HAL open science

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

Noëlle Sarkis

To cite this version:

Noëlle Sarkis. 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. Ecologie, Environnement. Université de Lyon, 2021. Français. NNT : 2021LYSE1279 . tel-03887722

HAL Id: tel-03887722

https://theses.hal.science/tel-03887722

Submitted on 7 Dec 2022

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

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

N°d'ordre NNT : 2021LYSE1279

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de **l'Université Claude Bernard Lyon 1**

Ecole Doctorale N° 341
Evolution Ecosystème Microbiologie Modélisation

Spécialité de doctorat : Ecologie des communautés, fonctionnement des écosystèmes, écotoxicologie
Disciplines : Hydroécologie et écotoxicologie

Soutenue publiquement le 06/12/2021, par :

Noëlle SARKIS

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

Devant le jury composé de :

CHARLES Sandrine	Professeure des Universités, Université Claude Bernard Lyon 1	Présidente
BEISEL Jean-Nicolas	Professeur, ENGEES	Rapporteur
DELIÈGE Jean-François	Professeur associé, Université de Liège	Rapporteur
ARCHAIMBAULT Virginie	Chargée de Recherche, INRAE	Examinatrice
STROFFEK Stéphane	Chef de Service, Agence de l'eau Rhône Méditerranée et Corse (RMC)	Examinateur
SOUCHON Yves	Directeur de Recherche, INRAE	Directeur de thèse
GEFFARD Olivier	Directeur de Recherche, INRAE	Co-directeur (Invité)
VILLENEUVE Bertrand	Ingénieur de Recherche, INRAE	Co-directeur (Invité)

Université Claude Bernard – LYON 1

Président de l'Université	M. Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique	M. Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. Didier REVEL
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. Philippe CHEVALLIER
Vice-Président de la Commission de Recherche	M. Petru MIRONESCU
Directeur Général des Services	M. Pierre ROLLAND

COMPOSANTES SANTE

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT
Faculté d'Odontologie	Doyenne : Mme Dominique SEUX
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux	Doyenne : Mme Carole BURILLON
Faculté de Médecine Lyon-Est	Doyen : M. Gilles RODE
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation (ISTR)	Directeur : M. Xavier PERROT
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISBP)	Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA

COMPOSANTES & DEPARTEMENTS DE SCIENCES & TECHNOLOGIE

Département Génie Electrique et des Procédés (GEP)	Directrice : Mme Rosaria FERRIGNO
Département Informatique	Directeur : M. Behzad SHARIAT
Département Mécanique	Directeur M. Marc BUFFAT
Ecole Supérieure de Chimie, Physique, Electronique (CPE Lyon)	Directeur : Gérard PIGNAULT
Institut de Science Financière et d'Assurances (ISFA)	Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
Institut National du Professorat et de l'Education	Administrateur Provisoire : M. Pierre CHAREYRON
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. Christophe VITON
Observatoire de Lyon	Directrice : Mme Isabelle DANIEL
Polytechnique Lyon	Directeur : Emmanuel PERRIN
UFR Biosciences	Administratrice provisoire : Mme Kathrin GIESELER
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Directeur : M. Yannick VANPOULLE
UFR Faculté des Sciences	Directeur : M. Bruno ANDRIOLETTI

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS 11
LISTE DES VALORISATIONS 17
Valorisations écrites « Articles » 17
Valorisations orales 17
Poster 18
LISTE DES ABRÉVIATIONS 19
LISTE DES FIGURES 21
LISTE DES TABLEAUX 25
RESUME EN FRANÇAIS 27
RESUME EN ANGLAIS 28
INTRODUCTION GENERALE 29
Références 32
CHAPITRE I : ETAT DE L'ART ET OBJECTIFS 35
1. Evaluation de la pression chimique 37
1.1. Présentation de la pression chimique 37
1.2. Surveillance de la contamination chimique 37
1.3. Surveillance de la toxicité chimique 41
2. Identification des pressions anthropiques 42
2.1. Cadres d'évaluation des multi-pressions 42
2.2. Les sources de la contamination chimique 44
2.3. Exemples de multi-pressions 45
2.4. Fonctionnement du cours d'eau à multi-échelles 47
3. Liens entre les pressions et la biologie 48
3.1. Nécessité de compréhension des liens entre les pressions et les réponses biologiques 48
3.2. Les réponses des communautés 49
3.3. Quantification des liens entre les pressions anthropiques et les réponses biologiques 52
3.4. Rapprochement entre l'écologie et l'écotoxicologie 55
3.5. Quantification des liens entre la pression chimique et la biologie 56
4. Objectifs de la thèse 57
Références 59
CHAPITRE II : DONNEES ET METHODES 73
1. Données utilisées 75

1.1. Principe du protocole de biosurveillance active et, données associées de contamination chimique biodisponible et de toxicité chimique 75
1.2. Données des stresseurs à multi-échelles 78
1.3. Données biologiques 81
1.4. Mise en relation des données par thématique 81
2. Méthodes d'analyses statistiques 82
2.1. Modèle d'équations structurelles (*Partial Least Squares – Path Modeling*) 82
2.2. Analyses multivariées (Analyse en Composantes Principales) 84
2.3. Analyse de covariance (ANCOVA) 85
2.4. Analyse de co-inertie 86
3. Démarche adoptée 87
Références 94
CHAPITRE III : QUELS SONT LES LIENS ENTRE LES PRESSIONS ET LA CONTAMINATION BIODISPONIBLE A GRANDE ECHELLE ? 99
Partie 1 : Liens entre les pressions et la contamination métallique biodisponible .. 101
Synthèse du chapitre III, partie 1 101
How to quantify the links between bioavailable contamination in watercourses and pressures of anthropogenic land cover, contamination sources and hydromorphology at multiple scales? 103
Highlights 103
Graphical abstract 103
Abstract 104
Keywords 104
1. Introduction 105
2. Material and methods 108
2.1. ABM data and study area for metallic contamination characterization 108
2.2. Pressures and stressors measures for modeling links 110
2.3. Conceptual model to link pressures and metallic contamination 111
2.4. Partial least squares – Path modeling of links 111
2.5. Quantification of links through model outputs 112
3. Results 113
3.1. Links between pressures and stressors 113
3.2. Links between pressures 119
4. Discussion 122
4.1. Hypotheses of links between pressures and contamination 122
4.2. Explanation of pressure-contamination links 122
4.3. Approach choices and adaptation 124

4.4. Utility of integrating ABM in a multi-pressure approach 125
5. Conclusions 126
CRediT authorship contribution statement 127
Acknowledgment 128
Declaration of competing interest 128
Appendix A. Supplementary material 129
References 136
Partie 2 : Liens entre les pressions et la contamination organique biodisponible .. 145
Synthèse du chapitre III, partie 2 145
Quantification of multi-scale links of anthropogenic pressures with PAH and PCB bioavailable contamination in French freshwaters 147
Highlights 147
Graphical abstract 147
Abstract 147
Keywords 148
1. Introduction 148
2. Material and methods 151
2.1. Contamination data from POPs regulatory surveillance via ABM 151
2.2. Choices of pressures and stressor indicators at multiple scales and conceptual model building 154
2.3. Statistical modeling 157
3. Results 158
3.1. Co-occurrence of PCBs and PAHs bioavailable contamination 158
3.2. Representativeness of pressures at multiple scales 159
3.3. Quantified links between pressures and bioavailable organic contamination 162
4. Discussion 164
4.1. PCBs and PAHs distinctions 164
4.2. Representativeness of pressures at multiple scales 164
4.3. The relationship of bioavailable PAHs with point and nonpoint source pressures 166
4.4. The relationship of bioavailable PCBs with nonpoint source pressures 167
4.5. Contrasts in contamination sources 168
5. Conclusion 169
Declaration of Competing Interest 170
Acknowledgments 170
References 171

CHAPITRE IV : QUEL EST LE ROLE DE LA TOXICITE CHIMIQUE SUR LES COMMUNAUTES DE MACRO-INVERTEBRES BENTHIQUES, DANS UN CONTEXTE MULTI-PRESSIONS ? ... 181

Partie 1 : Est-ce qu'une toxicité chimique forte aggrave les liens pressions anthropiques/état général des communautés de macroinvertébrés benthiques? ... 183

Synthèse du chapitre IV, partie 1 ... 183

Identifying the impact of chemical toxicity on macroinvertebrate communities in a multi-stressor context at large spatial scale ... 185

Abstract ... 185

1. Introduction ... 186

2. Material and Methods ... 189

2.1. Construction of the database on chemical toxicity measured via active biomonitoring ... 189

2.2. I_2M_2 measures for the ecological status of benthic macroinvertebrate communities ... 191

2.3. Pressures and stressors indicators at multi-scale ... 191

2.4. Statistical analyses ... 193

3. Results ... 194

3.1. The links between the ecological status and chemical toxicity ... 194

3.2. The links between the ecological status and chemical toxicity in a multi-stressor context ... 195

3.3. Combined effect of toxic pollution and stressors on the status of benthic macroinvertebrate communities ... 199

4. Discussion ... 205

4.1. Synthesis of the main outcomes ... 205

4.2. Role of toxic pollution on the ecological status of benthic macroinvertebrate communities in a multi-stressor context ... 205

4.3. Influence of toxic pollution on the status of benthic macroinvertebrate communities in combination with stressors ... 207

4.4. Approach adaptations ... 209

5. Conclusion ... 210

Supplementary information ... 210

References ... 213

Modèle pressions-impacts tenant compte de la toxicité chimique ... 222

Références ... 233

Partie 2 : Quel est le rôle de la toxicité chimique sur le fonctionnement des communautés de macroinvertébrés benthiques dans un contexte multi-stresseurs ? ... 238

Synthèse du chapitre IV, partie 2 ... 238

Evaluating the role of chemical toxicity on macroinvertebrates functional traits in a large scale multi-stressor context 240
Abstract 240
1. Introduction 241
1.1. Pressures acting on freshwater biology 241
1.2. Trait approaches describing functions 241
1.3. Active biomonitoring evaluating chemical toxicity 242
1.4. Toxic pollution linked to functional tools 243
2. Material and methods 244
2.1. Study sites and chemical toxicity measures 244
2.2. Biological traits for macroinvertebrate communities 246
2.3. Co-inertia analysis of associations between stressors and traits 252
3. Results 253
4. Discussion 261
4.1. Confrontation of in situ chemical toxicity to traits in a multi-stressor context 261
4.2. Approach adaptation 262
5. Conclusion 263
References 263
CHAPITRE V : DISCUSSION GENERALE 269
1. Contexte de la thèse et richesse des outils de biosurveillance active 271
2. Liens entre les pressions et la contamination chimique biodisponible 273
2.1. Pressions dominantes sur la contamination biodisponible métallique 274
2.2. Pressions dominantes sur la contamination biodisponible organique 275
3. Liens entre les pressions et les communautés de macroinvertébrés benthiques 278
3.1. Effet de la toxicité chimique sur l'état écologique dans un contexte multi-pressions 278
3.2. Liens entre la toxicité chimique et les traits biologiques dans un contexte de multi-pressions 281
4. Intérêts des approches développées pour la gestion des milieux 283
Références 284
CONCLUSION 291

REMERCIEMENTS

Cette thèse est le fruit de trois années de travail et tout ce travail scientifique n'aurait jamais vu le jour sans l'aide scientifique et morale de nombreuses personnes que je remercie énormément.

Je souhaite commencer par remercier **les encadrants et les collaborateurs scientifiques**. Je remercie d'abord Bertrand VILLENEUVE, mon encadrant principal, d'avoir toujours été là pour me former, m'orienter et surtout d'avoir été à l'écoute. Bertrand, j'ai beaucoup appris de toi à différents niveaux, tu as su me simplifier les contraintes de la thèse et m'as appris à être plus efficace et plus synthétique. Merci d'avoir partagé ton temps et ton expérience avec moi pendant de nombreux échanges au bureau sur le tableau blanc, les visios et les appels. J'ai l'honneur d'être la première doctorante que tu as encadrée. Je remercie Olivier GEFFARD, qui a toujours trouvé les mots pour me rassurer sur mon projet et me poser les bonnes questions pour me faire avancer. Olivier, je te remercie pour ton aide en écotoxicologie, ta bonne énergie dans le travail mais aussi ta touche impressionnante dans la reformulation des valorisations pour raconter des histoires claires. Je remercie Yves SOUCHON, d'avoir veillé sur mon travail presque chaque fin de journée, en me transmettant beaucoup de sagesse, de culture et surtout une richesse en bibliographie surprenante. Yves, merci d'avoir mêlé expertise à l'humour. Je remercie Arnaud CHAUMOT, pour ses conseils tout au long de la thèse. Arnaud merci d'avoir été présent à la rescousse pour divers sujets pendant les réunions, les relectures et souvent lors de longues discussions à ta porte de bureau avec plein de propositions. Je remercie Jérémy PIFFADY, qui a aussi suivi la thèse régulièrement. Jérémy merci d'avoir apporté ta touche méthodologique (notamment en statistique) à la thèse et de m'avoir donné de ton temps pendant nos réunions mensuelles. Je remercie André CHANDESRIS, une personne en or avec qui j'ai travaillé sur les cartographies. André, merci pour toutes les astuces SIG que tu m'as transmises, j'ai beaucoup apprécié les échanges avec toi, très riches en culture. Merci également de m'avoir ouvert les portes de ta maison pour m'accueillir afin de recharger en énergie. Je remercie Laurent VALETTE, pour son aide en hydromorphologie. Avec Laurent on a longuement discuté de notions et d'indicateurs de risque hydromorphologique. Merci pour tous les calculs que tu as fait, tes remarques et tes encouragements. Je remercie Martial FERREOL, le maître des statistiques et des jeux de données. Martial merci de m'avoir extrait plein de données,

d'avoir discuté de scripts R, de méthodes statistiques et merci pour le super humain que tu es. Je remercie Benjamin ALRIC, pour les longues discussions sur les méthodes statistiques et en écologie. Benjamin merci pour les échanges riches scientifiquement et ton investissement et tes remarques. Je remercie Chloé MEYMY, ma première étudiante que j'ai encadrée en stage. Merci Chloé de m'avoir donné un énorme coup de main et de m'avoir appris à être une encadrante de stage. Je remercie Rémi RECOURA-MASSAQUANT, pour les extractions des données de polluants organiques persistants et de toxicité ainsi que les échanges pour apporter de la précision à la méthodologie adoptée. Je remercie Adeline FRANÇOIS, pour les extractions et les centralisations des données de contamination et de toxicité. Je remercie Jake DIAMOND, pour sa relecture de mon premier papier et son écoute. Jake merci pour ta bonne humeur en post-doctorat, ta curiosité, ton écoute de mes présentations et des conceptualisations. Je remercie Marc BABUT pour les multiples échanges sur les polluants organiques persistants et plus spécifiquement les PCBs. Je remercie Mathieu FLOURY, pour les échanges que nous avons eus sur les approches fonctionnelles. Mathieu merci d'avoir partagé avec moi ton expertise. Je suis aussi contente d'avoir assisté à ma première expérience de colloque SEFS en Croatie avec toi. Je remercie Mickaël LE-GALL, pour les échanges sur les modèles d'équations structurelles. Merci également Mickaël pour les nombreux conseils sur le doctorat et le post-doctorat. Je remercie Aurélien BEAUFORT, qui a écouté mes problèmes techniques et m'a conseillé. Aurélien merci aussi pour les échanges sur le rôle des précipitations et des assèchements sur la contamination. Je remercie Florentina MOATAR et Gilles PINAY pour les échanges sur les nutriments et l'hydrologie. Je remercie Jean-Marc CHOUBERT pour la discussion sur les stations d'épuration et les polluants organiques persistants. Je remercie Bertrand LAUNAY, pour la discussion concernant le protocole d'I_2M_2 sur le terrain. Je remercie Mathieu LUCAS, pour son aide dans les extractions des données de débits et pour sa bonne humeur. Je remercie aussi les scientifiques qui ont réalisé les manipulations sur le terrain et au laboratoire pour générer mes données.

Je remercie **les membres du comité de suivi de thèse** qui ont été présents pendant les trois années de thèse. Je remercie Laurent VALETTE pour sa vision en hydromorphologie ; Je remercie Philippe USSEGLIO-POLATERA pour ses conseils sur les traits biologiques et les analyses de co-inertie ; Je remercie Cédric MONDY

pour ses conseils sur l'I_2M_2 et les traits ; Je remercie Olivier PERCEVAL pour sa vision en écotoxicologie ; Je remercie Jean-Michel OLIVIER mon tuteur, pour sa vision en écologie et son écoute au cours de chaque année de la thèse.

Je remercie aussi, **les membres de l'agence de l'eau RMC** avec qui nous avons eu des réunions de suivi du projet RMC et notamment Lionel NAVARRO pour son aide dans les données comme celles des rejets des industries.

Je remercie également **l'UR RiverLy** et plus particulièrement **les membres de mes équipes respectives EcoFlowS et Ecotoxicologie** pour leur soutien. Plus particulièrement : Je remercie Aude RATIER, *my post-doc mentor*. Au cours de ces trois années de thèse, j'ai bien dérangé Aude par mes questionnements, à chaque pause et même après son départ. Merci Audie pour tes multiples conseils, les entrainements de boxe les plus drôles qu'on a partagés et surement aux fous rires. Je remercie Clarisse JUDES, ma compagne de thèse. Clacla merci d'être qui tu es, une personne incroyable. Tu as été source de motivation pour moi et de bonheur pour venir au bureau chaque jour. Nous avons beaucoup ri et nous nous sommes plaintes un peu. Nous avons longuement parlé philosophiquement de statistiques et tu as su écouter et débattre avec moi sur nos résultats. Je remercie Maxime GAUTHIER, mon compagnon de thèse. Maxou merci de m'avoir poussé à donner le meilleur de moi-même et pour la motivation que tu m'as transmise. Nous avons travaillé pendant de longues journées et avions beaucoup ri. Merci pour ta curiosité scientifique et culturelle (notamment ton intérêt pour la langue libanaise). Je remercie Natacha KOENIG, *the superwoman*. Merci Nat pour ton écoute, tu es une femme impressionnante, qui m'a transmis son amour pour la programmation et m'a toujours motivé. Je remercie Hanieh SEYEDHASHEMI, pour sa bonne humeur et nos discussions au cours de la thèse notamment sur les données traitées sous SIG et R. Mais aussi merci Hanieh pour les discussions sociétales abordées comme la place de la femme dans la société. Je remercie Pauline CRIBIU, qui m'a appris la persévérance. Je me rappellerai toujours d'un conseil que tu m'as donné en début de thèse et qui m'a permis d'aller de l'avant, merci paupau ! Je remercie Alice VIDAL pour la force qu'elle m'a transmise. Je me souviendrai toujours de ta bonne humeur et des rires partagés. Je remercie Maïlys GAUTHIER, pour les échanges scientifiques et culturels. Merci Maïlys de m'avoir appris le dévouement pour les bonnes causes environnementales et pour tes initiatives d'animations pour les jeunes chercheurs. Je remercie Maxime MOREL, pour sa bonne

humeur, les discussions scientifiques pendant les pauses et surtout d'avoir apprécié mes talents artistiques. Je remercie Maxime LE PRETRE pour ses conseils sur le doctorat et le post-doctorat. Merci aussi Maxime de m'avoir rappelé de prendre des pauses et de m'avoir donné une souris d'ordinateur quand mon ordinateur était en migration chez moi pour le télétravail. Je remercie Rayan ABOUD, pour sa bonne humeur et les échanges pendant ma rédaction de thèse. Je remercie Charlotte ROBICHON, pour son écoute pendant la phase de rédaction de thèse et ses encouragements. Je remercie Julie CRABOT, pour les conseils scientifiques et les échanges que nous avons eus pendant la SEFS en Croatie et en virtuel. Je remercie Khédidja ABBACI pour son support moral. Je remercie Núria CID PUEY pour les conseils et les remarques sur mes travaux. Nous avons démarré nos contrats ensemble et j'ai bien apprécié notre expérience d'organisation d'un café sciences. Je remercie Maria ALP pour les discussions scientifiques et les échanges. Je remercie Maxime LOGEZ pour l'échange sur les traits fonctionnels. Je remercie Nicolas LAMOUROUX, Cécile MIEGE et le smgu missions et RH pour toutes les démarches administratives notamment le contrat, les participations aux colloques et les missions. Je remercie Thibault DATRY, pour son investissement dans la dynamique d'équipe et notre participation ensemble à la SEFS. Merci aussi Thibault pour le pot de miel offert pendant la phase de rédaction.

Je remercie Adeline DUBOST, **chargée de communication**, pour son expertise et sa bonne humeur lors de l'organisation des journées de thèses. Merci Adeline pour ta créativité et la meilleure expérience de journées de thèse que tu nous as fait vivre en tant que doctorant. Je remercie également les doctorant.e.s avec qui j'ai organisé les journées de thèses.

Je remercie aussi **les membres du service informatique**, plus spécifiquement Frédéric BOCHNAKIAN et Jean-Pierre DALLEAU, pour leur aide durant les multiples soucis techniques et informatiques.

Je remercie **ma famille et mes ami.e.s** pour leur soutien continu pendant ces trois années de thèse. Vous avez su me motiver pour continuer jusqu'au bout. Merci pour ma grande famille et plus particulièrement ma petite famille Mum, Pap et Hind pour tous ces soirs où vous m'avez écouté et renforcé. Merci à mes cousins Elio, Alexis, son papa Elias et à Fadi pour les conseils professionnels et de santé. Merci

Laetitia, mon amie architecte qui a revu mes figures et mes diapos pour des conseils visuels d'esthétique. Merci Laeti pour tes conseils et tout le support moral que tu m'as donné. Merci Aurélie, pour ton écoute sur mon évolution de thèse et sur mes projets professionnels. Merci Maya, pour tes multiples conseils pendant cette thèse que nous avons entreprise en parallèle et aussi pour la motivation que tu m'as donnée pendant la phase de rédaction du manuscrit. Merci Séréna d'avoir pris de mes nouvelles et de m'avoir accueilli chez toi à Paris, pendant les multiples allers-retours pour ma demande de visa pour un colloque, qui n'a jamais eu lieu en présentiel au final. Merci Joyce, pour ta présence au cours de cette thèse, tes conseils pour ma première publication et les multiples gestes pour me donner de la force à avancer. Merci Maroua d'avoir discuté de nos thèses et tes conseils pour ma présentation. Merci Tiffani, Jenny, Maria, Lynn aka Lilly, Gaëlle et coach Alice pour vos *check up* réguliers pendant ces trois années. Je remercie aussi ma famille libanaise à Lyon (Albert, Carine, Carla, Eddy, Jad, Louna, Mahmoud, Léa, Joy, Maria et Joëlle), d'avoir simplement été là. Plus particulièrement : Merci Carla, ma coloc, qui a été un réel pilier pour moi pendant ce parcours. Tu as été là même lors de soumissions d'articles. Merci Kouki d'avoir écouté mes présentations, répondu à mes multiples questions et surtout d'avoir su me renforcer quand j'étais fatiguée. Merci Jad, pour les échanges sur la thèse et aussi ta bonne énergie. Merci Jado pour cette motivation que tu me donnais à chaque fois par ton apparition à ma fenêtre pendant mes longs mois de télétravail. Merci Albert, pour les longues discussions que nous avons eues sur la thèse et le futur. Alberto tu m'as toujours motivé au cours de cette thèse pour donner le meilleur de moi-même et aussi merci pour la dance du vendredi. Merci Eddy, pour tes encouragements réguliers surtout en fin de thèse et ta bonne humeur. Je remercie mes ami.e.s du master EPET. Merci en particulier à Alec, Gwen, Julie et Céline d'avoir suivi mon évolution et d'avoir écouté mes idées et défis. Je remercie mes ami.e.s de stage. Merci Véronique, Anaïs et Marc-Antoine pour les discussions sur la thèse, le futur professionnel et aussi votre support. Je remercie aussi mes ami.e.s de licence. Merci Réa, Yara, Sarab, Tatianna, Joanna, Micho et Nour de m'avoir entendue parler de ma thèse et de m'avoir beaucoup encouragée à distance.

Je remercie DAVID SIAUSSAT, **mon responsable de master**, de m'avoir conseillée le stage à Irstea et qui a été une réelle opportunité de formation pour moi en gestion de données multi-factorielles. Ce stage m'a permis d'être présente au bon

endroit pour candidater à cette thèse. Merci aussi David pour la formation EPET qui a forgé mes compétences scientifiques.

Je remercie aussi mes encadrants en stage d'IRSN, Rodolphe GILBIN, Hugo LEPAGE et Karine BEAUGELIN, pour les compétences scientifiques apprises qui ont été utiles pour la thèse.

Je remercie **INRAE et l'agence de l'eau RMC** pour le financement de cette thèse.

Enfin, je remercie **les membres du jury de thèse**, d'avoir accepté de lire, évaluer et échanger sur mon travail de doctorat.

Finalement, je souhaite dédier le succès de ma thèse à **deux âmes très proches de mon cœur**, BEYROUTH et Carine. BEYROUTH tu as beaucoup souffert récemment, et tu ne cesses de lutter pour survivre. Je te dois ce succès pour que tu re-brilles de nouveau mondialement par des victoires positives. Et Caroun, je n'ai pas toujours été là physiquement mais tu m'inspires beaucoup. Tu es une vraie combattante, qui m'a appris la force et surtout la joie de vivre, je te dédie alors mon succès également.

LISTE DES VALORISATIONS

Valorisations écrites « Articles »

- Articles publiés :

Sarkis, N., Geffard, O., Souchon, Y., Chandesris, A., Férréol, M., Valette, L., Alric, B., François, A., Piffady, J., Chaumot, A., Villeneuve, B. 2020. **How to quantify the links between bioavailable contamination in watercourses and pressures of anthropogenic land cover, contamination sources and hydromorphology at multiple scales?**. Science of the Total Environment. 735. 139492. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139492.

Sarkis, N., Meymy, C., Geffard, O., Souchon, Y., Chandesris, A., Ferréol, M., Valette, L., Recoura-Massaquant, R., Piffady, P., Chaumot, A., Villeneuve, B. 2021. **Quantification of multi-scale links of anthropogenic pressures with PAH and PCB bioavailable contamination in French freshwaters.** Water Research. 203. 117546. https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117546.

- Article en préparation :

Sarkis, N., Geffard, O., Souchon, Y., Chandesris, A., Ferréol, M., Valette, L., François, A., Piffady, J., Chaumot, A., Villeneuve, B. **Identifying the impact of chemical toxicity on macroinvertebrate communities in a multi-stressor context at large scale.**

Valorisations orales

Sarkis, N., Villeneuve, B., Piffady, J., Souchon, Y., Chaumot, A., Geffard, O., Chandesris, A., François, A., Valette, L., Alric, B., Ferreol, M. **Multi-Stressor's Effects on Contamination and Toxicity in French Streams Using Ecotoxicological Indicators based on Caged Gammarids**, 2019, SEFS, Zagreb, Croatie.

Sarkis, N., Geffard, O., Souchon, Y., Chandesris, A., Ferréol, M., Valette, L., Alric, B., François, A., Piffady, J., Chaumot, A., Villeneuve. B. **Integrating field indicators of contamination in structural equation modelling to understand the effects of multi-pressures in freshwater**, 2020, SETAC, en ligne.

Sarkis, N., Geffard, O., Souchon, Y., Chandesris, A., Ferréol, M., Meymy, C., Valette, L., Alric, B., François, A., Recoura-Massaquant, R., Piffady, J., Chaumot, A., Villeneuve, B. **Quantification des liens entre pressions anthropiques et contamination biodisponible**, 2021, SEFA, en ligne.

Sarkis, N., Geffard, O., Souchon, Y., Usseglio-Polatera, P., Mondy, C., Chandesris, A., Ferréol, M., Valette, L., Recoura-Massaquant, R., Piffady, J., Chaumot, A., Villeneuve, B. **Evaluating toxicity effect on freshwater invertebrate communities in a multi-pressure context**, 2021, SEFS, en ligne.

Poster

Sarkis, N., Geffard, O., Souchon, Y., Chandesris, A., Ferréol, M., Valette, L., Alric, B., François, A., Piffady, J., Chaumot, A., Villeneuve, B. **Impact of multiple pressures on freshwater communities, using ecological and ecotoxicological indicators**, 2020, SETAC, en ligne.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Abréviation	Signification
HAPs	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
PCBs	Polychlorobiphényles (en français)
PAHs	*Polycyclic aromatic hydrocarbons*
PCBs	*Polychlorinated biphenyls* (en anglais)
DCE	Directive cadre sur l'eau
I_2M_2	Indice invertébrés multi-métrique
ROCCH	Réseau d'Observation de la Contamination CHimique du littoral
DGT	*Diffusive* Gradient in Thin film (Capteur passif par diffusion)
RIVM	Institut national de la santé publique et de l'environnement (en néerlandais: *Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu*)
DPSIR	*Driving forces, Pressures, State, Impact and Response*
$DPSCR_4$	*Drivers–Pressures–Stressors–Condition–Responses*
IBGN	Indice Biologique Global Normalisé
ASPT	*Average Score Per Taxon*
EQS	*Environmental Quality Standard*
RBSPs	*River basin-specific pollutants*
POCIS	*Polar Organic Chemical Integrative Sampler*
$SPEAR_{pesticides}$	*Species at Risk of pesticides*
msPAF	*Multi-substance potentially affected fraction of species*
SYRAH-CE	SYstème Relationnel d'Audit de l'Hydromorphologie des cours d'eau
pH	Potentiel Hydrogène
DBO_5	Demande biochimique en oxygène sur cinq jours
SEM	*Structural Equation Modeling*
PLS-PM	*Partial Least Squares – Path Modeling*

ACP	Analyse en Composantes Principales
ANCOVA	Analyse de covariance (en français)
ANOVA	Analyse de la variance
COIA	Analyse de co-inertie
WWTP	*Wastewater treatment plant*
MARS project	*Managing Aquatic ecosystems and water Resources under multiple Stress*
ABM	*Active biomonitoring*
WFD	*Water Framework Directive*
DOC	*Dissolved organic carbon*
DEM	*Digital Elevation Model*
POPs	*Persistent organic pollutants*
LQ	*Limit of quantification*
BOD_5	*Biochemical Oxygen Demand for five days*
PCA	Principal component analysis
iPCBs	Indicator *polychlorinated biphenyls*
CWA	Clean Water Act
EQR	*Ecological Quality Ratio*
ANCOVA	*Analysis of covariance* (en anglais)
BLM	*Biotic Ligand Model*

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE I : ETAT DE L'ART ET OBJECTIFS

Figure I.1: Dispositif d'encagement de gammare sur le terrain (INRAE). 40
Figure I.2: Les encagements de gammares à proximité des sources de pollution (Figure issue de la publication de Laurence de Monreseaudeau.fr disponible depuis 2019 sur : www.monreseaudeau.fr). 40
Figure I.3 : Schéma conceptuel du cadre DPSIR avec des exemples de forces motrices, pressions, état, impacts et réponses (issu de Kristensen (2004)). 43
Figure I.4: Pressions physiques, hydrologiques, qualité de l'eau et biologiques à différentes échelles. [1]Hydromodification inclut tout facteur qui modifie ou altère le flux. (Figure issue de Steele et al. (2010)). 48
Figure I.5: Cadre conceptuel de l'évaluation des pressions chimiques, physiques ou biologiques, la définition des liens causaux ou des sources, l'évaluation des risques et le succès des propositions de gestions. (Figure issue de Cormier and Suter (2008)). 49
Figure I.6: Principes théoriques en écologie sur l'utilisation des traits biologiques dans l'évaluation des effets des stresseurs. (Figure issue de Statzner and Bêche (2010)). 52
Figure I.7 : Principe d'évaluation du statut chimique et écologique dans la directive cadre sur l'eau. EQS (Environmental Quality standard); RBSPs (river basin-specific pollutants) (Figure issue d'EEA and Whalley (2018)). 56

CHAPITRE II : DONNEES ET METHODES

Figure II.1: Les différentes échelles adoptées (site, tronçon, rayons en amont du site et bassin versant) pour suivre les pressions anthropiques agissant sur la contamination biodisponible organique. 79
Figure II.2: Figure représentant le principe d'un modèle PLS-PM avec des variables latentes constituées de variables manifestes et des effets directs et indirects représentés par les flèches. 83
Figure II.3: Principe de la représentation des variables sur le cercle de corrélation de l'analyse en composantes principales. 85
Figure II.4: Représentation des différents effets du groupe sur la régression entre Y et X évalués par une ANCOVA (donnant la différence respective de la pente et de l'ordonnée à l'origine). 86
Figure II.5: Représentation du principe de la COIA, avec les deux tableaux X et Y induisant deux représentations des sites dans les hyperespaces, F1 représente un axe factoriel (d'après Dray et al. (2003)). 87
Figure II.6: Stratégie de travail pour étudier les liens entre les pressions et la contamination biodisponible métallique avec les échelles choisies (le bassin versant en bleu, la zone d'influence amont du site en marron, le tronçon en rose et le site en vert). 90
Figure II.7: Stratégie de travail de l'étude des liens entre les pressions et la contamination biodisponible organique avec les échelles choisies (le bassin versant en bleu, la zone d'influence amont du site en marron, le tronçon en rose et le site en vert). 91
Figure II.8: Stratégie de travail de l'étude du rôle de la toxicité chimique sur l'état écologique des communautés de macroinvertébrés benthiques avec les échelles choisies (le bassin

versant en bleu, la zone d'influence amont du site en marron, le tronçon en rose et le site en vert). 92
Figure II.9: Stratégie de travail de l'étude des associations des pressions, incluant la toxicité chimique, avec les traits biologiques des communautés de macroinvertébrés benthiques et les échelles choisies (le bassin versant en bleu, la zone d'influence amont du site en marron, le tronçon en rose et le site en vert). 93

CHAPITRE III : QUELS SONT LES LIENS ENTRE LES PRESSIONS ET LA CONTAMINATION BIODISPONIBLE A GRANDE ECHELLE ?

Partie 1 : Liens entre les pressions et la contamination métallique biodisponible

Figure III.1.1: Graphical abstract on the study of links between pressures and bioavailable metallic contamination. 103
Figure III.1.2: Distribution of sampling sites for metallic contamination (blue dots) in France for multiple Hydroecoregions (zones delimited by gray lines). 110
Figure III.1.3: Coefficients of determination (R^2 in percentage) of the pressures and path coefficients (values on arrows) of links. The inputs of the model (pressures) are represented by light gray and the main output of the model (metallic contamination) is in dark gray. The direct paths between pressures and metallic contamination are represented by black lined arrows and the indirect paths are in light dashed arrows. 119

Partie 2 : Liens entre les pressions et la contamination organique biodisponible

Figure III.2.1: Graphical abstract of the study on links between pressures and organic bioavailable contamination. 147
Figure III.2.2: Distribution of sampling sites of bioavailable persistent organic contaminants (from in situ caging of gammarids) (black dots) in the hydroecoregions of metropolitan France (zones delimited by gray lines). 153
Figure III.2.3: Conceptual model representing the direct and indirect links between pressures (composed of stressors) and bioavailable persistent organic contamination at multi-scale. 155
Figure III.2.4: Principal component analysis (PCA) correlation circle of links between groups of PCBs and PAHs on dimension 1 (F1) and dimension 2 (F2). 159
Figure III.2.5: Total links between pressures and the sum of bioavailable PAHs (correlations). 162
Figure III.2.6: Total links of pressures with the sum of bioavailable iPCBs (correlations)..... 163

CHAPITRE IV : QUEL EST LE ROLE DE LA TOXICITE CHIMIQUE SUR LES COMMUNAUTES DE MACRO-INVERTEBRES BENTHIQUES, DANS UN CONTEXTE MULTI-PRESSIONS ?

Partie 1 : Est-ce qu'une toxicité chimique forte aggrave les liens pressions anthropiques/état général des communautés de macroinvertébrés benthiques?

Figure IV.1.1: Distribution of measuring active biomonitoring sites (for lethal toxicity on the left cartography and sublethal toxicity on the right cartography) over the hydroecoregions of type 1 in metropolitan France. 190
Figure IV.1.2: Gradients of lethal toxicity (left scattergram) and sublethal toxicity (right scattergram). 190
Figure IV.1.3: Scatterplot of the link between I_2M_2 and lethal toxicity (purple dots) with a linear regression (blue line)..... 195
Figure IV.1.4: Scatterplot of the link between I_2M_2 and sublethal toxicity (purple dots) with a linear regression (blue line)..... 195
Figure IV.1.5: Principal component analysis (PCA) of links of pressures with I_2M_2 on communities in the lethal toxicity dataset. 197
Figure IV.1.6: Principal component analysis (PCA) of links of pressures with I_2M_2 on communities in the sublethal toxicity dataset. 198
Figure IV.1.7: Impact of lethal toxicity on the I_2M_2/Stressor link (scatter plot with linear regressions for no lethal toxicity data in blue diamonds and lethal toxicity data in red triangles). 200
Figure IV.1.8: Impact of sublethal toxicity on the I_2M_2/stressor link (scatter plot with linear regressions for no sublethal toxicity data in blue diamonds and sublethal toxicity data triangles in red). 203
Figure IV.1.9: Impact of lethal toxicity on the I_2M_2/Stressor link (scatter plot with linear regressions for no lethal toxicity data in blue diamonds and lethal toxicity data in red triangles) with non-significative differences. 212
Figure IV.1.10: Impact of sublethal toxicity on the I_2M_2/Stressor link (scatter plot with linear regressions for no sublethal toxicity data in blue diamonds and sublethal toxicity data in red triangles) with non-significative differences. 213
Figure IV.1.11: Schéma conceptuel du modèle pressions-impacts tenant compte de la toxicité chimique. 230
Figure IV.1.12: Effets directs des pressions, incluant la toxicité chimique létale, sur l'état général des communautés de macroinvertébrés benthiques. 231
Figure IV.1.13: Effets directs des pressions, incluant la toxicité chimique sublétale, sur l'état général des macroinvertébrés benthiques. 231

Partie 2 : Quel est le rôle de la toxicité chimique sur le fonctionnement des communautés de macroinvertébrés benthiques dans un contexte multi-stresseurs ?

