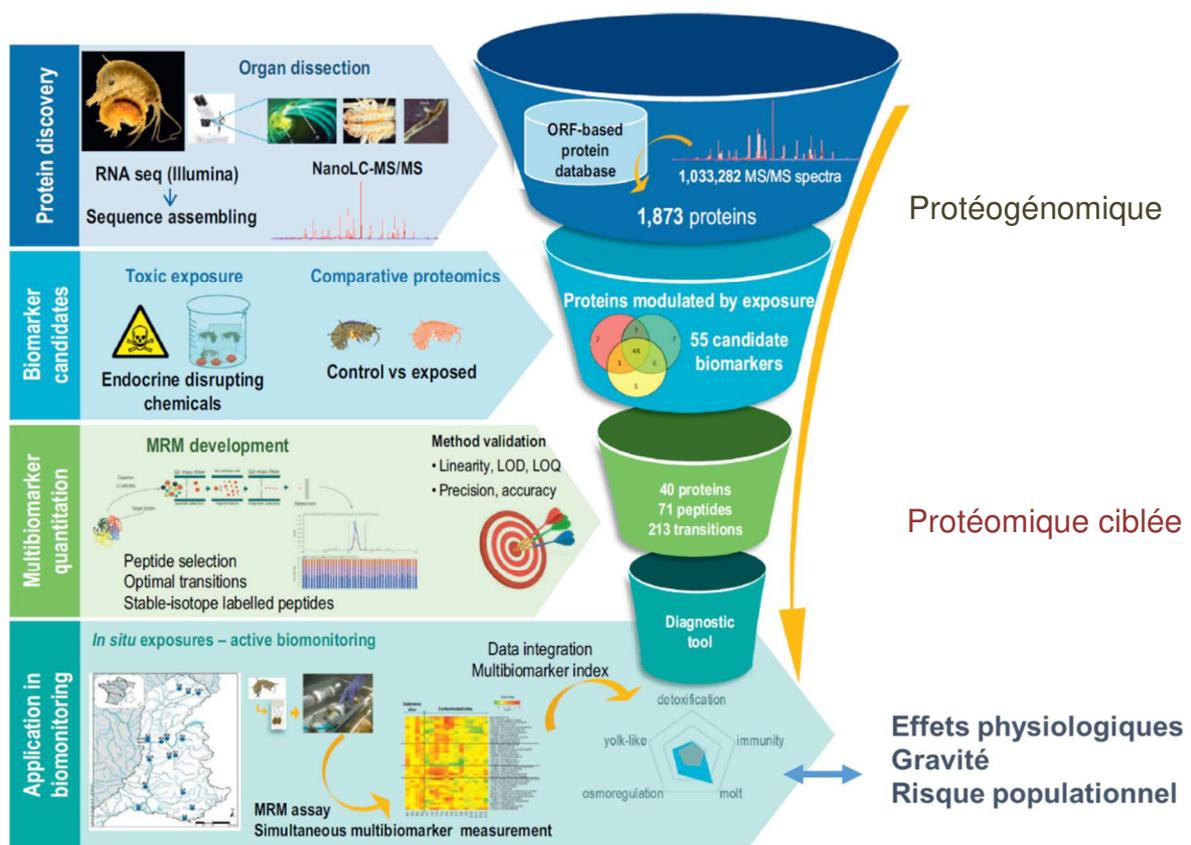


Figure 44. Stratégie protéomique suivie pour le développement de connaissances moléculaires et la mise au point de biomarqueurs chez notre espèce non-modèle *Gammarus fossarum* (tiré de A62).

impliquant le recours à des méthodologies issues de champs disciplinaires nouveaux pour pouvoir répondre à la question, qui m'ont fait comprendre réellement ce que voulait dire avoir un « sujet » de recherche. (10 ans entre les premières interrogations sur le sujet et l'article de synthèse que nous avons produit ensemble en 2012).

pris en compte pour permettre une transférabilité des méthodologies de dosage par spectrométrie de masse pour appliquer le biomarqueur développé sur une diversité d'espèces (A22). Cette transférabilité constitue un verrou fort pour l'application des approches biomarqueurs dans l'évaluation de la qualité des milieux. Pour aller plus loin dans ces développements et élargir la gamme de biomarqueurs à suivre grâce aux méthodes de dosage multiplexé en protéomique ciblée, nous étions confrontés au verrou de l'espèce non-modèle : nous n'avions pas de séquences de protéines fonctionnellement disponibles chez notre espèce. C'est la rencontre avec Jean Armengaud (CEA Marcoule ; rejoint par la suite par Christine Almunia) qui a permis un bon en avant dans la connaissance de la biologie moléculaire du gammare. Une stratégie dite de protéogénomique (Figure 44), adaptée à l'exploration des protéomes chez les espèces non-modèles (A28) a pu pour la première fois être appliquée chez les animaux à une telle échelle chez le gammare et a permis d'obtenir en 2014 un protéome profond - 1800 protéines décrites - chez *G. fossarum* (thèse de Judith Trapp (2014 T4) (A32). Là encore, la question de la diversité des génomes des espèces s'est très vite posée : nous avons pu par exemple évaluer comment techniquement l'utilisation d'un transcriptome de référence chez une espèce permettait d'acquérir une connaissance du protéome chez des espèces proches réunies au sein d'un groupe taxonomique donné comme les Amphipodes (A40) ; par ailleurs l'exploration rapide de certains répertoires protéiques comme celui des vitellogénines, qui se sont avérées être en multi-copie et présenter probablement une certaine diversité fonctionnelle chez le gammare, nous a permis de souligner toute la difficulté d'extrapoler les hypothèses fonctionnelles basées sur les connaissances acquises chez les Vertébrés à une espèce bien éloignée phylogénétiquement comme le gammare (A41). Aujourd'hui, cet effort de documentation du répertoire protéique chez les gammaridés a été complété dans le cadre du projet ANR Protéogam (Pr3 2015-2019 « Proteomics for novel biomarkers relevant in ecotoxicology from gammarids: challenging the biodiversity for diagnostic tools ») : nous avons documenté environ 3000 protéines chez *G. fossarum* par cette approche en protéomique massive ; les transcriptomes mâles et femelles de sept espèces de Gammaridés du genre *Gammarus* et *Echinogammarus* ont été assemblés. Cette connaissance moléculaire est donc grandissante et la dynamique a été récemment renforcée par l'arrivée de Davide Degli-Esposti au sein de mon laboratoire, qui s'engage aujourd'hui vers un projet de séquençage du génome de *G. fossarum*.

Quelles perspectives pour l'étude du danger toxique pour les populations ? Elles sont doubles pour moi. Tout d'abord, à partir des répertoires protéiques obtenus par protéomique non ciblée dont la modulation peut éventuellement être caractérisée au regard de la physiologie ou de l'exposition au contaminant (A35, A41, A58), il est possible de sélectionner des protéines potentiellement impliquées dans différentes grandes fonctions physiologiques et sensibles à la perturbation toxique. Ensuite, des protocoles de dosages de peptides ciblés peuvent être développés pour permettre un suivi fin et simultané de l'expression de ces protéines chez le gammare (Figure 44). Nous avons proposé un pipeline méthodologique pour le développement de biomarqueurs protéiques chez des espèces non séquencées ou à la biologie moléculaire mal documentée (souvent le cas pour les espèces d'intérêt en monitoring environnemental), partant de la protéomique de découverte jusqu'à un protocole de dosage ciblé multi-biomarqueur applicable dans les études de terrain (A31, A62). Cette preuve de concept a été menée dans le cadre de la thèse de Duarte Gouveia (2017 T5) (A47, A50, A51). La Figure 45 montre comment cette méthodologie

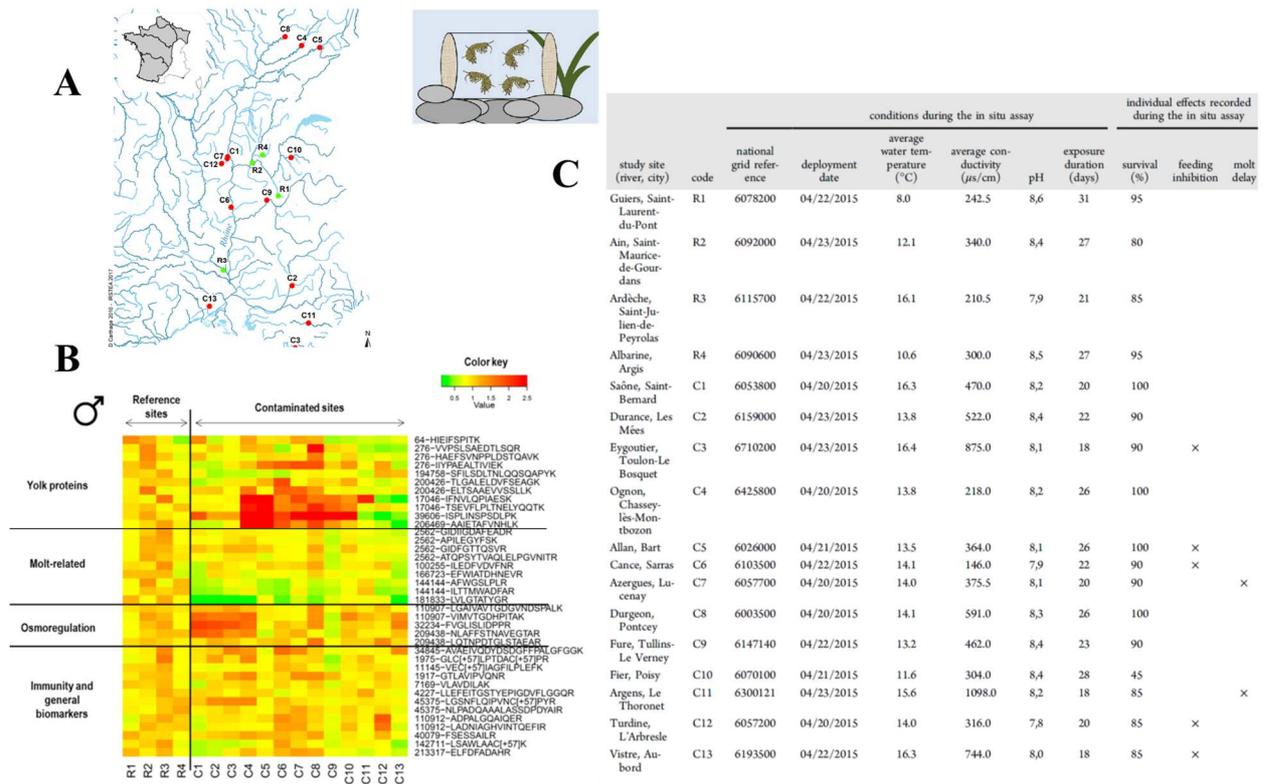


Figure 45. Biomarqueurs protéomiques et diagnostic de la toxicité *in situ*. (A) Déploiement régional de biotests *in situ* sur 17 stations du réseau de surveillance de l'Agence de l'eau RMC (dont 4 stations de référence). (B) Dosage multiplexé individuel d'une quarantaine de biomarqueurs, *i.e.* teneurs en peptides (*moyenne sur cinq individus*) rapporteurs de protéines regroupées ici en grandes fonctions biologiques. (C) Altérations physiologiques mesurées sur ces mêmes stations.

a permis d'obtenir une « carte » de l'état de santé d'organismes exposés dans différents sites classés comme référence ou à risque toxique par l'agence de l'eau RMC (encagement). On s'aperçoit au travers du dosage de ces marqueurs protéomiques de grandes fonctions physiologiques que la signature moléculaire de l'effet toxique^a varie entre stations, et ceci même pour des stations où on observe le même type d'altération physiologique (exemple stations C3, C5 et C6). Une perspective de l'application de ces biomarqueurs protéomiques est ainsi de venir compléter le cadre multi-échelles de diagnostic de la qualité des milieux aquatiques (du sub-individuel au populationnel) proposé dans le chapitre 2 (Figure 28). Pour réaliser cette intégration, on retrouve alors le verrou fort déjà identifié pour les biomarqueurs enzymatiques, que le développement de ces marqueurs omiques doit être réalisé en maintenant en permanence une capacité d'interprétation des modulations en lien avec la physiologie et l'écophysiologie des organismes étudiés. En plus d'un gain de sensibilité, l'apport majeur de ces nouveaux marqueurs moléculaires par rapport aux réponses physiologiques déjà éprouvées est de pouvoir décrire plus finement la diversité des effets toxiques qui peuvent se mettre en place dans les milieux contaminés. Ce gain de connaissances doit permettre d'améliorer

^a ou signature moléculaire de l'exposition ? tout dépend si les protéines sont choisies plutôt en amont ou en aval dans les voies moléculaires qui vont de l'interaction du contaminant avec une cible jusqu'aux protéines effectrices dont la perturbation constitue l'effet toxique.

l'identification des pressions chimiques altérant les communautés biologiques et la priorisation des actions à mener dans une optique de gestion du risque substances et de restauration des milieux. Concrètement pour construire ce schéma d'extrapolation à la population, qui nécessite le même travail d'acquisition de données large échelle, de définition de valeurs de référence, et pour aller jusqu'à l'opérationnalité de ces outils chez le gammare (projet AFB Pr18 en démarrage), mon laboratoire (associé avec les mêmes partenaires protéomiciens) s'est récemment équipé en spectrométrie de masse et nous poursuivons les questions du lien aux effets physiologiques notamment via des approches de modélisation dans le cadre de l'ANR Approve « Integrated Approach to Propose Proteomics for environmental Biomonitoring » (Pr7).

Dans cette interaction entre dimension populationnelle et approches moléculaires chez les Gammaridés, la deuxième perspective en réflexion est une exploration de mécanismes explicatifs qui pourraient venir étayer les hypothèses avancées et les patrons décrits autour des questions de vulnérabilité des populations naturelles. Sans avoir encore trop défini le type de méthodologies qui sera adopté, la promesse de l'application possible des approches moléculaires systémiques quelle que soit la diversité d'espèces, de lignées, de populations naturelles considérés ouvre des perspectives de compréhension des différences de sensibilité, par exemple sensibilité cadmique plus grande chez *G. pulex* que chez *G. fossarum*. De même, nous disposons aujourd'hui de jeu de populations pour étudier les phénomènes de plasticité de la sensibilité au contaminant et avancer ainsi vers la description des mécanismes moléculaires et des modifications des caractéristiques populationnelles qui les sous-tendent. Par exemple, nous menons aujourd'hui une étude de protéomique différentielle qui vise à comparer l'expression du génome entre la population des Ardillats et celle de populations de référence. Une autre piste d'application que je veux privilégier est la confirmation et la compréhension de la transmission non génétique de la tolérance au cadmium acquise du fait de l'exposition parentale dans les populations exposées au cadmium. Existe-t-il des transferts entre mère et descendant ? A quelle modification du protéome peut-on associer cette tolérance ? Peut-on relier ces mécanismes moléculaires de modification de la sensibilité et les modifications des traits d'histoire de vie telles que la réduction du taux de croissance constatées chez les individus tolérants ? Une hypothèse complémentaire de l'héritage non génétique de la tolérance est l'implication possible de modifications épigénétiques en relation avec l'exposition au cadmium. Une première observation obtenue dans le cadre de la thèse en cours de Pauline Crihiu (T6) est que le taux de méthylation des cytosines du génome des organismes prélevés dans la population des Ardillats est supérieur d'environ 40 % au niveau enregistré dans les populations de référence. De plus, nous avons observé que l'exposition au cadmium pouvait moduler ce taux de méthylation chez des organismes issus d'une population non contaminée (A56). Les processus épigénétiques devraient donc être examinés de près (certainement par des approches gènes ciblés) pour décrypter les mécanismes qui sous-tendent le développement de la tolérance et sa transmission entre générations.