Figure IV.2.1: Cartography of sites with measures of chemical toxicity. 245
Figure IV.2.2: Co-inertia analysis of pressures and biological traits of benthic macroinvertebrate communities. Red dots are representative of each stressor and modality of trait. 258

CHAPITRE V : DISCUSSION GENERALE

Figure V.1: Distribution de la bioconcentration de l'argent. 275
Figure V.2: Figure représentant des métriques de la diversité fonctionnelle d'après Mouillot et al. (2013) avec les espèces sous forme de points et l'abondance des espèces suivant la taille des cercles remplis. 283
Figure V.3 : Contraste entre les pressions dominantes sur les HAPs et les PCBs (Figure adaptée de Sarkis et al. 2021). 284

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE II : DONNEES ET METHODES

Tableau II.1: Récapitulatif du nombre des données de biosurveillance active et des années d'études..... 77

CHAPITRE III : QUELS SONT LES LIENS ENTRE LES PRESSIONS ET LA CONTAMINATION BIODISPONIBLE A GRANDE ECHELLE ?

Partie 1 : Liens entre les pressions et la contamination métallique biodisponible

Table III.1.1: Cross-loadings (Pearson correlation) between measures (manifest variables in column 1 with scales between brackets) and their relative pressures (latent variables in column 2 to 8). Bold values represent the cross-loadings of specific manifest variable to their latent variable. WWTPs stands for wastewater treatment plants and DOC stands for dissolved organic carbon..... 115
Table III.1.2: Direct, indirect and total effects between pressures. WWTP stands for wastewater treatment plant..... 120
Table III.1.3: Table with sources for used variables at different scales. 131
Table III.1.4: Hypotheses of effects between two pressures (direction and nature of effect) and their supporting literature reference. WWTP stands for wastewater treatment plant..... 133

Partie 2 : Liens entre les pressions et la contamination organique biodisponible

Table III.2.1: Expression of pressures by stressor indicators (their scales) and data sources. 156
Table III.2.2: Correlations of pressures with their specific stressor indicators for the PAHs sum model and iPCBs sum model..... 160

CHAPITRE IV : QUEL EST LE ROLE DE LA TOXICITE CHIMIQUE SUR LES COMMUNAUTES DE MACRO-INVERTEBRES BENTHIQUES, DANS UN CONTEXTE MULTI-PRESSIONS ?

Partie 1 : Est-ce qu'une toxicité chimique forte aggrave les liens pressions anthropiques/état général des communautés de macroinvertébrés benthiques?

Table IV.1.1: Stressors affiliated to pressures and their dataset sources. 192

Table IV.1.2: ANCOVA outputs for the lethal toxicity dataset with stressors in bold when the slope and/or the intercept is with significant differences between no lethal toxicity and lethal toxicity (Pvalue <0.05). 201
Table IV.1.3: ANCOVA outputs for the sublethal toxicity dataset with stressors in bold when the slope and/or the intercept is with significant differences between no sublethal toxicity and sublethal toxicity (Pvalue <0.05). 204

Tableau IV.1.1: Hypothèses de liens entre les pressions et l'état général des communautés, appuyées par la littérature. 223
Tableau IV.1.2: Stresseurs affiliés aux pressions et les sources des données. 226

Partie 2 : Quel est le rôle de la toxicité chimique sur le fonctionnement des communautés de macroinvertébrés benthiques dans un contexte multi-stresseurs ?

Table IV.2.1: Eleven biological traits with the number of each modality and the 48-modality groups. 247
Table IV.2.2: List of stressors (seven nutrient and organic matter stressors, and 13 hydromorphology stressors), their minimum and maximum range, and data source. 249
Table IV.2.3: Coordinates of stressors on the axis 1 and axis 2. 258
Table IV.2.4: Coordinates of traits and their modalities on the axis 1 and axis 2. 259

RESUME EN FRANÇAIS

Les écosystèmes aquatiques sont soumis à de multiples pressions anthropiques telles que l'occupation du sol, les modifications hydromorphologiques, les apports en nutriments et en matières organiques et, la pollution chimique. L'étude des liens entre les pressions et les réponses des communautés prend aujourd'hui peu en compte l'effet de la contamination chimique à grande échelle et encore moins la fraction de la contamination biodisponible et toxique. La biosurveillance active, basée sur l'encagement d'organismes contrôles dans le milieu aquatique, a récemment permis d'évaluer et de quantifier la contamination biodisponible et la toxicité sur de nombreux sites répartis au niveau national. Ces nouveaux jeux de données nous ont offert l'opportunité d'ouvrir la question du rôle et de l'effet de la contamination chimique toxique dans les relations connues entre pressions et impacts écologiques. Ce travail de thèse s'est donc focalisé sur quatre objectifs : la construction d'un cadre conceptuel pour quantifier l'effet des pressions sur la contamination biodisponible métallique et organique et, l'évaluation de l'impact de la toxicité chimique sur les relations stresseurs/état des communautés connues et enfin, l'identification des associations entre la toxicité chimique et des modalités de traits biologiques des communautés dans un contexte multi-pressions. Par modélisation par équations structurelles, nous avons pu déterminer les pressions dominantes sur la contamination biodisponible au niveau national. La contamination biodisponible métallique augmente avec l'occupation du sol, la densité des industries, la densité des stations d'épuration, les pressions sur le fonctionnement hydromorphologique et les facteurs de biodisponibilité (ordre décroissant) et, elle diminue avec l'augmentation de la ripisylve. Les pressions dominantes sur les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) ont été des sources et des vecteurs de contamination essentiellement ponctuels, contrairement aux polychlorobiphényles (PCBs) avec des sources diffuses dominantes. Par des analyses bivariées et multivariées, nous avons évalué que la toxicité chimique a eu un rôle aggravant sur certaines relations état écologique/stresseurs (nutriments et matières organiques et, hydromorphologie). Par une analyse de co-inertie, nous avons identifié les associations des stresseurs, incluant la toxicité chimique, avec les traits biologiques de communautés. Les stresseurs étaient associés à des modalités de traits de résistance comme l'ovoviviparité. Finalement, l'ensemble de ces jeux de données et de ces approches a permis de présenter un cadre d'analyse pressions-impacts prenant en compte la biosurveillance active, utile pour la compréhension des pressions dominantes et permettant d'orienter la mise en place de mesures de gestion des écosystèmes aquatiques.

Mots-clés : Biosurveillance active; Contamination chimique biodisponible; Ecosystèmes d'eau douce; Multiples pressions; Toxicité chimique.

RESUME EN ANGLAIS

Aquatic ecosystems are subject to multiple anthropogenic pressures mainly land use, hydromorphological modifications, enrichments in nutrients and organic matter and, chemical pollution. Nowadays, studying the links between pressures and the responses of communities takes rarely into account the effect of chemical contamination at large scale and also the fraction of bioavailable contamination and toxicity. Active biomonitoring, based on caging of control organisms in aquatic environments, has recently enabled the evaluation and the quantification of bioavailable contamination and toxicity in numerous sites distributed nationally. These new datasets offered us the opportunity to evaluate the role and the effect of chemical toxic contamination on the known relationships between pressures and ecological impacts. The thesis work focused on four objectives: the construction of a conceptual framework to quantify the effect of pressures on bioavailable contamination for metals and organic pollutants and, the evaluation of the impact of chemical toxicity on the known relationships between stressors and the ecological status and finally, the identification of associations between chemical toxicity and the modalities of biological traits of communities in a multi-pressure context. With structural equation modeling, we determined the dominant pressures on bioavailable contamination at the national scale. Metallic bioavailable contamination increased with land use, industry density, wastewater treatment plant density, pressures on the stream hydromorphological functioning and bioavailability factors (descending order) and, it decreased with the increase of riverside vegetation. The dominant pressures on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are mainly punctual sources and vectors of contamination, unlike polychlorinated biphenyls (PCBs) with dominant diffuse sources. With bivariate and multivariate analyses, we evaluated that chemical toxicity had an aggravating role on certain relationships between the ecological status and stressors (nutrients and organic matter and, hydromorphology). With a co-inertia analysis, we identified the associations of stressors, including chemical toxicity, with biological traits of communities. The stressors were associated to modalities of resistance like ovoviviparity. Finally, all the datasets and these approaches enabled a presentation of a pressure-impact framework with active biomonitoring, that is useful for understanding the dominant pressures in order to propose management of aquatic ecosystems.

Keywords: Active biomonitoring; Bioavailable chemical contamination; Chemical toxicity; Freshwater ecosystems; Multiple pressures.

INTRODUCTION GENERALE

Les sociétés modernes sont aujourd'hui très préoccupées par la qualité des eaux douces et les pressions anthropiques auxquelles elles sont soumises, constituant un danger pour la santé humaine et celle des écosystèmes. Les milieux aquatiques sont exposés à des mélanges complexes de contaminants (métaux, polluants organiques persistants, polluants émergents, etc.) issus de pollutions ponctuelles (directement rejetés dans les cours d'eau depuis leurs sources), et de pollutions diffuses (diffusés par des vecteurs de transfert). Tel que les plus persistants seront piégés et stockés antérieurement dans les sédiments et, relargués à tout moment dans les écosystèmes aquatiques (Holt 2000). Lier la contamination à sa source est donc important pour comprendre les cascades qui mènent à cette contamination (EEA and Whalley 2018).

Pour une gestion et protection efficace des milieux aquatiques en Europe, la directive cadre sur l'eau (DCE) exige un suivi de la teneur en polluants chimiques prioritaires, l'évaluation de l'état écologique et l'identification des pressions qui peuvent l'impacter négativement (European Commission 2000).

Le réseau de surveillance national des eaux de surface en France réalise des suivis de la contamination chimique à l'aide de mesures au niveau de diverses matrices comme l'eau, le sédiment et plus récemment des capteurs passifs. Si ces approches permettent de qualifier le niveau de contamination de ces matrices, en revanche, elles ne renseignent pas la fraction des contaminants dite biodisponible, c'est-à-dire accumulée par les organismes et donc potentiellement toxique. Dans ce contexte, la DCE a plus récemment incité les états membres à développer leur suivi dans le biote, en définissant des normes de qualité environnementales pour les poissons et les invertébrés, ainsi protégeant mieux les consommateurs, dont l'Homme, du risque d'empoisonnement. Si la biosurveillance passive, basée sur l'utilisation des organismes du milieu, répond à cette exigence de la DCE, en revanche, elle rend difficile leur interprétation en terme de pression chimique reçue pour des stations déconnectées spatialement et par conséquent l'évaluation de la contamination chimique des milieux aquatiques à grande échelle.

La biosurveillance active, basée sur la transplantation (encagement) d'organismes dans le milieu a été proposée comme approche alternative (Besse et al. 2012). Elle permet de mesurer la contamination chimique biodisponible et la toxicité

chimique à l'aide de sondes biologiques calibrées (espèce, population source, taille, genre, etc.) comme le gammare et ainsi de comparer les mesures entre les sites et à différents temps (Ciliberti et al. 2017, Coulaud et al. 2011). Il existe actuellement des jeux de données à large échelle, issus de la biosurveillance active par encagement de gammares, pour la contamination biodisponible en métaux, HAPs et PCBs mais également des mesures de toxicité chimique létale (taux de mortalité) et sublétale (inhibition de l'alimentation).

L'évaluation de la pollution chimique et de son impact dans le milieu doit être accompagnée de l'identification et de la quantification des autres pressions pouvant agir conjointement sur les communautés d'eau douce. Nombreuses de ces pressions sont déjà identifiées et leur impact sur la biologie est connu. En Europe, l'occupation du sol est bien cartographiée par *Corine Land Cover* (Hościło and Tomaszewska 2014) et plus spécifiquement en France, les risques d'altérations hydromorphologiques sont estimés par le système d'analyse SYRAH-CE (Valette et al. 2012). Enfin, les apports en nutriments dans l'eau sont mesurés suivant le réseau de surveillance national (Naïades) et les données sont disponibles. L'étude des liens entre ces multi-pressions (notamment l'occupation du sol, les altérations hydromorphologiques et la pression physico-chimique) et leurs impacts sur l'état écologique a fait l'objet de plusieurs études (Dahm et al. 2013, Gieswein et al. 2017, Villeneuve et al. 2018), visant à quantifier ces liens et à déterminer les effets dominants. Dans ce type d'approches, l'état écologique est représenté par des outils soit généraux comme l'indice invertébrés multi-métrique (I_2M_2) (Mondy et al. 2012), soit par l'évaluation de fonctions précises par les traits biologiques (Dolédec and Statzner 2008, Statzner and Bêche 2010, Usseglio-Polatera et al. 2001) relatifs aux communautés de macroinvertébrés benthiques.

Dans le contexte de cours d'eau soumis à multi-pressions, incluant la pollution chimique, et afin de mieux définir les stratégies d'aménagements possibles, les outils et les principes issus de l'écotoxicologie gagneraient à être combinés à ceux de l'écologie. La pollution chimique potentiellement toxique dépend non seulement des sources d'émission, ponctuelles ou diffuses (déversées sur une plus grande surface), historiques et contemporaines, mais aussi des trajectoires de transfert à travers les sols, les roches perméables et les cours d'eau. Des auteurs, Cairns Jr and Niederlehner (1996), proposent de développer une écotoxicologie du paysage. Le fait que la contamination chimique et/ou la toxicité chimique commencent à être intégrées

dans ce type d'approches pressions-impacts (Birk et al. 2012, Schmidt et al. 2019), relève de ce champ de questionnement. Une limite de ces approches est bien de pouvoir mieux distinguer la contamination chimique d'un milieu qui repose sur la présence de la contamination par un très grand nombre de molécules. Disposer de mesures de la biodisponibilité doit constituer un atout pour mieux intégrer l'impact de la contamination chimique dans les approches pressions-impacts à grande échelle et ainsi gagner en compréhension des effets des pressions, pour être à même de mieux les gérer. Le développement de ce type d'approche est désormais possible avec l'accessibilité des données de biosurveillance active, des pressions anthropiques et aussi des évaluations des réponses des communautés de macroinvertébrés benthiques.

Références

Besse, J.-P., Geffard, O. and Coquery, M. (2012) Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive. Trends in Analytical Chemistry 36, 113–127. https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.04.004.

Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., van de Bund, W., Zampoukas, N. and Hering, D. (2012) Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. Ecological Indicators 18, 31-41. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.10.009.

Cairns Jr, J. and Niederlehner, B.R. (1996) Developing a Field of Landscape Ecotoxicology. Ecological Applications 6(3), 790-796. https://doi.org/10.2307/2269484.

Ciliberti, A., Chaumot, A., Recoura-Massaquant, R., Chandesris, A., François, A., Coquery, M., Ferréol, M. and 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. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031.

Coulaud, R., Geffard, O., Xuereb, B., Lacaze, E., Quéau, H., Garric, J., Charles, S. and 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(19), 6417-6429. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.035.

Dahm, V., Hering, D., Nemitz, D., Wolfram, G., Schmidt-Kloiber, A., Leitner, P., Melcher, A. and Feld, C.K. (2013) Effects of Physico-Chemistry, Land Use and Hydromorphology on Three Riverine Organism Groups: A Comparative Analysis with Monitoring Data from Germany and Austria. Hydrobiologia 704, 389-415. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1431-3.

Dolédec, S. and Statzner, B. (2008) Invertebrate Traits for the Biomonitoring of Large European Rivers: An Assessment of Specific Types of Human Impact. Freshwater Biology 53(3), 617-634. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2007.01924.x.

EEA and Whalley, C. (2018) Chemicals in European waters. Knowledge developments. European Environmental Agency, Luxembourg EEA Report No 18/2018, 80.

European Commission (2000) Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy, p. 72, Official Journal of the European Union.

Gieswein, A., Hering, D. and Feld, C.K. (2017) Additive effects prevail: The response of biota to multiple stressors in an intensively monitored watershed. Science of

the Total Environment 593-594, 27-35. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.116.

Holt, M.S. (2000) Sources of chemical contaminants and routes into the freshwater environment. Food and Chemical Toxicology 38, S21-S27. https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00136-2.

Hościło, A. and Tomaszewska, M. (2014) CORINE Land Cover 2012 - 4th CLC inventory completed in Poland. Geoinformation Issues 6, 49-58. https://doi.org/10.34867/gi.2014.4.

Mondy, C.P., Villeneuve, B., Archaimbault, V. and Usseglio-Polatera, P. (2012) A new macroinvertebrate-based multimetric index (I2M2) to evaluate ecological quality of French wadeable streams fulfilling the WFD demands: A taxonomical and trait approach. Ecological Indicators 18, 452-467. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.12.013.

Naïades Accessed on 09/02/2021. http://www.naiades.eaufrance.fr.

Schmidt, T.S., Van Metre, P.C. and Carlisle, D.M. (2019) Linking the Agricultural Landscape of the Midwest to Stream Health with Structural Equation Modeling. Environmental Science & Technology 53(1), 452-462. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04381.

Statzner, B. and Bêche, L.A. (2010) Can biological invertebrate traits resolve effects of multiple stressors on running water ecosystems? Freshwater Biology 55(s1), 80-119. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02369.x.

Usseglio-Polatera, P., Richoux, P., Bournaud, M. and Tachet, H. (2001) A functional classification of benthic macroinvertebrates based on biological and ecological traits: Application to river condition assessment and stream management. Archiv für Hydrobiologie 139, 53-83.

Valette, L., Piffady, J., Chandesris, A. and Souchon, Y. (2012) SYRAH-CE : description des données et modélisation du risque d'altération de l'hydromorphologie des cours d'eau pour l'Etat des lieux DCE. Pôle hydroécologie des cours d'eau Onema/Irstea Lyon, 1-104.

Villeneuve, B., Piffady, J., Valette, L., Souchon, Y. and Usseglio-Polatera, P. (2018) Direct and indirect effects of multiple stressors on stream invertebrates across watershed, reach and site scales: A structural equation modelling better informing on hydromorphological impacts. Science of the Total Environment 612, 660-671. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.197.

CHAPITRE I : ETAT DE L’ART ET OBJECTIFS

1. Evaluation de la pression chimique

1.1. Présentation de la pression chimique

L'eau douce représente 0,01% de l'eau du monde et 0,8% de la surface de la terre (Stendera et al. 2012) mais cette petite fraction inclut au moins 100 000 des 1,8 millions espèces décrites soit 6% des espèces existantes (Dudgeon et al. 2006). De nos jours, les activités anthropiques génèrent de plus en plus de pollution chimique synthétique, susceptible d'affecter les communautés d'eau douce. Cette pression chimique préoccupante est constituée d'un mélange de multiple substances chimiques (polluants métalliques, polluants organiques persistants, polluants émergents, etc.) potentiellement toxiques (Brooks et al. 2020, Evans et al. 2019). Elle est soit représentée par la contamination chimique (mesure du contaminant), soit par la mesure de la toxicité chimique (effet des substances chimiques sur l'organisme). Par contre, la DCE en Europe exige uniquement la surveillance d'une sélection de contaminants chimiques dits prioritaires (European Commission 2000). Des réseaux de surveillance de la contamination chimique dans les eaux de surface existent à cet effet.

1.2. Surveillance de la contamination chimique

Plus concrètement, pour surveiller la pression chimique dans les écosystèmes aquatiques, une surveillance de la contamination chimique et de la toxicité chimique sont requises. La contamination chimique peut être mesurée dans divers matrices (comme l'eau, le sédiment et les capteurs passifs). Les capteurs passifs mesurent les contaminants sur une période de temps plus longue que les mesures ponctuelles dans l'eau et le sédiment. Néanmoins, toutes ces mesures présentent certaines limitations. Notamment, elles ne tiennent pas compte de la fraction biodisponible et bioaccumulable du contaminant potentiellement toxique (Ciliberti et al. 2017). Et les mesures ponctuelles dans l'eau pour certains contaminants se situent souvent sous la limite de quantification retenue en réseau.

Pour mesurer la fraction biodisponible, il a alors été nécessaire de développer des approches qui prennent en compte des mesures de contaminants dosés dans les organismes en parallèle des analyses chimiques dans le milieu (Santana et al. 2018). La prise en considération du biote pour évaluer la contamination chimique dans l'eau est connue et pratiquée depuis les années 1970 (Besse et al. 2013). Il est donc important que la mesure de contaminants dans le biote soit prise en compte dans les

évaluations d'état de la DCE, notamment pour les contaminants qui se bioaccumulent (Besse et al. 2012). La mesure de la contamination chimique par biosurveillance passive se base sur la quantification des contaminants dans des organismes présents dans le milieu. La biosurveillance passive en milieu marin existe également avec le programme *the Mussel Watch* aux Etat-Unis d'Amérique et en France avec le ROCCH (Réseau d'Observation de la Contamination CHimique du littoral). Cependant, le suivi de la contamination via la biosurveillance passive ne permet pas toujours des comparaisons entre sites différents géographiquement notamment lorsque les organismes utilisés sont spécifiques à certains milieux. Il existe également des facteurs de variabilité comme le temps d'exposition, l'âge et la taille qui entrent en jeu et compliquent les interprétations (Besse et al. 2013, Besse et al. 2012).

De ce fait, la biosurveillance active a été proposée et recommandée par la DCE pour mesurer la contamination chimique dans des organismes calibrés transplantés dans le milieu. Cette méthode consiste à la translocation d'organismes d'un milieu à un autre *in situ* (Wepener 2013). Elle a été inspirée des mesures de dépuration de contaminants par des organismes transplantés d'un site contaminé à un site non contaminé. Mais actuellement, la biosurveillance active se base sur la transplantation d'organismes standardisés d'un milieu non contaminé à un milieu contaminé. L'objectif étant la quantification de la contamination chimique biodisponible (Ciliberti et al. 2017), potentiellement toxique et la comparaison pour différents sites de suivi et à différentes saisons (Besse et al. 2013, Coulaud et al. 2011, Wepener et al. 2005).

La biosurveillance active présente aussi l'atout de quantifier les concentrations souvent sous la limite de quantification dans les échantillons d'eau et de tenir compte de la fraction biodisponible (Ciliberti et al. 2017). Il existe dans la littérature des comparaisons entre méthodes : ainsi Uher et al. (2018) ont mis en œuvre des mesures de contamination métallique par capteur passif par diffusion (DGT), par biosurveillance active avec des gammares encagés et par prélèvements d'échantillons d'eau. Les encagements de gammares ont donné la mesure la plus forte en contamination et ont permis de discriminer les sites pollués en plomb et cadmium. Le capteur passif a donné plus d'information que la mesure ponctuelle dans l'eau mais moins d'information que celle obtenue par biosurveillance active. La biosurveillance active présente aussi un atout par rapport à la biosurveillance passive, car les organismes du milieu ont dans une certaine mesure pu s'adapter au contaminant alors que dans la biosurveillance active ils n'ont pas été exposés auparavant aux conditions du milieu (Lu et al. 2010,

Wepener 2013). Elle permet aussi surtout la réduction des sources de variabilité en lien avec les facteurs biotiques, car les organismes sont standards et dotés de caractéristiques physiologiques similaires (Coulaud et al. 2011, Santana et al. 2018).

Les mesures de la biosurveillance active sont pratiquées avec différentes sondes biologiques. Initialement l'huitre a été étudiée comme sonde d'accumulation de métaux (pour le cuivre et le zinc) par la disparition de ces substances dans l'organisme (Ikuta 1968). Ensuite, l'utilisation des moules a été adoptée pour la surveillance de la contamination chimique dans les eaux côtières au milieu des années 1970 en les transplantant d'une population avec un niveau de contaminants faible jusqu'à des eaux polluées (De Kock 1983). Les moules sont connues pour l'accumulation de contaminants chimiques dans leurs tissus, permettant la surveillance de l'impact des sources de contamination (Takesue et al. 2019). Les métaux et les composés organiques ont été mesurés dans les moules en Méditerranée (Andral et al. 2004). La biosurveillance active existe aussi pour d'autres organismes comme les poissons. Par exemple, des poissons *Carassius auratus* ont été des sondes de biosurveillance active dans des zones connues comme étant contaminées (4 sites dans le Taihu Lake) (Lu et al. 2010). Dans une autre étude, des analyses chimiques de muscles de poissons ont montré des concentrations élevées en métaux à proximité des industries et des environnements dégradés (Santana et al. 2018).

Le gammare *Gammarus fossarum* est un crustacé utilisé aussi en biosurveillance active pour mesurer la contamination chimique biodisponible dans les cours d'eau (Besse et al. 2013). Il est considéré comme une espèce sentinelle, c'est-à-dire permettant la surveillance chimique des polluants comme les pesticides ou les micropolluants (Brettschneider et al. 2019b, Ciliberti et al. 2017). Il a l'avantage d'être ubiquiste dans les rivières d'Europe de l'Ouest avec une abondance importante (Besse et al. 2013, Brettschneider et al. 2019a, Kunz et al. 2010, Urien et al. 2016). Sa physiologie est bien connue et le protocole d'encagement dans le milieu a été établi (Besse et al. 2013). Pour mesurer la contamination chimique, seuls les gammares mâles, de même taille et de la même population issue d'un milieu non contaminé sont encagés pour réduire la variabilité (Besse et al. 2013, Coulaud et al. 2011). Pour les expositions mesurant la contamination chimique, la fraction assimilée par le gammare est essentiellement dissoute (Besse et al. 2013). Les gammares ont été utilisés pour la quantification des métaux et des contaminants organiques biodisponibles (Ciliberti et al. 2017). La Figure I.1 représente le dispositif d'encagement de gammares dans le

milieu et une microscopie de *Gammarus fossarum*. Les mesures *in situ* via le gammare permettent d'évaluer les sources de contaminants provenant par exemple de stations d'épuration ou d'industries (Figure I.2).

Figure I.1: Dispositif d'encagement de gammare sur le terrain (INRAE).

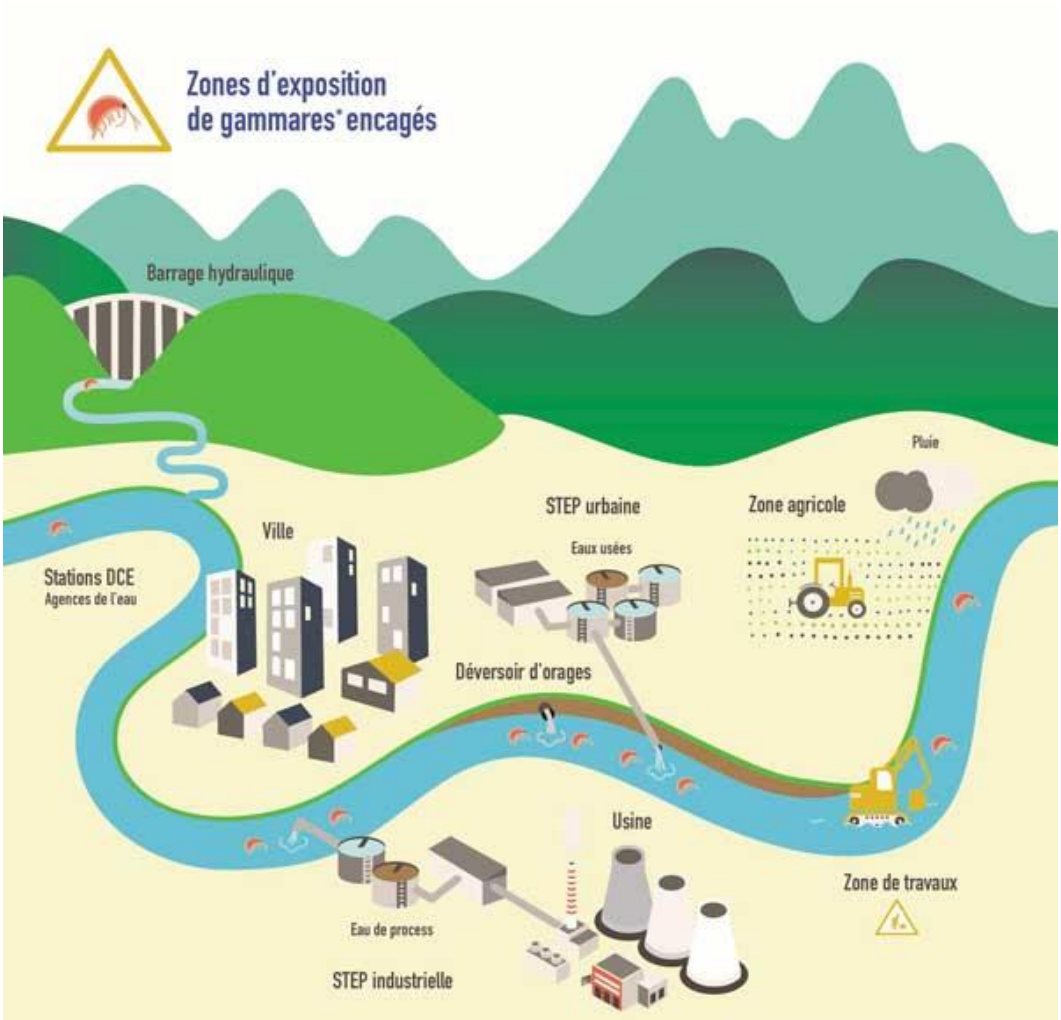


Figure I.2: Les encagements de gammares à proximité des sources de pollution (Figure issue de la publication de Laurence de Monreseaudeau.fr disponible depuis 2019 sur : www.monreseaudeau.fr).

Les encagements de gammares sont exposés dans le milieu pour une période d'une semaine ou de trois semaines. A concentrations constantes en métaux dans le milieu, il n'existe pas de différence de concentrations en métaux entre une semaine et trois semaines d'exposition pour 80% des sites (Geffard et al. 2014). Une exposition d'une semaine est alors représentative d'une exposition plus longue de trois semaines. Les quelques variations de bioconcentrations sur quelques sites entre une semaine et trois semaines d'exposition peuvent être dues à une variabilité de la contamination chimique dans le milieu. Pour plus de 60% des composés organiques (surtout les PCBs) le même profil de bioconcentration existe entre une semaine et trois semaines d'exposition, avec une possible augmentation à la troisième semaine (Recoura-Massaquant et al. 2014). Dans plusieurs sites (plus de 75% des cas), l'accumulation en composés organiques dans le gammare est représentative d'une exposition longue de trois semaines.

1.3. Surveillance de la toxicité chimique

La contamination en substances chimiques est liée à la toxicité chimique. La biosurveillance active permet la mesure de la toxicité chimique dans le milieu par des métriques comme la toxicité chimique létale et la toxicité chimique sublétale (Santana et al. 2018). Ces mesures sont les réponses du biote vis-à-vis de la qualité de l'eau (Wepener 2013). Parmi les métriques de toxicité chimique sublétale, le taux d'alimentation du gammare a été utilisé pour évaluer la qualité des eaux (Coulaud et al. 2011). L'inhibition de l'alimentation présente l'atout de mesurer une réponse sensible (Kunz et al. 2010). Chez les invertébrés, la modification du taux d'alimentation est le premier indicateur observable de pollution. La réduction du taux d'alimentation par les toxiques peut induire une réduction de la croissance, de la taille, de la fécondité et de la survie des individus. Pour des sites contaminés en métaux, l'encagement de gammares a permis d'évaluer une altération de l'activité enzymatique digestive (Dedourge-Geffard et al. 2009). Ainsi, l'inhibition de l'alimentation a été utilisée comme métrique de surveillance de la toxicité des effluents de fermes, des pesticides, des stations d'épuration, des effluents de mines, des industries et des lessivages (Besse et al. 2013). La pollution chimique agit également négativement sur la survie et donc peut induire la mortalité des gammares. Les effets des toxiques sur la survie ont été examinés dans de nombreuses études. Etudier plusieurs biomarqueurs de toxicité chimique donne une idée globale des impacts de l'exposition à des polluants (Santana

et al. 2018). Les biomarqueurs peuvent répondre différemment en fonction des classes de contaminants.

2. Identification des pressions anthropiques

2.1. Cadres d'évaluation des multi-pressions

En écotoxicologie, les recherches ont été axées essentiellement sur la pression chimique. Or, dans le milieu cette pression chimique est liée à de multiples pressions anthropiques et devrait être étudiée en parallèle de ces autres pressions. En effet, les écosystèmes aquatiques sont actuellement de plus en plus exposés à de multiples pressions anthropiques à différentes échelles, menaçant la santé des écosystèmes et de surcroit celle des humains (Allan 2004, Brooks et al. 2020, Hering et al. 2015, Lemm and Feld 2017, Namba et al. 2020, Smith et al. 2015). Chaque pression est constituée d'un ou de plusieurs stresseurs. Comprendre comment les stresseurs interfèrent et impactent sur la réponse écologique des écosystèmes est donc essentiel pour développer des plans de gestion des bassins et mettre en place des lois environnementales efficaces (Allan 2004, Hering et al. 2015). Actuellement, la compréhension des effets de multiples pressions est un domaine de recherche en forte croissance au travers de nombreuses études (Lemm and Feld 2017). Le développement d'approches intégrant le concept ou la notion de multi-pressions est désormais recommandé par rapport aux études plus sectorielles des effets de chaque stresseur sur le biote (Gieswein et al. 2017). Les modèles étudiant les effets des pressions dans les lacs avec multiples stresseurs ont un pouvoir explicatif supérieur à celui des modèles réduits à un stresseur (Nõges et al. 2016). Ainsi, pour développer des approches multi-pressions, des cadres d'évaluation sont définis pour guider l'évaluateur dans la définition de facteurs importants à considérer.

L'institut national de la santé publique et de l'environnement (RIVM) aux Pays-Bas a proposé la stratégie d'évaluation intégrée de l'environnement tenant compte des pressions. Ce concept DPSIR (*Driving forces, Pressures, State, Impact and Response*) fait la distinction entre les forces motrices, les pressions, les états, les impacts et les réponses (Feld et al. 2016, Kristensen 2004). Les forces motrices (*driving forces* en anglais) concernent des grands types d'activités humaines (comme l'agriculture et l'urbanisation). Les pressions sont les émissions et les rejets engendrés par les forces motrices. Les états sont les états physiques, chimiques et biologiques. Les impacts sont ceux sur les écosystèmes. Et les réponses concernent les priorités

d'actions. La Figure I.3 issue de Kristensen (2004) illustre bien le cadre DPSIR avec des exemples pour chaque facteur. Le schéma « forces motrices, pressions, état, impacts et réponses » présente alors un cadre conceptuel pour évaluer les effets des pressions (Cinnirella et al. 2013), sur lequel s'est largement appuyée la DCE. Nous prenons l'exemple des zones à forte activité humaine (agriculture, urbanisation et industries) : elles peuvent avoir un impact à la fois sur la physico-chimie, sur les caractéristiques hydrologiques et morphologiques des cours d'eau par la modification des flux hydriques et le transport de sédiments, sur l'enrichissement en nutriments, sur la pollution toxique, sur la continuité et l'emprise de la ripisylve (végétation à proximité du cours d'eau) et sur l'habitat (suppression et perte de qualité) (Villeneuve et al. 2018). Plusieurs auteurs comme Villeneuve et al. (2018) ont adopté le concept DPSIR et quantifié les effets de la force motrice occupation du sol et des pressions (altérations hydromorphologiques et enrichissements en nutriments et matières organiques) sur l'état des communautés de macroinvertébrés benthiques.

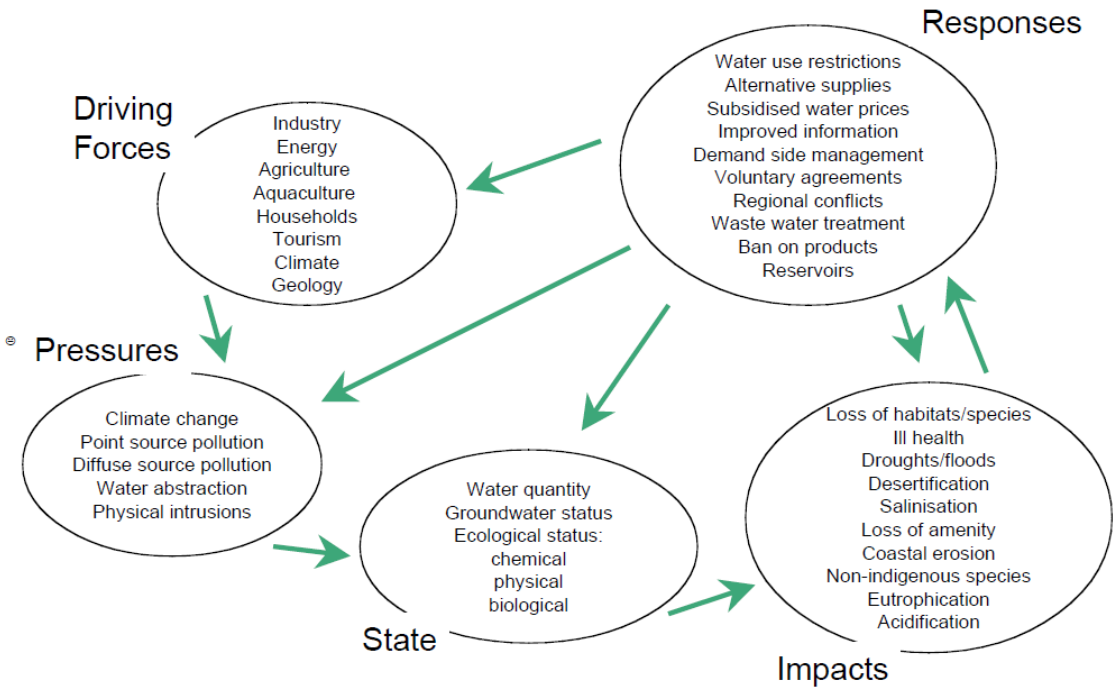


Figure I.3 : Schéma conceptuel du cadre DPSIR avec des exemples de forces motrices, pressions, état, impacts et réponses (issu de Kristensen (2004)).

Des nuances de ce cadre DPSIR ont été apportées. Le cadre conceptuel de DPSCR$_4$ (*Drivers, Pressures, Stressors, Condition, Responses*) appliqué au Mexique a été développé (Harwell et al. 2019). Dans le DPSCR$_4$, une force motrice est une force fondamentale naturelle ou anthropique, souvent à une grande échelle et à long

terme. Une pression est une activité humaine qui peut générer des stresseurs. Un stresseur est le résultat mesurable d'une pression anthropique et la cause d'une perturbation (Niemi et al. 1990, Statzner and Bêche 2010), il est également ce que l'écosystème expérimente directement et peut causer un effet écologique. Il est défini comme une variable qui résulte de l'activité humaine et qui excède le taux de variation normale et qui affecte positivement ou souvent négativement les taxa, la composition de la communauté ou le fonctionnement de l'écosystème (Feld et al. 2016, Nõges et al. 2016, Piggott et al. 2015). Des stresseurs variés touchent aux composantes chimiques, physiques et biologiques de l'écosystème et peuvent dégrader les assemblages de macoinvertébrés des cours d'eau (Paulsen et al. 2008). La condition écologique est l'état de l'écosystème. Les réponses dans ce cadre sont sociétales et écologiques visant à réduire, remédier, restaurer et réhabiliter les milieux.

2.2. Les sources de la contamination chimique

Dans le milieu, la pression chimique est liée à des pressions considérées comme des sources de contamination. Les sources sont soit ponctuelles (déversement du contaminant directement dans le cours d'eau par le réseau d'eaux usées domestiques, les effluents industriels, les déversements accidentels, l'exploitation minière et les déversoirs d'orage), soit diffuses dans le bassin versant (Holt 2000). Le ruissellement (excès de pluie qui ne s'infiltre pas dans le sol) et l'érosion sont des facteurs supplémentaires propices au transfert des contaminants qui s'accentuent avec les grandes pluies et en fonction de l'état de saturation des sols ou de leur taux d'imperméabilisation. Les stations d'épuration ont pour fonction de réduire les matières organiques, les nutriments et les micropolluants des eaux usées. Cependant, de nombreux éléments comme les métaux et les médicaments peuvent persister même après le traitement (Arce Funck et al. 2013, Oursel 2013).

Les métaux sont des composés avec des effets sur la santé humaine (neurotoxiques, carcinogènes, mutagènes ou tératogènes) (Verma and Dwivedi 2013) et celle d'organismes aquatiques comme les invertébrés (Sewwandi et al. 2011). Ce sont des composés d'origine naturelle issue de la croute terrestre, on parlera alors de fond géochimique, mais les activités humaines ont aussi contribué énormément à des rejets de métaux dans les eaux douces (Oursel 2013, Urien et al. 2017, Verma and Dwivedi 2013). Les sources anthropiques sont les industries, les rejets des stations

d'épuration, les activités agricoles, les exploitations minières et les décharges (Oursel 2013, Sewwandi et al. 2011, Tchounwou et al. 2012).

Les contaminants organiques sont trouvés dans le milieu généralement en petites quantités mais ils ont des effets significatifs sur les écosystèmes (Warren et al. 2003) du fait de leur persistance. Ils sont constitués des substances comme les HAPs, les PCBs, les pesticides, etc. Plus spécifiquement, les HAPs sont issus des transports, des déversements accidentels des voitures et de la combustion d'énergie fossile (Warren et al. 2003). Cette combustion libère aussi des polluants persistants comme les PCBs. Les sédiments fins piègent les contaminants organiques et sont considérés comme des vecteurs de transfert des contaminants. Depuis les années 1980, les PCBs ne sont plus utilisés en Europe (Diamond et al. 2010) mais ils peuvent se retrouver dans des décharges anciennes et des anciens matériaux (Dendievel et al. 2019), des zones urbaines, dans l'air, le sol, l'eau (Martinez et al. 2015), les sédiments et le biote. Les rejets urbains (déversoirs d'orage) sont également des sources (Amiard et al. 2016). Ils peuvent être concentrés dans les boues épandues dans les terres agricoles. Sept PCBs sont définis comme des PCBs indicateurs (Babut et al. 2009).

2.3. Exemples de multi-pressions

La pression chimique est liée au fonctionnement du cours d'eau, constitué de multiples pressions identifiées. Tout d'abord l'occupation du sol a été décrite comme une force motrice s'accompagnant de diverses pressions (Corneil et al. 2018). Cette force motrice est relative à plusieurs modes d'occupation du sol comme l'urbanisation, les mines, l'agriculture intensive et la déforestation (Burcher et al. 2007, Matthaei et al. 2010), à l'origine de pollutions diffuses. S'y ajoutent des pressions chimiques plus ponctuelles comme les stations d'épuration (Katerji and Hoflack 2004) et les déversoirs d'orage (Weber et al. 2018). L'occupation du sol agricole et urbaine ont souvent été identifiées comme des pressions larges-échelles à effet dominant (Lemm and Feld 2017). En effet, l'occupation du sol anthropique affecte la qualité de l'eau (Leopold 1968) via l'augmentation du carbone, des nutriments et d'autres contaminants déversés dans les rivières (Craig et al. 2017, Kaushal et al. 2014). Le milieu urbain inclut aussi des industries et des rejets des stations d'épuration (Segurado et al. 2018). D'ailleurs, les sédiments sont plus nombreux en zones urbaines quand les sols s'érodent et les ruissellements augmentent dans des zones qui ne sont pas protégées par un couvert végétal (Leopold 1968). L'agriculture quant à elle conduit à une

augmentation des nutriments de type azote et phosphore dans les cours d'eau (Matthaei et al. 2010). Par la suite, les concentrations en oxygène dissous sont modulées par les effluents des rejets agricoles riches en matières organiques (Maltby 1995). De plus, l'agriculture est aussi susceptible d'augmenter l'érosion du bassin versant et la charge particulaire (sédimentation) des cours d'eau (Turunen et al. 2016). Ces activités agricoles induisent une érosion des berges et une augmentation de la sédimentation et, une altération de la géomorphologie des habitats ripariens (Rios and Bailey 2006). L'impact des zones artificielles ou arables a aussi été négatif (Wasson et al. 2010). Contrairement à l'impact de l'urbanisation et de l'agriculture sur les réponses biologiques, l'occupation du sol des zones naturelles est souvent associée à un meilleur statut écologique (Grizzetti et al. 2017). Les forêts et les pâturages ont un rôle positif dans de nombreuses régions, agissant comme des zones tampons et protectrices contre les pressions et donc conduisant à un effet positif sur les communautés notamment d'invertébrés.

Les changements hydromorphologiques, liés à la forme et au fonctionnement des cours d'eau, constituent également des pressions quand ils vont dans le sens de la dégradation (Birk et al. 2020). Les modifications morphologiques des rivières peuvent être dues à l'expansion du lit, la rectification, les barrages (Weber et al. 2018) et, les changements de flux liquides et solides (Corneil et al. 2018, Matthaei et al. 2010). Un cours d'eau qui est élargi se caractérisera par plus d'instabilité des berges non végétalisées lors des crues ou un colmatage important de dépôts qui s'accumulent. Les zones ripariennes peuvent agir comme un espace tampon vis-à-vis des cours d'eau, en piégeant les sédiments, les nutriments et d'autres contaminants (Kaushal et al. 2014, Rios and Bailey 2006).

La pollution est aussi une pression importante sur les écosystèmes (Corneil et al. 2018, Grizzetti et al. 2017). Le terme pollution est souvent associé à une pollution en nutriments (le nitrogène, le phosphore, etc.) et en substances chimiques comme les pesticides (Matthaei et al. 2010, Segurado et al. 2018, Weber et al. 2018). Des stresseurs comme la pollution organique et les nutriments induisent des impacts importants sur les écosystèmes (Birk et al. 2020). L'eutrophisation due à un enrichissement en nutriments figure dans 71% à 98% des études de multi-stresseurs pour les eaux de surface (Nõges et al. 2016). La pression des nutriments peut co-varier avec la pression hydromorphologique au niveau des cours d'eau (Nõges et al. 2016) et induire un manque en oxygène. La précipitation peut être un vecteur de

transfert de stresseurs comme les contaminants issus des milieux urbains. Des changements dans la précipitation et les ruissellements pendant une tempête contribuent à l'arrivée au cours d'eau de carbone, de nutriments et de contaminants des paysages agricoles et urbains imperméabilisés (Kaushal et al. 2014).

2.4. Fonctionnement du cours d'eau à multi-échelles

Les multiples pressions anthropiques affectent les cours d'eau à différentes échelles spatiales emboitées (Allan 2004, Dahm et al. 2013, Kail and Wolter 2013). Le fonctionnement des cours d'eau est en effet organisé selon une hiérarchie d'échelles spatiales allant de l'échelle régionale à celle du micro-habitat passant par le bassin versant et le tronçon (Villeneuve et al. 2018, Villeneuve et al. 2015). La Figure I.4 issue de Steele et al. (2010), qui reprend la hiérarchie décrite par Frissell et al. (1986), met en avant les différentes échelles du bassin versant, du cours d'eau, du tronçon et de l'habitat. Cette figure met aussi en évidence l'association des facteurs physiques, hydrologiques, de qualité de l'eau et biologiques à ces échelles. Par exemple, l'érosion et le ruissellement peuvent être étudiés à des échelles larges comme le bassin versant et le cours d'eau. Il faudrait étudier les relations de cause à effet à des échelles fines et également à des échelles larges pour pouvoir comprendre mieux les cascades d'effets (Soranno et al. 2014, Vörösmarty et al. 2010). Et même tenir compte des échelles spatiales intermédiaires (Burcher et al. 2007) qui représentent un passage de l'échelle locale à large (Cheruvelil et al. 2013). Ainsi, Kail and Hering (2009) proposent la prise en compte de l'échelle du tronçon amont en plus de l'habitat local et du bassin versant pour étudier l'effet de la morphologie sur l'état écologique.

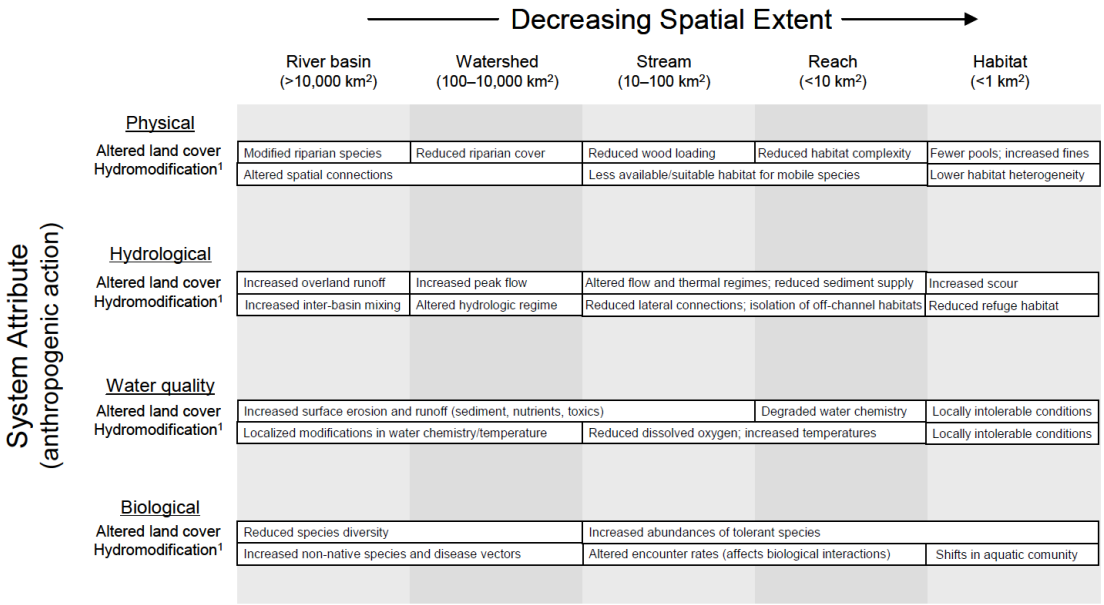


Figure I.4: Pressions physiques, hydrologiques, qualité de l'eau et biologiques à différentes échelles. [1]Hydromodification inclut tout facteur qui modifie ou altère le flux. (Figure issue de Steele et al. (2010)).

Les pressions anthropiques à l'échelle large du bassin versant peuvent avoir des répercussions aux plus petites échelles, intégrer plusieurs types de pressions et influencer la viabilité des écosystèmes (Corneil et al. 2018, Frissell et al. 1986, Norris et al. 2007, Villeneuve et al. 2018). Par exemple, selon Norris et al. (2007) les caractéristiques du bassin versant affectent l'hydrologie locale, les fonctionnalités de l'habitat, la qualité de l'eau, et finalement le biote. Savoir quelle pression affecte la biologie et à quelle échelle permettrait d'identifier les effets des facteurs anthropiques et demeure essentiel pour la gestion et la restauration des rivières dégradées (Kail and Wolter 2013, Rios and Bailey 2006). Les écologues se sont alors de plus en plus intéressés à l'étude des processus écologiques à de multiple échelles spatiales et temporelles (Soranno et al. 2014), mais l'accessibilité aux données à des échelles spatiales larges reste un défi majeur (Stendera et al. 2012).

3. Liens entre les pressions et la biologie

3.1. Nécessité de compréhension des liens entre les pressions et les réponses biologiques

Ces pressions anthropiques, incluant la contamination chimique et/ou la toxicité chimique, ont des impacts sur les communautés biologiques. La DCE envisage la réduction des pressions et l'atteinte du bon état écologique de tous les cours d'eau européens, ce qui passe nécessairement par une compréhension des liens entre les

pressions et l'état écologique des cours d'eau (Corneil et al. 2018). Il est alors important d'élaborer des approches dites pressions-impacts quantifiant les impacts des pressions, pour des gestions efficaces (Ormerod et al. 2010). Quatre types d'évaluations ont alors été proposées : l'évaluation des pressions chimiques, physiques et biologiques ; l'identification des cascades de causes en identifiant les sources des altérations ; l'évaluation prédictive ; et les résultats des décisions d'action (Figure I.5 extraite de l'article Cormier and Suter (2008)). Les liens entre les multi-pressions et le statut écologique des rivières ont déjà fait l'objet de quantification. Toutefois, évaluer l'impact de multi-pressions sur les écosystèmes aquatiques et comprendre leurs effets combinés sur l'état écologique demeure un défi, notamment à grande échelle.

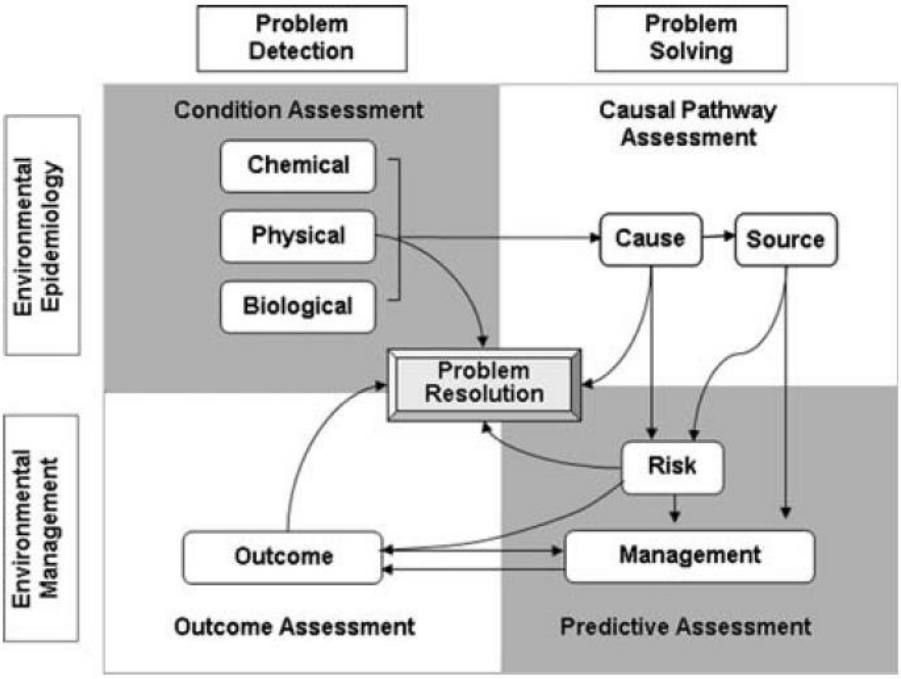


Figure I.5: Cadre conceptuel de l'évaluation des pressions chimiques, physiques ou biologiques, la définition des liens causaux ou des sources, l'évaluation des risques et le succès des propositions de gestions. (Figure issue de Cormier and Suter (2008)).

3.2. Les réponses des communautés

Les réponses des communautés sont généralement étudiées par des bioindicateurs aquatiques (Donohue et al. 2006, Namba et al. 2020, Statzner and Bêche 2010). Les organismes qui composent ces communautés répondent aux pressions comme la pollution, l'enrichissement en nutriments, la perte d'habitat ou la surexploitation (Birk et al. 2012). Les invertébrés d'eau douce, souvent utilisés, ont une

distribution large et peuvent présenter des abondances fortes (Weiss and Leese 2016). Selon leur famille d'appartenance, ils effectuent tout ou une partie de leur cycle en eau douce, avec des cycles de vie variables allant d'une à plusieurs générations, et une variété d'espèces ayant des sensibilités différentes aux polluants (Namba et al. 2020). La sensibilité des macroinvertébrés benthiques et leur durée de vie permet de prendre en compte les changements au fil du temps (Dolédec et al. 2011, Jones and Leather 2012, Nkwoji et al. 2020) tel qu'ils peuvent répondre plus rapidement à des pressions que d'autres taxa (Segurado et al. 2018). Un autre atout des macroinvertébrés benthiques pour l'évaluation de la qualité de l'eau est la diversité des formes, des préférences d'habitats, des préférences alimentaires variées et des réponses aux stresseurs (Jones and Leather 2012, Usseglio-Polatera et al. 2001). Ils sont aussi facilement échantillonnables (Jones and Leather 2012). Les polluants peuvent influencer directement ou indirectement les invertébrés notamment au niveau de leur diversité. Par exemple, la contamination en éléments traces métalliques peut induire une perte d'invertébrés. Les invertébrés benthiques répondent aussi à la carence en oxygène et aux apports en nutriments (Gieswein et al. 2017).

La DCE requiert l'utilisation de bioindicateurs pour évaluer la qualité des milieux. Ces indicateurs sont soit des indicateurs généraux de l'état écologique soit spécifiques à certaines fonctions des communautés. Pour les indicateurs généraux, cette évaluation de la qualité des cours d'eau se base souvent sur la comparaison des éléments biologiques entre une condition de référence établie, théorique ou modélisée et la condition observée. L'indice longtemps en vigueur en France depuis les années 80 a été l'IBGN (Indice Biologique Global Normalisé) (Corneil et al. 2018), qui répond beaucoup à l'altération du cycle de la matière organique. L'I_2M_2 a été développé, dans la dynamique de la DCE pour d'une part répondre aux nouvelles exigences méthodologiques, mais surtout pour prendre en charge un spectre plus large de réponses aux altérations multiples rappelées ci-avant. C'est un indice macroinvertébrés multi-métrique évaluant la qualité écologique des cours d'eau français en se basant sur des approches taxonomiques et de traits (Mondy et al. 2012). Cet indicateur est spécifique à 17 pressions anthropiques (relatives à la qualité de l'eau et la dégradation de l'habitat). Il est constitué de l'indice de diversité de Shannon, le score ASPT (*Average Score Per Taxon*), l'abondance relative de taxa polyvoltins, l'abondance relative de taxa ovovivipares et la richesse taxonomique. L'intérêt de disposer d'un indicateur multi-métrique réside dans sa capacité à mieux discriminer

les réponses des communautés benthiques à différentes catégories de pressions. Il présente une amélioration dans la détection de cours d'eau perturbés par des pressions, en comparaison à l'IBGN utilisé auparavant. Il se base sur 12 échantillons dans le cours d'eau avec quatre échantillons pour les habitats marginaux et huit échantillons pour les habitats majeurs. Les valeurs proches de 1 sont attribuées pour les cours d'eau proches de la référence et les valeurs proches de 0 pour un état écologique mauvais.

Les approches relatives aux communautés basées initialement sur la taxonomie, se sont enrichies au fil du temps par des approches plus fonctionnelles intégrant les propriétés des traits des organismes. L'utilisation des traits pour évaluer les effets des stresseurs sur les écosystèmes lotiques ont longuement été utilisés (Statzner and Bêche 2010). Un trait est la performance de l'organisme et un trait fonctionnel est un trait qui impacte la *fitness* via des effets sur des métriques comme la croissance, la reproduction et la survie (Dolédec and Statzner 2010, Violle et al. 2007). Plus spécifiquement, les traits biologiques sont des variables décrivant les caractères biologiques des organismes (taille, morphologie, cycle de vie, etc.) (Statzner and Bêche 2010) et les traits écologiques sont en relation avec l'environnement (préférence du substrat, de salinité, de pH, etc.). Les traits peuvent être appliqués à des échelles larges (Demars et al. 2012, Dolédec et al. 2011) et répondent à des multi-pressions (Archaimbault et al. 2010, Poff et al. 2010, Van den Brink et al. 2011, Verberk et al. 2013). Par exemple, les traits biologiques répondent à l'occupation du sol à l'échelle du bassin versant. Mais ils peuvent aussi discriminer certaines formes de pollution métallique (Dolédec and Statzner 2008). Les traits biologiques et écologiques des macroinvertébrés benthiques ont été définis (Tachet et al. 2000, Usseglio-Polatera et al. 2001). Les variations spatio-temporelles auxquelles sont soumis les habitats agissent sur les organismes, sélectionnant les traits qui maximisent la *fitness* (Archaimbault et al. 2005). En conséquence, les communautés exposées aux mêmes conditions environnementales présentent majoritairement la même combinaison de traits. Les combinaisons de traits peuvent alors être spécifiques à certaines natures de stresseurs. Les liens entre les traits biologiques et les stresseurs multiples font l'objet de recherches qui se sont accentuées (Statzner and Bêche 2010). En présence de stresseurs, l'habitat joue le rôle d'un filtre de traits, c'est-à-dire que certaines modalités de traits peuvent être sélectionnées en fonction des conditions du milieu (Figure I.6).

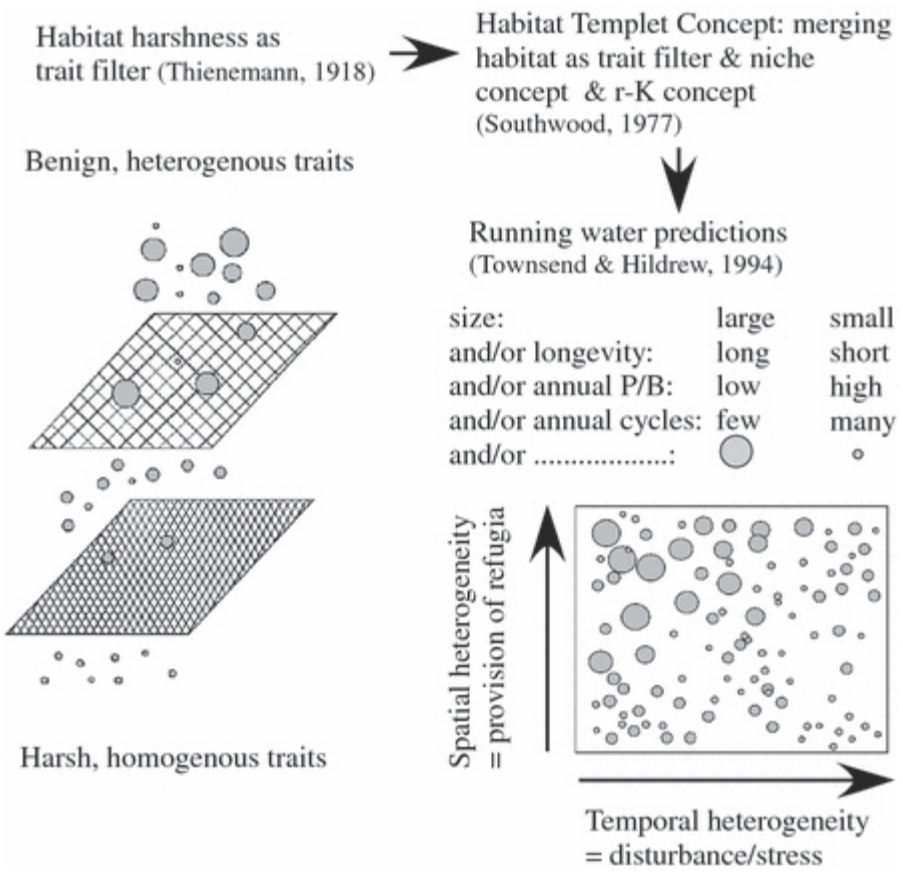


Figure I.6: Principes théoriques en écologie sur l'utilisation des traits biologiques dans l'évaluation des effets des stresseurs. (Figure issue de Statzner and Bêche (2010)).

D'ailleurs, la prise en considération des traits complète avantageusement les approches taxonomiques initiales sur la structure des communautés. Les descriptions fonctionnelles des communautés peuvent ainsi être comparées sous différentes conditions environnementales et même dans les régions biogéographiques différentes qui diffèrent en fonction de leur composition taxonomique (Dolédec et al. 2006, Dolédec et al. 2011, Verberk et al. 2008, Verberk et al. 2013).

3.3. Quantification des liens entre les pressions anthropiques et les réponses biologiques

Plusieurs études pressions-impacts ont quantifié les impacts de multiples pressions sur les communautés aquatiques ainsi que les combinaisons entre les pressions afin d'orienter les actions de gestion vers les pressions dominantes. Les forces motrices et pressions qui sont souvent étudiées sont les suivantes : l'occupation du sol, l'altération hydromorphologique et la pression physico-chimique, très souvent

en lien avec les apports en nutriments. Néanmoins, peu de ces approches intègrent la pression chimique.

Concernant l'occupation du sol, de plus en plus d'études s'intéressent à l'identification et la quantification des liens entre l'occupation du sol et les caractéristiques des écosystèmes aquatiques (Lucero et al. 2011). La covariation entre l'occupation du sol et le contexte naturel comme la géologie ont été mesurées pour 281 tronçons. Cette étude met en avant la variation de ces relations en fonction des échelles. Lorenz and Feld (2013) ont étudié la relation entre l'occupation du sol et l'état écologique de rivières pour 46 sites en Allemagne, et ont trouvé des relations fortes dans le sens d'une augmentation de l'impact, quand ils prenaient en compte une échelle d'influence jusqu'à 5 km en amont du site. Dans plusieurs études, l'augmentation de l'occupation du sol agricole et urbaine est liée à une dégradation des habitats et de l'état des communautés aquatiques (Allan 2004).

D'autres travaux se sont intéressés aux impacts des modifications hydromorphologiques sur les réponses biologiques. Gieswein et al. (2017) ont étudié l'effet de 12 stresseurs anthropiques sur la faune aquatique pour 1095 sites en Allemagne. Ils ont montré que les stresseurs physiques avaient le plus d'impact, tout en insistant sur la nécessité de mieux décrire les caractéristiques de l'hydromorphologie à l'échelle adéquate. Par ailleurs, les relations entre la végétation riparienne et la structure des communautés de macroinvertébrés ont été déterminées à différentes échelles pour 33 sites dans l'Ontario (Rios and Bailey 2006). Dans cette étude, la richesse taxonomique et la diversité des communautés de macroinvertébrés sont au maximum quand la couverture végétale est maintenue.

Plusieurs études concernent plus spécifiquement les effets des apports en nutriments. Ainsi, ces effets des nutriments sur les algues et les macroinvertébrés ont été décrits pour 30 sites aux Etats-Unis d'Amérique et ont mis en évidence un effet négatif dominant des fortes concentrations en nutriments (Waite 2014). Une étude de plus grande envergure a été conduite pour 797 rivières d'Irlande (Donohue et al. 2006). La morphologie, la géologie et la couverture du sol du bassin versant influencent les structures des communautés.

D'autres études ont cherché à comparer les effets combinés des pressions occupation du sol, des modifications hydromorphologiques et apports en nutriments sur les réponses biologiques. Villeneuve et al. (2015) ont conduit une telle étude pour 1100 sites en France, la réponse biologique étant représentée par l'I_2M_2. Les

nutriments et les matières organiques ainsi que l'occupation du sol influençaient le plus sur l'I_2M_2 tel que plus ils augmentaient, plus l'I_2M_2 s'éloignait de l'état de référence. Villeneuve et al. (2018) ont enrichi ultérieurement ce premier travail : les effets directs et indirects de multi-stresseurs sur les communautés d'invertébrés des cours d'eau pour 1200 sites ont été quantifiés suivant les échelles du bassin versant, du tronçon et du site. Les variables sont l'occupation du sol intensive des bassins versants, les altérations hydromorphologiques des bassins versants, les altérations hydromorphologiques à l'échelle du tronçon, les fortes concentrations de nutriments et de matières organiques à l'échelle du site et les caractéristiques du substrat au niveau du site, qui influencent négativement l'I_2M_2. Les nutriments et les matières organiques ont le plus d'effets directs sur l'I_2M_2 et l'hydromorphologie a un effet indirect majeur sur l'I_2M_2. Par ailleurs, dans l'étude de Gieswein et al. (2017) qui concerne 1095 sites dans les bassins montagneux en Allemagne, 12 stresseurs avec 3 groupes de stresseurs ont été étudiés : l'occupation du sol riparienne, la qualité de l'habitat physique et l'enrichissement en nutriments. Dans cette étude, 21 métriques biologiques ont été calculées pour différents groupes d'organismes (les poissons, les invertébrés benthiques et les macrophytes aquatiques). La dégradation de l'habitat riparien était le stresseur le plus dominant sur la faune. Dahm et al. (2013) concluent dans le même sens, pour les effets de quatre stresseurs hydromorphologique, physico-chimique, occupation du sol des corridors et du bassin sur les communautés, étudiés pour 2302 sites en Allemagne et en Autriche.

Parmi ces études pressions-impacts, plusieurs se sont intéressées à des aspects plus fonctionnels en travaillant sur les effets des pressions sur les traits. Par exemple, 12 sites ont été choisis pour étudier l'influence des types de géologie sur les traits des communautés macrobenthiques (Archaimbault et al. 2005). Au sein d'une même zone biogéographique, les communautés avaient les mêmes profils bio-écologiques.

Les pressions peuvent interagir et produire des effets écologiques (Segurado et al. 2018, Spears et al. 2021) souvent non considérés dans les modèles et donc non quantifiés (Lemm and Feld 2017, Pilière et al. 2014, Segurado et al. 2018). Il existe des études expérimentales qui tentent d'analyser les effets combinés des pressions. Matthaei et al. (2010) montrent un effet prépondérant des sédiments notamment à plus faible débit dans des canaux artificiels où étaient combinés les sédiments, l'enrichissement en nutriments et le débit de l'eau. Piggott et al. (2012) ont ajouté la

variation de la température de l'eau au même type d'expérimentation. Ils montrent que deux interactions se produisent entre d'une part les sédiments et la température et d'autre part, les nutriments et la température.

Cette présentation d'exemples d'études pressions-impacts, étudiant les effets des pressions sur l'état des communautés et leurs fonctions, montre que les recherches dans ce domaine ne font pas encore une part suffisante de la pression chimique. Comme nous l'avons vu, dans les études pressions-impacts, le terme « pollution » est majoritairement associé à la pollution par les nutriments. La stabilisation et l'enrichissement des réseaux de mesures et la plus grande disponibilité des données ouvrent la voie à des explorations plus poussées des relations entre la contamination chimique et l'état écologique.

3.4. Rapprochement entre l'écologie et l'écotoxicologie

Les disciplines de l'écologie et la toxicologie sont distinctes mais on note actuellement une mobilisation simultanée de certains de leurs concepts et méthodologies. L'écologie se focalise sur les interactions, les distributions et les abondances des organismes, le fonctionnement des populations biologiques et des communautés, et les processus environnementaux qui peuvent affecter ces paramètres (Chapman 2002). La toxicologie se focalise sur les tests de toxicité appliqués sur des espèces précises pour évaluer l'effet potentiel sur la santé humaine (Relyea and Hoverman 2006). Les domaines de l'écologie et la toxicologie ont évolué comme des disciplines séparées avec une culture et des outils distincts. Néanmoins, l'écotoxicologie, qui se focalise sur les effets des substances sur les écosystèmes, est restée plus proche des concepts de la toxicologie (Chapman 2002) à base d'expériences, d'analyses des relations doses-réponses et d'estimations des concentrations d'effets (Van Straalen 2003).

Actuellement, certains outils écotoxicologiques prennent en compte de plus en plus de principes issus de l'écologie. Par exemple, les bioessais évaluent les effets écologiques de substances en laboratoire en fonction des doses (Brooks et al. 2020, Van Straalen 2003). Mais les bioessais de toxicité ne sont pas suffisants pour estimer la toxicité engendrée par une substance dans le milieu (Brühl and Zaller 2019). Or, les effets des substances sur la biologie peuvent différer en fonction du contexte environnemental et de l'occurrence de multi-pressions (conditions d'occupation du sol, facteurs physico-chimiques, conditions hydromorphologiques, etc.) (Cairns Jr and

Niederlehner 1996, Clements et al. 2016, Peace et al. 2021, Relyea and Hoverman 2006). Pour progresser, il a été recommandé d'étudier l'effet de la pollution par rapport à l'effet d'autres stresseurs (Hanson and Brain 2020, Van Straalen 2003), de tenir compte de la diversité des écosystèmes (Posthuma et al. 2019) et d'évaluer les effets écologiques de la pression chimique (Beketov and Liess 2012). Dans un contexte de rapprochement des concepts et des outils de l'écologie à l'écotoxicologie, la contamination chimique est de plus en plus considérée actuellement dans les études pressions-impacts. La DCE exige l'évaluation de la pression chimique et de l'état écologique de façon séparée, il est donc de plus en plus recommandé d'étudier la relation entre eux dans un contexte de multiples pressions (Figure I.7 issue de (EEA and Whalley 2018)). Par contre, un des freins majeurs reste la complexité de représentation des systèmes écologiques (Van Straalen 2003).

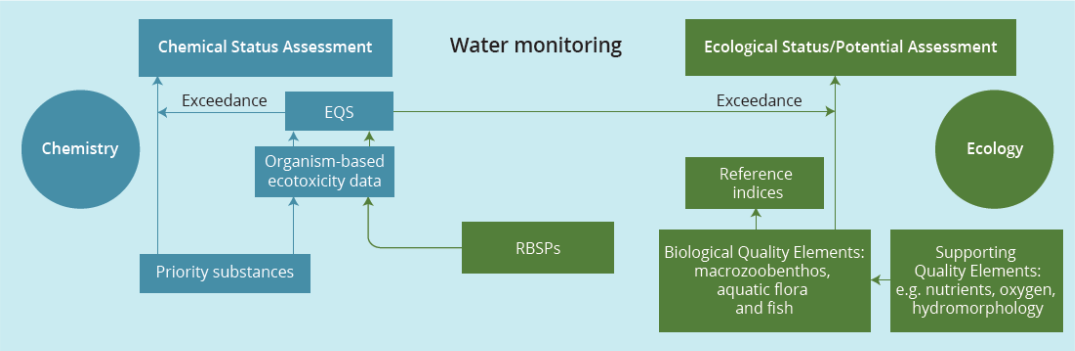


Figure I.7 : Principe d'évaluation du statut chimique et écologique dans la directive cadre sur l'eau. EQS (Environmental Quality standard); RBSPs (river basin-specific pollutants) (Figure issue d'EEA and Whalley (2018)).

3.5. Quantification des liens entre la pression chimique et la biologie

Les modalités de traits ont été associées à la contamination chimique potentiellement toxique (Archaimbault et al. 2010, Baird and Van den Brink 2007). Par, exemple 22 traits biologiques et écologiques de communautés de macroinvertébrés ont été liés à la pollution toxique (mélange de métaux, HAPs et PCBs) des sédiments de 150 cours d'eau (Archaimbault et al. 2010). Il existe des impacts des métaux et des HAPs dans les sédiments sur des traits comme la dispersion, la reproduction, la respiration et le mode d'alimentation. De plus dans une autre étude, 71% de la variabilité dans la sensibilité aux toxiques a été expliquée par des traits de quatre espèces (Baird and Van den Brink 2007).

Nous citons ici quelques exemples d'études qui évaluent les impacts de la contamination chimique sur la biologie dans un contexte multi-pressions. Un outil d'évaluation des risques de multiples pressions anthropiques (10 altérations de la qualité de l'eau incluant les micropolluants dans l'eau et 6 dégradations de l'habitat) a été développé sur des combinaisons de traits de macroinvertébrés benthiques à large échelle spatiale (1724 échantillons de rivières françaises) (Mondy and Usseglio-Polatera 2013). Dans cette étude, l'agriculture intensive et l'urbanisation ont eu le plus d'effets sur la qualité de l'eau et les conditions biologiques des cours d'eau. En plus de multi-pressions, les pesticides mesurés par des échantillonneurs passifs « *Polar Organic Chemical Integrative Samplers* » (POCIS) ont été liés à des indices multi-métrique chez le poisson, les invertébrés et les algues pour 100 sites (Schmidt et al. 2019). Les stresseurs les plus impactants étaient différents selon les communautés. L'applicabilité de l'indicateur écologique $SPEAR_{pesticides}$ (*Species at Risk of pesticides*), mesurant la sensibilité de la biocénose aux pesticides, a été investiguée en relation avec la toxicité des pesticides sous des conditions hydromorphologiques différentes de 23 petits cours d'eau en Allemagne (Weber et al. 2018). Les impacts des facteurs hydromorphologiques étaient plus importants que ceux de la toxicité des pesticides. Une corrélation existait entre les pesticides dans les cours d'eau et la dégradation de la biocénose. Enfin, les relations pressions-impacts pour l'eutrophisation et la pollution organique, l'hydrologie, la morphologie et des aspects de la qualité de l'eau (comme les métaux lourds et la pollution en PCBs) ont déjà été étudiées (Birk et al. 2012). Les pressions dominantes variaient selon les groupes d'organismes.