Expérimenter

Pour examiner les effets long terme des expositions, les processus de modification de la sensibilité, d'altération des traits d'histoire de vie induite par ces expositions multi-génération, il me semble qu'au-delà de corroborer, d'expliquer les patrons constatés dans les études de terrain en

recourant aux approches moléculaires, il s'impose de tester ces hypothèses expérimentalement au laboratoire. La mise en évidence de l'importance potentielle des effets parentaux dans la réponse des populations à la toxicité des contaminants a notamment motivé le travail de thèse de P. Cribiu (T6) qui mène actuellement une étude expérimentale des effets toxiques différés entre générations lors de l'exposition à différents contaminants chez le gammare. La Figure 46 illustre la difficulté de ces designs considérant plusieurs générations chez *Gammarus* : l'obtention d'individus de 3^{ème} génération (F3) issus de parents F0 exposés au cadmium à impliquer par exemple le suivi d'expérimentations sur plus d'un an. Concernant le cadmium, le résultat marquant de cette première étude des effets de l'exposition parentale est l'apparition d'altérations de certains traits d'histoire de vie majeurs comme la fécondité des femelles, le taux de croissance qui ne se mettent en place qu'au fil des générations (Figure 46).

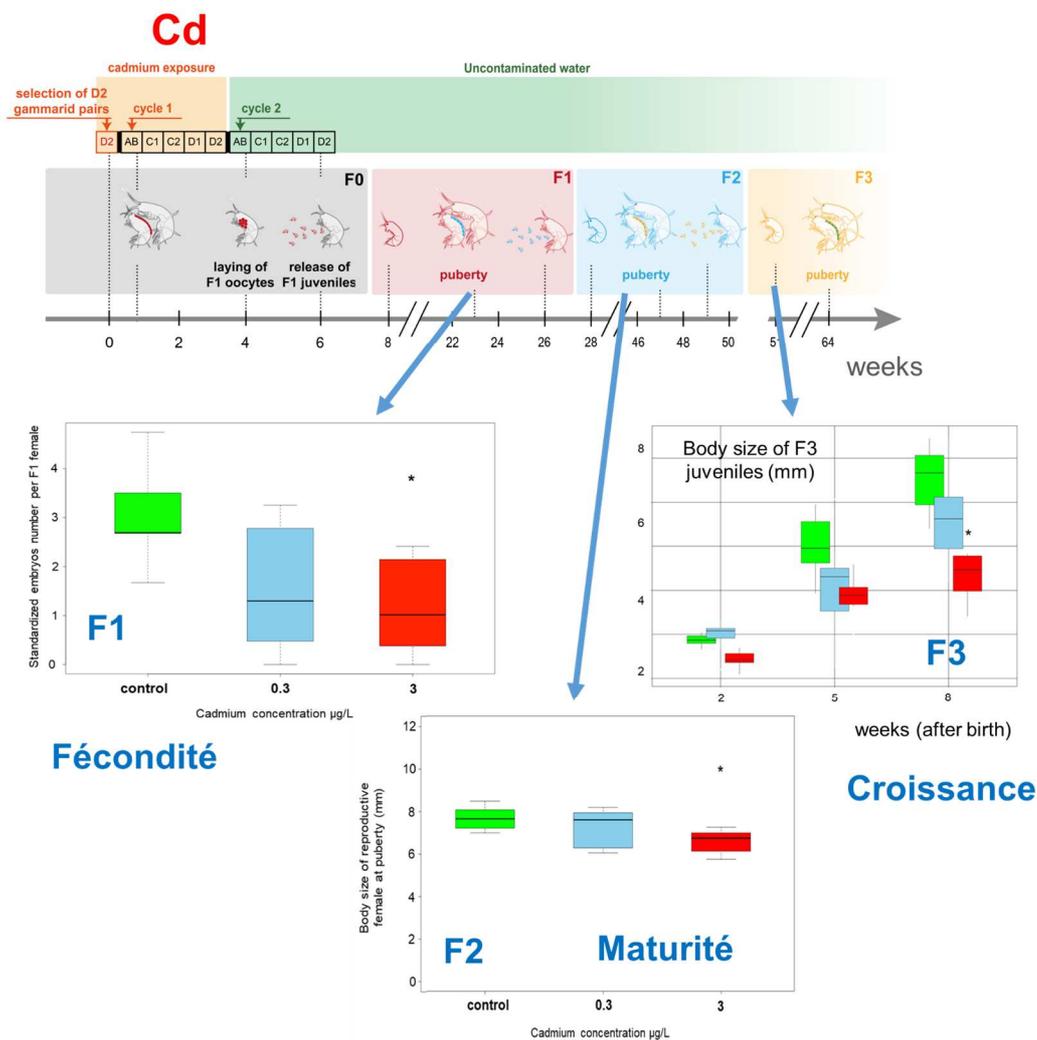


Figure 46. Etude expérimentale des effets transgénérationnels de l'exposition parentale au cadmium chez *G. fossarum* (1^{ers} résultats de la thèse de P. Cribiu T6).

Ces expérimentations qui ont dû s'appuyer sur l'élaboration d'un protocole adapté à l'élevage et au maintien de lots isolés d'organismes sur le long terme, nous montrent qu'il est possible aujourd'hui de tester expérimentalement les phénomènes transgénérationnels, les conséquences d'expositions prolongées, à des échelles temporelles pertinentes par rapport aux dynamiques

populationnelles. Une volonté évidente de mes travaux est donc de mettre en place ces approches expérimentales pour confirmer les différentes hypothèses formulées à partir de l'étude des populations naturelles : par exemple l'impossibilité de sélectionner des génotypes tolérants au cadmium chez *Gammarus fossarum*, ou encore tester cette capacité à répondre à l'exposition par des phénomènes de plasticité transgénérationnelle, confirmer les mécanismes moléculaires de la tolérance potentiellement identifiés dans les populations naturelles, ainsi que la modification des traits d'histoire de vie qui peut accompagner la mise en place de ces phénomènes de tolérance.

Une écotoxicologie des milieux pour mieux appréhender le risque écologique

Le « large échelle » pour valider les hypothèses

La démarche que nous avons proposée pour l'évaluation de la toxicité des milieux au regard des niveaux populationnels (deuxième volet de ce mémoire) se concrétise pour chaque station d'étude par la formalisation d'un indicateur démographique (e.g. λ) qui résume l'altération potentielle de la dynamique de population telle qu'extrapolée, projetée à partir des effets individuels (ou subindividuels) mesurés lors de biotests *in situ* (Figure 25 ; Figure 28). Il est évidemment très tentant de vouloir comparer ces indicateurs d'altération potentielle des populations avec les abondances réellement présentes sur les stations des cours d'eau ainsi investigués. Dans leur article de « point de vue » traitant de la pertinence écologique des approches d'expérimentation *in situ*, Baird et al (2007) illustraient déjà leur propos avec quelques résultats préliminaires d'une étude de Lorraine Maltby qui tentait de réaliser ce type d'exercice. Cette illustration mêlait ainsi inhibition alimentaire, projection populationnelle et dégradation relative de la densité de populations de gammarés observée en amont/aval de rejets sur une dizaine de cours d'eau britanniques (Figure 47). Cette démarche permet de calibrer empiriquement la réponse individuelle au regard de l'impact populationnel, par exemple en définissant ici que 50% d'inhibition alimentaire constitue un seuil de basculement vers l'extinction des populations. De façon analogue à la problématique des valeurs de référence pour l'interprétation des réponses individuelles illustrée précédemment (A18), on peut identifier très rapidement qu'une limite ici est de raisonner sur une dégradation très locale des densités, qui contraint l'exercice à des situations de rejets ponctuels clairement identifiés (approche amont/aval) et qui pose également la question de la concordance spatiale entre pression

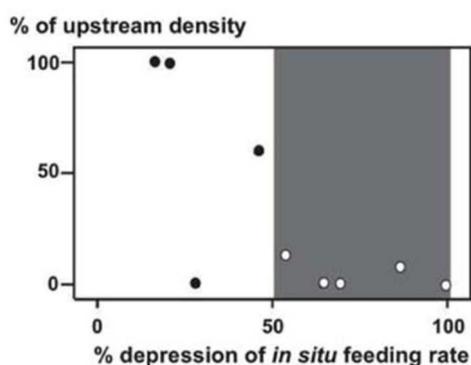


Figure 47. Relation entre pourcentage d'inhibition du taux d'alimentation (gammarés encagés) et pourcentage de réduction de l'abondance en gammaridés, amont / aval de 9 rejets (étude de L. Maltby reportée dans Baird et al 2007).

toxique et distribution spatiale de la population. L'autre point est que le nombre limité de stations considérées ne permet pas d'évaluer si la variabilité des densités de populations observée dans les zones « moins toxiques » du graphique est à attribuer à l'effet d'autres types d'altérations (ex habitat, régime thermique) ou s'il faut l'intégrer dans une gamme d'incertitude autour de seuil de basculement populationnel expliqué par la toxicité du milieu.

Avec déjà cette idée en tête en 2007, juste après mon recrutement donc, je n'imaginai pas pouvoir lever ce verrou de la disponibilité de grands jeux de données de toxicité des milieux que j'aurais pu extrapoler en termes d'impact populationnel potentiel grâce à la modélisation. Ceci était d'autant plus frustrant que je savais que des données d'abondance étaient potentiellement disponibles dans les suivis de bioindication réalisés dans le cadre réglementaire DCE par les agences de l'eau sur les réseaux nationaux de surveillance et de contrôle des masses d'eau (données bancarisées notamment au sein du laboratoire d'hydroécologie quantitative d'Irstea, juste au bout du couloir de mon laboratoire). L'effort expérimental nécessaire d'acquisition de ces données de toxicité des milieux par l'approche active dépassait totalement les capacités logistiques d'un laboratoire de recherche comme le mien. On peut d'ailleurs généraliser ce constat d'un manque encore aujourd'hui de données écotoxicologiques d'observation des milieux aquatiques continentaux. Cette frustration de ne pas pouvoir évaluer la pertinence de la formalisation d'un risque populationnel par cette approche d'extrapolation a constitué une des motivations qui m'ont fait embarquer avec Olivier Geffard et Guillaume Jubeaux (accompagnés par les services valorisation d'Irstea) dans l'aventure du transfert opérationnel des méthodologies d'expérimentation *in situ* pour proposer aux gestionnaires (notamment les agences de l'eau) l'outil « gammare engagé ». Celle-ci a abouti à la création de l'entreprise Biomæ, à des dépôts de brevets (Br1 Br4), la mise en place d'une norme Afnor sur l'engagement de gammares (N1), l'intégration dans les suivis réglementaires pour la conformité aux nouvelles NQE biote de 2013... Et ainsi, elle a permis d'aboutir aujourd'hui à la constitution de bases de données de toxicité et de contamination (données de bioaccumulation), déjà acquises sur plusieurs centaines de stations des réseaux de surveillance et de contrôle des agences de l'eau (et encore plus à venir), en appliquant les protocoles clairement définis et fixés, sur des organismes standardisés, et aboutissant à des indicateurs de contamination biodisponible et de toxicité comparables dans le temps et dans l'espace à l'échelle nationale.

Aujourd'hui, la bancarisation des premières données de toxicité est pratiquement finalisée sur 200 stations, mais nous avons déjà pu engager des premiers travaux autour des données de contamination biodisponible (données d'accumulation en composés métalliques et organiques, interprétées au regard seuils de contamination nationaux que nous avons pu définir). Ces travaux illustrent toute la richesse de ce regard « milieu » à large échelle qui réinterroge l'évaluation *a priori* du poids de la pression chimique sur les populations aquatiques. Nous avons par exemple pu démontrer dans une première étude (A48) la pertinence de ces descripteurs de la pression chimique qui tiennent compte de la biodisponibilité des contaminants. En nous rapprochant du laboratoire d'hydroécologie, nous avons en effet pu décrire des premières relations de dégradation des abondances des Gammaridés des cours d'eau le long des gradients de contamination biodisponible nationaux pour trois métaux (Cd, Ni, Pb). Pour cela, un travail de normalisation des abondances des Gammaridés en fonction des typologies de cours d'eau a dû être mené. Dans cette publication, nous avons pu proposer comme preuve de concept des premiers seuils de contamination d'altération des populations de gammares. Nous avons pu constater par exemple que la majorité

des sites contaminés par le cadmium présentait une contamination biodisponible qui dépasse ce seuil d'effets populationnels, alors que la proportion n'est que d'un tiers si on considère le plomb (A48). A l'échelle du territoire, toute contamination cadmique semble donc être très prégnante sur les populations en place. Par ailleurs, le dépassement des seuils de contamination ou d'effets populationnels pour le cadmium est régionalisé (majoritairement sur les territoires cristallins). Ceci pose la question d'une plus grande vulnérabilité de certains bassins face à ce type de contamination et vu sous l'angle des populations la question du rôle de la contamination chimique (ici métallique) dans la structuration spatiale des peuplements de Gammaridés (question évoquée par la suite). Poursuivant notre démarche et interrogeant l'effet global de la contamination sur les niveaux populationnels, nous avons proposé des indicateurs multi-substance (métallique ou organique), qui permettent de décrire encore plus clairement l'effet de l'exposition à la contamination sur les abondances de Gammaridés le long des gradients de pression chimique rencontrés à l'échelle nationale (Figure 48) (A64).

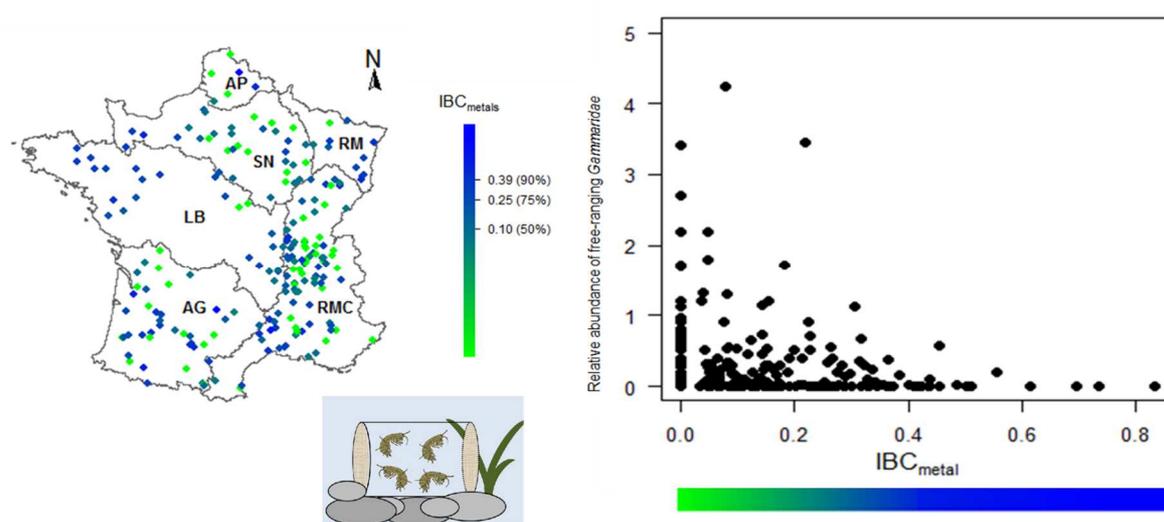


Figure 48. Relation entre abondance des populations de gammaridés des cours d'eau et indicateur de la contamination multi-métallique biodisponible (approche active) sur 220 stations des réseaux de surveillance des Agences de l'eau (A64).