4. Objectifs de la thèse

A notre connaissance, aucune étude n'a encore intégré la contamination chimique biodisponible et la toxicité chimique mesurée via la biosurveillance active dans une démarche pressions-impacts à grande échelle spatiale. En prenant en charge ce questionnement, nous nous sommes alors fixés deux buts principaux :

(1) Etudier les liens entre les pressions et la contamination chimique biodisponible. L'objectif a été de construire un cadre pour quantifier l'effet des pressions sur la contamination biodisponible des milieux. Dans un premier temps, en considérant les niveaux de contamination en métaux dans les gammares encagés. Puis dans un second temps, pour les contaminants dits organiques persistants, les HAPs et PCBs.

(2) Evaluer les impacts de la toxicité chimique sur les réponses des communautés de

macroinvertébrés benthiques dans un contexte multi-pressions. Pour ceci, le premier objectif a été d'étudier et de qualifier si la toxicité chimique, obtenue via la mesure du taux de mortalité et le taux d'inhibition de l'alimentation chez les gammares encagés, modulent les relations structurantes et connues entre les stresseurs et l'état écologique des communautés de macroinvertébrés benthiques. Dans un second temps, nous avons étudié le rôle de la toxicité chimique sur le fonctionnement (traits biologiques) des communautés de macroinvertébrés benthiques dans un contexte multi-pressions.

Ce manuscrit est structuré autour d'articles publiés ou en cours de préparation. Le chapitre I présente l'état de l'art des travaux de la littérature et les objectifs. Il expose les moyens pour la surveillance de la pression chimique en écotoxicologie et plus particulièrement les mesures par biosurveillance active, ensuite les évaluations des pressions, les liens entre les pressions et les métriques de réponses des communautés en écologie et enfin le rapprochement entre écologie et écotoxicologie. A la fin du chapitre I, les objectifs de la thèse sont énoncés. Le chapitre II présente les caractéristiques des jeux de données utilisés (biosurveillance active, pressions et données biologiques), les principes des méthodes statistiques adoptées et la démarche méthodologique des travaux de thèse. Le chapitre III présente dans une première partie, les travaux et les résultats sur l'étude des liens entre les pressions et la contamination biodisponible en métaux à large échelle. Cette partie fait l'objet d'un article publié dans *Science of the Total Environment*. Une seconde partie, correspondant à un papier valorisé dans *Water Research*, présente les travaux menés autour de la contamination organique, avec les HAPs et les PCBs. Le chapitre IV se focalise sur le deuxième but de la thèse « l'évaluation de l'impact de la toxicité chimique sur les communautés de macroinvertébrés benthiques dans un contexte multi-pressions ». La première partie de ce chapitre concerne l'étude du rôle de la toxicité chimique sur l'état général des communautés de macroinvertébrés benthiques dans un contexte multi-pressions. Cette partie est rédigée sous la forme d'un article scientifique à soumettre et a été complétée par une étude du rôle individuel des pressions, incluant la toxicité chimique, sur l'I_2M_2. La deuxième partie présente les associations entre la toxicité chimique, les stresseurs et les modalités de traits biologiques des communautés de macroinvertébrés benthiques. Le chapitre V

présente une discussion générale des travaux de thèses. Finalement, nous récapitulons les sorties principales de la thèse dans la conclusion.

Références

Allan, J.D. (2004) Influence of Land Use and Landscape Setting on the Ecological Status of Rivers. Limnetica 23(3-4), 187-198.

Amiard, J.C., Meunier, T. and Babut, M. (2016) PCB, environnement et santé.

Andral, B., Stanisiere, J.Y., Sauzade, D., Damier, E., Thebault, H., Galgani, F. and Boissery, P. (2004) Monitoring chemical contamination levels in the Mediterranean based on the use of mussel caging. Marine pollution bulletin 49(9-10), 704-712. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.05.008.

Arce Funck, J., Danger, M., Gismondi, E., Cossu-Leguille, C., Guérold, F. and Felten, V. (2013) Behavioural and physiological responses of Gammarus fossarum (Crustacea Amphipoda) exposed to silver. Aquatic Toxicology 142-143, 73-84. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.07.012.

Archaimbault, V., Usseglio-Polatera, P. and Bossche, J.-P.V. (2005) Functional Differences Among Benthic Macroinvertebrate Communities in Reference Streams of Same Order in a Given Biogeographic Area. Hydrobiologia 551(1), 171-182. https://doi.org/10.1007/s10750-005-4459-9.

Archaimbault, V., Usseglio-Polatera, P., Garric, J., Wasson, J.G. and Babut, M. (2010) Assessing pollution of toxic sediment in streams using bio-ecological traits of benthic macroinvertebrates. Freshwater Biology 55(7), 1430-1446. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02281.x.

Babut, M., Miege, C., Villeneuve, B., Abarnou, A., Duchemin, J., Marchand, P. and Narbonne, J.F. (2009) Correlations between dioxin-like and indicators PCBs: Potential consequences for environmental studies involving fish or sediment. Environmental Pollution 157(12), 3451-3456. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.06.016.

Baird, D.J. and Van den Brink, P.J. (2007) Using biological traits to predict species sensitivity to toxic substances. Ecotoxicology and environmental safety 67(2), 296-301. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.07.001.

Beketov, M.A. and Liess, M. (2012) Ecotoxicology and macroecology – Time for integration. Environmental Pollution 162, 247-254. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.11.011.

Besse, J.-P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P. and 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(2), 650-660. https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024.

Besse, J.-P., Geffard, O. and Coquery, M. (2012) Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive. Trends in Analytical Chemistry 36, 113–127. https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.04.004.

Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., van de Bund, W., Zampoukas, N. and Hering, D. (2012) Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. Ecological Indicators 18, 31-41. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.10.009.

Birk, S., Chapman, D., Carvalho, L., Spears, B.M., Andersen, H.E., Argillier, C., Auer, S., Baattrup-Pedersen, A., Banin, L., Beklioglu, M., Bondar-Kunze, E., Borja, A., Branco, P., Bucak, T., Buijse, A.D., Cardoso, A.C., Couture, R.-M., Cremona, F., de Zwart, D., Feld, C.K., Ferreira, M.T., Feuchtmayr, H., Gessner, M.O., Gieswein, A., Globevnik, L., Graeber, D., Graf, W., Gutiérrez-Cánovas, C., Hanganu, J., Işkın, U., Järvinen, M., Jeppesen, E., Kotamäki, N., Kuijper, M., Lemm, J.U., Lu, S., Solheim, A.L., Mischke, U., Jannicke Moe, S., Nõges, P., Nõges, T., Ormerod, S.J., Panagopoulos, Y., Phillips, G., Posthuma, L., Pouso, S., Prudhomme, C., Rankinen, K., Rasmussen, J.J., Richardson, J., Sagouis, A., Santos, J.M., Schäfer, R.B., Schinegger, R., Schmutz, S., Schneider, S.C., Schülting, L., Segurado, P., Stefanidis, K., Sures, B., Thackeray, S.J., Turunen, J., Uyarra, M.C., Venohr, M., von der Ohe, P.C., Willby, N. and Hering, D. (2020) Impacts of multiple stressors on freshwater biota across spatial scales and ecosystems. Nature Ecology & Evolution 4, 1060-1068. https://doi.org/10.1038/s41559-020-1216-4.

Brettschneider, D.J., Misovic, A., Schulte-Oehlmann, U., Oetken, M. and Oehlmann, J. (2019a) Detection of chemically induced ecotoxicological effects in rivers of the Nidda catchment (Hessen, Germany) and development of an ecotoxicological, Water Framework Directive–compliant assessment system. Environmental Sciences Europe 31(1), 7. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0190-4.

Brettschneider, D.J., Misovic, A., Schulte-Oehlmann, U., Oetken, M. and Oehlmann, J. (2019b) Poison in paradise: increase of toxic effects in restored sections of two rivers jeopardizes the success of hydromorphological restoration measures. Environmental Sciences Europe 31(1), 1-20. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0218-9.

Brooks, B.W., Sabo-Attwood, T., Choi, K., Kim, S., Kostal, J., LaLone, C.A., Langan, L.M., Margiotta-Casaluci, L., You, J. and Zhang, X. (2020) Toxicology Advances for 21(st) Century Chemical Pollution. One Earth 2(4), 312-316. https://doi.org/10.1016/j.oneear.2020.04.007.

Brühl, C.A. and Zaller, J.G. (2019) Biodiversity Decline as a Consequence of an

Inappropriate Environmental Risk Assessment of Pesticides. Frontiers in Environmental Science 7, 177. https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00177.

Burcher, C.L., Valett, H.M. and Benfield, E.F. (2007) The land-cover cascade: relationships coupling land and water. Ecology, Vol. 88(1): 228-242.

Cairns Jr, J. and Niederlehner, B.R. (1996) Developing a Field of Landscape Ecotoxicology. Ecological Applications 6(3), 790-796. https://doi.org/10.2307/2269484.

Chapman, P.M. (2002) Integrating toxicology and ecology: putting the "eco" into ecotoxicology. Marine pollution bulletin 44(1), 7-15. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00253-3.

Cheruvelil, K.S., Soranno, P.A., Webster, K.E. and Bremigan, M.T. (2013) Multi-scaled drivers of ecosystem state: quantifying the importance of the regional spatial scale. Ecological Applications 23(7), 1603-1618. https://doi.org/10.1890/12-1872.1.

Ciliberti, A., Chaumot, A., Recoura-Massaquant, R., Chandesris, A., François, A., Coquery, M., Ferréol, M. and 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. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031.

Cinnirella, S., Graziano, M., Pon, J., Murciano, C., Albaigés, J. and Pirrone, N. (2013) Integrated assessment of chemical pollution in the Mediterranean Sea: Driver-Pressures-State-Welfare analysis. Ocean & Coastal Management 80, 36-45. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2013.02.022.

Clements, W.H., Kashian, D.R., Kiffney, P.M. and Zuellig, R.E. (2016) Perspectives on the context-dependency of stream community responses to contaminants. Freshwater Biology 61(12), 2162-2170. https://doi.org/10.1111/fwb.12599.

Cormier, S.M. and Suter II, G.W. (2008) A Framework for Fully Integrating Environmental Assessment. Environmental Management 42(4), 543. https://doi.org/10.1007/s00267-008-9138-y.

Corneil, D., Villeneuve, B., Piffady, J., Chandesris, A., Usseglio-Polatera, P. and Souchon, Y. (2018) Introducing nested spatial scales in multi-stress models: towards better assessment of human impacts on river ecosystems. Hydrobiologia 806(1), 347-361. https://doi.org/10.1007/s10750-017-3374-1.

Coulaud, R., Geffard, O., Xuereb, B., Lacaze, E., Quéau, H., Garric, J., Charles, S. and 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(19), 6417-6429. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.035.

Craig, L.S., Olden, J.D., Arthington, A.H., Entrekin, S., Hawkins, C.P., Kelly, J.J.,

Kennedy, T.A., Maitland, B.M., Rosi, E.J., Roy, A.H., Strayer, D.L., Tank, J.L., West, A.O. and Wooten, M.S. (2017) Meeting the challenge of interacting threats in freshwater ecosystems: A call to scientists and managers. Elementa: Science of the Anthropocene 5, 15. https://doi.org/10.1525/elementa.256.

Dahm, V., Hering, D., Nemitz, D., Wolfram, G., Schmidt-Kloiber, A., Leitner, P., Melcher, A. and Feld, C.K. (2013) Effects of Physico-Chemistry, Land Use and Hydromorphology on Three Riverine Organism Groups: A Comparative Analysis with Monitoring Data from Germany and Austria. Hydrobiologia 704, 389-415. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1431-3.

De Kock, W.C. (1983) Accumulation of cadmium and Polychlorinated Biphenyls by Mytilus edulis transplanted from pristine water into polluted gradients. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 40, 282–294. https://doi.org/10.1139/f83-334.

Dedourge-Geffard, O., Palais, F., Biagianti-Risbourg, S., Geffard, O. and Geffard, A. (2009) Effects of metals on feeding rate and digestive enzymes in Gammarus fossarum: An in situ experiment. Chemosphere 77(11), 1569-1576. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.042.

Demars, B.O.L., Kemp, J.L., Friberg, N., Usseglio-Polatera, P. and Harper, D.M. (2012) Linking biotopes to invertebrates in rivers: Biological traits, taxonomic composition and diversity. Ecological Indicators 23, 301-311. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.04.011.

Dendievel, A.M., Mourier, B., Coynel, A., Evrard, O., Labadie, P., Ayrault, S., Debret, M., Koltalo, F., Copard, Y., Faivre, Q., Gardes, T., Vauclin, S., Budzinski, H., Grosbois, C., Winiarski, T. and Desmet, M. (2019) Spatio-temporal assessment of the PCB sediment contamination in the four main French River Basins (1945–2018). Earth System Science Data, 23. https://doi.org/10.5194/essd-2019-167.

Diamond, M.L., Melymuk, L., Csiszar, S.A. and Robson, M. (2010) Estimation of PCB Stocks, Emissions, and Urban Fate: Will our Policies Reduce Concentrations and Exposure? Environmental Science & Technology 44(8), 2777-2783. https://doi.org/10.1021/es9012036.

Dolédec, S., Phillips, N., Scarsbrook, M., Riley, R.H. and Townsend, C.R. (2006) Comparison of structural and functional approaches to determining landuse effects on grassland stream invertebrate communities. Journal of the North American Benthological Society 25, 44-60. https://doi.org/10.1899/0887-3593(2006)25[44:COSAFA]2.0.CO;2.

Dolédec, S., Phillips, N. and Townsend, C. (2011) Invertebrate community responses to land use at a broad spatial scale: Trait and taxonomic measures compared in New Zealand rivers. Freshwater Biology 56(8), 1670-1688. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2011.02597.x.

Dolédec, S. and Statzner, B. (2008) Invertebrate Traits for the Biomonitoring of Large

European Rivers: An Assessment of Specific Types of Human Impact. Freshwater Biology 53(3), 617-634. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2007.01924.x.

Dolédec, S. and Statzner, B. (2010) Responses of freshwater biota to human disturbances: Contribution of J-NABS to developments in ecological integrity assessments. Journal of the North American Benthological Society 29(1), 286-311. https://doi.org/10.1899/08-090.1.

Donohue, I., McGarrigle, M.L. and Mills, P. (2006) Linking catchment characteristics and water chemistry with the ecological status of Irish rivers. Water Research 40(1), 91-98. https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.10.027.

Dudgeon, D., Arthington, A.H., Gessner, M.O., Kawabata, Z.-I., Knowler, D.J., Lévêque, C., J Naiman, R.J., Prieur-Richard, A.-H., Soto, D., Stiassny, M.L.J. and A Sullivan, C. (2006) Freshwater Biodiversity: Importance, Threats, Status and Conservation Challenges. Biological Reviews 81(2), 163-182. https://doi.org/10.1017/S1464793105006950.

EEA and Whalley, C. (2018) Chemicals in European waters. Knowledge developments. European Environmental Agency, Luxembourg EEA Report No 18/2018, 80.

European Commission (2000) Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy, p. 72, Official Journal of the European Union.

Evans, A.E.V., Mateo-Sagasta, J., Qadir, M., Boelee, E. and Ippolito, A. (2019) Agricultural water pollution: key knowledge gaps and research needs. Current Opinion in Environmental Sustainability 36, 20-27. https://doi.org/10.1016/j.cosust.2018.10.003.

Feld, C.K., Segurado, P. and Gutiérrez-Cánovas, C. (2016) Analysing the impact of multiple stressors in aquatic biomonitoring data: A 'cookbook' with applications in R. Science of the Total Environment 573, 1320-1339. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.243.

Frissell, C.A., Liss, W.J., Warren, C.E. and Hurley, M.D. (1986) A hierarchical framework for stream habitat classification: Viewing streams in a watershed context. Environmental Management 10(2), 199-214. https://doi.org/10.1007/BF01867358.

Geffard, O., Besse, J.-P., Chaumot, A., François, A., Gahou, J., Grisot, G., Lopes, C., Recoura-Massaquant, R. and Coquery, M. (2014) Développement d'une méthodologie pour l'amélioration du suivi chimique des eaux continentales. Rapport de synthèse de l'étude pilote : déploiement de l'outil gammare encagé au niveau national, résultats pour les métaux ciblés. [Rapport de recherche] irstea, 60. https://hal.inrae.fr/hal-02599952.

Gieswein, A., Hering, D. and Feld, C.K. (2017) Additive effects prevail: The response of biota to multiple stressors in an intensively monitored watershed. Science of the Total Environment 593-594, 27-35. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.116.

Grizzetti, B., Pistocchi, A., Liquete, C., Udias, A., Bouraoui, F. and van de Bund, W. (2017) Human pressures and ecological status of European rivers. Scientific Reports 7(1), 1-11. https://doi.org/10.1038/s41598-017-00324-3.

Hanson, M.L. and Brain, R.A. (2020) Context and Perspective in Ecotoxicology. Environmental Toxicology and Chemistry 39(9), 1655-1656. https://doi.org/10.1002/etc.4826.

Harwell, M.A., Gentile, J.H., McKinney, L.D., Tunnell Jr, J.W., Dennison, W.C., Kelsey, R.H., Stanzel, K.M., Stunz, G.W., Withers, K. and Tunnell, J. (2019) Conceptual Framework for Assessing Ecosystem Health. Integrated Environmental Assessment and Management 15(4), 544-564. https://doi.org/10.1002/ieam.4152.

Hering, D., Carvalho, L., Argillier, C., Beklioglu, M., Borja, A., Cardoso, A.C., Duel, H., Ferreira, T., Globevnik, L., Hanganu, J., Hellsten, S., Jeppesen, E., Kodes, V., Lyche Solheim, A., Nõges, T., Ormerod, S., Panagopoulos, Y., Schmutz, S., Venohr, M. and Birk, S. (2015) Managing aquatic ecosystems and water resources under multiple stress — An introduction to the MARS project. Science of the Total Environment 503-504, 10-21. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.106.

Holt, M.S. (2000) Sources of chemical contaminants and routes into the freshwater environment. Food and Chemical Toxicology 38, S21-S27. https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00136-2.

Ikuta, K. (1968) Studies on Accumulation of Heavy Metals in Aquatic Organisms-IV. On Disappearance of Abnormally Accumulated Copper and Zinc in Oysters. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 34(6), 482-487. https://doi.org/10.2331/suisan.34.482.

Jones, E.L. and Leather, S.R. (2012) Invertebrates in urban areas: A review. European Journal of Entomology 109(4), 463-478. https://doi.org/10.14411/eje.2012.060.

Kail, J. and Hering, D. (2009) The influence of adjacent stream reaches on the local ecological status of Central European mountain streams. River Research and Applications 25(5), 537-550. https://doi.org/10.1002/rra.1238.

Kail, J. and Wolter, C. (2013) Pressures at larger spatial scales strongly influence the ecological status of heavily modified river water bodies in Germany. Science of the Total Environment 454-455, 40-50. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.096.

Katerji, N. and Hoflack, P. (2004) Les pressions anthropiques et leurs impacts sur les

situations qualitatives et quantitatives de l'eau dans le Bassin versant de la Seine. Le Courrier de l'environnement de l'INRA.

Kaushal, S.S., Mayer, P.M., Vidon, P.G., Smith, R.M., Pennino, M.J., Newcomer, T.A., Duan, S., Welty, C. and Belt, K.T. (2014) Land use and climate variability amplify carbon, nutrient, and contaminant pulses: a review with management implications. Journal of the American Water Resources Association 50(3), 585–614. https://doi.org/10.1111/jawr.12204.

Kristensen, P. (2004) The DPSIR Framework. National Environmental Research Institute,Denmark.

Kunz, P.Y., Kienle, C. and Gerhardt, A. (2010) Gammarus spp. in Aquatic Ecotoxicology and Water Quality Assessment: Toward Integrated Multilevel Tests. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 205, 1-76. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_1.

Lemm, J.U. and Feld, C.K. (2017) Identification and interaction of multiple stressors in central European lowland rivers. Science of the Total Environment 603-604, 148-154. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.092.

Leopold, L.B. (1968) Hydrology for urban land planning - A guidebook on the hydrologic effects of urban land use. Circular 554, 1-26. https://doi.org/10.3133/cir554.

Lorenz, A.W. and Feld, C.K. (2013) Upstream river morphology and riparian land use overrule local restoration effects on ecological status assessment. Hydrobiologia 704, 489-501. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1326-3.

Lu, G.H., Ji, Y., Zhang, H.Z., Wu, H., Qin, J. and Wang, C. (2010) Active biomonitoring of complex pollution in Taihu Lake with Carassius auratus. Chemosphere 79(5), 588-594. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.053.

Lucero, Y., Steel, E., Ashley, E., Kelly, B. and Christiansen, K. (2011) Untangling human development and natural gradients: Implications of underlying correlation structure for linking landscapes and riverine ecosystems. River Systems 19(3), 207-224. https://doi.org/10.1127/1868-5749/2011/019-0024.

Maltby, L. (1995) Sensitivity of the crustaceans Gammarus pulex (L.) and Asellus aquaticus (L.) to short-term exposure to hypoxia and unionized ammonia: Observations and possible mechanisms. Water Research 29(3), 781-787. https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00231-U.

Martinez, A., Spak, S.N., Petrich, N.T., Hu, D., Carmichael, G.R. and Hornbuckle, K.C. (2015) Atmospheric dispersion of PCB from a contaminated Lake Michigan harbor. Atmospheric Environment 122, 791-798. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.10.040.

Matthaei, C.D., Piggott, J.J. and Townsend, C.R. (2010) Multiple stressors in

agricultural streams: interactions among sediment addition, nutrient enrichment and water abstraction. Journal of Applied Ecology 47(3), 639-649. https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01809.x.

Mondy, C.P. and Usseglio-Polatera, P. (2013) Using conditional tree forests and life history traits to assess specific risks of stream degradation under multiple pressure scenario. Science of the Total Environment 461-462, 750-760. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.05.072.

Mondy, C.P., Villeneuve, B., Archaimbault, V. and Usseglio-Polatera, P. (2012) A new macroinvertebrate-based multimetric index (I2M2) to evaluate ecological quality of French wadeable streams fulfilling the WFD demands: A taxonomical and trait approach. Ecological Indicators 18, 452-467. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.12.013.

Namba, H., Iwasaki, Y., Heino, J. and Matsuda, H. (2020) What to Survey? A Systematic Review of the Choice of Biological Groups in Assessing Ecological Impacts of Metals in Running Waters. Environmental Toxicology and Chemistry 39(10), 1964-1972. https://doi.org/10.1002/etc.4810.

Niemi, G.J., DeVore, P., Detenbeck, N., Taylor, D., Lima, A., Pastor, J., Yount, J.D. and Naiman, R.J. (1990) Overview of case studies on recovery of aquatic systems from disturbance. Environmental Management 14(5), 571-587. https://doi.org/10.1007/BF02394710.

Nkwoji, J.A., Ugbana, S.I. and Ina-Salwany, M.Y. (2020) Impacts of land-based pollutants on water chemistry and benthic macroinvertebrates community in a coastal lagoon, Lagos, Nigeria. Scientific African 7, e00220. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00220.

Nõges, P., Argillier, C., Borja, Á., Garmendia, J.M., Hanganu, J., Kodeš, V., Pletterbauer, F., Sagouis, A. and Birk, S. (2016) Quantified biotic and abiotic responses to multiple stress in freshwater, marine and ground waters. Science of the Total Environment 540, 43-52. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.045.

Norris, R.H., Linke, S., Prosser, I., Young, W.J., Liston, P., Bauer, N., Sloane, N., Dyer, F. and Thoms, M. (2007) Very-broad-scale assessment of human impacts on river condition. Freshwater Biology 52(5), 959-976. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2006.01701.x.

Ormerod, S.J., Dobson, M., Hildrew, A.G. and Townsend, C.R. (2010) Multiple stressors in freshwater ecosystems. Freshwater Biology 55(s1), 1-4. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02395.x.

Oursel, B. (2013) Transferts et dynamique des contaminants métalliques en zone côtière. : Impact d'une grande agglomération méditerranéenne. 1-233. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01132521.

Paulsen, S.G., Mayio, A., Peck, D.V., Stoddard, J.L., Tarquinio, E., Holdsworth, S.M.,

Van Sickle, J., Yuan, L.L., Hawkins, C.P., Herlihy, A.T., Kaufmann, P.R., Barbour, M.T., Larsen, D.P. and Olsen, A.R. (2008) Condition of Stream Ecosystems in the US: An Overview of the First National Assessment. Journal of the North American Benthological Society 27, 812-821. https://doi.org/10.1899/08-098.1.

Peace, A., Frost, P.C., Wagner, N.D., Danger, M., Accolla, C., Antczak, P., Brooks, B.W., Costello, D.M., Everett, R.A., Flores, K.B., Heggerud, C.M., Karimi, R., Kang, Y., Kuang, Y., Larson, J.H., Mathews, T., Mayer, G.D., Murdock, J.N., Murphy, C.A., Nisbet, R.M., Pecquerie, L., Pollesch, N., Rutter, E.M., Schulz, K.L., Scott, J.T., Stevenson, L. and Wang, H. (2021) Stoichiometric Ecotoxicology for a Multisubstance World. BioScience 71(2), 132-147. https://doi.org/10.1093/biosci/biaa160.

Piggott, J.J., Lange, K., Townsend, C.R. and Matthaei, C.D. (2012) Multiple Stressors in Agricultural Streams: A Mesocosm Study of Interactions among Raised Water Temperature, Sediment Addition and Nutrient Enrichment. PLoS One 7, e49873. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049873.

Piggott, J.J., Townsend, C.R. and Matthaei, C.D. (2015) Reconceptualizing synergism and antagonism among multiple stressors. Ecology and Evolution 5(7), 1538-1547. https://doi.org/10.1002/ece3.1465.

Pilière, A., Schipper, A.M., Breure, T.M., Posthuma, L., de Zwart, D., Dyer, S.D. and Huijbregts, M.A.J. (2014) Unraveling the relationships between freshwater invertebrate assemblages and interacting environmental factors. Freshwater Science 33(4), 1148-1158. https://doi.org/10.1086/677898.

Poff, N.L., Pyne, M.I., Bledsoe, B.P., Cuhaciyan, C.C. and Carlisle, D. (2010) Developing linkages between species traits and multiscaled environmental variation to explore vulnerability of stream benthic communities to climate change. Journal of the North American Benthological Society 29. https://doi.org/10.1899/10-030.1.

Posthuma, L., Brack, W., van Gils, J., Focks, A., Müller, C., de Zwart, D. and Birk, S. (2019) Mixtures of chemicals are important drivers of impacts on ecological status in European surface waters. Environmental Sciences Europe 31(1), 71. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0247-4.

Recoura-Massaquant, R., Geffard, O., Besse, J.P., Chaumot, A., François, A., Lopes, C., Miège, C., Roussel-Galle, A., Servetto, F. and Coquery, M. (2014) Développement d'une méthodologie pour l'amélioration du suivi chimique des eaux continentales. Rapport de synthèse de l'étude pilote : déploiement de l'outil gammare encagé au niveau national, résultats pour les substances organiques ciblées [Rapport de recherche] irstea, 66. https://hal.inrae.fr/hal-02601928.

Relyea, R. and Hoverman, J. (2006) Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. Ecology Letters 9(10), 1157-1171. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00966.x.

Rios, S.L. and Bailey, R.C. (2006) Relationship between Riparian Vegetation and Stream Benthic Communities at Three Spatial Scales. Hydrobiologia 553(1), 153-160. https://doi.org/10.1007/s10750-005-0868-z.

Santana, M.S., Yamamoto, F.Y., Sandrini-Neto, L., Filipak Neto, F., Ortolani-Machado, C.F., Oliveira Ribeiro, C.A. and Prodocimo, M.M. (2018) Diffuse sources of contamination in freshwater fish: Detecting effects through active biomonitoring and multi-biomarker approaches. Ecotoxicology and environmental safety 149, 173-181. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.036.

Schmidt, T.S., Van Metre, P.C. and Carlisle, D.M. (2019) Linking the Agricultural Landscape of the Midwest to Stream Health with Structural Equation Modeling. Environmental Science & Technology 53(1), 452-462. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04381.

Segurado, P., Almeida, C., Neves, R., Ferreira, M.T. and Branco, P. (2018) Understanding multiple stressors in a Mediterranean basin: Combined effects of land use, water scarcity and nutrient enrichment. Science of the Total Environment 624, 1221-1233. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.201.

Sewwandi, B.G.N., Wijesekara, H., Rajapaksha, A., Mowjood, M.I.M. and Vithanage, M. (2011) Risk of Soil and Water Pollution by Heavy Metals in Landfill Leachate. The 12th Annual Conference of Thai Society of Agricultural Engineering. https://doi.org/10.13140/2.1.3920.3208.

Smith, S.D.P., McIntyre, P.B., Halpern, B.S., Cooke, R.M., Marino, A.L., Boyer, G.L., Buchsbaum, A., Burton Jr, G.A., Campbell, L.M., Ciborowski, J.J.H., Doran, P.J., Infante, D.M., Johnson, L.B., Read, J.G., Rose, J.B., Rutherford, E.S., Steinman, A.D. and Allan, J.D. (2015) Rating impacts in a multi-stressor world: a quantitative assessment of 50 stressors affecting the Great Lakes. Ecological Applications 25(3), 717-728. https://doi.org/10.1890/14-0366.1.

Soranno, P.A., Cheruvelil, K.S., Bissell, E.G., Bremigan, M.T., Downing, J.A., Fergus, C.E., Filstrup, C.T., Henry, E.N., Lottig, N.R., Stanley, E.H., Stow, C.A., Tan, P.-N., Wagner, T. and Webster, K.E. (2014) Cross-scale interactions: quantifying multi-scaled cause–effect relationships in macrosystems. Frontiers in Ecology and the Environment 12(1), 65-73. https://doi.org/10.1890/120366.

Spears, B.M., Chapman, D.S., Carvalho, L., Feld, C.K., Gessner, M.O., Piggott, J.J., Banin, L.F., Gutiérrez-Cánovas, C., Solheim, A.L., Richardson, J.A., Schinegger, R., Segurado, P., Thackeray, S.J. and Birk, S. (2021) Making waves. Bridging theory and practice towards multiple stressor management in freshwater ecosystems. Water Research 196, 116981. https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116981.

Statzner, B. and Bêche, L.A. (2010) Can biological invertebrate traits resolve effects of multiple stressors on running water ecosystems? Freshwater Biology 55(s1), 80-119. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02369.x.

Steele, M.K., McDowell, W.H. and Aitkenhead-Peterson, J.A. (2010) Chemistry of Urban, Suburban and Rural Surface Waters. Urban Ecosystem Ecology 55, 297-339. https://doi.org/10.2134/agronmonogr55.c15.

Stendera, S., Adrian, R., Bonada, N., Cañedo-Argüelles, M., Hugueny, B., Januschke, K., Pletterbauer, F. and Hering, D. (2012) Drivers and stressors of freshwater biodiversity patterns across different ecosystems and scales: a review. Hydrobiologia 696, 1-28. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1183-0.

Van Straalen, N.M. (2003) Peer Reviewed: Ecotoxicology Becomes Stress Ecology. Environmental Science & Technology 37(17), 324A-330A. https://doi.org/10.1021/es0325720.

Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M. and Usseglio-Polatera, P. (2000) Invertébrés d'eau douce - Systématique, biologie, écologie.

Takesue, R.K., Campbell-Swarzenski, P.L. and Conn, K.E. (2019) Polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, and metals in ambient sediment at mussel biomonitoring sites, Puget Sound, Washington. U. S. Geological Survey, 15. https://doi.org/10.3133/ofr20191087.

Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K. and Sutton, D.J. (2012) Heavy metal toxicity and the environment. Molecular, Clinical and Environmental Toxicology 101, 133-164. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6.

Turunen, J., Muotka, T., Vuori, K.-M., Karjalainen, S.M., Rääpysjärvi, J., Sutela, T. and Aroviita, J. (2016) Disentangling the responses of boreal stream assemblages to low stressor levels of diffuse pollution and altered channel morphology. Science of the Total Environment 544, 954-962. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.031.

Uher, E., Besse, J.-P., Delaigue, O., Husson, F. and Lebrun, J.D. (2018) Comparison of the metal contamination in water measured by diffusive gradient in thin film (DGT), biomonitoring and total metal dissolved concentration at a national scale. Applied Geochemistry 88, 247-257. https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2017.05.003.

Urien, N., Farfarana, A., Uher, E., Fechner, L.C., Chaumot, A., Geffard, O. and Lebrun, J.D. (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. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.016.

Urien, N., Lebrun, J.D., Fechner, L.C., Uher, E., François, A., Quéau, H., Coquery, M., Chaumot, A. and 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. https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.023.

Usseglio-Polatera, P., Richoux, P., Bournaud, M. and Tachet, H. (2001) A functional

classification of benthic macroinvertebrates based on biological and ecological traits: Application to river condition assessment and stream management. Archiv für Hydrobiologie 139, 53-83.

Van den Brink, P.J., Alexander, A.C., Desrosiers, M., Goedkoop, W., Goethals, P.L.M., Liess, M. and Dyer, S.D. (2011) Traits-based Approaches in Bioassessment and Ecological Risk Assessment - Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats. Integrated Environmental Assessment and Management 7(2), 198-208. https://doi.org/10.1002/ieam.109.

Verberk, W.C.E.P., Siepel, H. and Esselink, H. (2008) Life-history strategies in freshwater macroinvertebrates. Freshwater Biology 53(9), 1722-1738. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2008.02035.x.

Verberk, W.C.E.P., Van Noordwijk, C.G.E. and Hildrew, A.G. (2013) Delivering on a promise: Integrating species traits to transform descriptive community ecology into a predictive science. Freshwater Science 32(2), 531-547. https://doi.org/10.1899/12-092.1.

Verma, R. and Dwivedi, P. (2013) Heavy metal water pollution-A case study. 5, 98-99.

Villeneuve, B., Piffady, J., Valette, L., Souchon, Y. and Usseglio-Polatera, P. (2018) Direct and indirect effects of multiple stressors on stream invertebrates across watershed, reach and site scales: A structural equation modelling better informing on hydromorphological impacts. Science of the Total Environment 612, 660-671. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.197.

Villeneuve, B., Souchon, Y., Usseglio-Polatera, P., Ferréol, M. and Valette, L. (2015) Can we predict biological condition of stream ecosystems? A multi-stressors approach linking three biological indices to physico-chemistry, hydromorphology and land use. Ecological Indicators 48, 88-98. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.07.016.

Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I. and Garnier, E. (2007) Let the concept of trait be functional! Oikos 116(5), 882-892. https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2007.15559.x.

Vörösmarty, C.J., McIntyre, P.B., Gessner, M.O., Dudgeon, D., Prusevich, A., Green, P., Glidden, S., Bunn, S.E., Sullivan, C.A., Liermann, C.R. and Davies, P.M. (2010) Global threats to human water security and river biodiversity. Nature 467, 555-561. https://doi.org/10.1038/nature09440.

Waite, I.R. (2014) Agricultural disturbance response models for invertebrate and algal metrics from streams at two spatial scales within the U.S. Hydrobiologia 726(1), 285-303. https://doi.org/10.1007/s10750-013-1774-4.

Warren, N., Allan, I.J., Carter, J.E., House, W.A. and Parker, A. (2003) Pesticides

and other micro-organic contaminants in freshwater sedimentary environments—a review. Applied Geochemistry 18(2), 159-194. https://doi.org/10.1016/S0883-2927(02)00159-2.

Wasson, J.G., Villeneuve, B., Lital, A., Murray-Bligh, J., Dobiasova, M., Bacikova, S., Timm, H., Pella, H., Mengin, N. and Chandesris, A. (2010) Large-scale relationships between basin and riparian land cover and the ecological status of European rivers. 55(2), 1465-1482. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2010.02443.x.

Weber, G., Christmann, N., Thiery, A.-C., Martens, D. and Kubiniok, J. (2018) Pesticides in agricultural headwater streams in southwestern Germany and effects on macroinvertebrate populations. Science of the Total Environment 619-620, 638-648. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.155.

Weiss, M. and Leese, F. (2016) Widely distributed and regionally isolated! Drivers of genetic structure in Gammarus fossarum in a human-impacted landscape. BMC Evolutionary Biology 16(1), 1-14. https://doi.org/10.1186/s12862-016-0723-z.

Wepener, V. (2013) Active Biomonitoring. Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology, 15-20. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2_3.

Wepener, V., van Vuren, J.H.J., Chatiza, F.P., Mbizi, Z., Slabbert, L. and Masola, B. (2005) Active biomonitoring in freshwater environments: early warning signals from biomarkers in assessing biological effects of diffuse sources of pollutants. Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C 30(11-16), 751-761. https://doi.org/10.1016/j.pce.2005.08.018.

CHAPITRE II : DONNEES ET METHODES

1. Données utilisées

Pour lier les pressions anthropiques à la contamination chimique biodisponible et pour lier les pressions anthropiques incluant la toxicité chimique à la réponse des communautés, nous nous sommes appuyés sur des données et des méthodes permettant d'atteindre ces objectifs. Ce travail s'est reposé sur trois grandes thématiques de suivi de la qualité des eaux de surface au niveau national selon la DCE qui sont issues de plusieurs bases de données (les données de contamination chimique biodisponible et de toxicité chimique, les données de pressions multiples et les données biologiques) qui seront décrites ci-dessous.