La prochaine étape de ces travaux est donc de confronter le niveau des différents marqueurs de toxicité à ces niveaux d'abondance des Gammaridés dans les cours d'eau. Mon idée est évidemment de confronter leur extrapolation combinée sous la forme d'un taux d'accroissement asymptotique populationnel λ . Je rappelle ici que ces modèles de population qui procèdent par projection au sens de Caswell (2001) ne sont à considérer comme des outils de prévision ou de prédiction des densités. Confronter pour moi les valeurs de λ à des indicateurs d'abondance *in situ* n'a pas pour but de « valider le modèle de population »^b, qui par essence ne peut pas représenter toute la variabilité fine des fonctionnements démographiques de Gammaridés sur les échelles géographiques considérées. L'objectif est de tester si prendre compte une pondération des

^b Cette injonction souvent trop automatique à la validation des modèles recourant obligatoirement à une confrontation prédiction/observation, est pour moi un écueil, car pour beaucoup de démarches de modélisation à but cognitif et non prédictif, ce qu'il faut valider ce n'est pas leur capacité à prédire, mais la pertinence de leur utilisation dans la démarche plus globale dans laquelle elles s'inscrivent.

altérations des différents traits d'histoire de vie par leur sensibilité démographique respective (telle que définie sur une population prise comme modèle) permet d'améliorer la description quantitative du lien entre toxicité du milieu et impacts populationnels. Comme précisé dans le paragraphe précédent, j'imagine également pouvoir injecter à l'avenir (d'ici 5 ans) des données de caractérisation moléculaire de la toxicité acquises de façon massive sur ces mêmes échelles géographiques. Dans le cadre du projet ANR Approve en démarrage (Pr7 2019-2022), nous envisagerons même de faire le lien entre données d'accumulation de contaminants métalliques et impacts populationnels, en intégrant des modèles de toxico-dynamique pour relier les concentrations internes accumulées aux effets physiologiques dans ce schéma global d'extrapolation à la population (collaboration avec Christèle Lopes et Sandrine Charles LBBE Lyon 1).

Au-delà de calibrer empiriquement la « sonde toxicité gammare » par rapport à l'altération des abondances de Gammaridés *in situ*, les attendus de la confrontation indicateurs populationnels / état des populations sont principalement pour moi d'ordre cognitif. Permettant d'identifier les situations de dégradation des densités où la pression chimique est à incriminer, elle doit par exemple permettre d'aboutir à une cartographie du risque toxique populationnel à l'échelle régionale ou nationale, ou en relation avec les typologies de cours d'eau. Tester si on améliore les relations décrites entre extrapolé et observé si on tient compte des sensibilités démographiques comme filtre pondérateur des effets toxiques revient pour moi à pouvoir tester chez les Gammaridés l'hypothèse formulée théoriquement dans le schéma de Rubach et al (Figure 1) que l'influence de l'histoire de vie est un facteur déterminant de la vulnérabilité des populations. De la même façon, j'imagine pouvoir tester ainsi l'hypothèse que la phénologie tient un rôle majeur dans la vulnérabilité populationnelle de ces macro-invertébrés. Nous avons pu par le passé montrer que la toxicité des stations peut être très constante (e.g. pressions urbaines) ou varier fortement au cours de l'année (e.g. pression phytosanitaire) (Projet Indice Pr13 2015-2017). Tenir compte ou non du croisement entre cette variabilité temporelle de la pression toxique et les fenêtres saisonnières de sensibilité démographique induite par la phénologie de l'espèce telles que nous les avons décrites par la modélisation (A30) doit permettre d'améliorer l'évaluation des impacts populationnels. Par ailleurs, pour réaliser cette confrontation extrapolé/observé, la question spatiale se pose également : quelle est la représentativité spatiale des indicateurs de toxicité et de contamination acquis sur une station du cours d'eau au regard de la pression chimique qui s'exerce sur l'ensemble de la population du cours d'eau. La réponse dépend certainement du type de contamination (sources diffuses, rejets ponctuels, ...), de la topographie du cours d'eau., de l'organisation du paysage. Nous commençons à traiter ce type de questions en collaboration en nous rapprochant des méthodes géographiques et hiérarchiques de caractérisation des pressions anthropiques développées notamment par le laboratoire d'hydroécologie quantitative d'Irstea (thèse de Noëlle Sarkis T7 2018-2021 ; Projet Agence de l'Eau Pr19 2019-2021).

Etablir ce lien quantitatif entre pression chimique et état des populations sur un ensemble large de stations représentatives des cours d'eau nationaux doit également me permettre de relativiser la portée des conclusions que l'on peut tirer de cas d'étude particuliers comme celui des Ardillats. Si on projette l'état des densités aux Ardillats en fonction de l'exposition métallique qui s'exerce sur cette station (Figure 48 ; pour la population des Ardillats l'abondance relative est de l'ordre de 1.5 et le score de pression métallique $IBC_{\text{m\u00e9tal}}$ de 0.3), on s'aperçoit que cette population se situe sur la marge supérieure de la distribution des populations nationales sur ce plan pression / état. Cette

position en bordure vient renforcer mon sentiment que le cas des Ardillats représente en cas limite de pression métallique soutenable par une population de *Gammarus*, que l'adaptation des populations ne semblent pas être possible au-delà de ce qui est globalement vu dans ce cas d'étude. Refaire cet exercice pour les autres populations identifiées comme tolérantes, analyser par les approches de classification typologique des cours d'eau et des contextes de pressions auxquels ils sont soumis permettra de conclure sur la représentativité, la marginalité des cas d'étude identifiés, la généralité des phénomènes adaptatifs et leur poids dans la structuration des peuplements face à la pression chimique. Ce travail est d'importance car il conditionne les préconisations à formuler à partir des résultats de ces cas d'étude quant à la prise en compte des phénomènes évolutifs décrits dans les démarche d'évaluation du risque des substances.

De nouvelles questions populationnelles qui émergent de l'étude des milieux

La question spatiale - Comme j'ai déjà commencé à l'évoquer plus haut, la question spatiale ré-émerge dans mes travaux (Figure 49). Par exemple, dans le cadre du projet ANR Multistress (Pr2) coordonné par nos collègues de l'université de Dijon, nous avons commencé à explorer le lien possible entre niveaux de contamination biodisponible et diversité génétique des peuplements de Gammaridés. Le taux de sympatrie d'espèces cryptiques pourrait être influencé par la contamination métallique, mais cela reste à confirmer. Un patron clair est ressorti de cet exercice de phylogéographie des lignées cryptiques de *pulex* et *fossarum* : il existe certaines hétérogénéités fortes entre bassins régionaux, en termes de composition phylogénétique (par exemple uniquement des *pulex* appartenant à une unique lignée COI dans le massif du Pilat, une sous-espèce de *fossarum* très particulière sur la zone karstique du Bugey, que nous n'avons retrouvé que dans les Cévennes calcaires, ...). En miroir, ces bassins peuvent être très différenciés en termes de contamination métallique. Ces résultats viennent donc réinterroger la question du signal phylogénétique de la vulnérabilité des Gammaridés face à la contamination chimique qui pourrait sous-tendre une structuration spatiale des peuplements. A des échelles intra-bassin, une autre question spatiale émerge : dans différentes situations (Ardières – pesticides viticoles ; Amous – minier ; Liepvrette – industrie métallurgique) les populations en place se retrouvent fragmentées par la présence en aval des bassins d'une zone de contamination toxique. Face à cette situation de métapopulation qui me rappelle mes travaux de thèse, ouvrir la question de la conséquence de ces barrières chimiques sur l'isolement génétique des sous-populations par des approches de génétique de population viendrait pour moi compléter les différentes dimensions de la vulnérabilité des populations face au stress chimique que j'ai pu aborder.

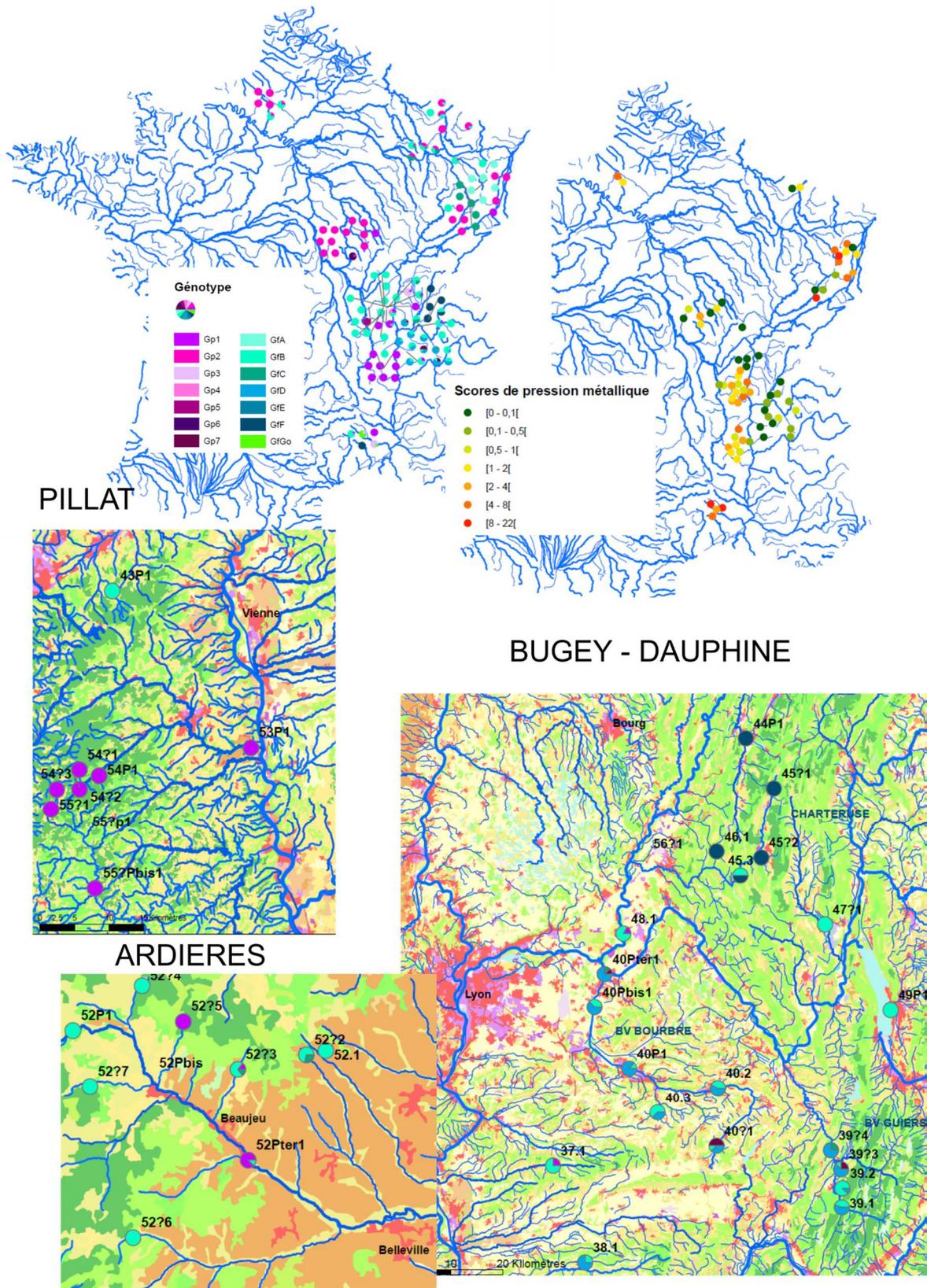


Figure 49. Poids de la pression chimique dans la structuration spatiale des Gammaridés ? Des données sont aujourd’hui disponibles pour poser la question à large échelle (taux de sympatrie et contamination ?), mais aussi à l’échelle inter bassins (ex Pillat cadmique vs Bugey), ou intra bassin (fragmentation et barrière chimique liée à la pression viticole (*en saumon*) sur l’Ardières).

Une hypothèse : l'adaptation des histoires de vie - Lors de mon exposé du cas d'étude des Ardillats, j'ai commencé à évoquer un autre aspect évolutif des effets possibles de la contamination chimique sur les populations. Des modifications des traits d'histoire de vie sont constatées dans cette population (Figure 42) : plus faibles tailles individuelles, taux de croissance réduit, maturité sexuelle précoce, éventuelle augmentation de la fertilité des premières classes reproductives. Jusqu'ici, j'ai présenté celle-ci comme des coûts, des manifestations directes ou indirectes de la toxicité du milieu. Une autre hypothèse peut être avancée, celle d'une adaptation de l'histoire de vie (Stearns 1992) au stress chimique, comme cela a été proposé pour l'isopode terrestre *Porcellio scaber* par Donker et al. (1993) et l'isopode aquatique *Asellus aquaticus* par Maltby (1991). En effet, l'étude des réponses au changement climatique (Bradshaw et Holzapfel 2006), aux pressions anthropiques telles que la chasse ou la pêche (Darimont et al 2009) nous ont appris que la sélection peut amener à des réponses évolutives des traits d'histoire de vie tout aussi rapides que les réponses écophysiologiques face aux changements environnementaux (Carroll et al 2007). Pour mettre en

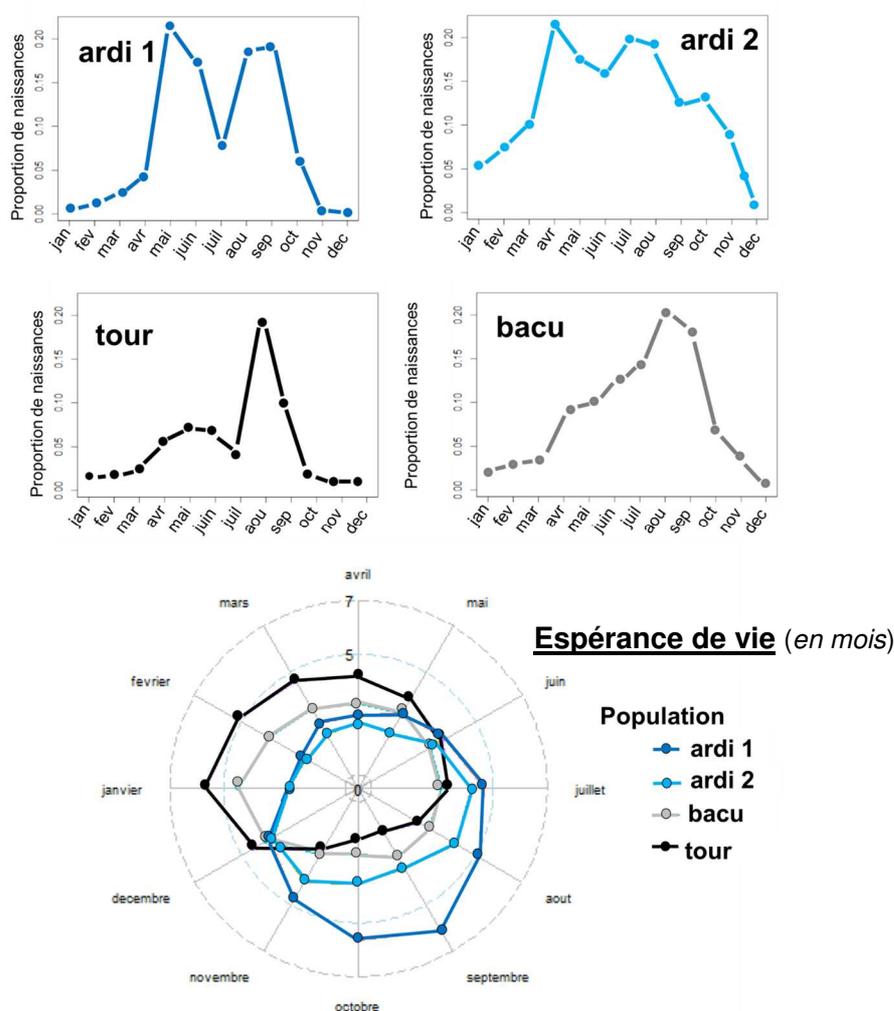


Figure 50. Indicateurs de la répartition des naissances au cours de l'année et de l'espérance de vie des individus en fonction de leur mois de naissance calculés à partir de la paramétrisation du modèle de population périodique développé pour *G. fossarum* (A30) pour deux années de suivi démographique pour la population des Ardillats et pour une année de suivi pour les populations non contaminées Tour et Bacu.