1.1. Principe du protocole de biosurveillance active et, données associées de contamination chimique biodisponible et de toxicité chimique

Les manipulations d'encagements de gammares ont été faites avant la thèse, le principe de ces manipulations est détaillé brièvement ici. Les gammares « *Gammarus fossarum* » sont prélevés d'une population source et d'un site non contaminé. Ils sont ensuite acclimatés au laboratoire. Seuls les mâles de même taille ont été encagés dans le milieu et donc les gammares sont considérés comme des sondes biologiques calibrées et ne sont pas représentatifs de la réponse biologique. Nous nous intéressons à deux métriques de contamination biodisponible (1) la bioconcentration en métaux et, (2) la bioconcentration en polluants organiques persistants (HAPs et PCBs) et deux métriques de toxicité chimique (1) le taux de mortalité (toxicité chimique létale) et (2) le taux d'inhibition de l'alimentation (toxicité chimique sublétale). Tel que ces métriques sont mesurées directement dans le biote sur le terrain. Pour les mesures de bioconcentration métallique, la toxicité chimique létale et la toxicité chimique sublétale, l'exposition sur le terrain a été d'une semaine et les gammares étaient supplémentés en feuilles pour s'alimenter. Les détails de ces expériences figurent dans (Alric et al. 2019, Besse et al. 2013, Ciliberti et al. 2017). Pour les mesures de bioconcentration organique, l'exposition a été de trois semaines et les gammares étaient alimentés de feuilles avant l'encagement. Les détails des encagements pour les polluants organiques figurent dans la norme AFNOR (2019). Après une exposition d'une semaine et de trois semaines, les bioconcentrations de la majorité des micropolluants varient peu. Et les jeux de données de bioconcentrations

ont été abordés par la suite indépendamment dans deux parties différentes. L'ensemble des expositions a eu lieu pendant l'absence d'évènements extrêmes de crues. Quand les taux d'oxygène étaient faibles, la dureté de l'eau et la température étaient fortes pour l'application de la biosurveillance active, ces mesures ont été éliminées. Les métaux, les HAPs et les PCBs ont été dosés par spectrométrie. Les mesures de toxicité létale sont comptées après l'exposition et sont représentées sous forme de pourcentage par cage pour chaque échantillonnage. Les mesures de toxicité sublétale sont calculées suivant la méthode de Coulaud et al. (2011). Les nombres de données de contamination chimique biodisponible et de toxicité chimique signalés par la suite sont ceux pour lesquels des mesures des pressions et des métriques biologiques sont également disponibles. Donc tout site avec l'absence d'au moins une mesure a été éliminé des analyses faites par la suite. Il existe des sites communs entre les sites mesurant la contamination biodisponible métallique, organique et la toxicité chimique mais ces jeux de données n'ont pas été confrontés et ont été analysés séparement.

Le jeu de données de la contamination chimique biodisponible a été construit avec la bioconcentration de huit métaux (argent, plomb, zinc, nickel, mercure, cadmium, chrome et cuivre). Nous avons voulu étudier une contamination métallique générale et ne nous sommes pas focalisé sur un type de métal spécifique. Il est constitué de 196 échantillonnages de 2009 à 2016. Le jeu de données contenait également les bioconcentrations de l'uranium, le bore, l'aluminium et le molybdène qui ont été éliminés comme ils étaient moins mesurés que les autres substances et pénalisaient le nombre de données.

Le jeu de données de la contamination biodisponible pour 11 HAPs (Anthracène, Benzo (b+j) Fluoranthène, Benzo (k) Fluoranthène, Benzo (g,h,i) Pérylène, Benzo (a) Pyrène, Chrysène, Fluoranthène, Fluorène, Naphtalène, Phénanthrène et Pyrène) et 17 PCBs (PCB 28, PCB 52, PCB 77, PCB 101, PCB 105, PCB 114, PCB 118, PCB 123, PCB 126, PCB 138, PCB 149, PCB 153, PCB 156, PCB 157, PCB 167, PCB 170 et PCB 180) est constitué de 245 sites de 2017 à 2019. Les limites de quantification pour chaque substance organique ont été déterminées et les plus conservatives ont été adoptées. Les mesures sous la limite de quantification ont été remplacées par la valeur de la limite de quantification divisée par 2. Pour un même

site, nous avons choisi de prendre la valeur maximum parmi les différentes mesures d'une même substance.

Le jeu de données pour la toxicité létale a été constitué de 222 mesures de 2009 à 2010 et de 2012 à 2018. Le jeu de données pour la toxicité sublétale a été constitué de 101 mesures de 2015 à 2017. Chacun de ces deux jeux de données résulte de la compilation de plusieurs campagnes d'échantillonnages qui ont été regroupées dans deux jeux de données respectifs. Ces deux jeux de données (toxicité chimique létale et toxicité chimique sublétale) n'ont pas été compilés pour éviter de perdre des données.

Le jeu de données combinant la toxicité chimique létale et la toxicité chimique sublétale a été constitué de 152 échantillonnages de 2015 à 2018. Cette compilation a été possible ici puisque la métrique biologique choisie incluait plus de sites communs avec la biosurveillance active. Les caractéristiques des jeux de données finaux de biosurveillance active sont présentées (Tableau II.1).

Ces données de contamination chimique biodisponible et de toxicité chimique sont issues du réseau de surveillance national en France Métropolitaine (Naïades) et couvrent une diversité de paysages suivant des répartitions dans différentes hydroécorégions (zones du territoire français homogènes en climat, géologie et relief) (Wasson et al. 2002), de différentes tailles de cours d'eau et donc un gradient intéressant des métriques d'écotoxicologie.

Tableau II.1: Récapitulatif du nombre des données de biosurveillance active et des années d'études.

Métriques principales du jeu de données	**Nombre de données**	**Années de mesures**
Contamination métallique biodisponible	196 échantillonnages	De 2009 à 2016
Contamination organique biodisponible	245 sites	De 2017 à 2019
Toxicité chimique létale	222 mesures	De 2009 à 2010 ; De 2012 à 2018

Toxicité chimique sublétale	101 échantillonnages	De 2015 à 2017
Toxicité chimique létale et sublétale	152 échantillonnages	De 2015 à 2018

1.2. Données des stresseurs à multi-échelles

Chaque mesure de biosurveillance active a été associée à des mesures de pressions (chaque pression est constituée d'un ensemble de stresseurs mesurés) à des échelles appropriées. Toutes les projections sont en Lambert 93-Référentiel Géodésique de la France (RGF) au niveau national. Le bassin versant de chaque site a été délimité par un modèle numérique de terrain. Les tronçons (section du cours d'eau avec des caractéristiques homogènes hydrographiques) ont déjà été délimités dans le projet SYRAH-CE (SYstème Relationnel d'Audit de l'Hydromorphologie des cours d'eau) (Irstea/ONEMA 2017, Valette et al. 2012). Les sites ont été associés aux tronçons de SYRAH-CE les plus proches par jointure spatiale. La distance entre le site et le tronçon a été calculée. Quand la distance excédait 100 m nous avions vérifié que le cours d'eau relatif au site était le même que celui issu du tronçon. Les zones d'influence en amont du site ont été construites d'abord en considérant des zones tampons du rayon requis (3 km, 5 km, 10 km et 20 km), ensuite en faisant l'intersection de la zone tampon avec le bassin versant. Nous avions choisi différents rayons pour évaluer les pressions dans des surfaces plus ou moins grandes. Un exemple des échelles prises en compte pour étudier les pressions sur la contamination biodisponible en polluants organiques persistants est représenté sur la Figure II.1.

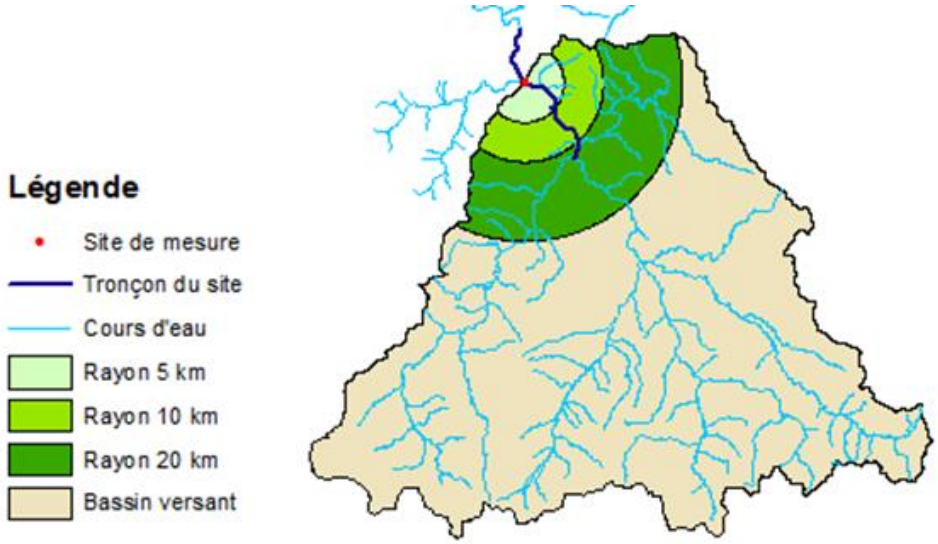


Figure II.1: Les différentes échelles adoptées (site, tronçon, rayons en amont du site et bassin versant) pour suivre les pressions anthropiques agissant sur la contamination biodisponible organique.

Les données de l'occupation du sol sont issues de *Corine Land Cover* (CLC) en 2012 (Hościło and Tomaszewska 2014) et en 2018 (David 2019) selon les dates des données de biosurveillance active analysées. Cette couche représente les occupations du sol nationales intégratrices de pressions anthropiques. Pour le bassin versant de chaque site, les surfaces du même type d'occupation du sol sont additionnées et le pourcentage de la surface de chaque occupation du sol a été calculé. Par exemple, la surface de l'occupation du sol urbaine a été déterminée et transformée en pourcentage de surface totale urbaine pour chaque site. La présence de certaines sources de contamination a aussi été calculée via: les industries actuelles et les décharges actuelles. Le nombre de certaines sources a aussi été calculé pour : les routes et les industries. Le nombre a été calculé en se basant sur la fréquence de points de la métrique d'intérêt dans chaque échelle. La taille de certaines sources a aussi été prise en compte pour les industries. Nous avons également divisé les occupations du sol en quatre catégories comme signalé dans Wasson et al. (2005). Ces quatre catégories sont l'artificialisation, l'agriculture intensive, l'agriculture faible et, les forêts et milieux naturels. Ensuite, le pourcentage de surface de chacune de ces quatre catégories a été calculé pour chaque site.

Parmi les sources de contaminants nous avons aussi choisi : la densité de population issue d'ADMIN EXPRESS (IGN 2016), ainsi que la présence, le nombre et la taille des stations d'épuration obtenues de Sandre (2012).

Des facteurs environnementaux ont également été choisis comme ils peuvent potentiellement influencer sur le transfert et l'occurrence de contaminants. Ils incluent les métriques suivantes : le pourcentage de particules larges et la perméabilité de la roche de l'*European Soil Database & soil properties* (EC/ESBN 2004), la surface du bassin versant de BD TOPO ® (IGN 2020), la densité du réseau hydrographique de BD CARTHAGE ® (IGN 2017) et, la précipitation estivale moyenne de SAFRAN *reanalysis* (Quintana-Seguí et al. 2008, Vidal et al. 2010).

Les données des risques d'altérations hydromorphologiques sont issues des indicateurs développés pour le projet SYRAH-CE (Irstea/ONEMA 2017, Valette et al. 2012). Elles ont été choisies comme elles peuvent avoir un effet sur le stockage et le déstockage de sédiments qui s'adsorbent aux contaminants et peuvent avoir des effets délétères sur les communautés. Les indicateurs hydromorphologiques à l'échelle du bassin versant ont été : le ratio d'irrigation et le ratio de drainage issus d'Aléa érosion des sols (Montier et al. 1998). Les indicateurs hydromorphologiques à l'échelle du tronçon ont été : le taux de végétation à 10 m, le taux de végétation à 30 m, le taux d'occupation du sol artificiel à proximité du lit mineur, le taux de franchissement, le taux de voies de communication dans le lit mineur, le taux de voies de communication dans le lit majeur, le taux de digues dans le lit mineur, le taux de digues dans le lit majeur, le taux de barrages en amont, le taux de rectitude du cours d'eau, le taux de cours d'eau déconnectés, le taux de surlargeur, la pente et le volume cumulé dans le barrage en relation avec le flux (IGN 2020).

Les données des nutriments et les matières organiques ainsi que les facteurs de biodisponibilité sont issues de la base de données nationale française de la qualité de l'eau (Naïades). Les nutriments et les matières organiques sont susceptibles d'engendrer une eutrophisation et une mauvaise qualité de l'eau. Les facteurs de biodisponibilité ont un rôle important sur la disponibilité des contaminants pour le biote. Les variables retenues à l'échelle du site sont : le pH, la dureté de l'eau, le carbone organique dissous, le phosphore total, le nitrite, le nitrate, l'ammonium, l'oxygène dissous, la DBO_5 (demande biochimique en oxygène sur cinq jours) et les matières en suspension. Ces mesures sont des moyennes sur 11 mois avant la mesure de biosurveillance active et 1 mois après pour chaque site. Nous avons fait le choix de calculer des moyennes pour avoir des mesures représentatives de l'ensemble de l'année et non pas d'un évènement ponctuel.

1.3. Données biologiques

Les données biologiques sont considérées ici comme étant soit représentatives de l'état des communautés via l'indicateur « I_2M_2 » soit représentatives des fonctions des communautés via les traits biologiques. Le score d'I_2M_2 a été calculé à partir de la base de données faunistiques (Naïades) pour chaque site à la date la plus proche de la date de biosurveillance active jusqu'à un an d'écart maximum car l'état général des communautés de macroinvertébrés pouvait varier d'une année à l'autre. Les calculs de l'I_2M_2 sont détaillés dans Mondy et al. (2012). Un I_2M_2 proche de 0 est représentatif d'un état écologique loin de la référence et un I_2M_2 proche de 1 est représentatif d'un état écologique proche de la référence. Les 11 traits biologiques (taille maximale, durée du cycle de vie, nombre de générations par an, stades aquatiques, reproduction, dispersion, forme de résistance, respiration, mode de locomotion et relation avec le substrat, type de nourriture et mode d'alimentation) issus d'Usseglio-Polatera et al. (2001) ont été sélectionnés pour cette étude. Les affinités des communautés à chaque modalité de trait ont été calculées au niveau de chaque site, en se basant sur la valeur de l'affinité de chaque taxon définie dans des travaux précédents. Tel que ces valeurs s'étendent de 0 (pas d'affinité) à 5 (affinité forte). Les modalités peu fréquentes (moins que 0,15% de l'ensemble des modalités) ont été soit exclues soit regroupées avec des modalités proches. Les affinités pour 48 modalités sont alors obtenues.

1.4. Mise en relation des données par thématique

Les données de biosurveillance active respectives, les pressions et les données biologiques ont été jointes ensemble selon chaque objectif de la thèse. Les contaminations biodisponibles respectivement métallique et organique ont été liées à des pressions spécifiques. Les pressions, incluant la toxicité chimique, ont été liées aux métriques de réponses des communautés. Les détails des choix des variables figurent dans les prochains chapitres de la thèse.

2. Méthodes d'analyses statistiques

2.1. Modèle d'équations structurelles (*Partial Least Squares – Path Modeling*)

La modélisation par équations structurelles (*Structural Equation Modeling* (SEM)) est une modélisation statistique qui connecte des données observées/mesurées (variables manifestes) à un modèle conceptuel à travers des variables synthétiques (variables latentes) et lie ces variables entre elles (Grace et al. 2010, Schmidt et al. 2019). La modélisation SEM représente des réseaux de causalité complexes et permet de tester des hypothèses de liens directs et indirects entre les facteurs théoriques (Musseau et al. 2015). Elle est souvent utilisée par les biologistes pour comprendre les impacts des problèmes environnementaux sur les organismes biologiques (Grace et al. 2010).

La modélisation *Partial Least Squares – Path Modeling* (PLS-PM) fait partie de la modélisation par équations structurelles (Tenenhaus et al. 2005). Le modèle est constitué de deux sous-modèles, le modèle de mesure ou modèle externe, liant les variables manifestes à leurs variables latentes par une régression, et le modèle structurel ou interne, liant les variables latentes par une régression. Cette méthode évalue les effets directs et indirects de chaque variable latente puis l'effet total (somme des effets directs et indirects).

D'abord, l'estimation externe des variables latentes basée sur les variables manifestes est calculée suivant l'équation 1 (Fernandes, 2012; Tenenhaus, 1999):

$Y_j = \sum_h w_{jh}\, x_{jh} = w_j\, X_j$ (Equation 1)

L'estimation Y_j de chaque variable latente j se base sur une combinaison linéaire de variables manifestes x_{jh} , w_{jh} représente le coefficient liant la combinaison linéaire entre la variable latente j et les variables manifestes h , x_{jh} sont les variables manifestes h de la variable latente j et, w_j et X_j sont les vecteurs colonnes de w_{jh} et x_{jh} représentant chacun une matrice d'une colonne avec multiples éléments.

Ensuite, l'estimation interne Z_j des variables latentes est calculée à partir de combinaisons linéaires des autres variables latentes suivant l'équation 2 :

$Z_j \propto \sum_{\{ i|i \neq j,\ cij \neq 0\}} e_{ji}\ Y_i$ (Equation 2)

Z_j est l'estimation interne de la variable latente j, ∝ montre que la variable sur la gauche du symbole est obtenue par réduction de la variable sur la droite du symbole, e_{ji} est le coefficient « *path coefficient* » (coefficient de régression du modèle structurel), Y_i est l'estimation externe de la variable latente i, i|i ≠j est la condition pour laquelle i divisible par i est différente de j et cij ≠ 0 est la non nullité des coefficients. Ces deux étapes sont répétées jusqu'à la convergence du modèle. Puis les coefficients du modèle sont estimés par des régressions PLS en évitant les problèmes de multicolinéarité (Chin, 1998 ; Fernandes, 2012; Tenenhaus et al. 2005). Les détails des algorithmes sont expliqués dans Tenenhaus et al. (2005) et Vinzi et al. (2010).

Les sorties de la modélisation PLS-PM sont donc les effets directs, indirects et totaux entre les variables latentes et les coefficients de détermination R^2. Le coefficient de détermination R^2 permet de décrire la force de la relation décrite (Nõges et al. 2016). Le modèle est significatif quand le R^2 est supérieur à 10%, tangent pour des valeurs entre 5% et 10% et non significatif quand le R^2 est inférieur à 5% (Croutsche 2002). Le principe conceptuel de la modélisation PLS-PM est représenté dans la Figure II.2.

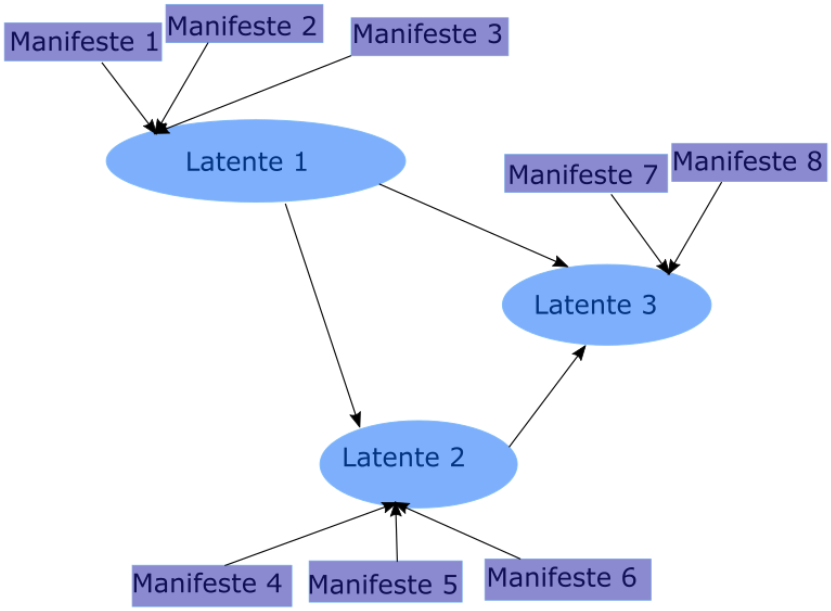


Figure II.2: Figure représentant le principe d'un modèle PLS-PM avec des variables latentes constituées de variables manifestes et des effets directs et indirects représentés par les flèches.

Suite à la modélisation PLS-PM, un *jackknife* est adopté pour tester la significativité des coefficients et déterminer un intervalle de confiance relatif à ces coefficients. Le *jackknife* est une procédure dite « *leave-one-out* ».

2.2. Analyses multivariées (Analyse en Composantes Principales)

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) introduite par Karl Pearson en 1901 est une analyse descriptive des données multivariées (Abdi and Williams 2010). Elle est appliquée quand plusieurs variables quantitatives dépendantes portant sur les mêmes objets (ici des observations ou des mesures) sont prises en compte. Elle permet d'une part de simplifier la structuration des objets ainsi quantifiés dans un espace de dimensions réduites, et d'une autre part, de confronter cette structure à celle des projections des corrélations entre variables dans ce même espace. Cette méthode permet après observation et analyse de la structure des corrélations entre variables, d'extraire les informations les plus importantes du jeu de données sur un espace réduit par rapport au nombre de variables initiales. L'analyse de la structure des observations et des variables devient simplifiée avec une représentation avec un plan. Pour ce faire, la variabilité totale (aussi appelée inertie) du tableau de données est obtenue de manière décroissante. Le plus souvent les deux composantes portant le plus d'inerties expliquées sont considérées pour représenter l'analyse en composantes principales. Les lignes et les colonnes du tableau d'origine sont ainsi projetées sur les axes principaux retenus. Le cercle de corrélation de l'ACP issu des variables en colonne permet alors de représenter ces associations entre les variables suivant les deux premiers axes de composantes principales. Graphiquement, les variables corrélées positivement se regroupent, les variables corrélées négativement s'opposent et les variables orthogonales sont considérées comme non corrélées. Un exemple représentatif théorique de ce cercle de corrélation de l'analyse en composantes principales est représenté dans la Figure II.3.

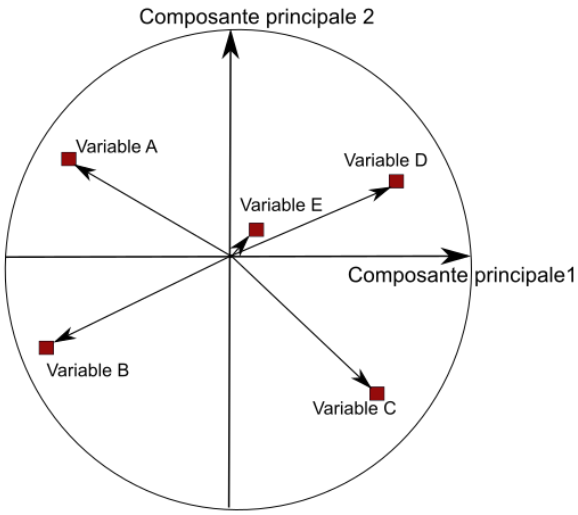


Figure II.3: Principe de la représentation des variables sur le cercle de corrélation de l'analyse en composantes principales.

2.3. Analyse de covariance (ANCOVA)

L'analyse de covariance (ANCOVA) combine les avantages de l'analyse de la variance (ANOVA) et de la régression linéaire multiple (Philippas 2014, Shieh 2019). Elle se base sur au moins une variable qualitative indépendante et discrète (catégorielle) et des variables quantitatives, toutes ayant un effet à évaluer sur une variable dépendante continue. Elle permet de comparer la relation entre cette variable dépendante et la ou les covariables quantitatives en fonction de différents niveaux de la variable qualitative (effet interactif). Nous prenons l'exemple de deux modèles pour représenter la relation d'une variable Y en fonction de X avec une variable qualitative caractérisée par deux modalités (Figure II.4). Il existe un effet du groupe si la pente et/ou l'ordonnée à l'origine de la régression linéaire entre Y et X est différente entre les deux groupes. Le premier modèle se base sur une régression simple entre Y et X et, le deuxième modèle considère la régression d'Y en fonction de X en tenant compte de l'interaction de X avec la variable qualitative (Kim 2018). Ces deux modèles sont

comparés au niveau de leurs différences d'ordonnées à l'origine, leurs différences de pentes et de coefficients de détermination R^2.

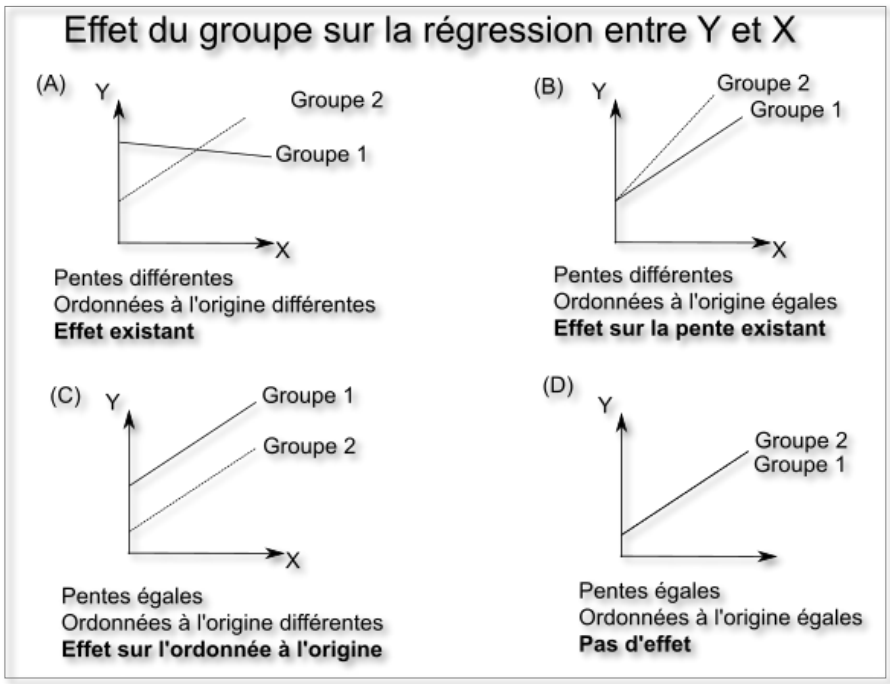


Figure II.4: Représentation des différents effets du groupe sur la régression entre Y et X évalués par une ANCOVA (donnant la différence respective de la pente et de l'ordonnée à l'origine).

2.4. Analyse de co-inertie

L'analyse de co-inertie (COIA) est une méthode multivariée qui mesure la co-structure des sites par le couplage de deux tableaux respectifs et de manière symétrique (Dolédec and Chessel 1994, Dray et al. 2003). Cette méthode peut même s'étendre à plus de deux tableaux et est adaptée pour un nombre de variables élevé. La COIA se base sur des données quantitatives, qualitatives ou des variables suivant le codage flou (valeurs entre 0 et 1) et elle est implémentée dans le package « ade4 » dans le logiciel R. Plus concrètement c'est une analyse d'inertie (variabilité des données via la somme des variances) double pour les deux tableaux. Comparée à la corrélation de Pearson qui étudie la relation entre deux variables, la COIA permet d'étudier des relations entre deux ou plusieurs variables. Elle permet d'identifier notamment les relations (c'est-à-dire les structures communes) entre la biologie et les caractéristiques environnementales. Chaque variable biologique et environnementale est localisée suivant deux axes factoriels. Les deux axes avec le plus de variance

cumulative expliquée sont adoptés. Les projections de chaque tableau sont d'abord analysées puis comparées. Quand la co-structure des sites dans les espaces environnemental et traits est forte, les deux structures varient simultanément et inversement quand la co-structure est faible, elles varient indépendamment voire même ne varient pas. La Figure II.5 issue de Dray et al. (2003) résume le principe de la COIA (projection sur un même espace de variables environnementales et de variables en lien avec les espèces pour identifier les associations).

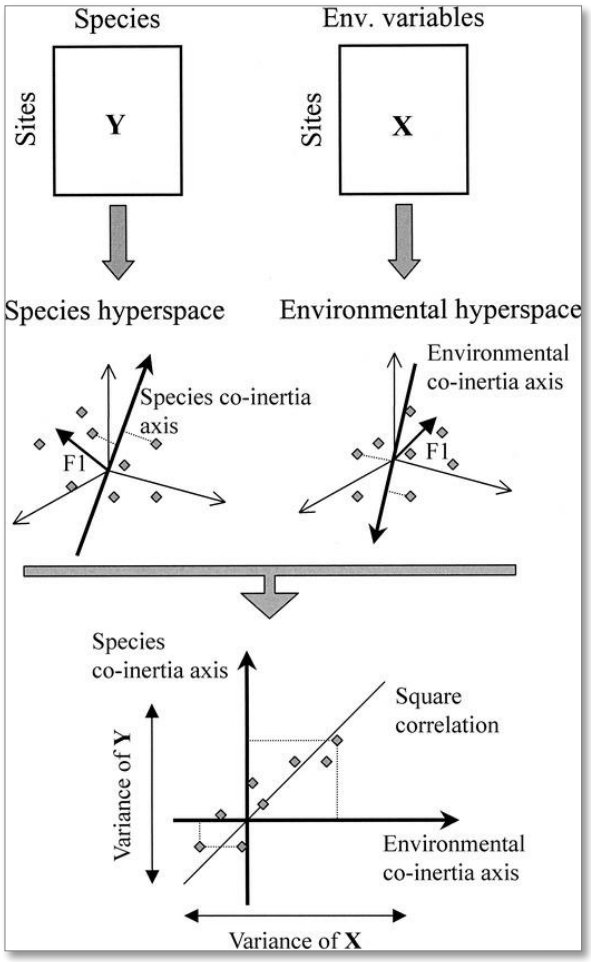


Figure II.5: Représentation du principe de la COIA, avec les deux tableaux X et Y induisant deux représentations des sites dans les hyperespaces, F1 représente un axe factoriel (d'après Dray et al. (2003)).

3. Démarche adoptée

Nous avons choisi des pressions pouvant influencer à différentes échelles sur la contamination biodisponible métallique. En se basant sur les avis d'experts et la littérature, les pressions choisies étaient (1) l'occupation du sol anthropique à l'échelle

du bassin versant, (2) la densité des industries à l'échelle du bassin versant et des zones d'influence en amont du site, (3) la densité des stations d'épuration à l'échelle des zones d'influence en amont du site, (4) les pressions sur le fonctionnement hydromorphologique à l'échelle du tronçon, (5) la ripisylve à l'échelle du tronçon et (6) les facteurs de biodisponibilité à l'échelle du tronçon. Et puis nous avons choisi les stresseurs pour représenter ces pressions. Enfin, nous avons conceptualisé les liens entre les pressions et quantifié les effets par une modélisation par équations structurelles. Les « *cross-loadings* » entre les variables manifestes et les variables latentes ont été obtenus. Les coefficients de détermination de chaque pression ainsi que les effets directs, indirects et totaux ont été calculés. La stratégie de travail de ce premier objectif est présentée dans la Figure II.6.

Ensuite, nous avons étudié les associations entre les HAPs et les PCBs suivant une ACP. Les pressions pouvant influencer sur la contamination biodisponible organique ont été divisées en quatre catégories (1) les sources diffuses à l'échelle du bassin versant, (2) les sources ponctuelles à l'échelle de la zone d'influence en amont du site, (3) les facteurs environnementaux à l'échelle du bassin versant, (4) les facteurs hydromorphologiques à l'échelle du tronçon et, (5) les nutriments et les matières organiques à l'échelle du site. Nous avons construit deux modèles PLS-PM pour quantifier les liens entre les pressions anthropiques et respectivement la contamination biodisponible en HAPs et PCBs. Les « *cross-loadings* » entre les variables manifestes et les variables latentes ont été obtenus pour les deux modèles. Les coefficients de détermination de chaque pression ainsi que les effets totaux ont été calculés. La stratégie de travail de ce deuxième objectif est présentée dans la Figure II.7.

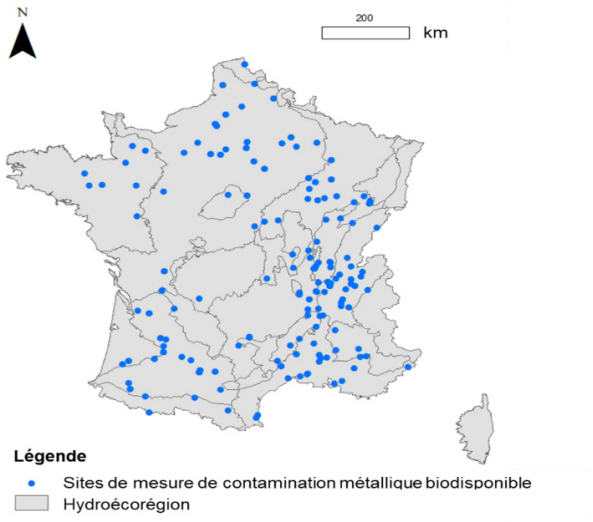
Pour chaque site de biosurveillance active, l'état écologique a été représenté par un indice multi-métrique l'I_2M_2 pour les communautés de macroinvertébrés. Les pressions et les stresseurs associés ont été déterminés. La relation entre l'I_2M_2 et la toxicité chimique (respectivement létale et sublétale) a été déterminée suivant une régression linéaire. Nous avons choisi d'adopter une régression linéaire pour évaluer la tendance générale de cette relation. Les relations entre les stresseurs, incluant la toxicité chimique (respectivement létale et sublétale), et l'I_2M_2 ont été identifiées par une analyse en composantes principales. Les effets de respectivement la toxicité chimique sublétale et de la toxicité chimique létale ont été déterminés sur les relations (1) I_2M_2/ stresseur d'hydromorphologie et, (2) I_2M_2/ stresseur de nutriments et matières

organiques suivant des régressions linéaires. Les différences de pentes, d'ordonnées à l'origine et de coefficient de détermination ont été obtenues suivant les niveaux de toxicité chimique (respectivement létale et sublétale). Deux modèles PLS-PM ont été construits pour quantifier les liens entre les pressions (artificialisation, agriculture intensive, agriculture faible, espaces naturels, altération hydromorphologique, nutriments et matières organiques et respectivement la toxicité chimique létale et la toxicité chimique sublétale) et l'I_2M_2. Les effets totaux de ces pressions sur l'I_2M_2 ont été quantifiés. La stratégie de travail de ce troisième objectif est présentée dans la Figure II.8.

Les contributions des taxons à chaque modalité de traits biologiques au niveau de chaque site de biosurveillance active ont été calculées en se basant sur les affinités des taxons de la communauté à chaque modalité. Les associations entre les pressions (occupation du sol, altérations hydromorphologiques et nutriments et matières organiques, la toxicité chimique létale et la toxicité chimique sublétale), et les modalités des traits biologiques des communautés de macroinvertébrés benthiques ont été identifiées par une analyse de co-inertie. La stratégie de travail de ce quatrième objectif est présentée dans la Figure II.9.

Stratégie de travail du premier objectif
"Créer un cadre pour lier les pressions anthropiques à la contamination biodisponible métallique"

Surveillance de la contamination biodisponible métallique



Choix des pressions qui peuvent influencer sur la contamination métallique aux échelles appropriées

(1) Occupation du sol anthropique à l'échelle du bassin versant
(2) Densité des industries à l'échelle du bassin versant et de la zone d'influence amont du site
(3) Densité des stations d'épuration à l'échelle de la zone d'influence amont du site
(4) Pression sur le fonctionnement hydromorphologique à l'échelle du tronçon
(5) Ripisylve à l'échelle du tronçon
(6) Facteurs de biodisponibilité à l'échelle du site

Représentation de chaque pression par un ou plusieurs stresseurs mesurés pour chaque site de biosurveillance active

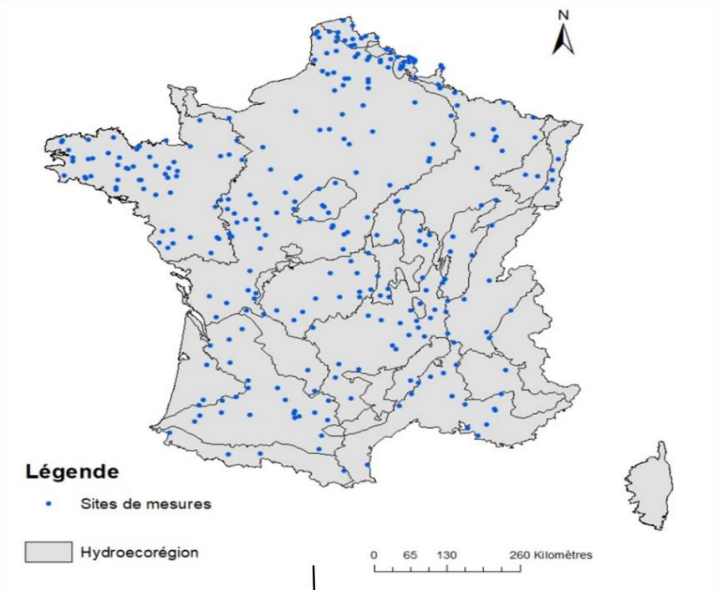
Conceptualisation des liens entre les pressions et la contamination biodisponible métallique

Quantification des effets (directs, indirects et totaux) entre les pressions et la contamination biodisponible métallique suivant une modélisation par équations structurelles

Figure II.6: Stratégie de travail pour étudier les liens entre les pressions et la contamination biodisponible métallique avec les échelles choisies (le bassin versant en bleu, la zone d'influence amont du site en marron, le tronçon en rose et le site en vert).