évidence, ce caractère adaptatif des modifications observées dans notre cas, il nous faut revenir à la démographie. Grâce à l'utilisation des modèles de Leslie, on peut imaginer dévoiler objectivement les compensations correspondant aux compromis évolutifs qui s'opèrent entre les caractéristiques du cycle de vie (survie/reproduction) qui permettraient une optimisation du potentiel de croissance démographique dans ce milieu sous contrainte. La difficulté (et tout l'intérêt) de notre situation est de devoir jongler avec la phénologie qui marque fortement la dynamique populationnelle. Nous avons déjà engagé quelques développements méthodologiques dans ce sens dans le cadre du stage ingénieur d'Emma Lejay (M4) dont je fournis ici une première illustration qui n'a fait qu'augmenter mon intérêt pour cette question (Figure 50). De premiers indicateurs d'espérance de vie applicables à ces populations de type birth flow mais marquées par une forte saisonnalité ont été développés. Dans ce cas, l'espérance de vie est dépendante du mois de naissance des individus. Les profils d'espérance de vie obtenus sur deux populations de référence divergent de celui des Ardillats (établi lui pour deux années de suivi démographique distincts), démontrant potentiellement une contrainte de sélection particulière sur cette population. En parallèle, nous avons constaté que la répartition des naissances dans l'année (estimé en régime asymptotique) est-elle aussi divergente. Reste à analyser (ce qui n'est pas trivial) si ces patrons se répondent dans le sens d'une hypothèse de compensation adaptative (notamment en prenant en compte la variabilité des valeurs reproductives des individus « perdus ou ajoutés » dans les différentes saisons). Et évidemment, une généralisation à d'autres populations d'étude doit être menée.

Et les autres espèces – Une question est ouverte : quelle est la portée des informations sur la toxicité des milieux acquises chez une espèce sentinelle comme *Gammarus fossarum* pour les populations d'espèces appartenant à d'autres taxons plus ou moins proches ? La question d'une évaluation multi-espèces se pose et mon laboratoire est actuellement impliqué dans des programmes qui veulent développer cette approche sur des cas concrets, comme l'évaluation de l'impact des rejets de stations d'épuration (Pr6 Interreg Diadem) ou encore une surveillance de la toxicité des milieux le long du continuum eaux douces / eaux marines (Pr17 AFB Sashimi). Plus globalement, ce questionnement de biologie comparative est au cœur de la structuration du GDR en écotoxicologie aquatique « *Intégrer la diversité des populations et des espèces pour mieux comprendre l'impact des polluants dans les milieux aquatiques* » initié par mon laboratoire pour élargir à d'autres modèles biologiques et partager le cadre des réflexions menées jusqu'ici sur le modèle gammare autour de ces questions de la variabilité de sensibilité entre espèces, des vulnérabilités des populations et les implications pour l'évaluation des effets de la pression chimique dans les milieux aquatiques.

De façon complémentaire, des premiers résultats du post-doc de Benjamin Alric (2018 P3) vont dans le sens que l'information « gammare encagé » permet tout de même de caractériser la pression chimique qui s'exerce sur l'ensemble de la communauté, ou en tout cas une partie des espèces (Figure 51). En effet, si on examine la réponse des abondances d'autres grandes familles de macro-invertébrés benthiques présentes au niveau national, on peut tenter de retracer les mêmes types de relation que celles décrites chez les Gammaridés (A64). Nous nous sommes aperçus que les familles connues en écotoxicologie de laboratoire comme étant sensibles aux métaux disparaissent le long du gradient de pression métallique décrit dans ces jeux de sites nationaux. Les familles d'espèces décrites comme tolérantes ne répondent pas à ce gradient. Ces courbes de réponse par famille étant calibrées sur une même sonde de la contamination biodisponible, on peut même faire un classement des familles en fonction de leur sensibilité populationnelle constatée

dans les cours d'eau nationaux. A l'inverse, si on pousse plus loin l'approche, on pourrait pratiquement pour un niveau de pression constaté sur une station évaluer un risque de présence / absence des espèces de ces familles. Cette formalisation d'un risque écologique en fonction d'un niveau de pression chimique clairement quantifiable serait d'un grand intérêt en termes de gestion environnementale. Les « retours d'expérience » issus de la surveillance des milieux ainsi menée pour préciser le poids de la pression chimique dans la dégradation du fonctionnement des populations seraient riches d'enseignements pour les pratiques de l'évaluation du risque *a priori* (choix des espèces modèles, évaluation des seuils d'impact fixés pour les niveaux de contamination, identification des éléments explicatif de la vulnérabilité des espèces ...). Par exemple, si on revient au tout début de ma démarche, les travaux présentés en première partie de ce mémoire ont été motivés par une approche comparative Gastéropode/Amphipode pour illustrer théoriquement la

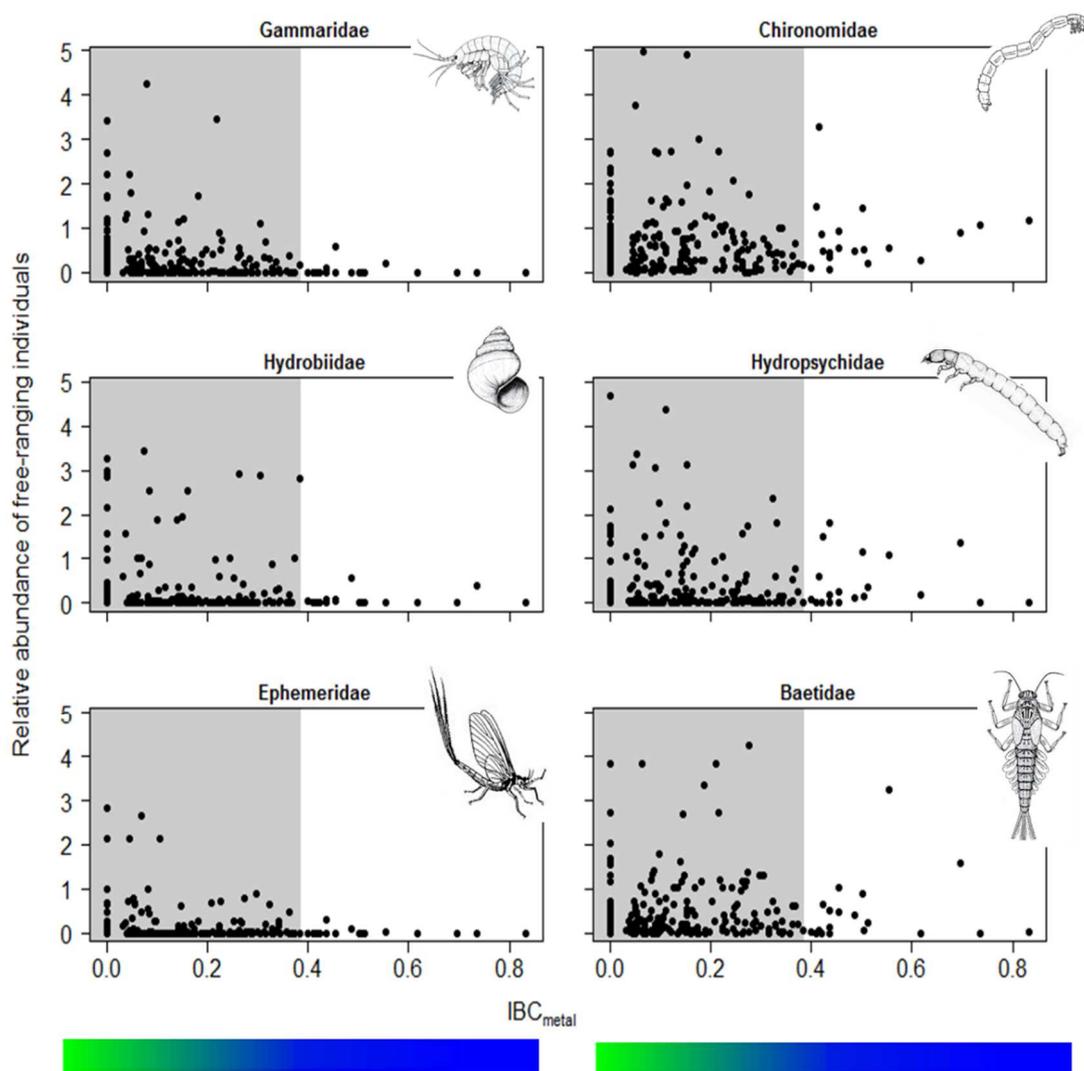


Figure 51. Lien à l'échelle nationale entre les abondances de six familles de macro-invertébrés et pression métallique évaluée par l'indicateur multi-substances développé à partir des données de bioaccumulation chez des gammares encagés (A64). Le jeu de données regroupe les mesures réalisées sur 220 stations du réseau de surveillance DCE (cf Figure 48).

notion de sensibilité démographique. Aujourd'hui, il me semble que cette hypothèse du poids des histoires de vie dans le déterminisme de la sensibilité des espèces doit pouvoir être renseignée à partir des informations que l'on peut tirer des suivis conjoints écologiques et écotoxicologiques des milieux aquatiques.

Conclusion

Mon projet vise donc à contribuer à une meilleure prédiction de l'effet des perturbations anthropiques sur les écosystèmes aquatiques, et en particulier à l'évaluation du poids des pressions chimiques toxiques dans la dégradation de la qualité biologique des milieux aquatiques continentaux. Le développement de connaissances et la proposition de méthodologies qui contribuent à cet effort de quantification du lien entre la pression chimique anthropique et la perturbation de notre environnement constitue encore actuellement un défi majeur (Rockström et al 2009). Grâce à ce fameux modèle biologique, le *gammare*^c, j'ai pu mettre à profit toute la richesse d'une approche laboratoire/terrain, expérimentation/observation, qui permet de faire des va-et-vient entre études mécanistes, approches empiriques, supportant ainsi à la fois la formulation d'hypothèses sur quelques cas d'étude et leur validation dans des démarches de généralisation. La dynamique de recherche entreprise autour du *gammare* a permis je crois de démêler quelques fils de cette pelote tellement complexe de la problématique de la pression chimique dans les milieux. Ce succès est principalement lié au fait d'avoir assumé un certain réductionnisme face à la complexité de la problématique, et d'avoir pu ainsi sérier les questionnements en commençant par celle de la capacité à quantifier la pression chimique qui s'exerce sur les populations de nos cours d'eau. En m'appuyant sur cet acquis, je peux aujourd'hui mener des questionnements plus tournés vers les effets écologiques de la pression chimique à des échelles temporelles et spatiales plus larges. Parmi ces questionnements, l'examen des capacités adaptatives des populations, des mécanismes évolutifs qui les sous-tendent, et plus largement des effets long terme de l'exposition à la contamination environnementale me semble constituer un des enjeux les plus forts. Enfin, parce qu'il est possible de documenter par une écotoxicologie des milieux certains déterminismes de la vulnérabilité des populations à la pression chimique toxique qui s'exerce dans les écosystèmes, je pense avoir démontré tout au long de ce mémoire que les démarches d'évaluation *a priori* du risque chimique doivent pouvoir se nourrir aujourd'hui fortement des connaissances obtenues quant à au diagnostic de l'impact de la contamination chimique dans nos milieux. Et le cadre de réflexion le plus propice aujourd'hui pour réaliser cette convergence de ces deux domaines d'application de l'écotoxicologie ne me semble plus être uniquement celui de la substance, mais être également celui de la population.

^c encore merci Olivier pour ce choix d'espèce visionnaire.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alonso A, De Lange H & Peeters E (2010) Contrasting sensitivities to toxicants of the freshwater amphipods *Gammarus pulex* and *G. fossarum*. *Ecotoxicology*, 19(1):133-140.
- Baird DJ, Barber I, Bradley M, Soares AMVM & Calow P (1991) A comparative study of genotype sensitivity to acute toxic stress using clones of *Daphnia magna* Straus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21(3):257-265.
- Baird DJ, Brown SS, Lagadic L, Liess M, Maltby L, Moreira-Santos M, Schulz R & Scott GI (2007) In situ-based effects measures: determining the ecological relevance of measured responses. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(2):259-267.
- Barata C, Baird DJ & Markich SJ (1998) Influence of genetic and environmental factors on the tolerance of *Daphnia magna* Straus to essential and non-essential metals. *Aquatic Toxicology*, 42(2):115-137.
- Barata C, Baird DJ, Minarro A & Soares A (2000) Do genotype responses always converge from lethal to nonlethal toxicant exposure levels? Hypothesis tested using clones of *Daphnia magna* Straus. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(9):2314-2322.
- Barata C, Baird DJ, Mitchell SE & Soares A (2002) Among- and within-population variability in tolerance to cadmium stress in natural populations of *Daphnia magna*: Implications for ecological risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(5):1058-1064.
- Barata C, Baird DJ & Soares A (2002) Determining genetic variability in the distribution of sensitivities to toxic stress among and within field populations of *Daphnia magna*. *Environmental Science & Technology*, 36(14):3045-3049.
- Bloor MC & Banks CJ (2006) An evaluation of mixed species in-situ and ex-situ feeding assays: The altered response of *Asellus aquaticus* and *Gammarus pulex*. *Environment International*, 32(1):22-27.
- Boets P, Lock K, Goethals P, Janssen C & De Schamphelaere K (2012) A comparison of the short-term toxicity of cadmium to indigenous and alien gammarid species. *Ecotoxicology*, 21(4):1135-1144.
- Bradshaw WE & Holzapfel CM (2006) Evolutionary response to rapid climate change. *Science*, 312(5779):1477-1478.
- Calow P, Sibly RM & Forbes V (1997) Risk assessment on the basis of simplified life-history scenarios. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(9):1983.
- Carroll SP, Hendry AP, Reznick DN & Fox CW (2007) Evolution on ecological time-scales. *Functional Ecology*, 21(3):387-393.
- Caswell H (1996) Demography meets ecotoxicology: untangling the population level effects of toxic substances. In M. C. Newman & C. H. Jago (Eds.), *Ecotoxicology: a hierarchical treatment* (pp. 255-292): Lewis Publishers.
- Caswell H (2001) *Matrix population models*. Sinauer Associates Publishers.
- Chapman PM, Fairbrother A & Brown D (1998) A critical evaluation of safety (uncertainty) factors for ecological risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(1):99-108.
- Chapman PM (2002) Integrating toxicology and ecology: putting the "eco" into ecotoxicology. *Marine Pollution Bulletin*, 44(1):7-15.
- Chapman PM (2007) Determining when contamination is pollution - Weight of evidence determinations for sediments and effluents. *Environment International*, 33(4):492-501.
- Costa FO, Neuparth T, Correia AD & Helena Costa M (2005) Multi-level assessment of chronic toxicity of estuarine sediments with the amphipod *Gammarus locusta*: II. Organism and population-level endpoints. *Marine Environmental Research*, 60(1):93-110.
- Coutellec M-A & Barata C (2013) Special issue on long-term ecotoxicological effects: an introduction. *Ecotoxicology*, 22(5):763-766.
- Crane M & Maltby L (1991) The lethal and sublethal responses of *Gammarus pulex* to stress: Sensitivity and sources of variation in an in situ bioassay. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 10(10):1331-1339.
- Crane M, Burton GA, Culp JM, Greenberg MS, Munkittrick KR, Ribeiro R, Salazar MH & St-Jean SD (2007) Review of aquatic in situ approaches for stressor and effect diagnosis. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(2):234-245.