Stratégie de travail du deuxième objectif "Quantifier les liens entre les pressions anthropiques et la contamination biodisponible en HAPs et PCBs"

Surveillance de la contamination biodisponible organique



Choix des pressions qui peuvent influencer sur la contamination organique aux échelles appropriées

(1) Sources diffuses à l'échelle du bassin versant
(2) Sources ponctuelles à l'échelle de la zone d'influence amont du site
(3) Les facteurs environnementaux à l'échelle du bassin versant
(4) Les facteurs hydromorphologiques à l'échelle du tronçon
(5) Les nutriments et les matières organiques à l'échelle du site

Représentation de chaque pression par un ou plusieurs stresseurs mesurés pour chaque site de biosurveillance active

Conceptualisation des liens entre les pressions et la contamination biodisponible organique

Analyse en composantes principales des mesures de contamination biodisponible en HAPs et PCBs

Quantification des effets totaux des pressions et la contamination biodisponible organique suivant une modélisation par équations structurelles

Figure II.7: Stratégie de travail de l'étude des liens entre les pressions et la contamination biodisponible organique avec les échelles choisies (le bassin versant en bleu, la zone d'influence amont du site en marron, le tronçon en rose et le site en vert).

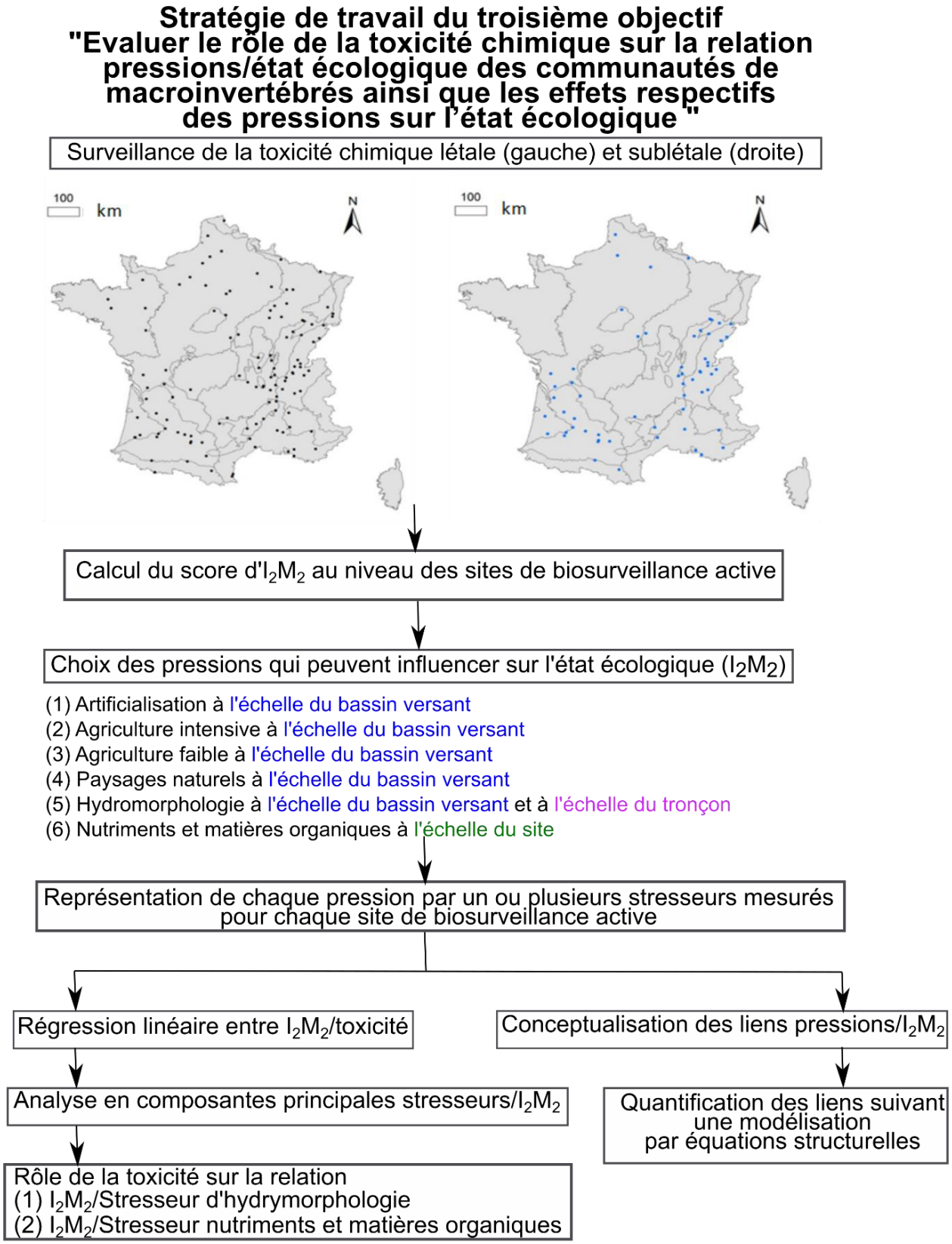
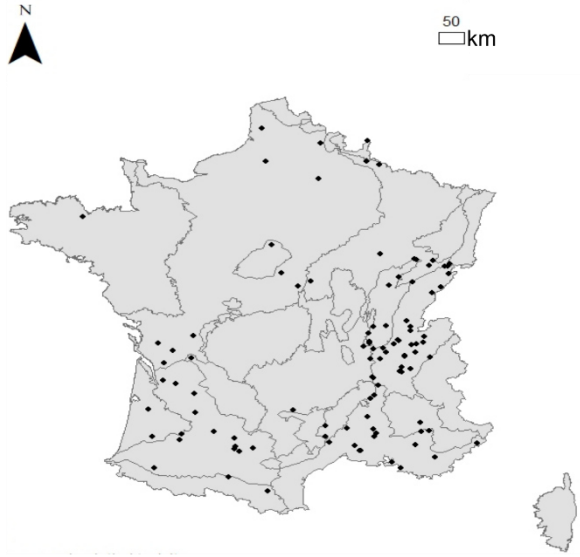


Figure II.8: Stratégie de travail de l'étude du rôle de la toxicité chimique sur l'état écologique des communautés de macroinvertébrés benthiques avec les échelles choisies (le bassin versant en bleu, la zone d'influence amont du site en marron, le tronçon en rose et le site en vert).

Stratégie de travail du quatrième objectif "Etudier le rôle de la toxicité chimique sur le fonctionnement (traits biologiques)des communautés de macroinvertébrés benthiques dans un contexte multi-pressions."

Surveillance de la toxicité chimique létale et sublétale



Calcul de la contribution des taxons à chaque modalité de traits biologiques au niveau de chaque site de biosurveillance

Choix des stresseurs répartis en quatre pressions à trois échelles

(1) Occupation du sol anthropique à l'échelle du bassin versant
(2) Hydromorphologie à l'échelle du bassin versant
(3) Hydromorphologie à l'échelle du tronçon
(4) Nutriments et matières organiques à l'échelle du site

Association des stresseurs, incluant la toxicité chimique (létale et sublétale), avec les traits biologiques par une analyse de co-inertie

Figure II.9: Stratégie de travail de l'étude des associations des pressions, incluant la toxicité chimique, avec les traits biologiques des communautés de macroinvertébrés benthiques et les échelles choisies (le bassin versant en bleu, la zone d'influence amont du site en marron, le tronçon en rose et le site en vert).

Références

Abdi, H. and Williams, L.J. (2010) Principal component analysis. WIREs Computational Statistics 2(4), 433-459. https://doi.org/10.1002/wics.101.

AFNOR (2019) Qualité de l'eau - Encagement in situ de gammares pour la mesure de la bioaccumulation de substances chimiques. Norme XP T90-721. https://www.boutique.afnor.org/norme/xp-t90-721/qualite-de-l-eau-encagement-in-situ-de-gammares-pour-la-mesure-de-la-bioaccumulation-de-substances-chimiques/article/925230/fa193552.

Alric, B., Geffard, O., Chandesris, A., Ferréol, M., François, A., Perceval, O., Piffady, J., Villeneuve, B. and Chaumot, A. (2019) Multisubstance Indicators Based on Caged Gammarus Bioaccumulation Reveal the Influence of Chemical Contamination on Stream Macroinvertebrate Abundances across France. Environmental Science & Technology 53(10), 5906-5915. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01271.

Besse, J.-P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P. and 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(2), 650-660. https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024.

Ciliberti, A., Chaumot, A., Recoura-Massaquant, R., Chandesris, A., François, A., Coquery, M., Ferréol, M. and 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. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031.

Coulaud, R., Geffard, O., Xuereb, B., Lacaze, E., Quéau, H., Garric, J., Charles, S. and 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(19), 6417-6429. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.035.

Croutsche, J.J. (2002) Étude des relations de causalité: Utilisation des modèles d'équations structurelles (approche méthodologique). La Revue des Sciences de Gestion: Direction et Gestion des entreprises, 81.

David, J.Y. (2019) Corine Land Cover Edition 2018 France Métropolitaine. Accessed on 09/02/2021. https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/corine-land-cover-edition-2018-france-metropolitaine/.

Dolédec, S. and Chessel, D. (1994) Co-inertia analysis: an alternative method for studying species-environment relationships. Freshwater Biology 31(3), 277-294. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1994.tb01741.x.

Dray, S., Chessel, D. and Thioulouse, J. (2003) Co-Inertia analysis and the linking of

ecological data tables. Ecology 84(11), 3078-3089. https://doi.org/10.1890/03-0178.

EC/ESBN (2004) The European Soil Database distribution version 2.0. Accessed on 09/02/2021, CD-ROM, EUR 19945 EN. https://esdac.jrc.ec.europa.eu/content/european-soil-database-v20-vector-and-attribute-data.

Grace, J.B., Anderson, T.M., Olff, H. and Scheiner, S.M. (2010) On the specification of structural equation models for ecological systems. Ecological Monographs 80(1), 67-87. https://doi.org/10.1890/09-0464.1.

Hościło, A. and Tomaszewska, M. (2014) CORINE Land Cover 2012 - 4th CLC inventory completed in Poland. Geoinformation Issues 6, 49-58. https://doi.org/10.34867/gi.2014.4.

IGN (2016) ADMIN EXPRESS Accessed on 09/02/2021. https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/admin-express/.

IGN (2017) BD Carthage® Accessed on 09/02/2021. http://services.sandre.eaufrance.fr/telechargement/geo/ETH/BDCarthage/FXX/2017/.

IGN (2020) BD TOPO®. Accessed on 09/02/2021. https://geoservices.ign.fr/documentation/diffusion/telechargement-donnees-libres.html#bd-topo.

Irstea/ONEMA (2017) SYRAH-CE. Accessed on 09/02/2021. http://www.data.eaufrance.fr/jdd/9c86a5da-88f4-4819-a84e-c09a69394a34.

Kim, H.-Y. (2018) Statistical notes for clinical researchers: analysis of covariance (ANCOVA). Restorative dentistry & endodontics 43(4), e43. https://doi.org/10.5395/rde.2018.43.e43.

Mondy, C.P., Villeneuve, B., Archaimbault, V. and Usseglio-Polatera, P. (2012) A new macroinvertebrate-based multimetric index (I2M2) to evaluate ecological quality of French wadeable streams fulfilling the WFD demands: A taxonomical and trait approach. Ecological Indicators 18, 452-467. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.12.013.

Montier, C., Daroussin, J. and King, D. (1998) Cartographie de l'aléa ''Erosion des Sols'' en France. INRA, Orléans.

Musseau, C., Vincenzi, S., Jesenšek, D., Cantera, I., Boulêtreau, S., Santoul, F. and Crivelli, A.J. (2015) Direct and indirect effects of environmental factors on dietary niches in size-structured populations of a wild salmonid. Ecosphere 6(12), 1-15. https://doi.org/10.1890/ES15-00109.1.

Naïades Accessed on 09/02/2021. http://www.naiades.eaufrance.fr.

Nõges, P., Argillier, C., Borja, Á., Garmendia, J.M., Hanganu, J., Kodeš, V., Pletterbauer, F., Sagouis, A. and Birk, S. (2016) Quantified biotic and abiotic responses to multiple stress in freshwater, marine and ground waters. Science of the Total Environment 540, 43-52. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.045.

Philippas, D. (2014) Analysis of Covariance (ANCOVA). Encyclopedia of Quality of Life and Well-Being Research, 157-161. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0753-5_82.

Quintana-Seguí, P., Le Moigne, P., Durand, Y., Martin, E., Habets, F., Baillon, M., Canellas, C., Franchisteguy, L. and Morel, S. (2008) Analysis of Near-Surface Atmospheric Variables: Validation of the SAFRAN Analysis over France. Journal of Applied Meteorology and Climatology 47(1), 92-107. https://doi.org/10.1175/2007JAMC1636.1.

Sandre (2012) Stations de traitement des eaux usées - France entière Accessed on 09/02/2021. https://www.sandre.eaufrance.fr.

Schmidt, T.S., Van Metre, P.C. and Carlisle, D.M. (2019) Linking the Agricultural Landscape of the Midwest to Stream Health with Structural Equation Modeling. Environmental Science & Technology 53(1), 452-462. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04381.

Shieh, G. (2019) Power Analysis and Sample Size Planning in ANCOVA Designs. Psychometrika 85, 101 - 120. https://doi.org/10.1007/s11336-019-09692-3.

Tenenhaus, M., Vinzi, V.E., Chatelin, Y.-M. and Lauro, C. (2005) PLS path modeling. Computational Statistics & Data Analysis 48(1), 159-205. https://doi.org/10.1016/j.csda.2004.03.005.

Usseglio-Polatera, P., Richoux, P., Bournaud, M. and Tachet, H. (2001) A functional classification of benthic macroinvertebrates based on biological and ecological traits: Application to river condition assessment and stream management. Archiv für Hydrobiologie 139, 53-83.

Valette, L., Piffady, J., Chandesris, A. and Souchon, Y. (2012) SYRAH-CE : description des données et modélisation du risque d'altération de l'hydromorphologie des cours d'eau pour l'Etat des lieux DCE. Pôle hydroécologie des cours d'eau Onema/Irstea Lyon, 1-104.

Vidal, J.-P., Martin, E., Franchistéguy, L., Baillon, M. and Soubeyroux, J.-M. (2010) A 50-year high-resolution atmospheric reanalysis over France with the Safran system. International Journal of Climatology 30(11), 1627-1644. https://doi.org/10.1002/joc.2003.

Wasson, J.G., CHANDESRIS, A., Pella, H. and Blanc, L. (2002) Les hydro-écorégions de France métropolitaine approche régionale de la typologie des eaux courantes et éléments pour la définition des peuplements de référence d'invertébrés. Cemagref, 190.

Wasson, J.G., Villeneuve, B., Mengin, N., Pella, H. and Chandesris, A. (2005) Modèles pressions-impacts. Approche méthodologique, modèles d'extrapolation spatiale et modèles de diagnostic de l'état écologique basés sur les invertébrés en rivière (IBGN). 1-71. https://hal.inrae.fr/hal-02587331.

CHAPITRE III : QUELS SONT LES LIENS ENTRE LES PRESSIONS ET LA CONTAMINATION BIODISPONIBLE A GRANDE ECHELLE ?

Partie 1 : Liens entre les pressions et la contamination métallique biodisponible

Synthèse du chapitre III, partie 1

Les cours d'eau sont des écosystèmes complexes soumis à de multiple pressions anthropiques susceptibles d'impacter leurs communautés biologiques. En réponse à ce constat, les scientifiques ont investigué depuis longtemps les effets de forces motrices et des pressions d'origine anthropique comme l'occupation du sol, les apports en nutriments et les modifications hydromorphologiques. La contamination chimique est une pression qui n'a pas été prise en compte que récemment dans les approches pressions-impacts, sans doute parce que la quantification de la contamination chimique présente encore des défis. La mesure de la contamination dans l'eau et le sédiment reposent sur des prélèvements ponctuels qui n'intègrent pas la possible évolution temporelle de la contamination. D'autres types de suivis se basent sur l'utilisation de capteurs passifs qui sont capables d'intégrer la contamination sur de longues périodes. Cependant, ces trois types de mesures ne prennent pas en compte la fraction biodisponible du contaminant, potentiellement toxique pour l'organisme. La biosurveillance passive et active permettent de mesurer la contamination biodisponible accumulée par les organismes vivants (le biote). La biosurveillance passive correspond à la contamination chimique des organismes prélevés du milieu, qui dépend en partie du niveau de contamination du milieu, mais également de nombreux facteurs biotiques et abiotiques. Ainsi, en terme de pression chimique des milieux, les mesures obtenues en biosurveillance passive ne sont pas comparables à large échelle entre sites. La biosurveillance active, sur laquelle nous nous sommes appuyés ici, basée sur l'utilisation d'une population contrôle, permet de contrôler les facteurs dits de confusion et ainsi de comparer directement les niveaux de contamination biodisponible observés entre sites déconnectés.

Dans ce chapitre, nous posons la question suivante : est-il possible de quantifier les liens entre les pressions anthropiques et la contamination biodisponible ? Pour ceci, nous avons choisi de nous focaliser sur les données de contamination biodisponible métallique, issues des programmes de suivi réalisés par les agences de l'eau, offrant un large gradient de contamination et une large échelle spatiale d'étude. Nous avons ainsi pu constituer un jeu de données de 196 échantillons de mesure

répartis sur toute la France métropolitaine, avec une diversité de contextes géographiques, climatiques et de reliefs (Figure III.1.2)

Face à ce jeu de données de contamination métallique, nous avons sélectionné les pressions qui pouvaient avoir un effet sur celle-ci; (1) l'occupation du sol anthropique à l'échelle du bassin versant, (2) la densité des industries à l'échelle du bassin versant et de la zone d'influence amont du site, (3) la densité des stations d'épuration à l'échelle de la zone d'influence amont du site, (4) les pressions sur le fonctionnement hydromorphologique du cours d'eau à l'échelle du tronçon, (5) la ripisylve à l'échelle du tronçon et (6) les facteurs de biodisponibilités à l'échelle du site. Chaque variable de pression a ensuite été construite à partir de stresseurs permettant de la représenter au mieux. A partir des hypothèses de liens entre ces pressions et la contamination biodisponible métallique s'appuyant sur la littérature, un modèle conceptuel permettant de relier les pressions à la contamination a été construit, puis implémenté en utilisant une méthode de modélisation par équations structurelles, le *Partial Least Squares – Path Modeling*.

La corrélation de Pearson de chaque stresseur à la pression qu'il représente a été obtenue. Par exemple, l'occupation du sol anthropique a été surtout corrélée avec les surfaces urbaines (Table III.1.1). Cette démarche a permis de quantifier les effets directs, indirects et totaux des pressions sur la contamination biodisponible métallique (Figure III.1.3 et Table III.1.2) et de valider les hypothèses émises. Les pressions corrélées positivement avec la contamination biodisponible métallique par ordre décroissant sont : l'occupation du sol anthropique, la densité des industries, la densité des stations d'épuration, les pressions sur le fonctionnement hydromorphologique du cours d'eau et les facteurs de biodisponibilité. La ripisylve a par contre une corrélation négative avec la contamination biodisponible métallique. La présente étude a pu mettre en place une approche pour étudier les liens entre les pressions anthropiques et la contamination biodisponible. La démarche de modélisation et d'analyse constitue un cadre théorique pertinent et reproductible d'analyse des liens entre les sources de contamination et la contamination biodisponible, prenant en compte le fonctionnement à large échelle d'un cours d'eau. Celle-ci pourra être mobilisée pour évaluer les effets des pressions sur d'autres types de contamination chimique biodisponible et/ou de toxicité chimique.

How to quantify the links between bioavailable contamination in watercourses and pressures of anthropogenic land cover, contamination sources and hydromorphology at multiple scales?

Noëlle Sarkis [a], Olivier Geffard [b], Yves Souchon [a], André Chandesris [a], Martial Férréol [a], Laurent Valette [a], Benjamin Alric [b], Adeline François [b], Jérémy Piffady [a], Arnaud Chaumot [b], Bertrand Villeneuve [c]

[a] INRAE, UR RiverLy, EcoFlowS, F-69625 Villeurbanne, France

[b] INRAE, UR RiverLy, Laboratoire d'écotoxicologie, F-69625 Villeurbanne, France

[c] INRAE, UR EABX, F-33612 Cestas, France

Article Sarkis et al. (2020) publié dans *Science of the Total Environment*.

Highlights

- Active biomonitoring was used to evaluate the contamination of watercourses.
- An expanded dataset of pressures acting on contamination all over France was used.
- Bioavailable contamination and multipressure links were quantified.
- Anthropogenic land cover and sources of contamination affected metal contamination.

Graphical abstract

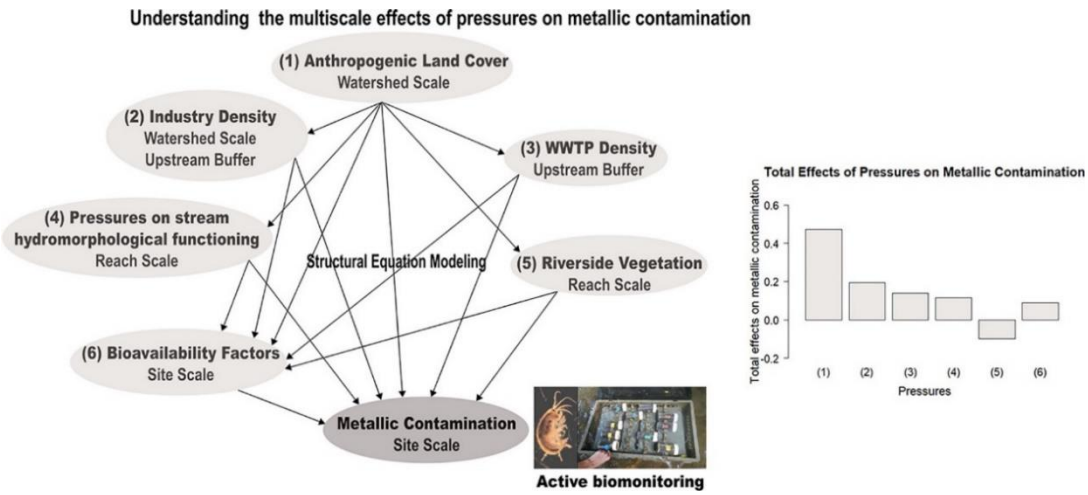


Figure III.1.1: Graphical abstract on the study of links between pressures and bioavailable metallic contamination.

Abstract

Active biomonitoring permits the quantification of biological exposure to chemicals through measurements of bioavailable concentrations in biota and biological markers of toxicity in organisms. It enables respective comparison of the levels of contamination between sites and sampling campaigns. Caged gammarids are recently proposed as relevant probes for measuring bioavailable contamination in freshwater systems. The purpose of the present study was to develop a multi-pressure and multiscale approach, considering metallic contamination levels (from data based on active biomonitoring) as a response to pressures (combination of individual stressors).These pressures were anthropogenic land cover, industry density, wastewater treatment plant density, pressures on stream hydromorphological functioning, riverside vegetation and bioavailability factors. A dataset combining active biomonitoring and potentially related pressures was established at the French national scale, with 196 samplings from 2009 to 2016. The links between pressures and metallic contamination were defined and modelled via structural equation modeling (more specifically partial least squares – path modeling). The model enabled the understanding of the respective influences of pressures on metallic bioconcentration in caged sentinel organisms. Beyond validating the local influence of industries and wastewater treatment plants on metallic contamination, this model showed a complementary effect of driving forces of anthropogenic land cover (leading to human activities). It also quantified a significant influence of pressures on stream hydromorphological functioning, presence of vegetation and physico-chemical parameters on metal bioconcentration. This hierarchical multi-pressure approach could serve as a concept on how pressures and contamination (assessed by active biomonitoring) can be connected. Its future application will enable better understanding of environmental pressures leading to contamination in freshwater ecosystems.

Keywords

Multiple stressors; Gammarids; Partial least squares - path modeling; Metallic contamination; Freshwater ecosystems

1. Introduction

Aquatic ecosystems are threatened by multiple pressures generated by human activities (Hering et al., 2015). A pressure results from a driving force and can be considered as an aggravating factor impacting on the ecosystem according to the Driver-Pressure-State-Impact-Response scheme (Kristensen, 2004). It is a combination of individual environmental stressors (measured environmental variables potentially affecting the biological and ecological integrity of a system) (Feld et al., 2016). Single pressure studies were often not sufficient to explain the observed responses of these ecosystems, particularly with occurrence of multiple interconnected pressures (Rasmussen et al., 2013). Multi-pressure approaches were suggested, taking into account combined effects (Liess et al., 2016) of cumulative stress (Allan et al., 2013) and interacting processes (Solimini et al., 2009; Steffen et al., 2015).

Several descriptive and/or explanatory pressure-impact studies were established to investigate the relationships between pressures and the ecological state of surface water. Villeneuve et al. (2018) studied for instance the impact of pressures of physico-chemical and hydromorphological characteristics on freshwater invertebrate communities for 1200 study sites at different scales of streams in France using structural equation modeling (SEM). Villeneuve et al. (2015) studied as well the effects of land use, hydromorphology and physico-chemistry on the ecological state for 1100 sites in France with a partial least squares - regression and conditional inference trees. Riseng et al. (2011) investigated the causal relationships between agricultural land use and the ecological state (assessed by biotic integrity) for 266 stream sites in the United States with SEM. Dahm et al. (2013) focused on the effect of physico-chemistry, land use and hydromorphology on the ecological state for 2302 sites over Austria and Germany with Boosted Regression Trees. Thus, many statistical analyses were used in pressure-impact studies to quantify the effects of pressures on the ecological state but SEM in particular is a promising tool for evaluating the influence of multiple pressures on stream macroinvertebrate communities. SEM enables testing the order and direction of the pathways between processes through quantification of direct and indirect effects, often not possible with other methods (Riseng et al., 2011). Partial least squares – path modeling (PLS-PM) is a type of SEM avoiding collinearity between variables of pressures. Therefore, this method is able to identify and ignore

quantification of wrong pathways between variables generated by correlations between them (Tenenhaus et al., 2005).

Multi-pressure approaches started lately to integrate contamination too. The European MARS project (Managing Aquatic ecosystems and water Resources under multiple Stress) considered contamination combined with hydromorphology. They used measurements in water and modelled data for 16 river basins over Europe specific to 2500 sampling sites for physical and chemical parameters (Birk et al., 2018; Grizzetti et al., 2017; Hering et al., 2015). Rico et al. (2016) compared the effect of habitat characteristics, hydromorphological alterations and water quality (including estimations of toxic units) on invertebrate communities. Nevertheless, considering chemical contamination is often challenging with gaps in monitoring of chemical contamination (Giakoumis and Voulvoulis, 2018) and instant punctual samples often below the quantification limits (Brack et al., 2015; Ciliberti et al., 2017). Despite these challenges, more integrative tools are available to characterize more reliably the variability of aquatic contamination in the pressure-impact framework. This was recently illustrated by Schmidt et al. (2019) who developped a SEM to study the links between agricultural pesticides, dosed in passive samplers, and stream ecological integrity for 100 stream sites across the United States. Furthermore, because pressure-impact approaches are ultimately aimed at understanding and predicting biological impacts, integrative indicators of bioavailable contamination can be used to quantify potential impacts. The quantity of a substance assimilated by biota represents substance bioavailability (de Paiva Magalhães et al., 2015).

Active biomonitoring (ABM) quantifies the contamination over time while considering bioavailability (Andral et al., 2004; Besse et al., 2013). It is based on the exposure of transplanted organisms (used as a probe), from an uncontaminated source population to contaminated ecosystems (Andral et al., 2004; De Kock, 1983). The assets of ABM had been shown for instance by Munz et al. (2018) with concentrations of substances in gammarids often higher than external water concentrations. More specifically, invertebrates have the ability to integrate contaminants like metals present in surface water (Rainbow, 2002). ABM is today routinely applied with gammarids in France in the context of the Water Framework Directive (WFD) on substance monitoring via biota (European Commission, 2013). It permits the control of biotic parameters (Besse et al., 2012) and successfully characterizes bioavailable contamination in different locations

and timings (Alric et al., 2019; Ciliberti et al., 2017). Gammarids are widespread macroinvertebrates in the Northern hemisphere freshwater (Weiss and Leese, 2016; Westram et al., 2011). They are sensible and responsive (Wepener, 2013) to a wide range of metallic and organic contaminants (Chaumot et al., 2015). Their survival in spite of multiple anthropogenic pressures enables the evaluation of contamination in their tissues over time and sublethal responses to a wide range of contaminations (Wepener, 2013).

Metals are important factors of contamination, naturally present in the environment in the form of geochemical backgrounds but they can be more concentrated with anthropogenic inputs (Chandesris et al., 2013; Tchounwou et al., 2012; Urien et al., 2017). These contaminants can persist in the environment and their bioavailability is highly related to physico-chemical conditions, such as water hardness (Tchounwou et al., 2012). Anthropogenic land cover (for example, urbanization and agriculture) can lead to contamination of waterbodies (Hering et al., 2015) by generating emissions of substances (Kristensen, 2004). The emissions of metals are well known and can be originated from domestic sources (wastewater treatment plants (WWTPs) still reject contaminated sewage) and industries (for instance, mining industry) (Gaujous, 1995; Tchounwou et al., 2012). Lead, silver, zinc, nickel, chromium, mercury, cadmium and copper are metallic trace elements that can be released from industries and cadmium and copper in particular are used in agriculture as well (Gaujous, 1995; Tchounwou et al., 2012; Verma and Dwivedi, 2013). Riverside vegetation can diminish the arrival of these chemical inputs in streams (Rios and Bailey, 2006). Changes in physical processes (dynamic functioning of the stream like fluxes of sediment) and configuration (morphological structure of the stream) generated by anthropogenic pressures or activities, are known as hydromorphological alteration (Malavoi and Bravard, 2013). It can be an aggravating pressure, favorable for contaminants circulation. Moreover, morphological changes are susceptible to induce pressures affecting the functioning of stream hydromorphology. Physico-chemical factors can influence biota's uptake of metals, notably by modulating their bioavailability (de Paiva Magalhães et al., 2015; Urien et al., 2016). The WFD states the necessity of monitoring metallic trace elements and in particular, the priority compounds (cadmium, lead, mercury and nickel). Therefore, national monitoring of metallic trace metals in biota has been required (European Commission, 2008).

Here, we aimed to define a statistical modeling framework to quantify the links between multiple pressures and bioavailable chemical contamination, measured through active biomonitoring. To do so, we first built a national dataset composed of descriptors of multiple pressures (anthropogenic land cover, industry density, wastewater treatment plant density, pressures on stream hydromorphological functioning, riverside vegetation and bioavailability factors) and bioconcentrated metals (eight metals dosed in gammarids). This dataset contained information for 196 samplings from the French monitoring network distributed throughout France. Hypotheses were that all pressures had positive correlations with metallic contamination, and riverside vegetation had a negative relationship with metallic contamination. To quantify the hypothesized links, we implemented an explanatory and descriptive methodology with SEM at multiple scales. The established approach defined in a hierarchical organization (including the direct and indirect links), the effects between pressures. Then it quantified the effects of these pressures on metallic contamination (measured through ABM) at a national scale. This approach serves as a first basis for future studies on the effect of multiple pressures (including bioavailable contamination) on ecological state.

2. Material and methods

2.1. ABM data and study area for metallic contamination characterization

In order to link metallic contamination to pressures, the approach was first centralized on the measurements of metallic concentrations in gammarids. The used dataset for metallic contamination is described by Alric et al. (2019). Each ABM sample comprised metallic concentrations in body-size-calibrated male gammarids. The sampling procedure consisted on the following: first, gammarids from a source population were caught from an uncontaminated site and acclimated in the laboratory for three weeks. Then, the caged gammarids were placed in streams with sufficient leaves to avoid starvation. The exposure to contaminants lasted seven days and was during non-flood events (Ciliberti et al., 2017 details the experimental protocol). The exposure period was short compared to the life duration of gammarids but sufficient to quantify bioavailable contamination. Gammarids were used as an integrative probe able to measure bioavailable contamination without considering any biological response. After the exposure, the bioconcentrated metals were measured by dosing the concentration of eight metals (cadmium, nickel, lead, copper, zinc, silver, mercury and chromium) in

gammarids (see Alric et al. (2019) for chemical analysis details). Based on the availability of contamination and pressure data, we gathered 196 samples with monitored locations across France between 2009 and 2016. These samples are relative to the French stream monitoring network (previous experiments of the French regional water agencies and programs performed at the Ecotoxicology laboratory of INRAE). The samples are representative of the majority of hydroecoregions (73%) in France (Figure III.1.2) and are therefore representative of many possible stream conditions in the country. The levels of contamination covered various environmental levels of contamination since the sites are part of the French stream monitoring network and are representative of the state of each stream.

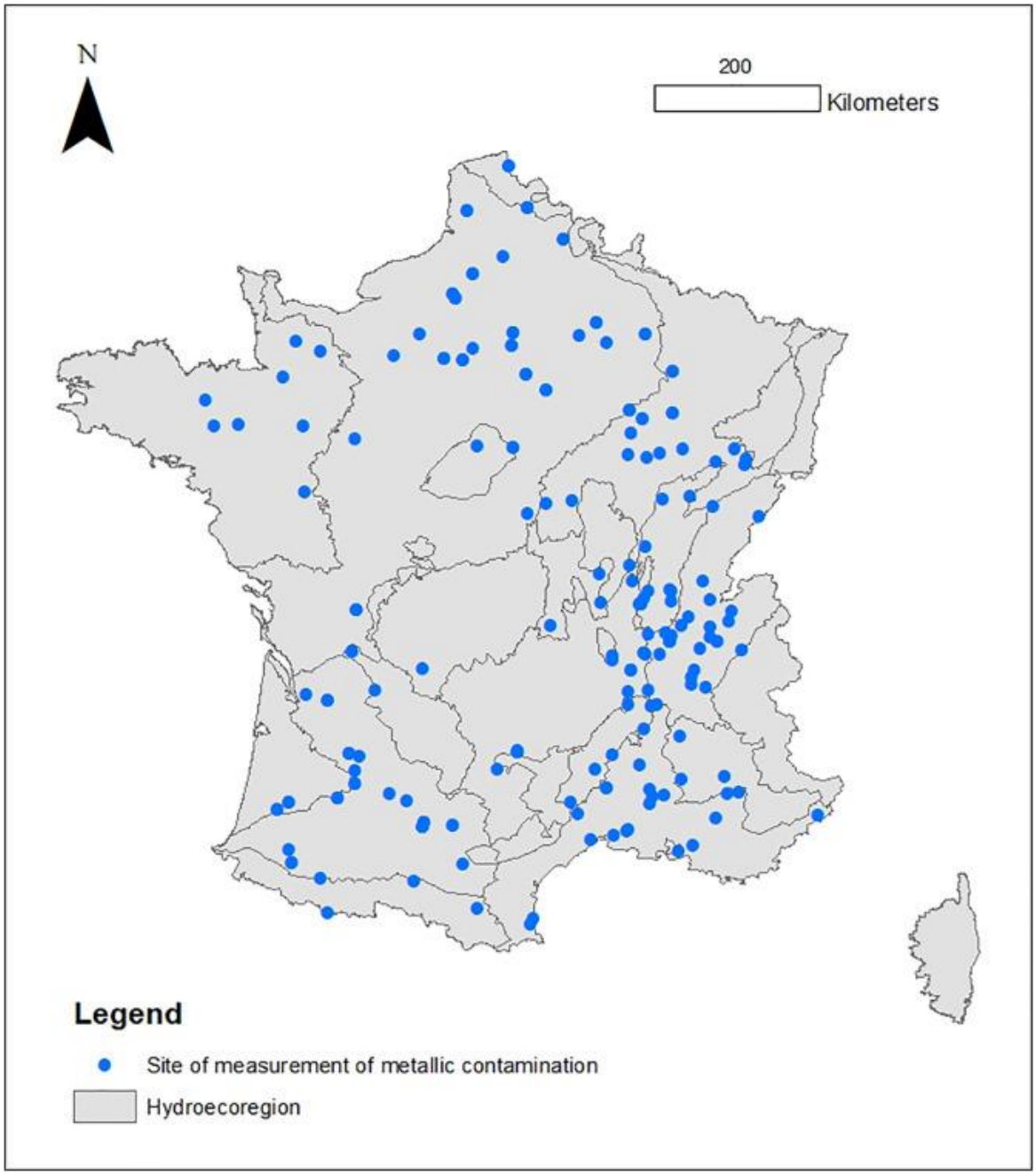


Figure III.1.2: Distribution of sampling sites for metallic contamination (blue dots) in France for multiple Hydroecoregions (zones delimited by gray lines).

2.2. Pressures and stressors measures for modeling links

Each ABM sample was geographically associated with measures of pressures. We calculated six pressures (anthropogenic land cover, wastewater treatment plant density, industry density, riverside vegetation, pressures on stream hydromorphological functioning and bioavailability factors) based on hypothesized

effects and subsequent influence on metallic contamination. The choice of measured stressors representing each pressure and adopted scale was detailed in the Supplementary material section (SI.1). The data processing was done with ArcMap software (ESRI, 2018) and the data source is documented in Supplementary material section (see (SI.2)).

2.3. Conceptual model to link pressures and metallic contamination

The links between variables were defined based on hypotheses of effects and supported by literature (see Supplementary material (SI.3) for the details). These hypotheses stated that the variation of pressures (anthropogenic land cover, wastewater treatment plant density, industry density, pressures on stream hydromorphological functioning and bioavailability factors) and contamination was in the same direction (positive correlation). While riverside vegetation had a negative relationship with contamination (negative correlation).