Références

- Daniels RE & Allan JD (1981) Life table evaluation of chronic exposure to a pesticide. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(5):485-494.
- Darimont CT, Carlson SM, Kinnison MT, Paquet PC, Reimchen TE & Wilmers CC (2009) Human predators outpace other agents of trait change in the wild. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(3):952-954.
- De Coninck DIM, Janssen CR & De Schamphelaere KAC (2014) An approach to assess the regulatory relevance of micro-evolutionary effects in ecological risk assessment of chemicals: A case-study with Cd. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(2):453-457.
- Dedourge-Geffard O, Palais F, Biagianti-Risbourg S, Geffard O & Geffard A (2009) Effects of metals on feeding rate and digestive enzymes in *Gammarus fossarum*: An in situ experiment. *Chemosphere*, 77(11):1569-1576.
- Des Roches S, Post DM, Turley NE, Bailey JK, Hendry AP, Kinnison MT, Schweitzer JA & Palkovacs EP (2018) The ecological importance of intraspecific variation. *Nature Ecology & Evolution*, 2(1):57-64.
- Donker M, Zonneveld C & van Straalen N (1993) Early reproduction and increased reproductive allocation in metal-adapted populations of the terrestrial isopod *Porcellio scaber*. *Oecologia*, 96(3):316-323.
- Falconer DS & Mackay TFC (1996) *Introduction to quantitative genetics* (4th ed.). Longman.
- Feckler A, Thielsch A, Schwenk K, Schulz R & Bundschuh M (2012) Differences in the sensitivity among cryptic lineages of the *Gammarus fossarum* complex. *Science of the Total Environment*, 439(0):158-164.
- 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(5):294-299.
- Forbes VE & Calow P (1999) Is the per capita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(7):1544.
- Forbes VE, Calow P & Sibly RM (2001) Are current species extrapolation models a good basis for ecological risk assessment? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(2):442-447.
- Forbes VE, Palmqvist A & Bach L (2006) The use and misuse of biomarkers in ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(1):272-280.
- Forbes VE, Calow P & Sibly RM (2008) The extrapolation problem and how population modeling can help. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(10):1987-1994.
- Galic N, Hommen U, Baveco JM & van den Brink PJ (2010) Potential application of population models in the European ecological risk assessment of chemicals II: Review of models and their potential to address environmental protection aims. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 6(3):338-360.
- Ganser B, Bundschuh M, Werner I, Homazava N, Vermeirssen ELM, Moschet C & Kienle C (2019) Wastewater alters feeding rate but not vitellogenin level of *Gammarus fossarum* (Amphipoda). *Science of the Total Environment*, 657:1246-1252.
- Gaskell PN, Brooks AC & Maltby L (2007) Variation in the bioaccumulation of a sediment-sorbed hydrophobic compound by benthic macroinvertebrates: Patterns and mechanisms. *Environmental Science and Technology*, 41(5):1783-1789.
- Gerhardt A, Bloor M & Mills CL (2011) *Gammarus*: Important taxon in freshwater and marine changing environments. *International Journal of Zoology*.
- Gross MY, Maycock DS, Thorndyke MC, Morritt D & Crane M (2001) Abnormalities in sexual development of the amphipod *Gammarus pulex* (L.) found below sewage treatment works. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(8):1792-1797.
- Hanson N, Förlin L & Larsson Å (2010) Spatial and annual variation to define the normal range of biological endpoints: An example with biomarkers in perch. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(11):2616-2624.
- Hickey CW & Clements WH (1998) Effects of heavy metals on benthic macroinvertebrate communities in New Zealand streams. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(11):2338-2346.
- Johnston EL (2011) Tolerance to contaminants: Evidence from chronically exposed populations of aquatic organisms. In C. Amiard-Triquet, P. S. Rainbow, & M. Roméo (Eds.), *Tolerance to Environmental Contaminants* (pp. 25-48): CRC Press.
- Jones DT & Hopkin SP (1998) Reduced survival and body size in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* from a metal-polluted environment. *Environmental Pollution*, 99(2):215-223.

- Kammenga JE, Busschers M, VanStraalen NM, Jepson PC & Bakker J (1996) Stress induced fitness reduction is not determined by the most sensitive life-cycle trait. *Functional Ecology*, 10(1):106-111.
- Kammenga JE & Riksen JAG (1996) Comparing differences in species sensitivity to toxicants: Phenotypic plasticity versus concentration-response relationships. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15(9):1649-1653.
- Karaman GS & Pinkster S (1977) Freshwater Gammarus species from Europe, North Africa and adjacent regions of Asia (Crustacea–Amphipoda) Part 1. Gammarus pulex-group and related species. *Bijdragen tot de Dierkunde*, 47:1-97.
- Khan FR, Irving JR, Bury NR & Hogstrand C (2011) Differential tolerance of two Gammarus pulex populations transplanted from different metallogenic regions to a polymetal gradient. *Aquatic Toxicology*, 102(1-2):95-103.
- Klerks PL & Moreau CJ (2001) Heritability of resistance to individual contaminants and to contaminant mixtures in the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(8):1746-1751.
- Klerks P, Xie L & Levinton J (2011) Quantitative genetics approaches to study evolutionary processes in ecotoxicology; a perspective from research on the evolution of resistance. *Ecotoxicology*, 20(3):513-523.
- Kramer VJ, Ettoreson MA, Hecker M, Murphy CA, Roesijadi G, Spade DJ, Spromberg JA, Wang M & Ankley GT (2011) Adverse outcome pathways and ecological risk assessment: Bridging to population-level effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(1):64-76.
- Kunz PY, Kienle C & Gerhardt A. (2010) Gammarus spp. in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: Toward integrated multilevel tests. In: *Vol. 205. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (pp. 1-76).
- Lacaze E, Geffard O, Bony S & Devaux A (2010) Genotoxicity assessment in the amphipod Gammarus fossarum by use of the alkaline Comet assay. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 700(1-2):32-38.
- Lacaze E, Devaux A, Jubeaux G, Mons R, Gardette M, Bony S, Garric J & Geffard O (2011a) DNA damage in Gammarus fossarum sperm as a biomarker of genotoxic pressure: Intrinsic variability and reference level. *Science of the Total Environment*, 409(17):3230-3236.
- Lacaze E, Geffard O, Goyet D, Bony S & Devaux A (2011b) Linking genotoxic responses in Gammarus fossarum germ cells with reproduction impairment, using the Comet assay. *Environmental Research*, 111(5):626-634.
- Lagrue C, Wattier R, Galipaud M, Gauthey Z, Rullmann J-P, Dubreuil C, Rigaud T & Bollache L (2014) Confrontation of cryptic diversity and mate discrimination within Gammarus pulex and Gammarus fossarum species complexes. *Freshwater Biology*, 59(12):2555-2570.
- Lefkovich LP (1965) The study of population growth in organisms grouped by stages. *Biometrics*, 21(1):1-18.
- Leslie PH (1945) On the use of matrices in certain population mathematics. *Biometrika*, 33(3):183-212.
- Leslie PH (1948) Some further notes on the use of matrices in population mathematics. *Biometrika*, 35(3-4):213-245.
- Liber K, Goodfellow W, den Besten P, Clements W, Galloway T, Gerhardt A, Green A & Simpson S (2007) In situ-based effects measures: considerations for improving methods and approaches. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(2):246-258.
- Liess M & Von Der Ohe PC (2005) Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(4):954-965.
- Macneil C, Dick JTA & Elwood RW (1997) The trophic ecology of freshwater gammarus spp. (crustacea: Amphipoda): Problems and perspectives concerning the functional feeding group concept. *Biological Reviews*, 72(3):349-364.
- Maltby L (1991) Pollution as a probe of life-history adaptation in Asellus aquaticus (Isopoda). *Oikos*, 61(1):11-18.
- Maltby L & Crane M (1994) Responses of Gammarus pulex (Amphipoda, crustacea) to metalliferous effluents: Identification of toxic components and the importance of interpopulation variation. *Environmental Pollution*, 84(1):45-52.
- Maltby L, Clayton SA, Wood RM & McLoughlin N (2002) Evaluation of the Gammarus pulex in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: Robustness, responsiveness, and relevance. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(2):361-368.
- Maltby L & Burton Jr GA (2006) Field-based effects measures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(9):2261-2262.
- Malthus RT (1798) *An essay on the principle of population, as it affects the future improvement of society - with remarks on the speculations of Mr. Godwin, M. Condorcet, and other writers* (1st edition ed.). London: J. Johnson 1798.

Références

- McGee BL & Spencer M (2001) A field-based population model for the sediment toxicity test organism *Leptocheirus plumulosus*: II. Model application. *Marine Environmental Research*, 51(4):347-363.
- Medina MH, Correa JA & Barata C (2007) Micro-evolution due to pollution: Possible consequences for ecosystem responses to toxic stress. *Chemosphere*, 67(11):2105-2114.
- Messiaen M, De Schamphelaere KAC, Muysen BTA & Janssen CR (2010) The micro-evolutionary potential of *Daphnia magna* population exposed to temperature and cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(6):1114-1122.
- Messiaen M, Janssen C, Thas O & De Schamphelaere K (2012) The potential for adaptation in a natural *Daphnia magna* population: broad and narrow-sense heritability of net reproductive rate under Cd stress at two temperatures. *Ecotoxicology*, 21(7):1899-1910.
- Meyran J-C, Monnerot M & Taberlet P (1997) Taxonomic Status and Phylogenetic Relationships of Some Species of the Genus *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda) Deduced from Mitochondrial DNA Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 8(1):1-10.
- Müller J (2000) Mitochondrial DNA Variation and the Evolutionary History of Cryptic *Gammarus fossarum* Types. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 15(2):260-268.
- Mutero A, Pralavorio M, Bride JM & Fournier D (1994) Resistance-associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 91(13):5922-5926.
- Naylor C, Pindar L & Calow P (1990) Inter- and intraspecific variation in sensitivity to toxins; the effects of acidity and zinc on the freshwater crustaceans *Asellus Aquaticus* (L.) and *Gammarus pulex* (L.). *Water Research*, 24(6):757-762.
- Pellet B, Geffard O, Lacour C, Kermaol T, Gourlay-Francé C & Tusseau-Vuillemin M-H (2009) A model predicting waterborne cadmium bioaccumulation in *Gammarus pulex*: The effects of dissolved organic ligands, calcium, and temperature. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(11):2434-2442.
- Piscart C & Bollache L (2012) *Crustacés amphipodes de surface (Gammare d'eau douce)*. Association française de limnologie.
- Posthuma L, Traas TP & Suter G (2002) General introduction to species sensitivity distributions. In L. Posthuma, G. W. Suter, & T. P. Traas (Eds.), *Species sensitivity distribution in ecotoxicology*, (pp. 3-10): Lewis.
- Postma JF, van Kleunen A & Admiraal W (1995) Alterations in life-history traits of *Chironomus riparius* (diptera) obtained from metal contaminated rivers. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 29(4):469-475.
- Raimondo S & McKenney CL (2006) From organisms to populations: Modeling aquatic toxicity data across two levels of biological organization. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(2):589-596.
- Relyea R & Hoverman J (2006) Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. *Ecology Letters*, 9(10):1157-1171.
- Rockström J, Steffen W, Noone K, Persson Å, Chapin Iii FS, Lambin EF, Lenton TM, Scheffer M, Folke C, Schellnhuber HJ, Nykvist B, de Wit CA, Hughes T, van der Leeuw S, Rodhe H, Sörlin S, Snyder PK, Costanza R, Svedin U, Falkenmark M, Karlberg L, Corell RW, Fabry VJ, Hansen J, Walker B, Liverman D, Richardson K, Crutzen P & Foley JA (2009) A safe operating space for humanity. *Nature*, 461:472.
- Rubach MN, Ashauer R, Buchwalter DB, De Lange HJ, Hamer M, Preuss TG, Töpke K & Maund SJ (2011) Framework for traits-based assessment in ecotoxicology. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 7(2):172-186.
- Schaaf W, Peters D, Coston-Clements L, Vaughan D & Krouse C (1993) A simulation model of how life history strategies mediate pollution effects on fish populations. *Estuaries and Coasts*, 16(4):697-702.
- Schirling M, Jungmann D, Ladewig V, Nagel R, Triebkorn R & Köhler HR (2005) Endocrine effects in *Gammarus fossarum* (Amphipoda): Influence of wastewater effluents, temporal variability, and spatial aspects on natural populations. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 49(1):53-61.
- Sherratt TN, Roberts G, Williams P, Whitfield M, Biggs J, Shillabeer N & Maund SJ (1999) A life-history approach to predicting the recovery of aquatic invertebrate populations after exposure to xenobiotic chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(11):2512-2518.
- Soares AMVM, Baird DJ & Calow P (1992) Interclonal variation in the performance of *Daphnia magna* Straus in chronic bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11(10):1477-1483.
- Spencer M & McGee BL (2001) A field-based population model for the sediment toxicity test organism *Leptocheirus*

- plumulosus: I. Model development. *Marine Environmental Research*, 51(4):327-345.
- Spromberg JA & Birge WJ (2005) Modeling the effects of chronic toxicity on fish populations: The influence of life-history strategies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(6):1532-1540.
- Sroda S & Cossu-Leguille C (2011) Effects of sublethal copper exposure on two gammarid species: Which is the best competitor? *Ecotoxicology*, 20(1):264-273.
- Stark JD, Banks JE & Vargas R (2004) How risky is risk assessment: The role that life history strategies play in susceptibility of species to stress. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 101(3):732-736.
- Stearns SC (1992) *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press.
- van Straalen NM (1994) Biodiversity of ecotoxicological responses in animals. *NETH.J.ZOOL.*, 44(1-2):112-129.
- van Straalen N & Hoffmann AA (2000) Review of experimental evidence for physiological costs of tolerance to toxicants. In J. Kammenga & R. Laskowski (Eds.), *Demography in ecotoxicology* (pp. 147-161): John Wiley & Sons Ltd.
- van Straalen N (2003) Ecotoxicology becomes stress ecology. *Environmental Science & Technology*, 37(17):324A-330A.
- van Straalen NM & van Gestel CAM (2008) A stress ecology framework for comprehensive risk assessment of diffuse pollution. *Science of the Total Environment*, 406(3):479-483.
- von der Ohe PC & Liess M (2004) Relative sensitivity distribution of aquatic invertebrates to organic and metal compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(1):150-156.
- Weiss M, Macher JN, Seefeldt MA & Leese F (2014) Molecular evidence for further overlooked species within the *Gammarus fossarum* complex (Crustacea: Amphipoda). *Hydrobiologia*, 721(1):165-184.
- Weston DP, Poynton HC, Wellborn GA, Lydy MJ, Blalock BJ, Sepulveda MS & Colbourne JK (2013) Multiple origins of pyrethroid insecticide resistance across the species complex of a nontarget aquatic crustacean, *Hyalella azteca*. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 110(41):16532-16537.
- Westram AM, Jokela J, Baumgartner C & Keller I (2011) Spatial distribution of cryptic species diversity in European freshwater amphipods *Gammarus fossarum* as Revealed by pyrosequencing. *PLoS ONE*, 6(8):e23879.
- Xuereb B, Noury P, Felten V, Garric J & Geffard O (2007) Cholinesterase activity in *Gammarus pulex* (Crustacea Amphipoda): Characterization and effects of chlorpyrifos. *Toxicology*, 236(3):178-189.
- Xuereb B, Lefèvre E, Garric J & Geffard O (2009) Acetylcholinesterase activity in *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda): Linking AChE inhibition and behavioural alteration. *Aquatic Toxicology*, 94(2):114-122.