The hypotheses state that each one of these factors has an effect on the other, following the direction defined from pressure 1 to pressure 2 (Supplementary material (SI.3)). When a pressure 1 contributes positively to metallic contamination, this means that the greater this pressure, the more important metallic contamination is. The first negative effect states that the more anthropogenic land cover increases, the less riverside vegetation there is. The last two negative effects state that when riverside vegetation increases, bioavailability factors and metallic contamination decrease. Based on the literature and hypotheses, the conceptual model was obtained, defining the links.

2.4. Partial least squares – Path modeling of links

Two sub-models compose the complete PLS-PM model: The measurement model takes into account a regression between unobserved processes called latent variables and their observed measures called manifest variables; The structural model represents relationships between processes, with a regression between latent variables. In multi-pressure modeling, latent variables are pressures and manifest variables are measures of these pressures (stressors). The modeling is based on

several hypotheses of the influence of pressures on each other (Musseau et al., 2015). In formative mode, each set of manifest variables are constructs of their specific latent variable and act on it (Fernandes, 2012; Vinzi et al., 2010). These latent variables are connected to each other by links called paths (Musseau et al., 2015). The details of calculations in PLS-PM are developed in Supplementary material (SI.4).

2.5. Quantification of links through model outputs

The structural model was fitted from the dataset in order to estimate the intensity of relationships. The design of the study was based on modeling via SEM and more specifically through PLS-PM with a formative mode in XLSTAT. Formative modeling was performed because formative manifest variables must not be mutually interchangeable. Each latent variable was estimated by its relative group of manifest variables. The external model was assessed based on the cross-loadings of manifest variables to their latent variables. Cross-loadings represent the correlation between manifest variables and latent variables. Each latent variable should have a high correlation with its measures to be well represented and to verify the convergent validity. Alternatively, the cross-loadings of manifest variables in their main latent variable should be higher than cross-loadings in other latent variables. The internal model was evaluated on the basis of the pertinence of the latent variables. It is represented by the coefficient of determination R^2 of endogenous constructs (latent variables affected by others). This coefficient of determination assesses the regression of the model and more particularly the variation of responses in the samples. The value of the coefficient of determination is recommended to be higher than 10% for each latent variable, in order to have a sufficient explanation of this latent variable by other latent variables (Croutsche, 2002). Path coefficients were determined for each effect. Then the direct, indirect and total effects of factors on each other were calculated. The direct effect corresponds to the path coefficient between two latent variables. The indirect effect is the product of the different path coefficients on a latent variable via intermediate latent variables. The total effect is the sum of direct and indirect effects. A jackknife test was adopted to verify significant regression coefficients (non-nullity of the coefficients in stable confidence interval) (Tenenhaus et al., 2005). It generates stable resampling path coefficients with a leave-one-out cross validation and is suitable for samples with extreme values, enabling fast computations (Efron and Gong, 1983).

The leave-one-out characteristic enables resampling of observations with one observation taken off for each resampling (Martens and Martens, 2000). This method often generates low quantitative relationships between variables, thus the obtained values must not be analyzed only in terms of strength of the relationship but also for comparison between links. Only the significant results were considered in this paper.

3. Results

3.1. Links between pressures and stressors

Anthropogenic land cover was correlated with urbanization surface with 0.984, higher than its correlation with agriculture surface with 0.283 at the watershed scale (Table III.1.1). WWTP density correlated the most strongly with the size of WWTPs at 3 km with a correlation of 0.900. Other measures correlated less to this pressure. Industry density is correlated the most with the number of industries at 10 km with 0.906. Number of mining, size of mining and sum of tonnage at the watershed scale had each a negligible correlation with industry density. Riverside vegetation was well correlated with both vegetation rate at 10 m (0.995) and at 30 m (0.917). Pressures on stream hydromorphological functioning is correlated the most with straightening rate at the reach scale (0.847). Bioavailability factors had the highest cross-loading with water hardness with a value of 0.999 followed by pH with a value of 0.311. Metallic contamination was correlated the most to bioconcentration of lead with a cross-loading of 0.787 followed by zinc with a value of 0.444. This representation of cross-loadings is partially verified since each latent variable is explained the most by one of its represented manifest variables. This measurement model showed a moderate fit and the variables provided a reasonable basis for the analysis of the model. In addition, the correlation between manifest variables of different latent variables were obtained. For example, anthropogenic land cover and the size of industries at 10 km had a correlation of 0.406. Metallic contamination had also cross-loading values with other measures than its specific measures. For all these measures except for the ones of riverside vegetation, most of the metals were positively correlated with these measures. For instance, urbanization surface at the watershed scale was positively correlated with metallic contamination (0.480). While, the relationship between metallic contamination and riverside vegetation was represented mostly by negative

correlations. Each metal was correlated with the respective pressures. For example, lead was positively correlated with anthropogenic land cover with a value of 0.381.

Table III.1.1: Cross-loadings (Pearson correlation) between measures (manifest variables in column 1 with scales between brackets) and their relative pressures (latent variables in column 2 to 8). Bold values represent the cross-loadings of specific manifest variable to their latent variable. WWTPs stands for wastewater treatment plants and DOC stands for dissolved organic carbon.

Manifest Variables	Anthropogenic Land Cover	WWTP Density	Industry Density	Riverside Vegetation	Pressures on stream hydromorphological functioning	Bioavailability factors	Metallic Contamination
Urbanization Surface (watershed)	**0.984**	0.467	0.623	-0.414	0.476	0.352	0.480
Agriculture Surface (watershed)	**0.283**	-0.001	0.005	-0.166	0.028	0.522	0.088
Number of WWTPs (at 3km)	0.142	**0.446**	0.135	-0.102	0.014	0.105	0.172
Number of WWTPs (at 10km)	0.024	**0.036**	0.101	0.056	-0.123	-0.046	0.057
Size of WWTPs (at 3km)	0.358	**0.745**	0.407	-0.240	0.249	0.073	0.270
Size of WWTPs (at 10km)	0.428	**0.900**	0.573	-0.176	0.226	0.092	0.326
Number of industries (at 3km)	0.431	0.325	**0.736**	-0.275	0.248	0.089	0.381
Number of industries (at 10 km)	0.566	0.553	**0.906**	-0.257	0.302	0.086	0.457
Size of industries (at 3km)	0.394	0.395	**0.720**	-0.229	0.226	0.072	0.415
Size of industries (at 10km)	0.406	0.554	**0.605**	-0.131	0.245	0.080	0.254
Number of mining (watershed)	-0.018	0.010	**-0.039**	-0.169	0.130	-0.047	0.017
Size of mining (watershed)	-0.019	0.032	**-0.032**	-0.171	0.121	-0.048	0.028
Sum of tonnage (watershed)	-0.043	-0.075	**-0.137**	-0.161	0.078	-0.082	-0.042

Vegetation rate at 10m (reach)	-0.430	-0.240	-0.243	**0.995**	-0.368	-0.245	-0.246
Vegetation rate at 30m (reach)	-0.381	-0.203	-0.135	**0.917**	-0.288	-0.291	-0.177
Roads and railways rate (reach)	0.038	0.067	0.116	-0.106	**0.100**	-0.027	0.083
Upstream dams rate (reach)	0.037	0.006	0.004	-0.038	**0.019**	-0.018	-0.002
Straightening rate (reach)	0.381	0.253	0.263	-0.313	**0.847**	0.169	0.244
Disconnected waterbodies rate (reach)	-0.013	0.023	0.192	-0.043	**-0.099**	-0.068	-0.011
Overwidth rate (reach)	0.300	-0.037	0.170	-0.242	**0.464**	0.065	0.070
Dike rate (reach)	-0.032	0.007	0.097	-0.078	**-0.074**	-0.047	0.009
pH (site)	0.097	0.096	0.033	-0.036	-0.013	**0.311**	0.175
DOC (site)	-0.020	-0.054	0.008	0.043	-0.038	**-0.095**	0.018
Water hardness (site)	0.429	0.135	0.116	-0.259	0.182	**0.999**	0.239
Bioconcentration of silver (site)	0.196	0.204	0.290	-0.049	0.083	-0.016	**0.382**
Bioconcentration of lead (site)	0.381	0.318	0.474	-0.154	0.249	0.082	**0.787**
Bioconcentration of zinc (site)	0.213	0.183	0.274	-0.051	0.104	0.111	**0.444**
Bioconcentration of nickel (site)	0.048	0.042	0.005	-0.014	0.049	0.144	**0.143**
Bioconcentration of mercury (site)	0.128	0.112	0.234	-0.045	0.068	0.197	**0.373**
Bioconcentration of cadmium (site)	0.172	0.193	0.319	-0.027	0.153	-0.122	**0.352**

Bioconcentration of chromium (site)	0.059	0.053	-0.030	-0.011	0.078	-0.028	**0.067**
Bioconcentration of copper (site)	0.144	0.071	0.123	-0.067	0.100	0.163	**0.317**

3.2. Links between pressures

The outputs of the structural model were then obtained (Figure III.1.3). The coefficient of determination (R^2) of endogenous constructs showed that industry density was the highest with 36%, followed by pressures on stream hydromorphological functioning with 22%, then WWTP density with 20%, riverside vegetation with 18% and an R^2 of 14 % for bioavailability factors. These values reveal that pressures are well represented and could present an explanation for metallic contamination. In addition, the multiple pressures explained 30% of metallic contamination. The path coefficients present on the respective paths showed the direct quantification of each link. For instance, anthropogenic land cover had a path coefficient of 0.179 on metallic contamination and 0.602 on industry density.

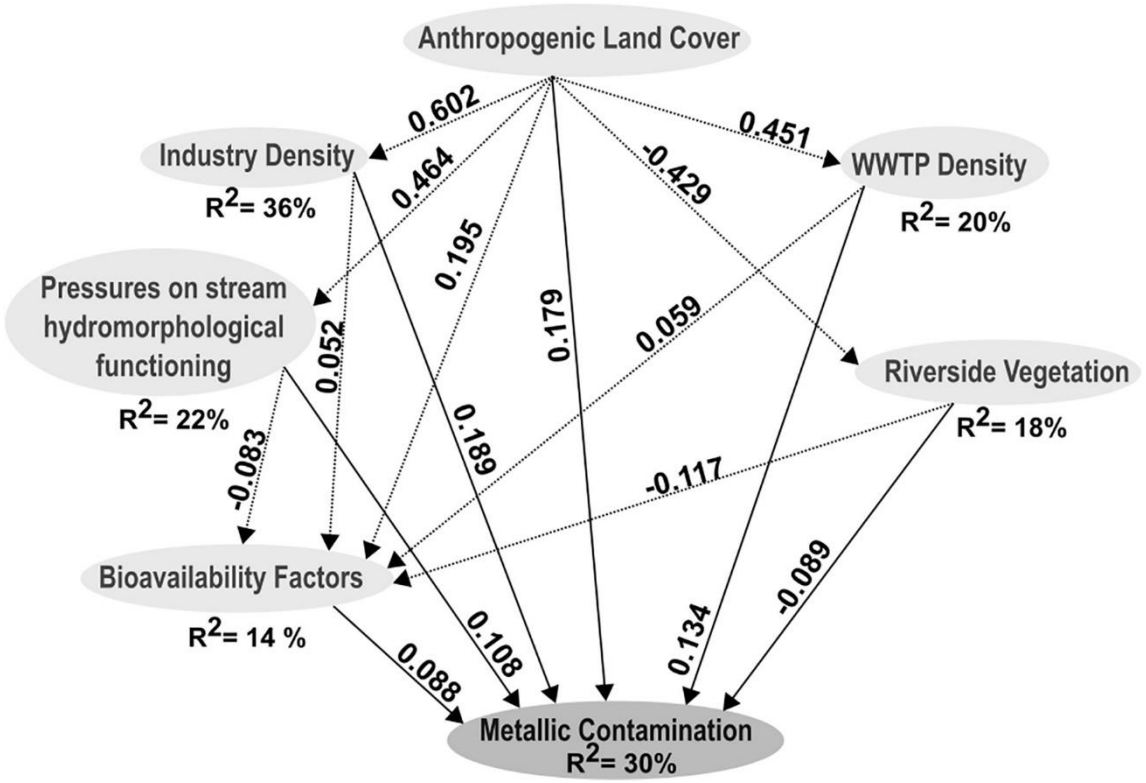


Figure III.1.3: Coefficients of determination (R^2 in percentage) of the pressures and path coefficients (values on arrows) of links. The inputs of the model (pressures) are represented by light gray and the main output of the model (metallic contamination) is in dark gray. The direct paths between pressures and metallic contamination are represented by black lined arrows and the indirect paths are in light dashed arrows.

The direct, indirect and total effects of pressures on each other were obtained (Table III.1.2). Anthropogenic land cover had the largest total effect of 0.472 on metallic contamination. This effect is partially mediated by other latent variables because

anthropogenic land cover had the most dominant indirect effect (0.293) too but not the most dominant direct effect (0.179) on metallic contamination. Industry density had the largest direct effect (0.189) on metallic contamination. In terms of total effects on metallic contamination, industry density and WWTP density had close effects of respectively 0.194 and 0.139. Compared to the effect of these pressures on metallic contamination, pressures on stream hydromorphological functioning had a close value of a total effect on metallic contamination of 0.115. This effect is generated by a direct effect of 0.108 and an indirect effect of 0.007. Riverside vegetation had a significant but small effect on metallic contamination (−0.099). It is the only factor that had a negative correlation with metallic contamination. While bioavailability factors had a significant effect (0.008) on metallic contamination but was the lowest compared to other pressures. Between the considered pressures, anthropogenic land cover had the largest effect on industry density (0.602). Riverside vegetation is the only factor that had a negative effect on metallic contamination (−0.099) and on pressures. All the other links were positive.

Table III.1.2: Direct, indirect and total effects between pressures. WWTP stands for wastewater treatment plant.

Pressure 1	Pressure 2	Direct Effect	Indirect Effect	Total Effect
Anthropogenic Land Cover	WWTP Density	0.451	0	0.451
Anthropogenic Land Cover	Industry Density	0.602	0	0.602
Anthropogenic Land Cover	Riverside Vegetation	-0.429	0	-0.429
Anthropogenic Land Cover	Pressures on stream hydromorphological functioning	0.464	0	0.464
Anthropogenic Land Cover	Bioavailability Factors	0.195	0.147	0.342

Anthropogenic Land Cover	Metallic Contamination	0.179	0.293	0.472
WWTP Density	Bioavailability factors	0.059	0	0.059
WWTP Density	Metallic Contamination	0.134	0.005	0.139
Industry Density	Bioavailability factors	0.052	0	0.052
Industry Density	Metallic contamination	0.189	0.005	0.194
Riverside Vegetation	Bioavailability Factors	-0.117	0	-0.117
Riverside Vegetation	Metallic Contamination	-0.089	-0.010	-0.099
Pressures on stream hydromorphological functioning	Bioavailability Factors	0.083	0	0.083
Pressures on stream hydromorphological functioning	Metallic Contamination	0.108	0.007	0.115
Bioavailability factors	Metallic Contamination	0.088	0	0.088

4. Discussion

4.1. Hypotheses of links between pressures and contamination

This study aimed to establish an approach to better understand quantitatively the links between pressures and bioavailable metallic contamination (through ABM) at a national scale. We hypothesized that anthropogenic land cover, WWTP density, industry density, pressures on stream hydromorphological functioning and bioavailability factors were connected with positive correlations with metallic contamination, unlike riverside vegetation, with a negative correlation with metallic contamination. We developed a structural equation model of linked pressures that enabled us to quantify the effects between pressures and bioavailable contamination of metals. This approach was based on choices of variables, multiple scales and a hierarchy of effects. This method was useful as a general descriptor of linkages between pressures and their cumulative effects on metallic contamination in gammarids, suggesting its utility in other multiple pressure-impact studies.

4.2. Explanation of pressure-contamination links

First, the measurement model reliability was confirmed with at least a high value of cross-loadings for each latent variable. The manifest variables that contributed the most to latent variables had often a wide distribution of data with a gradient of low and high values. For instance, while urbanization and agriculture both influenced the anthropogenic land cover latent variable, urban land cover was more variable than agriculture, giving it a stronger correlation (0.984 versus 0.283). In order to study the effect of anthropogenic land cover in a global vision, urbanization and agriculture were combined in one latent variable. This approach takes into account large scales like the watershed and 10 km buffer as well as smaller scales like the reach, site and 3 km buffer. Frissell et al. (1986) showed that taking into account the nesting hierarchy of habitats in streams must be considered for studying potentially different effects. The measures at 3 km and 10 km did not show the same correlations. Local scale indicators provided sometimes a different information than larger ones, enabling complementary information. For instance, anthropogenic land cover was represented at a large scale (watershed). A large scale combines multiple smaller scales, showing that the used indicators are integrators of various information. Pressures on stream

hydromorphological functioning was represented by various manifest variables. No separation was made between the different typologies of hydromorphology in terms of effect on liquid and sediment fluxes generated by each variable. In the current not causal model, the purpose of this latent variable similarly to anthropogenic land cover was to study its global effect on metallic contamination without focusing on a particular typology of hydromorphology. Water hardness had the highest cross-loading for bioavailability factors. Holt (2000) explained that water hardness influences strongly on metal bioavailability. Metallic contamination was not only correlated with contaminants concentrations but with other measures of pressures. Thus, the measurement model gave us hints about correlations between theoretical pressures and measures of these pressures.

Second, the reliability of the model was also confirmed with a good explanation of each factor and more precisely the explanation of metallic bioavailable contamination by pressures. The model was proved significant since R^2 was higher than 10% but still a part of the explanation is missing possibly due to other pressures. The quantification of links with path coefficients justified the links and the nature of the effects. Interactions between factors were represented with indirect effects. The coefficient of determination and path coefficients also showed that metallic bioconcentration in gammarids is not only generated by one pressure but rather multiple pressures. The integrality of metals had been considered to represent metallic contamination in the current model, nevertheless, depending on the considered taxa, certain elements are more or less regulated by biota. Takesue et al. (2019) showed that mussels for instance bioregulate several metals like cadmium and zinc. For this reason, finding links between concentration of metals in biota and pressures was dependent on the metals and the bioregulation. For instance, gammarids highly regulate copper (Urien et al., 2017). Furthermore, the highlight of this approach remains taking into account multiple measures like metals with multiple regressions in order to visualize all the possible quantitative links.

Third, pressures are intertwined and hypotheses in Supplementary material (SI.3) were supported in (Table III.1.2). These results were consistent with the formulated hypotheses that pressures had a positive correlation with metallic contamination and riverside vegetation had a negative one. The different sources of metals in waterbodies had indeed a weight on the measurement of bioconcentration. The descending order

of contributions was coherent (1) Anthropogenic land cover (2) Industry density (3) WWTP density (4) Pressures on stream hydromorphological functioning (5) Riverside vegetation (6) Bioavailability factors. Not only sources of contamination (anthropogenic land cover, industry density and WWTP density) had a total effect on metallic contamination, but also ponderation factors (pressures on stream hydromorphological functioning, riverside vegetation and bioavailability factors). Pressures with high and low contributions were considered in order to enable this comparison. Bioavailability factors known to modulate the levels of biota exposition to the waterbody contamination, were represented at a local scale (site). However, they had a low quantified link with metallic contamination in comparison to the sources of contamination (anthropogenic land cover, industry density and WWTP density) or elements modulating the transfer of contaminants to the watercourse (pressures on stream hydromorphological functioning and riverside vegetation). Previous studies like Brettschneider et al. (2019) linked local restauration of waterbody hydromorphology in specific sites to biocontamination and found no link between them. In the current paper, pressures on stream hydromorphological functioning were confronted for the first time, at a large scale, with metallic bioconcentration with a quantitative positive correlation. In addition, the model was intentionally designed with mostly indirect effects for anthropogenic land cover, since it is an exogenous construct integrating multiple pressures. In addition, the total effect of anthropogenic land cover was mediated by pressures on stream hydromorphological functioning, industry density, WWTP density and riverside vegetation.

4.3. Approach choices and adaptation

This approach can be used to describe and explain the links between pressures and water contamination. However, conclusions are dependent on the chosen pressures, measures and sampling sites, possibly explaining the levels of quantified links. This approach did not aim to represent all pressures but to understand how a selection of the main pressures are linked. Cairns Jr and Niederlehner (1996) state that chemical contamination could result from changes interacting at fine scale that are different from large scales, with co-occurrence of multiple agents. In this approach, representation of factors of transfer of metals from the source, and stocking and destocking in water were not included due to the absence of flood events. Choices were made, like

combining urbanization and agriculture (with only the types of agriculture that had intensive impact evaluated by Wasson et al. (2005)) from Corine Land Cover layers with a wide mesh. This latent variable aimed to represent globally the sources of metallic contamination at a large scale before investigating the quantification of more specific links. Other cartographies with a smaller mesh could provide a different contribution. In addition, in this approach natural geochemical concentration of metals was not separated from anthropogenic concentration of metals because the combination of both concentrations created the total threat. We were thus not focused on one type of concentration. Contrasts in concentrations of metals in gammarids covaried with the pressures. Moreover, watercourse size (Strahler order) could influence on the contamination level, completing the effects of pressures on it. However, in this study, all sites of all sizes were considered in one model in order to integrate the maximum information. The size of the watercourse thus covaried with some metals concentrations and not others. With a bigger dataset, two similar models for respectively small and bigger watercourses can be established. With this separation based on the size, the concept of the model itself will not vary but the quantification of the links might, based on the spatial configurations. Moreover, the hydrological regimes of the watershed could provide an information on the susceptibility of transfer of metals in the watercourse as well as the state of the metal and the flashes of solute and sediments during low and high flows (Moatar et al., 2020). Soil characteristics can also play on the type and rate of soil erosion and then on the transfer of metals. Finally, the dataset size is also an important factor to consider. The current dataset was the most consistent so far for these pressures with these measures. It resulted from previous independent experiments and served as an explanatory multi-pressure methodology. In order to make this approach predictive, a bigger dataset can help validate the robustness of the paths.

4.4. Utility of integrating ABM in a multi-pressure approach

This study stands out as it investigates quantitatively the links between pressures, looking more closely into the relationships between pressures and bioconcentrated contamination in gammarids. Numerous studies focused on multiple pressures and more specifically its effect on ecological communities and their responses (Dahm et al., 2013; Grizzetti et al., 2017; Lemm and Feld, 2017; Rico et al., 2016; Schmidt et al.,

2019; Villeneuve et al., 2018). Comparing this paper's results to large-scale pressure-impact studies is not possible since different inputs (various multiple pressures) and outputs (bioconcentration versus ecological response) were considered. However, this study is intended to serve as a concept on the integration of ABM in a multi-pressure approach and can add some perspectives to other pressure-impact studies integrating contamination. It suggests a quantitative link between pressures and contamination, highlighting the presence of links between anthropogenic land cover and contamination. Even though specific impacting pressures can occur, the cascades of links show that there is not only one important pressure that needed to be managed but also their relationship with contamination. In multi-pressure approaches, the challenge remains to have a consistent dataset with no gaps whatsoever. Thus, not only ABM had been proven suitable for contamination assessments but it was also needed in multi-pressure studies. ABM campaigns are mostly performed at a local scale, nearby to punctual sources of contamination (Besse et al., 2012). Brettschneider et al. (2019) established a local study on toxicity of substances through ABM in restored sites (in terms of hydromorphology) and found out that restoration did not affect the ecotoxicological quality. In the present paper, the gathering of measurements of metals in gammarids from past monitoring campaigns enabled the large-scale analysis. Alric et al. (2019) confronted metallic indicators to the state of invertebrate communities. The present methodology can complete the understanding of this link. In future studies, the links between pressures (including bioavailable contamination) and the ecological state will be investigated. It will enable the integration of bioavailable contamination to pressure-impact models. It can also be applied for other chemical compounds than metals. In addition, analyses of exposed gammarids was performed spatially due to independent caging experiments. Thus, temporality could be studied by establishing a strategy for sampling over the different seasons.

5. Conclusions

To conclude, the main idea conveyed in this paper is the proposal of a methodology allowing the investigation of the effects of multiple pressures on metallic bioconcentration for the first time. The chosen pressures (anthropogenic land cover, industry density, WWTP density, pressures on stream hydromorphological functioning and bioavailability factors) increased in the same direction while the increase of

riverside vegetation was accompanied by a decrease in the pressures and metallic contamination. Bioavailability factors had a low effect on metallic contamination compared to sources of contamination and factors of transfer. While pressures on stream hydromorphological functioning had a bigger effect on metallic contamination. Yet, interpretations should be done with hindsight of the representativeness of the dataset and the purpose of the present paper was mainly focused on the adapted methodology. Modeling through PLS-PM enabled better understanding of the order and the intensity of multiple pressures on metallic contamination, and simultaneously revealed the direct and indirect links between those multiple pressures. This case study provides a stepping-stone for extrapolating this methodology to other countries or locations with large-scale bioavailable contamination datasets. Finally, establishment in the future of a pressure-impact approach with multiple pressures (bioavailable contamination and toxicity included) as inputs and freshwater community as output, might improve understanding of how freshwater ecosystems respond to the growing complexity of pressures.

CRediT authorship contribution statement

Noëlle Sarkis: Conceptualization, Data curation, Investigation, Methodology, Writing - original draft. **Olivier Geffard:** Conceptualization, Investigation, Methodology, Supervision, Writing - review & editing. **Yves Souchon:** Conceptualization, Investigation, Methodology, Supervision, Writing - review & editing. **André Chandesris:** Data curation, Investigation, Methodology. **Martial Férréol:** Data curation, Investigation. **Laurent Valette:** Investigation, Writing - review & editing. **Benjamin Alric:** Investigation, Writing - review & editing. **Adeline François:** Data curation. **Jérémy Piffady:** Conceptualization, Investigation, Methodology, Supervision, Writing - review & editing. **Arnaud Chaumot:** Conceptualization, Investigation, Methodology, Supervision, Writing - review & editing. **Bertrand Villeneuve:** Conceptualization, Funding acquisition, Investigation, Resources, Supervision, Methodology, Writing - review & editing.

Acknowledgment

INRAE and the Regional Water Agency Rhône-Méditerranée-Corse funded this research. Authors thank the Ecotoxicology and EcoFlowS teams for their help in this project. As well as the scientists who participated in previous experiments of ABM, the 6 French regional water agencies for funding the experiments, BIOMAE for data collection and external scientists who participated in the follow up of the project. Finally, authors thank Jacob S. Diamond for proof reading the article in terms of language, spelling and grammar checking. We also thank the reviewers and editor for their comments that helped improve this paper.

Declaration of competing interest

Authors confirm not having any conflict of interest of publication of this article in any other journal.

Appendix A. Supplementary material

Eight pages, two tables and two method descriptions.

SI.1: Description of measures and scales of pressures.

- Anthropogenic land cover was represented by percentages of surfaces of urbanization and intensive agriculture (following the classification of Wasson et al. (2005)). These percentages were calculated at the watershed scale. The watershed of each active biomonitoring (ABM) site was defined based on the slopes with a Digital Elevation Model (DEM).
  - Wastewater treatment plant (WWTP) density was represented by the sizes and the number of WWTPs at a 3 km and 10 km circular buffer upstream of each site. The size was the sum of surfaces of WWTPs and the number was the count of the WWTPs in the buffer zones of 3 km and 10 km. We used two different scales of WWTP influence to examine both proximate and distal effects on metallic contamination.
  - Similarly, industry density measures were based on the sizes and the number of industries at 3 km and 10 km buffer upstream of each site. The size and number were calculated like for WWTP density. The industry density information was originated from Corine Land Cover (CLC) (Hościło and Tomaszewska, 2014) for the following layers: Industrial or commercial units (1.2.1.) and Mine, dump and construction sites (1.3.). The same indicators were calculated at the watershed scale for mining industries and for the sum of tonnage of metals produced in mining.
  - Riverside vegetation measures were characterized by the rates of vegetation in 10 m and 30 m at the reach scale (expressed in percentages).

- Pressures on stream hydromorphological functioning were not focused on variables of hydromorphology functioning but variables that can generate degradation of the natural functioning of a stream. We used the rate of roads and railways, upstream dams, channel straightening, disconnected waterbodies, overwidth and dikes at the reach scale, expressed in percentages. The length of the reach section was determined as a homogeneous hydromorphological section (Valette et al., 2012).
- Bioavailability factors were measured with the respective geometric means of the indicators below, for 11 prior monthly ABM samples and the month after the sampling at the site scale.
    i. pH.
    ii. Water hardness (in French degree °F, based on the total water hardness measure).
    iii. Dissolved organic carbon (DOC in milligram of carbon per liter, based on total and filtrated measures of DOC)

SI.2:

Table III.1.3: Table with sources for used variables at different scales.

Latent variable	Scale	Sources
Anthropogenic land cover	Watershed scale	Corine Land Cover (CLC) 2012 (Hościło and Tomaszewska, 2014).
WWTP density	3 km and 10 km upstream	The shape file on WWTP capacity (equivalent population in 2012) from the Sandre (2012) database.
Industry density	3 km and 10 km upstream, and watershed scale	CLC and « *Bureau de Recherches Géologiques et Minières* » (BRGM, Accessed on 6/02/2019) databases.
Vegetation rate	Reach scale	BD TOPO (IGN) for the representation of vegetation rate and reaches. The delimitation of reaches was extracted from the project « *Systèmes relationnel d'audit de l'hydromorphologie des cours d'eau* » (SYRAH-CE) (Valette et al., 2012).
Pressures on stream hydromorphological functioning	Reach scale	BD TOPO (IGN) for the pressures on river hydromorphological functioning. Delimitation of reaches and details of calculation are described in Valette et al. (2012).
Bioavailability factors	Site scale	(Naïades) database.

Metallic contamination	Site scale	Measures were based on results of previous experiences affiliated to the Ecotoxicology laboratory of INRAE.

SI.3:

Table III.1.4: Hypotheses of effects between two pressures (direction and nature of effect) and their supporting literature reference. WWTP stands for wastewater treatment plant.

Pressure 1	Pressure 2	Effect Nature	Supporting References
Anthropogenic land cover	WWTP density	Positive	Steele et al. (2010) Holt (2000)
Anthropogenic land cover	Industry density	Positive	Hościło and Tomaszewska (2014)
Anthropogenic land cover	Riverside vegetation	Negative	Rios and Bailey (2006) Naiman et al. (2005)
Anthropogenic land cover	Pressures on stream hydromorphological functioning	Positive	Villeneuve et al. (2018) Wang et al. (2008)
Anthropogenic land cover	Bioavailability factors	Positive	Leopold (1968) Kaushal et al. (2014a) Kaushal et al. (2014b) Kaushal et al. (2018)
Anthropogenic land cover	Metallic Contamination	Positive	Wang et al. (2008) Kaushal et al. (2014a)
WWTP density	Bioavailability factors	Positive	Leopold (1968) Kaushal et al. (2014b)

WWTP density	Metallic contamination	Positive	Holt (2000) Oursel (2013) Tchounwou et al. (2012) Wang et al. (2008) Steele et al. (2010)
Industry density	Bioavailability factors	Positive	Leopold (1968)
Industry density	Metallic contamination	Positive	Tchounwou et al. (2012) Wang et al. (2008) Steele et al. (2010)
Riverside vegetation	Bioavailability factors	Negative	Steele et al. (2010) Kaushal et al. (2014a) Naiman et al. (2005)
Riverside vegetation	Metallic contamination	Negative	Rios and Bailey (2006) Tormos (2010)
Pressures on stream hydromorphological functioning	Bioavailability factors	Positive	Kaushal et al. (2018)
Pressures on stream hydromorphological functioning	Metallic contamination	Positive	Garneau et al. (2012)
Bioavailability factors	Metallic contamination	Positive	Holt (2000)

SI.4: Principle of partial least squares - path modeling (PLS-PM) calculation.

First, the external estimation of latent variables based on manifest variables is calculated. Latent variables are calculated using partial least squares (PLS) algorithm to establish linear combinations between manifest variables, following equation (1)

$$Y_j = \sum_h w_{jh}\ x_{jh} = w_j\ X_j \qquad (1)$$

Y_j is the external estimation of the latent variable j; w_{jh} represents the coefficients linking a linear combination between latent variable j and manifest variables h; x_{jh} are the manifest variables h of a latent variable j; w_j and X_j are respectively the column vectors of w_{jh} and x_{jh} each represent a matrix of one column with multiple elements.

Second, the internal estimation of latent variables is calculated from linear combinations with the external estimations of other latent variables following equation (2):

$$Z_j \propto \sum_{\{ i|i \neq j,\ cij \neq 0\}} e_{ji}\ Y_i \qquad (2)$$

Z_j is the internal estimation of the latent variable j; $\propto$ shows that the variable on the left of this symbol is obtained by a reduction of the variable on the right of this symbol; e_{ji} is the path coefficient (regression coefficient of the structural model); Y_i is the external estimation of latent variable i; $i|i \neq j$ is the condition for which i is divisible by i is different from j and $cij \neq 0$ is non nullity of coefficients (Fernandes, 2012; Tenenhaus, 1999). These two types of calculations are repeated until convergence of the model.

Then coefficients of the model are estimated with PLS regressions while avoiding multicollinearity issues (Chin, 1998; Fernandes, 2012; Tenenhaus et al., 2005). The details on the developed algorithm are explained in Tenenhaus et al. (2005) and Vinzi et al. (2010).

References

J.D. Allan, P.B. McIntyre, S.D.P. Smith, B.S. Halpern, G.L. Boyer, A. Buchsbaum, G.A. Burton, L.M. Campbell, W.L. Chadderton, J.J.H. Ciborowski, P.J. Doran, T. Eder, D.M. Infante, L.B. Johnson, C.A. Joseph, A.L. Marino, A. Prusevich, J.G. Read, J.B. Rose, E.S. Rutherford, S.P. Sowa, A.D. Steinman **Joint analysis of stressors and ecosystem services to enhance restoration effectiveness** Proc. Natl. Acad. Sci., 110 (2013), pp. 372-377, https://doi.org/10.1073/pnas.1213841110

B. Alric, O. Geffard, A. Chandesris, M. Ferréol, A. François, O. Perceval, J. Piffady, B. Villeneuve, A. Chaumot **Multisubstance indicators based on caged Gammarus bioaccumulation reveal the influence of chemical contamination on stream macroinvertebrate abundances across France** Environ. Sci. Technol., 53 (2019), pp. 5906-5915, https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01271

B. Andral, J.Y. Stanisiere, D. Sauzade, E. Damier, H. Thebault, F. Galgani, P. Boissery **Monitoring chemical contamination levels in the Mediterranean based on the use of mussel caging** Mar. Pollut. Bull., 49 (2004), pp. 704-712, https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.05.008

J.P. Besse, M. Coquery, C. Lopes, A. Chaumot, H. Budzinski, P. Labadie, O. Geffard **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 Res., 47 (2013), pp. 650-660, https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024

J.-P. Besse, O. Geffard, M. Coquery **Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive** Trends Anal. Chem., 36 (2012), pp. 113-127, https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.04.004

S. Birk, D. Hering, E. Jeppesen, A. Borja, S. Schmutz, V. Kodes, J. Hanganu, M. Kuijper, M. Venohr, A. Cardoso, C. Argillier, M. Beklioglu, L. Carvalho, A. Solheim, Y. Panagopoulos, S. Ormerod, M. Järvinen, L. Globevnik, M. Ferreira, A.D. Buijse **Final Report of the EU Research Project MARS (Managing Aquatic Ecosystems and Water Resources Under Multiple Stress)** (2018), pp. 1-43, https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11636.65927

W. Brack, R. Altenburger, G. Schüürmann, M. Krauss, D. López Herráez, J. van Gils, J. Slobodnik, J. Munthe, B.M. Gawlik, A. van Wezel, M. Schriks, J. Hollender, K.E. Tollefsen, O. Mekenyan, S. Dimitrov, D. Bunke, I.