Curriculum vitae

CHAUMOT Arnaud

Chargé de recherche en écotoxicologie

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9132-3419>

INFORMATIONS PERSONNELLES

Adresse professionnelle : **IRSTEA Laboratoire d'écotoxicologie**
UR RiverLy - Centre de Lyon-Villeurbanne
5 rue de la Doua - CS 20244, 69625 Villeurbanne Cedex, France

Tel : + 33 4 72 20 87 88 ; + 33 6 88 21 95 05

mail : arnaud.chaumot@irstea.fr

Né le 20/04/1975 à Angers ; marié à une femme extraordinaire ; 4 enfants formidables

PARCOURS PROFESSIONNEL

Depuis 2017 : Responsable du laboratoire d'écotoxicologie Irstea Lyon

Animation scientifique de l'équipe (5 chercheurs, 7 ingénieurs-techniciens, 5 thésards, 2 post-doc & contractuels) dont l'activité se structure autour d'un axe « accumulation et devenir des contaminants dans les organismes » (modélisation, diversité des espèces, substances émergentes) et d'un axe « toxicité et danger pour les populations aquatiques » (approches moléculaires, écophysiologie, modélisation des dynamiques de populations, biomarqueurs, biotests, outil de diagnostic)

Depuis 2006 : Chargé de recherche en écotoxicologie

Laboratoire d'écotoxicologie Irstea/Cemagref Lyon

Travaux de recherche relevant de l'**écotoxicologie populationnelle** (modélisation, traits d'histoire de vie, variabilité intra-spécifique,) visant une prise en compte de la diversité biologique (adaptation, phylogénie, omiques et développement de biomarqueurs) afin de mieux appréhender les déterminants de la vulnérabilité des espèces et des populations à la pression toxique dans les milieux. Contribution au développement d'une démarche de biosurveillance active chez le crustacé d'eau douce *Gammarus*.

2004/2006 : post-doc - Ecole Normale Supérieure de Lyon (LBMC / IGFL ; équipe V. Laudet)

Modélisation en génomique et en évolution moléculaire

Enseignement (AgPr): biologie végétale, évolution, écosystémique (prépa agrégation)

2002/2004 : professeur agrégé (Académie de Grenoble)

Enseignement : biologie, géologie (collège, lycée, prépa)

1999/2002 : Thèse - laboratoire de biométrie et biologie évolutive ; Lyon 1 CNRS UMR 5558

« Ecotoxicologie et modélisation spatiale en dynamique de population »

dir. P. Auger/S. Charles

Monitorat : mathématiques appliquées à la biologie (1^{er} et 2^{ème} cycles)

1995/1999 : Ecole Normale Supérieure de Lyon, **élève normalien**

FORMATION

Cursus universitaire

1993 : **Baccalauréat C** (Mathématiques et Sciences Physiques), [mention très bien]. Angers

1993/1995 : **Classes préparatoires** Maths-Sup et -Spé Biologie. Lycée Clemenceau. Nantes
- 21^{ième} au concours des Ecoles Nationales Supérieures d'Ingénieurs Agronomes.
- reçu à l'école normale supérieure de Lyon (**ENS Lyon**).

1995/1996 : **Licence de Biologie des Organismes et des Populations**. Université Lyon 1
[mention bien]

1996/1997 : **Maîtrise de Biologie des Populations et des Ecosystèmes**. Université Lyon 1
[mention bien ; classement : 1^{er}]

1997/1998 : Préparation de l'**Agrégation** des Sciences de la Vie et de la Terre. ENS Lyon
- reçu 5^{ième} au concours de l'agrégation externe SVT.

1998/1999 : **DEA d'Analyse et Modélisation des Systèmes Biologiques**. Université Lyon 1
[mention bien ; classement : 2^{ième}]

1999/2002 : **Doctorat - université Lyon 1** -, encadré par S. Charles et P. Auger.
laboratoire d'accueil : UMR CNRS 5558 - Biométrie et Biologie Evolutive, Lyon 1.

Sujet : « *Ecotoxicologie et Modélisation Spatiale en Dynamique de Population : exemple d'une population de truites exposée à une pollution dans un réseau de rivières* ».
Soutenance en juin 2002 [mention très honorable]

Jury :	P. Auger	<i>Lyon 1</i>	président, directeur de thèse
	J.L. Baglinière	<i>INRA Rennes</i>	rapporteur
	S. Charles	<i>Lyon 1</i>	co-directrice de thèse
	P. Flammarion	<i>Ministère de l'écologie</i>	examinateur
	J.D. Lebreton	<i>CNRS Montpellier</i>	rapporteur

Stages de recherche

Juin 1996 : stage de **licence**. Etude terrain de la sélection sexuelle au sein d'une population de mouettes tridactyles, réserve du cap Sizun (Bretagne) ; Encadr. E. Danchin (UMR CNRS 7625, Paris 6).

Janvier 1997 : stage de **maîtrise**. Etude statistique du rôle de la prédation dans le choix de l'habitat chez la mouette tridactyle ; Encadr. E. Danchin (UMR CNRS 7625, Paris 6).

1999 : stage de **DEA**. Elaboration d'un modèle écotoxicologique chez la truite commune à l'aide de la méthode d'agrégation de variables. Encadr. S. Charles et P. Auger (LBBE UMR CNRS 5558, Lyon 1).

ENCADREMENT-ENSEIGNEMENT

Thèses

en co-direction

- T1 Romain Coulaud** (2012), Univ Lyon (80%) ; collaboration avec LBBE Lyon 1
Modélisation et changement d'échelles pour l'évaluation écotoxicologique : application à deux macroinvertébrés aquatiques, *Gammarus fossarum* (Crustacé Amphipode) et *Potamopyrgus antipodarum* (Mollusque Gastéropode).
- T2 Guillaume Jubeaux** (2012), Univ Lyon (20%) ; collaboration avec ISA Lyon 1
Développement, généralisation et validation de la mesure de la vitellogénine comme biomarqueur chez le crustacé amphipode *Gammarus fossarum*.
- T3 Amandine Vigneron** (2015), Univ Lyon (80%)
Capacités d'adaptation des populations naturelles à la contamination des milieux aquatiques : cas d'étude du cadmium chez le crustacé *Gammarus fossarum* ; (spécialité Ecotoxicologie évolutive).
- T4 Judith Trapp** (2014), Univ Lyon (20%) ; collaboration avec Li2D CEA Marcoule
Approches protéomiques pour le développement de biomarqueurs chez l'amphipode d'eau douce *Gammarus fossarum* : découverte et caractérisation de protéines impliquées dans la fonction reproductrice ; (spécialité Ecotoxicologie).
- T5 Duarte Gouveia** (2017), Univ Lyon (25%) ; collaboration avec Li2D CEA Marcoule & ISA Lyon 1
Approches moléculaires pour la découverte, le développement et l'application de biomarqueurs de toxicité chez les gammaridés ; (spécialité Ecotoxicologie moléculaire).
- T6 Pauline Cribiu** (en cours), Univ Lyon (25%) ; collaboration avec le LEHNA ENTPE-Lyon 1
Etude des effets transgénérationnels de l'exposition parentale aux contaminants chez *Gammarus*.
- T7 Noëlle Sarkis** (en cours), Univ Lyon (25%) ; collaboration avec le LHQ Irstea
Intégration des indicateurs écotoxicologiques dans les modèles multi-échelles et multi-pressions pour améliorer la compréhension des liens pressions-impacts à l'échelle des bassins.

Post-docs

- P1 Olivier Adam** (50%) 2010. Plasticité naturelle ou perturbation toxique de la reproduction chez *Gammarus fossarum* ? Evaluation de la variabilité pour le développement de tests *in situ* et l'extrapolation populationnelle.
- P2 Alexandre Ciliberti** (50%) 2015-2016. Intérêt d'un indicateur écotoxicologique pour le diagnostic et la compréhension de l'état des milieux aquatiques pour aider à la restauration.
- P3 Benjamin Alric** (50%) 2017-2018. Lien entre la toxicité, la contamination des milieux aquatiques mesurés chez *Gammarus fossarum* et la perturbation des communautés.

Masters

- M1 Pierre Gos** 2007. Variabilité individuelle et origine génétique de la sensibilité au cadmium chez *Gammarus pulex*. Master 1 Biologie moléculaire et cellulaire, ENS Lyon.
- M2 Rémi Recoura-Massaquant** 2013. Variabilité intra et interspécifique de la sensibilité aux contaminants chez les gammaridés. Master 2 MRESTE, Université Joseph Fourier Grenoble I.
- M3 Laurent Guillet-Revol** 2016. Effets combinés d'un perturbateur endocrinien et de l'infection par un acanthocéphale sur la reproduction chez *Gammarus fossarum*. Master 2 MRESTE, Université de Grenoble.
- M4 Emma Lejay** 2015. Modélisation de dynamique de population en écotoxicologie : développement d'indicateurs démographiques intégrant la phénologie des populations du

crustacé *Gammarus fossarum*. Stage 4^{ème} année, Bioinformatique et modélisation, INSA de Lyon.

M5 Naïs Julian 2017. Evaluation des différences de sensibilités au plomb induites par la contamination in situ d'individus issus de diverses lignées de gammaridés. Le cas de l'inhibition alimentaire chez *G. fossarum* et *G. pulex*. Master 1 Biodiversité, Ecologie, Environnement, Université Grenoble Alpes.

M6 Maxime Allibert 2017. Variabilité de la sensibilité au cadmium chez le crustacé *Gammarus* : différences entre lignées phylogénétiques et influence de l'exposition long terme des populations. Master 2 MRESTE, Université Grenoble Alpes.

M7 Sébastien Lelarge 2018. Biosurveillance active pour l'évaluation de l'état chimique des cours d'eau français : démonstration et premiers enseignements dans le cas de trois éléments traces métalliques (Cd, Ni, Pb). Master Sciences Technologies Santé Mention Sciences de la Terre et des Planètes, Environnement Parcours Paléontologie, Sédimentologie, Paléoenvironnements, Université Lyon I.

Enseignements en formation initiale

- 1999-2002 (monitorat) : **mathématiques appliquées à la biologie** : algèbre, statistiques, modélisation. 1^{er} et 2^{ème} cycles (université Lyon 1)
- 2002/2004 (professeur agrégé dans le secondaire) : **biologie, géologie**, en lycée/collège – « colles » en classes préparatoires filière BCPST (lycée Champollion Grenoble).
- 2004-2006 (Agrégé préparateur ENS Lyon) : chargé d'enseignements à la préparation à l'**agrégation SVT**.
- 2009-2015 : (~25h/an) Formation **ingénieur INSA** filière Bioinformatique et Modélisation : cours pour l'UE modélisation discrète et équations aux différences.
- Depuis 2010 : (7h/an) intervention **Master MRESTE** (Recherche en Environnement-Santé-Toxicologie-Ecotoxicologie) **université de Grenoble** : modélisation et écotoxicologie.
- 2018-2019 : (6h/an) intervention UE transversale *Santé environnementale* **université Lyon 1**.

EXPERTISE

Evaluation d'articles pour les revues :

Comparative Biochemistry and Physiology ; Ecotoxicology ; Environmental Pollution ; Environmental Research ; Environmental Science and Pollution Research ; Environmental Science and Technology ; Environmental Toxicology and Chemistry ; Environmental Toxicology and Pharmacology ; Journal of Hazardous Materials ; Journal of Theoretical Biology ; Marine Environmental Research ; PlosOne ; Reviews of Environmental Contamination and Toxicology ; Science of the Total Environment.

Evaluation de projets de recherche : ANR, ANSES, IPEV, INSU-EC2CO.

Membre du comité scientifique INSU-CNRS EC2CO action thématique ECODYN.

PROJETS DE RECHERCHE

Coordinateur de tâche

- Pr1 ANR-CESA-2012 Gamma (2012-2015)** : Variabilité – adaptation – diversité et Ecotoxicologie des Gammaridés. (O. Geffard, Irstea Lyon).
- Pr2 ANR-Blanc-2013 Multistress (2014-2017)** : Effets combinés de stressseurs anthropiques et du parasitisme sur la variation génétique, le comportement, la physiologie et le rôle fonctionnel d'amphipodes d'eau douce du genre *Gammarus* (T. Rigaud, Université de Dijon).
- Pr3 ANR-générique-2014 ProteoGam (2015-2019)**. Proteomics for novel biomarkers relevant in ecotoxicology from gammarids: challenging the biodiversity and multiplexed immunoassay as diagnostic tool. (O. Geffard, Irstea Lyon).

Participant

- Pr4 EC2CO CYTRIX 2006. Projet Padyma (2006-2008)** : Déterminisme de l'impact des pesticides en cours d'eau, de l'organisation du paysage à l'influence de la dynamique de l'exposition sur les effets biologiques. Appui à l'évaluation et à la gestion du risque. (V. Gouy, Cemagref Lyon).
- Pr5 PNRPE-2008 (2009-2012)** : La vitellogénine comme biomarqueur d'exposition et d'effet aux perturbateurs endocriniens chez *Gammarus fossarum* et *Eurytemora affinis*. (O. Geffard, Cemagref Lyon).
- Pr6 Interreg France-Wallonie-Vlaanderen-2014-2020. Projet Diadem (2017-2020)** : Développement d'une approche intégrée pour le diagnostic de la qualité des eaux de la Meuse (A. Geffard, université de Reims).
- Pr7 ANR-générique-2018. Approve (2019-2022)**. Integrated Approach to Propose Proteomics for environmental biomonitoring : accumulation, fate and multi-markers. (O. Geffard, Irstea Lyon).

Gestionnaires publics

- Pr8 ONEMA, 2009-2010, action 25**. Effets des substances chimiques sur les organismes aquatiques : sous-action « batterie d'indicateurs invertébrés transplantés » (J. Garric, Cemagref Lyon).
- Pr9 ONEMA, 2012, action 45**. Effets des substances chimiques sur les organismes aquatiques : sous-action « batterie d'indicateurs invertébrés transplantés, modélisation » (A. Chaumot, Irstea Lyon).
- Pr10 ONEMA, 2013-2015, action 36**. Surveillance des substances prioritaires dans le biote : développement d'une méthodologie pour l'amélioration du suivi chimique des milieux (M. Coquery, Irstea Lyon).
- Pr11 Plan Ecophyto, ONEMA, 2012-2015**. Développement d'outils et d'indicateurs pour mieux évaluer et gérer la chaîne pressions-impacts des pesticides sur l'eau de surface (V. Gouy, Irstea Lyon).
- Pr12 ONEMA, 2013. Phylogénie et polluo-sensibilité ; la phylogénie en appui à la bioindication** (A. Bouchez, INRA).
- Pr13 Agence de l'eau RMC, 2014. INDICE** : Intérêt d'un indicateur écotoxicologique pour diagnostiquer et comprendre l'état des milieux aquatiques et aider à la restauration. (O. Geffard, Irstea Lyon).
- Pr14 AFB, 2016-2018, action 48**. Lien entre la toxicité, la contamination des milieux aquatiques mesurés chez *Gammarus fossarum* et la perturbation des communautés biologiques. (O. Geffard, Irstea Lyon).
- Pr15 Plan Ecophyto, phase 2, ONEMA, 2016-2019. Projet Impact-CE** : Développement et transfert aux opérationnels d'outils intégratifs de mesure chimique et biologique au sein des cours d'eau pour le suivi de l'impact des pratiques agricoles et de leur évolution (porté par V. Gouy, Irstea Lyon).

- Pr16 Agence de l'eau Adour-Garonne, 2017-2019. DYLAQ :** Dynamiques écologiques des lacs du littoral aquitain : Analyses et synthèse des données environnementales et biologiques passées et actuelles (A. Jamoneau, Irstea Bordeaux).
- Pr17 AFB, 2019. SASHIMI :** Surveillance active de l'impact de la pression chimique par des biomarqueurs. (B. Xuereb, SEBIO Université du Havre)
- Pr18 AFB, 2019, action 4. Protéomique ciblée pour la quantification multiplexée de biomarqueurs :** perspectives pour la surveillance environnementale. (A. Chaumot, Irstea Lyon).
- Pr19 Agence de l'eau RMC, 2019-2021, action 69. Modèles multi-pressions pour expliquer les niveaux de contamination et de toxicité dans les cours d'eaux.** (A. Chaumot, Irstea Lyon).

Partenariat public /privé

- Pr20 FUI SMILE, 2014-2018. Station Métrologique pour la surveillance des Eaux urbaines.**
- Pr21 ONEMA, 2015-2017. Micropolis :** Evaluation de traitements avancés des MICROpolluants à Sophia AntiPOLIS (Y. Pernu, Suez-Environnement).

TRANSFERT

Biosurveillance active :

2013 : Co-développement d'un projet de start-up dans le domaine de la biosurveillance.

2014 : **Co-fondation** de la société **Biomæ** www.biomae.com

Depuis 2014 : Concours scientifique (Irstea) pour accompagner le développement de la société.

Suivi en ligne de la toxicité par videotracking :

Depuis 2014 : Partenariat avec la société **Viewpoint** initié dans le projet FUI SMILE. www.viewpoint.fr

Savoir-faire et brevets : co-inventeur

- S1-5** 5 enveloppes **Soleau** INPI « Bioessais *in situ* pour le diagnostic des milieux aquatiques » (2014)
- S6** Enveloppe **Soleau** INPI « Installation d'un laboratoire mobile pour exposition sur site en ligne à un rejet ou un milieu aqueux » (2018)
- Br1** **Brevet** FR3020464 : « Méthode de détermination de la reprotoxicité d'eaux douces » (2015)
- Br2** **Brevet** FR3064447 : « Cages à lignes de fuite » (2018)
- Br3** **Brevet** FR3069325 : « Procédé de détermination de la présence d'un contaminant dans un liquide » (2019)
- Br4** **Brevet en cours d'instruction** demande FR1852818 : « Méthode de classification du niveau de contamination et d'écotoxicité des milieux aquatiques à partir de gammares engagés *in situ* ».
- N1** **Norme AFNOR** XP T90-721 : « Engagement *in situ* de gammares pour la mesure de la bioaccumulation de substances chimiques » (2019)

PUBLICATIONS

Articles scientifiques

- A1** Chaumot A, Charles S, Flammarion P, Garric J, Auger P. 2002. Using aggregation methods to assess toxicant effects on population dynamics in spatial systems. **Ecological Applications** 12:1771-1784.
- A2** Chaumot A, Charles S, Flammarion P, Auger P. 2003. Ecotoxicology and spatial modeling in population dynamics: An illustration with brown trout. **Environmental Toxicology and Chemistry** 22:958-969.
- A3** Chaumot A, Charles S, Flammarion P, Auger P. 2003. Do migratory or demographic disruptions rule the population impact of pollution in spatial networks? **Theoretical Population Biology** 64:473-480.
- A4** Charles S, Ferreol M, Chaumot A, Pery ARR. 2004. Food availability effect on population dynamics of the midge *Chironomus riparius*: A Leslie modeling approach. **Ecological Modelling** 175:217-229.
- A5** Lopes C, Péry ARR, Chaumot A, Charles S. 2005. Ecotoxicology and population dynamics: Using DEBtox models in a Leslie modeling approach. **Ecological Modelling** 188:30-40.
- A6** Chaumot A, Milioni N, Abdoli A, Pont D, Charles S. 2006. First step of a modeling approach to evaluate spatial heterogeneity in a fish (*Cottus gobio*) population dynamics. **Ecological Modelling** 197:263-273.
- A7** Bertrand S, Thisse B, Tavares R, Sachs L, Chaumot A, Bardet P-L, Escriva H, Duffraisse M, Marchand O, Safi R, Thisse C, Laudet V. 2007. Unexpected novel relational links uncovered by extensive developmental profiling of nuclear receptor expression. **PLoS Genetics** 3:e188.
- A8** Iwema T, Billas IML, Beck Y, Bonneton F, Nierengarten H, Chaumot A, Richards G, Laudet V, Moras D. 2007. Structural and functional characterization of a novel type of ligand-independent RXR-USP receptor. **Embo Journal** 26:3770-3782.
- A9** Bonneton F, Chaumot A, Laudet V. 2008. Annotation of *Tribolium* nuclear receptors reveals an increase in evolutionary rate of a network controlling the ecdysone cascade. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 38:416-429.
- A10** Geffard O, Geffard A, Chaumot A, Vollat B, Alvarez C, Tusseau-Vuillemin MH, Garric J. 2008. Effects of chronic dietary and waterborne cadmium exposures on the contamination level and reproduction of *Daphnia magna*. **Environmental Toxicology and Chemistry** 27:1128-1134.
- A11** Pantalacci S, Chaumot A, Benoit G, Sadier A, Delsuc F, Douzery EJP, Laudet V. 2008. Conserved features and evolutionary shifts of the EDA signaling pathway involved in Vertebrate skin appendage development. **Molecular Biology and Evolution** 25:912-928.
- A12** Richards S, Gibbs RA, Weinstock GM, Brown SJ, Denell R, Beeman RW, Gibbs R, Bucher G, Friedrich M, Grimmelikhuijzen CJP, Klingler M, Lorenzen M, Roth S, Schroeder R, Tautz D, Zdobnov EM, Muzny D, Attaway T, Bell S, Buhay CJ, Chandrabose MN, Chavez D, Clerk-Blankenburg KP, Cree A, Dao M, Davis C, Chacko J, Dinh H, Dugan-Rocha S, Fowler G, Garner TT, Garnes J, Gnirke A, Hawes A, Hernandez J, Hines S, Holder M, Hume J, Jhangiani SN, Joshi V, Khan ZM, Jackson L, Kovar C, Kowis A, Lee S, Lewis LR, Margolis J, Morgan M, Nazareth LV, Nguyen N, Okwuonu G, Parker D, Ruiz SJ, Santibanez J, Savard J, Scherer SE, Schneider B, Sodergren E, Vattahil S, Villasana D, White CS, Wright R, Park Y, Lord J, Oppert B, Brown S, Wang L, Weinstock G, Liu Y, Worley K, Elsik CG, Reese JT, Elhaik E, Landan G, Graur D, Arensburger P, Atkinson P, Beidler J, Demuth JP, Drury DW, Du YZ, Fujiwara H, Maselli V, Osanai M, Robertson HM, Tu Z, Wang JJ, Wang S, Song H, Zhang L, Werner D, Stanke M, Morgenstern B, Solovyev V, Kosarev P, Brown G, Chen HC, Ermolaeva O, Hlavina W, Kapustin Y, Kiryutin B, Kitts P, Maglott D, Pruitt K, Sapojnikov V, Souvorov A, Mackey AJ, Waterhouse RM, Wyder S, Kriventseva EV, Kadowaki T,

- Bork P, Aranda M, Bao R, Beermann A, Berns N, Bolognesi R, Bonneton F, Bopp D, Butts T, [Chaumot A](#), Denell RE, Ferrier DEK, Gordon CM, Jindra M, Lan Q, Lattorff HMG, Laudet V, Von Lévetsow C, Liu Z, Lutz R, Lynch JA, Da Fonseca RN, Posnien N, Reuter R, Schinko JB, Schmitt C, Schoppmeier M, Shippy TD, Simonnet F, Marques-Souza H, Tomoyasu Y, Trauner J, Van Der Zee M, Vervoort M, Wittkopp N, Wimmer EA, Yang X, Jones AK, Sattelle DB, Ebert PR, Nelson D, Scott JG, Muthukrishnan S, Kramer KJ, Arakane Y, Zhu Q, Hogenkamp D, Dixit R, Jiang H, Zou Z, Marshall J, Elpidina E, Vinokurov K, Oppert C, Evans J, Lu Z, Zhao P, Sumathipala N, Altincicek B, Vilcinskis A, Williams M, Hultmark D, Hetru C, Hauser F, Cazzamali G, Williamson M, Li B, Tanaka Y, Predel R, Neupert S, Schachtner J, Verleyen P, Raible F, Walden KKO, Angeli S, Foret S, Schuetz S, Maleszka R, Miller SC, Grossmann D. 2008. The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum*. **Nature** 452:949-955.
- A13** [Chaumot A](#), Gos P, Garric J, Geffard O. 2009. Additive vs non-additive genetic components in lethal cadmium tolerance of *Gammarus* (Crustacea): Novel light on the assessment of the potential for adaptation to contamination. **Aquatic Toxicology** 94:294-299.
- A14** Iwema T, [Chaumot A](#), Studer RA, Robinson-Rechavi M, Billas IML, Moras D, Laudet V, Bonneton F. 2009. Structural and evolutionary innovation of the heterodimerization interface between USP and the ecdysone receptor ECR in insects. **Molecular Biology and Evolution** 26:753-768.
- A15** Xuereb B, [Chaumot A](#), Mons R, Garric J, Geffard O. 2009. Acetylcholinesterase activity in *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda). Intrinsic variability, reference levels, and a reliable tool for field surveys. **Aquatic Toxicology** 93:225-233.
- A16** Geffard O, Xuereb B, [Chaumot A](#), Geffard A, Biagianni S, Noël C, Abbaci K, Garric J, Charmantier G, Charmantier-Daures M. 2010. Ovarian cycle and embryonic development in *Gammarus fossarum*: Application for reproductive toxicity assessment. **Environmental Toxicology and Chemistry** 29:2249-2259.
- A17** Simon R, Jubeaux G, [Chaumot A](#), Lemoine J, Geffard O, Salvador A. 2010. Mass spectrometry assay as an alternative to the enzyme-linked immunosorbent assay test for biomarker quantitation in ecotoxicology: Application to vitellogenin in Crustacea (*Gammarus fossarum*). **Journal of Chromatography A** 1217:5109-5115.
- A18** Coulaud R, Geffard O, Xuereb B, Lacaze E, Quéau H, Garric J, Charles S, [Chaumot A](#). 2011. In situ feeding assay with *Gammarus fossarum* (Crustacea): Modelling the influence of confounding factors to improve water quality biomonitoring. **Water Research** 45:6417-6429.
- A19** Xuereb B, Bezin L, [Chaumot A](#), Budzinski H, Augagneur S, Tutundjian R, Garric J, Geffard O. 2011. Vitellogenin-like gene expression in the freshwater amphipod *Gammarus fossarum* (Koch, 1835): Functional characterization in females and potential for use as an endocrine disruption biomarker in males. **Ecotoxicology** 20:1286-1299.
- A20** Artigas J, Arts G, Babut M, Caracciolo AB, Charles S, [Chaumot A](#), Combourieu B, Dahllöf I, Despréaux D, Ferrari B, Friberg N, Garric J, Geffard O, Gourlay-Francé C, Hein M, Hjorth M, Krauss M, De Lange HJ, Lahr J, Lehtonen KK, Lettieri T, Liess M, Lofts S, Mayer P, Morin S, Paschke A, Svendsen C, Usseglio-Polatera P, Van Den Brink N, Vindimian E, Williams R. 2012. Towards a renewed research agenda in ecotoxicology. **Environmental Pollution** 160:201-206.
- A21** [Chaumot A](#), Da Lage J-L, Maestro O, Martin D, Iwema T, Brunet F, Belles X, Laudet V, Bonneton F. 2012. Molecular adaptation and resilience of the insect's nuclear receptor USP. **BMC Evolutionary Biology** 12:199.
- A22** Jubeaux G, Audouard-Combe F, Simon R, Tutundjian R, Salvador A, Geffard O, [Chaumot A](#). 2012. Vitellogenin-like proteins among invertebrate species diversity: potential of proteomic mass spectrometry for biomarker development. **Environmental Science and Technology** 46:6315-6323.

- A23** Jubeaux G, Simon R, Salvador A, Lopes C, Lacaze E, Quéau H, Chaumot A, Geffard O. 2012. Vitellogenin-like protein measurement in caged *Gammarus fossarum* males as a biomarker of endocrine disruptor exposure: Inconclusive experience. **Aquatic Toxicology** 122–123:9-18.
- A24** Jubeaux G, Simon R, Salvador A, Quéau H, Chaumot A, Geffard O. 2012. Vitellogenin-like proteins in the freshwater amphipod *Gammarus fossarum* (Koch, 1835): Functional characterization throughout reproductive process, potential for use as an indicator of oocyte quality and endocrine disruption biomarker in males. **Aquatic Toxicology** 112-113:72-82.
- A25** Besse JP, Coquery M, Lopes C, Chaumot A, Budzinski H, Labadie P, Geffard O. 2013. Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: Towards the determination of threshold values. **Water Research** 47:650-660.
- A26** Charron L, Geffard O, Chaumot A, Coulaud R, Queau H, Geffard A, Dedourge-Geffard O. 2013. Effect of water quality and confounding factors on digestive enzyme activities in *Gammarus fossarum*. **Environmental Science and Pollution Research** 20:9044-9056.
- A27** Coulaud R, Mouthon J, Quéau H, Charles S, Chaumot A. 2013. Life-history phenology strongly influences population vulnerability to toxicants: A case study with the mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. **Environmental Toxicology and Chemistry** 32:1727-1736.
- A28** Armengaud J, Trapp J, Pible O, Geffard O, Chaumot A, Hartmann EM. 2014. Non-model organisms, a species endangered by proteogenomics. **Journal of Proteomics** 105:5-18.
- A29** Charron L, Geffard O, Chaumot A, Coulaud R, Jaffal A, Gaillet V, Dedourge-Geffard O, Geffard A. 2014. Influence of molting and starvation on digestive enzyme activities and energy storage in *Gammarus fossarum*. **PLoS ONE** 9(4): e96393.
- A30** Coulaud R, Geffard O, Coquillat A, Quéau H, Charles S, Chaumot A. 2014. Ecological modeling for the extrapolation of ecotoxicological effects measured during in situ assays in *Gammarus*. **Environmental Science and Technology** 48:6428-6436.
- A31** Trapp J, Armengaud J, Salvador A, Chaumot A, Geffard O. 2014. Next-generation proteomics: Toward customized biomarkers for environmental biomonitoring. **Environmental Science and Technology** 48:13560-13572.
- A32** Trapp J, Geffard O, Imbert G, Gaillard JC, Davin AH, Chaumot A, Armengaud J. 2014. Proteogenomics of *Gammarus fossarum* to document the reproductive system of amphipods. **Molecular and Cellular Proteomics** 13:3612-3625.
- A33** Charron L, Geffard O, Chaumot A, Coulaud R, Jaffal A, Gaillet V, Dedourge-Geffard O, Geffard A. 2015. Consequences of lower food intake on the digestive enzymes activities, the energy reserves and the reproductive outcome in *Gammarus fossarum*. **PLoS ONE** 10(4): e0125154.
- A34** Coulaud R, Geffard O, Vigneron A, Quéau H, François A, Chaumot A. 2015. Linking feeding inhibition with reproductive impairment in *Gammarus* confirms the ecological relevance of feeding assays in environmental monitoring. **Environmental Toxicology and Chemistry** 34:1031-1038.
- A35** Trapp J, Armengaud J, Pible O, Gaillard JC, Abbaci K, Habtoul Y, Chaumot A, Geffard O. 2015. Proteomic investigation of male *Gammarus fossarum*, a freshwater crustacean, in response to endocrine disruptors. **Journal of Proteome Research** 14:292-303.
- A36** Vigneron A, Geffard O, Coquery M, François A, Quéau H, Chaumot A. 2015. Evolution of cadmium tolerance and associated costs in a *Gammarus fossarum* population inhabiting a low-level contaminated stream. **Ecotoxicology** 24:1239-1249.
- A37** Beauvais-Flück R, Chaumot A, Gimbert F, Quéau H, Geffard O, Slaveykova VI, Cosio C. 2016. Role of cellular compartmentalization in the trophic transfer of mercury species in a freshwater plant-crustacean food chain. **Journal of Hazardous Materials** 320:401-407.

- A38** Pesce S, Zoghalmi O, Margoum C, Artigas J, Chaumot A, Foulquier A. 2016. Combined effects of drought and the fungicide tebuconazole on aquatic leaf litter decomposition. **Aquatic Toxicology** 173:120-131.
- A39** Prygiel E, Billon G, François A, Dumoulin D, Chaumot A, Geffard O, Criquet J, Prygiel J. 2016. Active biomonitoring for assessing effects of metal polluted sediment resuspension on gammarid amphipods during fluvial traffic. **Environmental Pollution** 218:129-139.
- A40** Trapp J, Almunia C, Gaillard JC, Pible O, Chaumot A, Geffard O, Armengaud J. 2016. Proteogenomic insights into the core-proteome of female reproductive tissues from crustacean amphipods. **Journal of Proteomics** 135:51-61.
- A41** Trapp J, Armengaud J, Gaillard JC, Pible O, Chaumot A, Geffard O. 2016. High-throughput proteome dynamics for discovery of key proteins in sentinel species: Unsuspected vitellogenins diversity in the crustacean *Gammarus fossarum*. **Journal of Proteomics** 146:207-214.
- A42** Urien N, Lebrun JD, Fechner LC, Uher E, François A, Quéau H, Coquery M, Chaumot A, Geffard O. 2016. Environmental relevance of laboratory-derived kinetic models to predict trace metal bioaccumulation in gammarids: Field experimentation at a large spatial scale (France). **Water Research** 95:330-339.
- A43** Vigneron A, Geffard O, Quéau H, Chaumot A. 2016. Mothers and not genes determine inherited differences in cadmium sensitivities within unexposed populations of the freshwater crustacean *Gammarus fossarum*. **Evolutionary Applications** 9:355-366.
- A44** Arambourou H, Chaumot A, Vulliet E, Daniele G, Delorme N, Abbaci K, Debat V. 2017. Phenotypic defects in newborn *Gammarus fossarum* (Amphipoda) following embryonic exposure to fenoxycarb. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 144:193-199.
- A45** Arambourou H, Decamps A, Quéau H, Dabrin A, Neuzeret D, Chaumot A. 2017. Use of *Gammarus fossarum* (Amphipoda) embryo for toxicity testing: A case study with cadmium. **Environmental Toxicology and Chemistry** 36:2436-2443.
- A46** Barata C, Campos B, Rivetti C, LeBlanc GA, Eytcheson S, McKnight S, Tobor-Kaplon M, de Vries Buitenweg S, Choi S, Choi J, Sarapultseva EI, Coutellec MA, Coke M, Pandard P, Chaumot A, Quéau H, Delorme N, Geffard O, Martínez-Jerónimo F, Watanabe H, Tatarazako N, Lopes I, Pestana JLT, Soares AMVM, Pereira CM, De Schamphelaere K. 2017. Validation of a two-generational reproduction test in *Daphnia magna*: An interlaboratory exercise. **Science of the Total Environment** 579:1073-1083.
- A47** Charnot A, Gouveia D, Armengaud J, Almunia C, Chaumot A, Lemoine J, Geffard O, Salvador A. 2017. Multiplexed assay for protein quantitation in the invertebrate *Gammarus fossarum* by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry** 409:3969-3991.
- A48** Ciliberti A, Chaumot A, Recoura-Massaquant R, Chandesris A, François A, Coquery M, Ferréol M, Geffard O. 2017. Caged *Gammarus* as biomonitors identifying thresholds of toxic metal bioavailability that affect gammarid densities at the French national scale. **Water Research** 118:131-140.
- A49** Dayras P, Charmantier G, Chaumot A, Vigneron A, Coquery M, Quéau H, Artells E, Lignot JH, Geffard O, Issartel J. 2017. Osmoregulatory responses to cadmium in reference and historically metal contaminated *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) populations. **Chemosphere** 180:412-422.
- A50** Gouveia D, Chaumot A, Charnot A, Quéau H, Armengaud J, Almunia C, Salvador A, Geffard O. 2017. Assessing the relevance of a multiplexed methodology for proteomic biomarker measurement in the invertebrate species *Gammarus fossarum*: A physiological and ecotoxicological study. **Aquatic Toxicology** 190:199-209.
- A51** Gouveia D, Chaumot A, Charnot A, Almunia C, François A, Navarro L, Armengaud J, Salvador A, Geffard O. 2017. Ecotoxic-Proteomics for aquatic environmental monitoring: First *in situ*

- application of a new proteomics-based multibiomarker assay using caged amphipods. **Environmental Science and Technology** 51:13417-13426.
- A52** Prud'homme SM, Chaumot A, Cassar E, David JP, Reynaud S. 2017. Impact of micropollutants on the life-history traits of the mosquito *Aedes aegypti*: On the relevance of transgenerational studies. **Environmental Pollution** 220:242-254.
- A53** Rollin M, Coulaud R, Danger M, Sohm B, Flayac J, Bec A, Chaumot A, Geffard O, Felten V. 2017. Additive effect of calcium depletion and low resource quality on *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) life history traits. **Environmental Science and Pollution Research** 1-17.
- A54** Urien N, Farfarana A, Uher E, Fechner LC, Chaumot A, Geffard O, Lebrun JD. 2017. Comparison in waterborne Cu, Ni and Pb bioaccumulation kinetics between different gammarid species and populations: Natural variability and influence of metal exposure history. **Aquatic Toxicology** 193:245-255.
- A55** Barjhoux I, Fechner LC, Lebrun JD, Anzil A, Ayrault S, Budzinski H, Cachot J, Charron L, Chaumot A, Clérandeau C, Dedourge-Geffard O, Faburé J, François A, Geffard O, George I, Labadie P, Lévi Y, Munoz G, Noury P, Oziol L, Quéau H, Servais P, Uher E, Urien N, Geffard A. 2018. Application of a multidisciplinary and integrative weight-of-evidence approach to a 1-year monitoring survey of the Seine River. **Environmental Science and Pollution Research** 25:23404-23429.
- A56** Cribiu P, Chaumot A, Geffard O, Ravanat JL, Bastide T, Delorme N, Quéau H, Caillat S, Devaux A, Bony S. 2018. Natural variability and modulation by environmental stressors of global genomic cytosine methylation levels in a freshwater crustacean, *Gammarus fossarum*. **Aquatic Toxicology** 205:11-18.
- A57** Erraud A, Bonnard M, Chaumot A, Geffard O, Duflot A, Forget-Leray J, Le Foll F, Geffard A, Xuereb B. 2018. Use of sperm DNA integrity as a marker for exposure to contamination in *Palaemon serratus* (Pennant 1777): Intrinsic variability, baseline level and in situ deployment. **Water Research** 132:124-134.
- A58** Trapp J, Gouveia D, Almunia C, Pible O, Degli-Esposti D, Gaillard JC, Chaumot A, Geffard O, Armengaud J. 2018. Digging deeper into the pyriproxyfen-response of the amphipod *Gammarus fossarum* with a next-generation ultra-high-field Orbitrap analyser: new perspectives for environmental toxicoproteomics. **Frontiers in Environmental Science** 6:54.
- A59** Gouveia D, Bonneton F, Almunia C, Armengaud J, Quéau H, Degli-Esposti D, Geffard O, Chaumot A. 2018. Identification, expression, and endocrine-disruption of three ecdysone-responsive genes in the sentinel species *Gammarus fossarum*. **Scientific Reports** 8:3793.
- A60** Rossi F, Pesce S, Mallet C, Margoum C, Chaumot A, Masson M, Artigas J. 2018. Interactive effects of pesticides and nutrients on microbial communities responsible of litter decomposition in streams. **Frontiers in Microbiology** 9:2437.
- A61** Erraud A, Bonnard M, Geffard O, Chaumot A, Duflot A, Geffard A, Forget-Leray J, Xuereb B. 2019. Assessment of sperm DNA integrity within the *Palaemon longirostris* (H. Milne-Edwards, 1837) population of the Seine estuary. **Environmental Pollution** 245:485-493.
- A62** Gouveia D, Almunia C, Cogne Y, Pible O, Degli-Esposti D, Salvador A, Cristobal S, Sheelan D, Chaumot A, Geffard O, Armengaud J. 2019. Ecotoxicoproteomics: A decade of progress in our understanding of anthropogenic impact on the environment. **Journal of Proteomics** 198:66-77.
- A63** Vignerot A, Geffard O, Quéau H, François A, Chaumot A. 2019. Nongenetic inheritance of increased Cd tolerance in a field *Gammarus fossarum* population: Parental exposure steers offspring sensitivity. **Aquatic Toxicology** 209:91-98.
- A64** Alric B, Geffard O, Chandesris A, Ferréol M, François A, Perceval O, Piffady J, Villeneuve B, Chaumot A. 2019. Multi-substance indicators based on caged *Gammarus* bioaccumulation reveal the influence of chemical contamination on stream macroinvertebrate abundances across France. **Environmental Science and Technology**. In press.

Revues techniques

- Re1** Chaumot A, Garric J, Morin S. 2010. Comprendre la sensibilité des espèces face à la contamination des milieux : un jeu complexe entre toxicologie, biologie et écologie des espèces. *Sciences Eaux et Territoires* 26-29.
- Re2** Chaumot A, Morin S, Vincent-Hubert F, Montuelle B. 2010. Adaptation des espèces et contamination des milieux ? *Sciences Eaux et Territoires* 30-33.
- Re3** Geffard O, Ferrari B, Chaumot A, Montuelle B. 2010. Les expérimentations *in situ* : principes et perspectives. *Sciences Eaux et Territoires* 20-25.
- Re4** Le Dréau M, Chaumot A, Foulquier A, François A, Geffard O, Margoum C, Pesce S, Martin C, Mazzella N, Gouy V. 2015. Outils intégratifs pour évaluer l'impact des pratiques phytosanitaires sur les cours d'eau. *Innovations Agronomiques*, 46:51-61.

Chapitres d'ouvrage

- Ch1** Chaumot A, Charles S. 2008. Pollution, stochasticity and spatial heterogeneity in the dynamics of an age-structured population of brown trout living in a river network. In *Demographic toxicity: methods in ecological risk assessment*, HR Akçakaya, Star JD, Bridges TS, ed. (Oxford University Press), pp. 168-183.
- Ch2** Charles S, Billoir E, Lopes C, Chaumot A. 2009. Matrix Population Models as Relevant Modeling Tools in Ecotoxicology. In *Ecotoxicology Modeling*, J Devillers, ed. (Springer Science), pp. 261-298.
- Ch3** Ferrari BJD, Geffard O, Chaumot A. 2013. *In Situ* Bioassays in Ecotoxicology. In *Encyclopedia of aquatic ecotoxicology*, JF Féard, Blaise C, ed. (Springer).
- Ch4** Chaumot A, Ferrari B, Geffard O, Garric J. 2014. Ecotoxicology, Aquatic Invertebrates. In *Encyclopedia of Toxicology*, P Wexler, ed, (Elsevier Inc., Academic Press) 3rd edition, vol 2, pp 284–288.
- Ch5** Chaumot A, Geffard O, Maltby L, Armengaud J. 2015. Gammarids as Reference Species for Freshwater Monitoring. In *Aquatic Ecotoxicology: Advancing Tools for Dealing with Emerging Risks*, C Amiard-Triquet, Amiard JC, Mouneyrac C, ed. (Elsevier), pp 253-280.

Publications choisies

Ecotoxicologie in situ

A18. Coulaud R, Geffard O, Xuereb B, Lacaze E, Quéau H, Garric J, Charles S, Chaumot A. 2011. *In situ* feeding assay with *Gammarus fossarum* (Crustacea): Modelling the influence of confounding factors to improve water quality biomonitoring. **Water Research** 45:6417-6429.

A25. Besse JP, Coquery M, Lopes C, Chaumot A, Budzinski H, Labadie P, Geffard O. 2013. Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: Towards the determination of threshold values. **Water Research** 47:650-660.

A51. Gouveia D, Chaumot A, Charnot A, Almunia C, François A, Navarro L, Armengaud J, Salvador A, Geffard O. 2017. Ecotoxic-Proteomics for aquatic environmental monitoring: First *in situ* application of a new proteomics-based multibiomarker assay using caged amphipods. **Environmental Science and Technology** 51:13417-13426.

Lien entre échelles et extrapolation au niveau populationnel

A30. Coulaud R, Geffard O, Coquillat A, Quéau H, Charles S, Chaumot A. 2014. Ecological modeling for the extrapolation of ecotoxicological effects measured during *in situ* assays in *Gammarus*. **Environmental Science and Technology** 48:6428-6436.

A34. Coulaud R, Geffard O, Vigneron A, Quéau H, François A, Chaumot A. 2015. Linking feeding inhibition with reproductive impairment in *Gammarus* confirms the ecological relevance of feeding assays in environmental monitoring. **Environmental Toxicology and Chemistry** 34:1031-1038.

A48. Ciliberti A, Chaumot A, Recoura-Massaquant R, Chandesris A, François A, Coquery M, Ferréol M, Geffard O. 2017. Caged *Gammarus* as biomonitors identifying thresholds of toxic metal bioavailability that affect gammarid densities at the French national scale. **Water Research** 118:131-140.

Adaptation à la contamination

A36. Vigneron A, Geffard O, Coquery M, François A, Quéau H, Chaumot A. 2015. Evolution of cadmium tolerance and associated costs in a *Gammarus fossarum* population inhabiting a low-level contaminated stream. **Ecotoxicology** 24:1239-1249.

A43. Vigneron A, Geffard O, Quéau H, Chaumot A. 2016. Mothers and not genes determine inherited differences in cadmium sensitivities within unexposed populations of the freshwater crustacean *Gammarus fossarum*. **Evolutionary Applications** 9:355-366.

Biomarqueurs protéomiques et Diversité

A22. Jubeaux G, Audouard-Combe F, Simon R, Tutundjian R, Salvador A, Geffard O, Chaumot A. 2012. Vitellogenin-like proteins among invertebrate species diversity: potential of proteomic mass spectrometry for biomarker development. **Environmental Science and Technology** 46:6315-6323.