Cousins, L. Posthuma, P.J. van den Brink, M. López de Alda, D. Barceló, M. Faust, A. Kortenkamp, M. Scrimshaw, S. Ignatova, G. Engelen, G. Massmann, G. Lemkine, I. Teodorovic, K.-H. Walz, V. Dulio, M.T.O. Jonker, F. Jäger, K. Chipman, F. Falciani, I. Liska, D. Rooke, X. Zhang, H. Hollert, B. Vrana, K. Hilscherova, K. Kramer, S. Neumann, R. Hammerbacher, T. Backhaus, J. Mack, H. Segner, B. Escher, G. de Aragão Umbuzeiro **The SOLUTIONS project: challenges and responses for present and future emerging pollutants in land and water resources management** Sci. Total Environ., 503–504 (2015), pp. 22-31, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.143

D.J. Brettschneider, A. Misovic, U. Schulte-Oehlmann, M. Oetken, J. Oehlmann **Poison in paradise: increase of toxic effects in restored sections of two rivers jeopardizes the success of hydromorphological restoration measures** Environ. Sci. Eur., 31 (2019), pp. 1-20, https://doi.org/10.1186/s12302-019-0218-9

BRGM http://sigminesfrance.brgm.fr/sig_exploitations.asp (Accessed on 6/02/2019)

J. Cairns Jr., B.R. Niederlehner **Developing a field of landscape ecotoxicology** Ecol. Appl., 6 (1996), pp. 790-796, https://doi.org/10.2307/2269484

A. Chandesris, J. Canal, N. Bougon, M. Coquery **Détermination du fond géochimique pour les métaux dissous dans les eaux continentales** Rapport Final Irstea (2013), pp. 1-296

A. Chaumot, O. Geffard, J. Armengaud, L. Maltby **Gammarids as reference species for freshwater monitoring** Aquatic Ecotoxicology (2015), pp. 253-280, https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800949-9.00011-5

W. Chin **The Partial Least Squares Approach to Structural Equation Modeling** vol 8, Lawrence Erlbaum Associates Publisher, New Jersey (1998), pp. 295-336

A. Ciliberti, A. Chaumot, R. Recoura-Massaquant, A. Chandesris, A. François, M. Coquery, M. Ferréol, O. Geffard **Caged Gammarus as biomonitors identifying thresholds of toxic metal bioavailability that affect gammarid densities at the French national scale** Water Res., 118 (2017), pp. 131-140, https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031

J.J. Croutsche **Étude des relations de causalité: Utilisation des modèles d'équations structurelles (approche méthodologique)** La Revue des Sciences de Gestion: Direction et Gestion (2002), p. 81

V. Dahm, D. Hering, D. Nemitz, G. Wolfram, A. Schmidt-Kloiber, P. Leitner, A. Melcher, C. Feld **Effects of physico-chemistry, land use and hydromorphology on three riverine organism groups: a comparative analysis with monitoring data from Germany and Austria** Hydrobiologia, 704 (2013), pp. 389-415, https://doi.org/10.1007/s10750-012-1431-3

W.C. De Kock **Accumulation of cadmium and Polychlorinated Biphenyls by Mytilus edulis transplanted from pristine water into polluted gradients** Can. J. Fish. Aquat. Sci., 40 (1983), pp. 282-294, https://doi.org/10.1139/f83-334

B. Efron, G. Gong **A leisurely look at the bootstrap, the jackknife, and cross-validation** Am. Stat., 37 (1983), pp. 36-48, https://doi.org/10.2307/2685844

ESRI **ArcMap** ArcGIS (Ed.), Version 10.6 (2018)

European Commission **Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council. L 348** Off. J. Eur. Union (2008), pp. 84-97

European Commission **Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. L 226** Off. J. Eur. Union (2013), pp. 1-17

C.K. Feld, P. Segurado, C. Gutiérrez-Cánovas**Analysing the impact of multiple stressors in aquatic biomonitoring data: a 'cookbook' with applications in R** Sci. Total Environ., 573 (2016), pp. 1320-1339, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.243

V. Fernandes **En quoi l'approche PLS est-elle une méthode a (re)-découvrir pour les chercheurs en management?** M@n@gement, 15 (2012), pp. 102-123, https://doi.org/10.3917/mana.151.0102

C.A. Frissell, W.J. Liss, C.E. Warren, M.D. Hurley **A hierarchical framework for stream habitat classification: viewing streams in a watershed context** Environ. Manag., 10 (1986), pp. 199-214, https://doi.org/10.1007/BF01867358

C. Garneau, S. Sauvage, J.M. Sanchez-Perez, Y. Hong, D. Aubert, A. Probst **Modelling multi-pollutant fate in a large river: role of hydro-morphological and physicochemical parameters** Int. Congress Environ. Model. Softw., 179 (2012), pp. 1-9 https://scholarsarchive.byu.edu/iemssconference/2012/Stream-B/179

D. Gaujous **La pollution des milieux aquatiques: aide-mémoire** (1995)

T. Giakoumis, N. Voulvoulis **The transition of EU water policy towards the Water Framework Directive's Integrated River Basin Management paradigm** Environ. Manag., 62 (2018), pp. 819-831, https://doi.org/10.1007/s00267-018-1080-z

B. Grizzetti, A. Pistocchi, C. Liquete, A. Udias, F. Bouraoui, W. van de Bund **Human pressures and ecological status of European rivers** Sci. Rep., 7 (2017), pp. 1-11, https://doi.org/10.1038/s41598-017-00324-3

D. Hering, L. Carvalho, C. Argillier, M. Beklioglu, A. Borja, A.C. Cardoso, H. Duel, T. Ferreira, L. Globevnik, J. Hanganu, S. Hellsten, E. Jeppesen, V. Kodes, A. Lyche Solheim, T. Nõges, S. Ormerod, Y. Panagopoulos, S. Schmutz, M. Venohr, S. Birk **Managing aquatic ecosystems and water resources under multiple stress — an introduction to the MARS project** Sci. Total Environ., 503–504 (2015), pp. 10-21, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.106

M.S. Holt **Sources of chemical contaminants and routes into the freshwater environment** Food Chem. Toxicol., 38 (2000), pp. S21-S27, https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00136-2

A. Hościło, M. Tomaszewska **CORINE Land Cover 2012 - 4th CLC inventory completed in Poland** Geoinformation Issues, 6 (2014), pp. 49-58, https://doi.org/10.34867/gi.2014.4

IGN https://geoservices.ign.fr/documentation/diffusion/index.html

S.S. Kaushal, P.M. Mayer, P.G. Vidon, R.M. Smith, M.J. Pennino, T.A. Newcomer, S. Duan, C. Welty, K.T. Belt **Land use and climate variability amplify carbon, nutrient, and contaminant pulses: a review with management implications** J. Am. Water Resour. Assoc., 50 (2014), pp. 585-614, https://doi.org/10.1111/jawr.12204

S.S. Kaushal, W.H. Mcdowell, W.M. Wollheim **Tracking evolution of urban**

biogeochemical cycles: past, present, and future Biogeochemistry, 121 (2014), pp. 1-21, https://doi.org/10.1007/s10533-014-0014-y

S.S. Kaushal, A.J. Gold, S. Bernal, T.A. Newcomer Johnson, K. Addy, A. Burgin, D.A. Burns, A.A. Coble, E. Hood, Y. Lu, P. Mayer, E.C. Minor, A.W. Schroth, P. Vidon, H. Wilson, M.A. Xenopoulos, T. Doody, J.G. Galella, P. Goodling, K. Haviland, S. Haq, B. Wessel, K.L. Wood, N. Jaworski, K.T. Belt **Watershed 'chemical cocktails': forming novel elemental combinations in Anthropocene fresh waters** Biogeochemistry, 141 (2018), pp. 281-305, https://doi.org/10.1007/s10533-018-0502-6

P. Kristensen **The DPSIR Framework** National Environmental Research Institute, Denmark (2004)

J.U. Lemm, C.K. Feld **Identification and interaction of multiple stressors in central European lowland rivers** Sci. Total Environ., 603–604 (2017), pp. 148-154, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.092

L.B. Leopold **Hydrology for urban land planning - a guidebook on the hydrologic effects of urban land use** Circular, 554 (1968), pp. 1-26, https://doi.org/10.3133/cir554

M. Liess, K. Foit, S. Knillmann, R.B. Schäfer, H.-D. Liess **Predicting the synergy of multiple stress effects** Sci. Rep., 6 (2016), pp. 1-8, https://doi.org/10.1038/srep32965

J.R. Malavoi, J.P. Bravard **River Hydromorphology: A Primer: Office national de l'eau et des milieux aquatiques (ONEMA)** (2013)

H. Martens, M. Martens **Modified Jack-knife estimation of parameter uncertainty in bilinear modelling by partial least squares regression (PLSR)** Food Qual. Prefer., 11 (2000), pp. 5-16, https://doi.org/10.1016/S0950-3293(99)00039-7

F. Moatar, M. Floury, A.J. Gold, M. Meybeck, B. Renard, M. Ferréol, A. Chandesris, C. Minaudo, K. Addy, J. Piffady, G. Pinay **Stream solutes and particulates export regimes: a new framework to optimize their monitoring** Front. Ecol. Evol., 7 (2020), pp. 1-19, https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00516

N.A. Munz, Q. Fu, C. Stamm, J. Hollender **Internal concentrations in Gammarids reveal increased risk of organic micropollutants in wastewater-impacted streams** Environ. Sci. Technol., 52 (2018), pp. 10347-10358, https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03632

C. Musseau, S. Vincenzi, D. Jesenšek, I. Cantera, S. Boulêtreau, F. Santoul, A.J. Crivelli **Direct and indirect effects of environmental factors on dietary niches in size-structured populations of a wild salmonid** Ecosphere, 6 (2015), pp. 256-270, https://doi.org/10.1890/ES15-00109.1

Naïades http://www.naiades.eaufrance.fr

R.J. Naiman, H. Décamps, M.E. McClain **Riparia: Ecology, Conservation and Management of Streamside Communities** Academic Press (2005)

B. Oursel **Transferts et dynamique des contaminants métalliques en zone côtière.: Impact d'une grande agglomération méditerranéenne** (2013), pp. 1-233

D. de Paiva Magalhães, M.R. da Costa Marques, D.F. Baptista, D.F. Buss **Metal bioavailability and toxicity in freshwaters** Environ. Chem. Lett., 13 (2015), pp. 69-87, https://doi.org/10.1007/s10311-015-0491-9

P.S. Rainbow **Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what?** Environ. Pollut., 120 (2002), pp. 497-507, https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00238-5

J.J. Rasmussen, U.S. McKnight, M.C. Loinaz, N.I. Thomsen, M.E. Olsson, P.L. Bjerg, P.J. Binning, B. Kronvang **A catchment scale evaluation of multiple stressor effects in headwater streams** Sci. Total Environ., 442 (2013), pp. 420-431, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.10.076

A. Rico, P.J. Van den Brink, P. Leitner, W. Graf, A. Focks **Relative influence of chemical and non-chemical stressors on invertebrate communities: a case study in the Danube River** Sci. Total Environ., 571 (2016), pp. 1370-1382, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.087

S.L. Rios, R.C. Bailey **Relationship between riparian vegetation and stream benthic communities at three spatial scales** Hydrobiologia, 553 (2006), pp. 153-160, https://doi.org/10.1007/s10750-005-0868-z

C.M. Riseng, M.J. Wiley, R.W. Black, M.D. Munn **Impacts of agricultural land use on biological integrity: a causal analysis** Ecol. Appl., 21 (2011), pp. 3128-3146, https://doi.org/10.1890/11-0077.1

Sandre **Stations de traitement des eaux usées - France entière** www.sandre.eaufrance.fr (2012)

T.S. Schmidt, P.C. Van Metre, D.M. Carlisle **Linking the agricultural landscape of**

the Midwest to stream health with structural equation modeling Environ. Sci. Technol., 53 (2019), pp. 452-462, https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04381

A.G. Solimini, R. Ptacnik, A.C. Cardoso **Towards holistic assessment of the functioning of ecosystems under the water framework directive** TrAC Trends Anal. Chem., 28 (2009), pp. 143-149, https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.10.015

M.K. Steele, W.H. McDowell, J.A. Aitkenhead-Peterson **Chemistry of Urban, Suburban and Rural Surface Waters** 55 (2010), pp. 297-339, https://doi.org/10.2134/agronmonogr55.c15

W. Steffen, K. Richardson, J. Rockström, S.E. Cornell, I. Fetzer, E.M. Bennett, R. Biggs, S.R. Carpenter, W. de Vries, C.A. de Wit, C. Folke, D. Gerten, J. Heinke, G.M. Mace, L.M. Persson, V. Ramanathan, B. Reyers, S. Sörlin **Planetary boundaries: guiding human development on a changing planet** Science, 347 (2015), pp. 736-746, https://doi.org/10.1126/science.1259855

R.K. Takesue, P.L. Campbell-Swarzenski, K.E. Conn **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Polychlorinated Biphenyls, and Metals in Ambient Sediment at Mussel Biomonitoring Sites, Puget Sound, Washington. Open-File Report, Reston, VA** (2019), p. 15

P.B. Tchounwou, C.G. Yedjou, A.K. Patlolla, D.J. Sutton **Heavy metal toxicity and the environment** Mol. Clin. Environ. Toxicol., 101 (2012), pp. 133-164, https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6

M. Tenenhaus **L'approche PLS** Revue de Statistique Appliquée, 47 (1999), pp. 5-40 http://www.numdam.org/item/RSA_1999__47_2_5_0/

M. Tenenhaus, V.E. Vinzi, Y.-M. Chatelin, C. Lauro **PLS path modeling** Comput. Stat. Data Anal., 48 (2005), pp. 159-205, https://doi.org/10.1016/j.csda.2004.03.005

T. Tormos **Analysis at Regional Scale of the Impact of Land Cover Within Riparian Corridors on Ecological Status of Rivers** AgroParisTech (2010), pp. 1-508

N. Urien, J.D. Lebrun, L.C. Fechner, E. Uher, A. François, H. Quéau, M. Coquery, A. Chaumot, O. Geffard **Environmental relevance of laboratory-derived kinetic models to predict trace metal bioaccumulation in**

gammarids: field experimentation at a large spatial scale (France) Water Res., 95 (2016), pp. 330-339, https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.023

N. Urien, A. Farfarana, E. Uher, L.C. Fechner, A. Chaumot, O. Geffard, J.D. Lebrun **Comparison in waterborne Cu, Ni and Pb bioaccumulation kinetics between different gammarid species and populations: natural variability and influence of metal exposure history** Aquat. Toxicol., 193 (2017), pp. 245-255, https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.016

L. Valette, J. Piffady, A. Chandesris, Y. Souchon **SYRAH-CE: description des données et modélisation du risque d'altération de l'hydromorphologie des cours d'eau pour l'Etat des lieux DCE. Pôle hydroécologie des cours d'eau Onema/Irstea Lyon** (2012), pp. 1-104

R. Verma, P. Dwivedi **Heavy metal water pollution-a case study** 5 (2013), pp. 98-99

B. Villeneuve, Y. Souchon, P. Usseglio-Polatera, M. Ferréol, L. Valette **Can we predict biological condition of stream ecosystems? A multi-stressors approach linking three biological indices to physico-chemistry, hydromorphology and land use** Ecol. Indic., 48 (2015), pp. 88-98, https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.07.016

B. Villeneuve, J. Piffady, L. Valette, Y. Souchon, P. Usseglio-Polatera **Direct and indirect effects of multiple stressors on stream invertebrates across watershed, reach and site scales: a structural equation modelling better informing on hydromorphological impacts** Sci. Total Environ., 612 (2018), pp. 660-671, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.197

V.E. Vinzi, W.W. Chin, J. Henseler, H. Wang **Handbook of Partial Least Squares** Springer (2010)

L. Wang, T. Brenden, P. Seelbach, A. Cooper, D. Allan, R. Clarck Jr., M. Wiley **Landscape based identification of human disturbance gradients and reference conditions for Michigan streams** Environ. Monit. Assess., 144 (2008), pp. 483-484, https://doi.org/10.1007/s10661-008-0397-0

J.G. Wasson, B. Villeneuve, N. Mengin, H. Pella, A. Chandesris **Modèles pressions-impacts Approche méthodologique, modèles d'extrapolation spatiale et modèles de diagnostic de l'état écologique basés sur les invertébrés en rivière (IBGN)** Cemagref (2005), pp. 1-71

M. Weiss, F. Leese **Widely distributed and regionally isolated! Drivers of genetic structure in Gammarus fossarum in a human-impacted landscape** BMC Evol. Biol., 16 (2016), pp. 1-14, https://doi.org/10.1186/s12862-016-0723-z

V. Wepener **Active biomonitoring** Earth Environ. Sci. (2013), pp. 15-20, https://doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2

A.M. Westram, J. Jokela, C. Baumgartner, I. Keller **Spatial distribution of cryptic species diversity in European freshwater amphipods (Gammarus fossarum) as revealed by pyrosequencing** PLoS One, 6 (2011), pp. 1-6, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023879

Partie 2 : Liens entre les pressions et la contamination organique biodisponible

Synthèse du chapitre III, partie 2

Les polluants organiques persistants (POPs) sont des contaminants préoccupants pour les écosystèmes d'eau douce. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et les polychlorobiphényles (PCBs) sont connus pour leur rémanence dans les milieux. Bien qu'interdits depuis les années 80, les PCBs sont toujours trouvés dans les milieux et leurs devenirs restent une problématique majeure au regard de leur toxicité. Les HAPs sont eux aussi préoccupants du fait de leur persistance dans les milieux. Afin de mieux comprendre les causes de la rémanence de ces contaminants et leur répartition spatiale, il est essentiel de mieux en évaluer les sources et les vecteurs de transfert/stockage majeurs. Les sources d'HAPs et de PCBs sont notamment dans les milieux urbains, les industries, les décharges et les routes.

Comme pour les métaux, le suivi des HAPs et des PCBs dans les réseaux de suivi nationaux s'est principalement fait sur les eaux, conduisant à une vision très parcellaire de l'exposition, mais également très souvent à des teneurs sous les limites de quantification. Les mesures de contaminants dans l'eau et les sédiments ne renseignent pas la fraction en contaminants biodisponible. L'outil de biosurveillance active, basé sur l'encagement de gammares, permet la quantification de la contamination organique biodisponible.

Dans cette étude, nous avons abordé la question des liens entre les pressions anthropiques à large échelle et la contamination biodisponible organique. La contamination biodisponible organique pour les HAPs et les PCBs a été mesurée au niveau de 245 sites en France métropolitaine (Figure III.2.2). Nous avons pour cela construit un modèle liant les pressions à la contamination organique, en utilisant le cadre conceptuel développé pour l'analyse du lien entre les pressions et les métaux (Sarkis et al. 2020) en ne sélectionnant que des pressions susceptibles d'avoir des effets sur la contamination : (1) les sources diffuses de POPs à l'échelle du bassin versant, (2) les paramètres environnementaux à l'échelle du bassin versant, (3) les sources ponctuelles de POPs à l'échelle de la zone d'influence amont du site, (4)

l'hydromorphologie à l'échelle du tronçon et (5) la concentration en nutriments et matières organiques pouvant induire une eutrophisation à l'échelle du site. Chaque variable de pression a ensuite été construite à partir de stresseurs permettant de la représenter au mieux (Figure III.2.3). Pour confirmer les liens entre les HAPs et les PCBs nous avons fait une analyse par composantes principales (ACP). Un modèle conceptuel a enfin été implémenté en utilisant une méthode de modélisation par équations structurelles, le PLS-path modeling qui nous permis de construire deux modèles distincts pour les HAPs et les PCBs.

Suivant l'ACP, les HAPs sont corrélés entre eux et avec la somme des HAPs. Les PCBs sont corrélés entre eux et avec la somme des $PCB_{indicateurs}$. Les HAPs et les PCBs n'étaient pas corrélés (Figure III.2.4). Dans les deux modèles d'équations structurelles, nous avons quantifié les corrélations des stresseurs avec leur pression (Table III.2.2). Les pressions les plus corrélées positivement avec les HAPs sont (1) les sources ponctuelles urbaines, (2) les nutriments et les matières organiques, (3) La précipitation estivale, (4) la rectitude, et (5) les sources de densité d'industries (Figure III.2.5). Pour les PCBs, ce sont (1) les sources diffuses de densité urbaine, (2) les sources diffuses de densité des industries, (3) les sources diffuses de densité des routes, et (4) la taille du bassin versant (Figure III.2.6). Les pressions dominantes pour les HAPs ont été des sources ponctuelles et des vecteurs de transfert, suggérant l'utilité de mesures de gestion locales par exemple au niveau des sources urbaines ou les déversoirs d'orage. Pour les PCBs, les sources sont surtout diffuses, dûes à leurs utilisations passées très répandues, rendant difficile la proposition de pistes d'aménagements.

Quantification of multi-scale links of anthropogenic pressures with PAH and PCB bioavailable contamination in French freshwaters

Noëlle Sarkis [a], Chloé Meymy [a], Olivier Geffard [b], Yves Souchon [a], André Chandesris [a], Martial Ferréol [a], Laurent Valette [a], Rémi Recoura-Massaquant [b], Jérémy Piffady [a], Arnaud Chaumot [b], Bertrand Villeneuve [c]

[a] INRAE, UR RiverLy, EcoFlowS, Villeurbanne F-69625, France

[b] INRAE, UR RiverLy, Laboratoire d'écotoxicologie, Villeurbanne F-69625, France

[c] INRAE, UR EABX, Cestas F-33612, France

Article Sarkis et al. (2021) publié dans *Water Research*.

Highlights

- Active biomonitoring provided large spatial scale quantification of PAHs and PCBs.
- Links of pressures with bioavailable PAH and PCB contamination were quantified.
- Point source and nonpoint source pressures were linked with PAH contamination.
- Nonpoint source pressures were linked with PCB contamination.

Graphical abstract

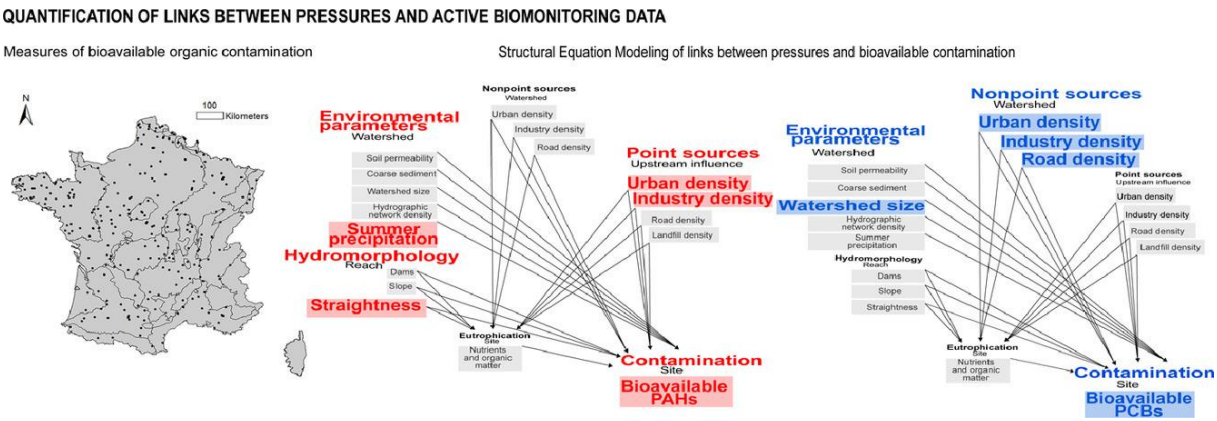


Figure III.2.1: Graphical abstract of the study on links between pressures and organic bioavailable contamination.

Abstract

Aquatic ecosystems are exposed to multiple environmental pressures including chemical contamination. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) are persistent organic pollutants (POPs) known as preoccupying substances for the environment. Active biomonitoring (ABM) is a

surveillance method for polluted aquatic ecosystems measuring bioavailable contamination. In this work, the aim was to quantify the total links between environmental pressures and bioavailable contamination (for PAHs and PCBs) at the French national scale. Based on 245 sites experimented by ABM from 2017 to 2019, environmental pressures (anthropogenic pressures and environmental parameters) were defined (point source landfill density, point source urban density, point source industry density, point source road density, nonpoint source industry density, nonpoint source road density, nonpoint source urban density, nutrients and organic matter, slope, dams, straightness, coarse sediment, summer precipitation, hydrographic network density and watershed size) and characterized by one or a combination of measures called stressor indicators. The links between environmental pressures and bioavailable POPs contamination (ABM measure) at a large spatial scale were defined and quantified via structural equation modeling. Point source urban density, nutrients and organic matter, summer precipitation, straightness and point source industry density are correlated positively with PAH bioavailable contamination. In contrast, nonpoint source urban density, nonpoint source industry density, nonpoint source road density and watershed size are positively correlated with PCB bioavailable contamination. The dominant pressures linked to PAHs and PCBs were different, respectively local and large-scale pressures were linked to PAH bioavailable contamination, and only large-scale pressures were linked to PCB bioavailable contamination.

Keywords

Active biomonitoring; Nonpoint sources; PAH; PCB; Point sources; Stressors

1. Introduction

Freshwater ecosystems are subject to various chemical contaminants linked to specific sources and vectors of transfer, but studying these links at large scale remains difficult. With their high persistence in the environment, legacy persistent organic pollutants (POPs) are preoccupying (Lohmann et al., 2007; Motelay-Massei et al., 2004), as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs). Some of them are listed as priority substances by the European Union Water Framework

Directive (WFD) (European Commission, 2008). PCBs are known for their strong persistence in the environment even after their banished usage (Dendievel et al., 2019; Mourier et al., 2014). PCBs were used in electric materials for industrial and urban areas (Gustafson, 1970). Their past sources were mainly from incineration of waste and elimination of electric transformers, inducing a dispersion of PCBs (mostly atmospheric) (Amiard et al., 2016). Despite the ban on their production and uses, PCBs are ubiquitous in freshwater. They are able to sediment due to their low solubility in water (Gustafson, 1970) and hydrophobicity (Jones and de Voogt, 1999). Their hydrophobicity enables them to contaminate trophic chains (Babut et al., 2011), this happened in the Rhône river in France (Mourier et al., 2014). These organic contaminants can be present in soils of landfills (Amiard et al., 2016; Dendievel et al., 2019). PAHs are also ubiquitous POPs, well known for their atmospheric presence, low vapor pressure, low solubility in water (Ravindra et al., 2008) and difficult degradation (Zhi et al., 2015). PAHs ongoing origins are atmospheric deposition from combustion (Bertrand et al., 2015; Coles et al., 2012; Ravindra et al., 2008), urban density, industrialization (Bertrand et al., 2015; Coles et al., 2012; Motelay-Massei et al., 2004) and leaching from roads (Coles et al., 2012; Ravindra et al., 2008) covered with coal tars (Degiorgi and Badot, 2020). Water runoff from precipitation can also induce pulses of contamination in watercourses (Ravindra et al., 2008; Uher et al., 2016).

Concentrations of PCBs and PAHs were often measured in a selection of sites next to a specific source of contamination. Punctual measurements of contaminants are frequently below the limits of quantification and do not consider bioavailable concentrations present in biota (Ciliberti et al., 2017). To take into account bioavailability, instead of measuring contaminants in water and sediment, they were dosed in biota (for example, in mussels in the Mussel Watch Program (Kimbrough et al., 2008), and in oysters and mussels in the ROCCH program (Ifremer, 2008)). Active biomonitoring (ABM) measures bioavailable concentrations of contaminants in transplanted organisms (Besse et al., 2013; Wepener, 2013). The measures in biota enable better quantification of contaminants with low concentrations. Arnold et al. (2021) emphasized the necessity of understanding large-spatial-scale contamination sources and the difficulty of considering native bioindicators. Meanwhile, active biomonitoring generates measures of contaminants at a large

spatial scale and allows a comparison of these measures (Ciliberti et al., 2017). Gammarids are dominant macroinvertebrates from the crustacean group and are ubiquitous in French freshwater (Besse et al., 2013). They are used as active biomonitoring probes to measure bioavailable contamination because they are net accumulators of chemical substances (Chaumot et al., 2015). Bioconcentrations of PAHs and PCBs in gammarids are easily measured (Besse et al., 2013; Alric et al., 2019).

Anthropogenic pressures, generated by human activities, can influence on contamination (Craig et al., 2017) (e.g. PAH and PCB) of freshwater ecosystems at large scale. These pressures can be sources of contamination like urban zones (Kaushal et al., 2014) and industrial discharges (Steele et al., 2010). They can also be factors of transfer of contaminants like hydromorphological alterations (Dendievel et al., 2019). Hydromorphological modifications can impact on sediment transfer and thus the bioavailability of organic contaminants adsorbed to the sediment (Brunet, 2007). For instance, alterations of the watercourse like modification of discharges by dams, can generate deposition and remobilization of sediments on which organic pollutants are adsorbed (Bertrand et al., 2015; Dendievel et al., 2019). Straightening watercourses is an indicator of morphological alteration that can act on the velocity of flows and, increase erosions of banks and sediment transport (Garcia et al., 2012). Eutrophication, defined as a high concentration of nutrients, can also influence on the bioavailability of contaminants (Akkanen et al., 2012; Chapman, 2018; Tao et al., 2017). Numerous studies started to quantify the links between pressures and biological responses (Dahm et al., 2013; Riseng et al., 2011; Stendera et al., 2012; Villeneuve et al., 2018). In order to manage multiple pressures in freshwater, quantifying the links between pressures and contamination is required. The links between pressures and contamination are often studied at local scales. For example, Uher et al. (2016) investigated the links between anthropogenic pressures and PAHs in freshwater in the Seine river. Frissell et al. (1986) highlighted the necessity of considering the hierarchy of scales when studying links between anthropogenic pressures. Stream functioning is studied following a hierarchy of scales (Allan, 2004; Poff, 1997) because the links between parameters at a large spatial scale can be different from the ones at a local spatial scale. To investigate the impact of a specific pressure, the appropriate scale should be chosen. Nevertheless, confronting

pressures to POPs measurements on a large scale can be challenging. These measurements in water are frequently below the quantification limit of analytical methods and thus contamination data distribution can have missing low values (Ciliberti et al., 2017). Sarkis et al. (2020) proposed an explanatory model to quantify the links between pressures and metallic bioavailable contamination at a large scale. The current study aims to quantify at large scale the links between pressures and bioavailable organic contamination (for PAHs and PCBs) of French watercourses. We selected pressures constituted of point sources (at a local scale close to the site) and nonpoint sources (at large scales like the watershed) of contamination, potential factors of transfer of contaminants as well as environmental parameters. Then, we established a conceptual model representing each pressure via stressor indicators at its suitable scale of occurrence and considering bioavailable contamination as the final output. The scales of the pressures were the watershed, upstream influence, reach and site scale, and the scale of bioavailable organic contamination was the site scale. Hypotheses of links between pressures and bioavailable PAH and PCB contamination were set following a structural equation model. These links among pressures, and the links between pressures and bioavailable contamination were quantified with Partial Least Squares - Path Modeling (PLS-PM). Lastly, the dominant links of pressures with bioavailable PAH and PCB were compared at adequate spatial scales.

2. Material and methods

2.1. Contamination data from POPs regulatory surveillance via ABM

Bioavailable concentrations data (PAHs and PCBs) are extracted from the national database (Naïades) gathering measurements implemented by the French regional water agencies. They have been recently implementing bioconcentration measurements with transplanted gammarids (ABM) (Babut et al., 2020) for the WFD, following the standardized protocol defined in AFNOR 2019. Control *Gammarus fossarum* were sampled from an uncontaminated site in France "*Saint Maurice de Rémens*". They were acclimated in controlled conditions in the laboratory for two weeks with leaves as food. Body-sized-calibrated males were caged in watercourses for an exposition period of three weeks during non-flood events. Sex and weight are controlled to avoid their effects on bioconcentration (Besse et al., 2013; Ciliberti et al., 2017). Quantification of contaminants in gammarids surviving was performed by a

COFRAC-accredited laboratory (LDA26), with a minimum of 1.5 g of wet weight of gammarids per site. After the exposition, POPs were dosed in gammarids via mass spectrometry more specifically 11 PAHs (Anthracene, Benzo (b+j) Fluoranthene, Benzo (k) Fluoranthene, Benzo (g,h,i) Perylene, Benzo (a) Pyrene, Chrysene, Fluoranthene, Fluorene, Naphtalene, Phenanthrene and Pyrene) and 17 PCBs (PCB 28, PCB 52, PCB 77, PCB 101, PCB 105, PCB 114, PCB 118, PCB 123, PCB 126, PCB 138, PCB 149, PCB 153, PCB 156, PCB 157, PCB 167, PCB 170 and PCB 180). The 245 caging sites were distributed over the national scale of France. Sites in different hydroecoregions represented a diversity of landscapes, with contamination measures from 2017 to 2019 (Figure III.2.2). A hydroecoregion (type 1) is a homogeneous zone in terms of geology, relief and climate (Wasson et al., 2002). The maximum concentration of each contaminant per site for different samplings was considered with its specific caging date. The few concentrations below the limit of quantification (LQ) were replaced by the measure of the LQ divided by 2. Considering sites in the nationwide French monitoring network covered a spatially contrasted range of concentrations of bioavailable PAHs and PCBs.

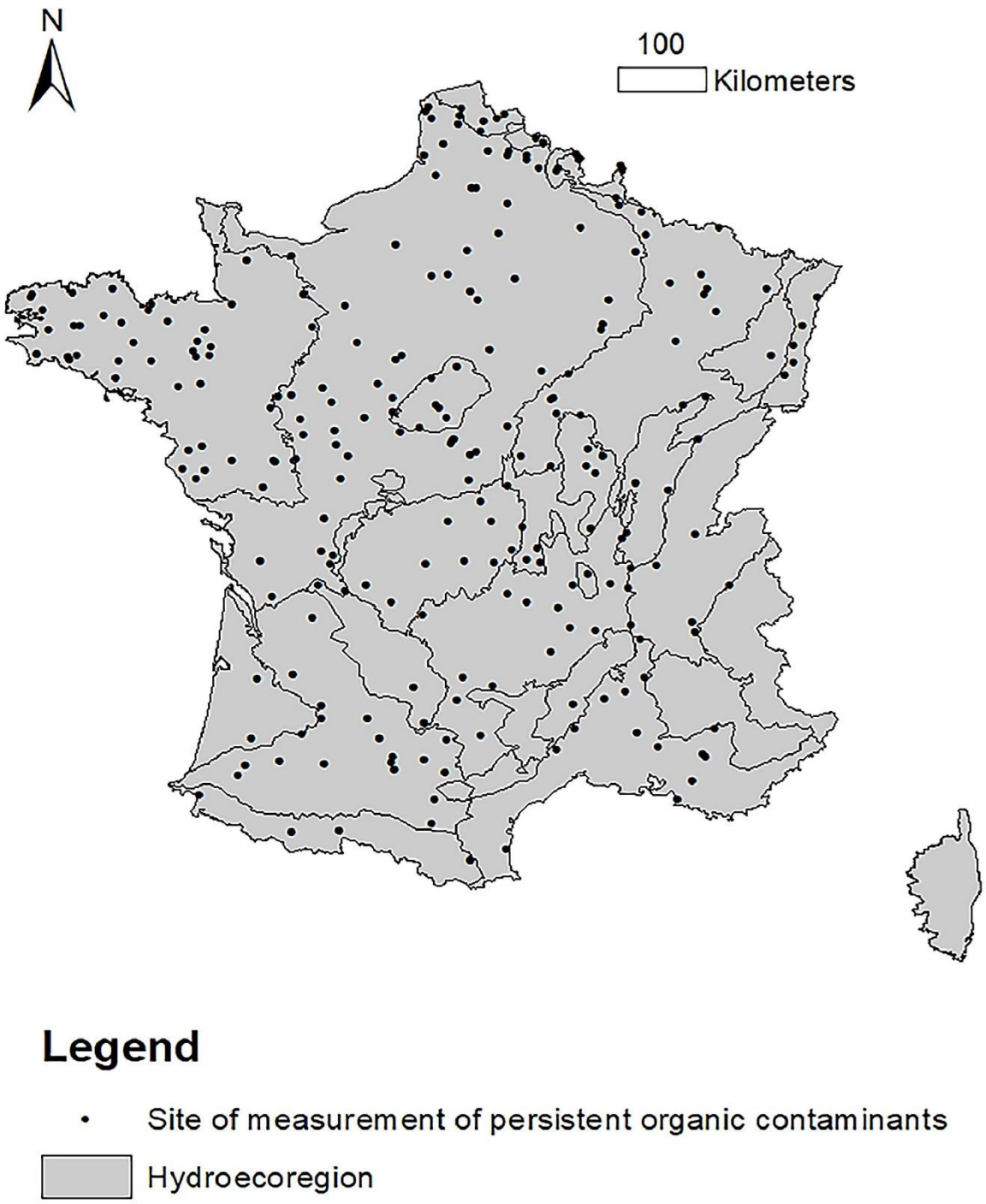


Figure III.2.2: Distribution of sampling sites of bioavailable persistent organic contaminants (from in situ caging of gammarids) (black dots) in the hydroecoregions of metropolitan France (zones delimited by gray lines).

2.2. Choices of pressures and stressor indicators at multiple scales and conceptual model building

To associate each ABM experimented site to anthropogenic pressures, we first chose potential sources of POPs contamination based on literature. PAHs may be originated from punctual industries, urbanization (Bertrand et al., 2015; Coles et al., 2012; Motelay-Massei et al., 2004) and roads (Coles et al., 2012; Ravindra et al., 2008). While, PCBs are usually diffused in urban environments due to their past use (Dendievel et al., 2019; Mourier et al., 2014). To represent diffuse sources of POPs in our conceptual model (Figure III.2.3), we chose indicators of three possible nonpoint sources of POPs: nonpoint source industry density, nonpoint source urban density and nonpoint source road density. Besides, we considered four point sources: point source industry density, point source urban density, point source road density and point source landfill density. We selected five environmental parameters possibly modulating bioavailable POPs contamination: coarse sediment, soil permeability, watershed size, hydrographic network density and summer precipitation. We also integrated hydromorphology: dams, slopes and straightness, as a transfer vector of POPs and eutrophication (nutrients and organic matter) representing deteriorated water quality. Stressor indicators were selected based on expert knowledge and data availability to represent these pressures that can have a potential link with POPs bioavailable contamination (Figure III.2.3). The used spatial scales were (a) the site, (b) the reach defined as a zone with homogeneous hydrographic characteristics, (c) the upstream influence of 5, 10 and 20 km represented with a buffer zone upstream of each site, and (d) the watershed delimited for each site with a digital elevation model (DEM). Nonpoint source industry density, nonpoint source urban density and nonpoint source road density, coarse sediment, soil permeability, watershed size, hydrographic network density and summer precipitation were large-scale pressures at the watershed scale. Point source industry density, point source urban density, point source road density and point source landfill density were at the upstream influence of 5, 10 and 20 km of each site. Dams, slope and straightness were at the reach scale. Nutrients and organic matter pressure was at the site scale. The pressures, their stressor indicators and sources of data are detailed in Table III.2.1. For each site, all stressors were calculated at their scale via Geographic Information System. All pressures were linked to POPs contamination (Figure III.2.3). We supposed a positive correlation between all

pressures (except soil permeability) and POPs bioavailable contamination because these variables were sources of POPs, factors favorable for more POPs in the watercourse or transfer factors of POPs. As for soil permeability, we expected a negative correlation with POPs bioconcentration. Point source landfill density, point source industry density, nonpoint source industry density, point source road density, nonpoint source road density, point source urban density, nonpoint source urban density, dams, slope and straightness were linked to nutrients and organic matter in freshwater (Figure III.2.3) with an expected positive correlation. These links of pressures with nutrients and organic matter contributed to the indirect links of pressures with bioavailable persistent organic contamination.

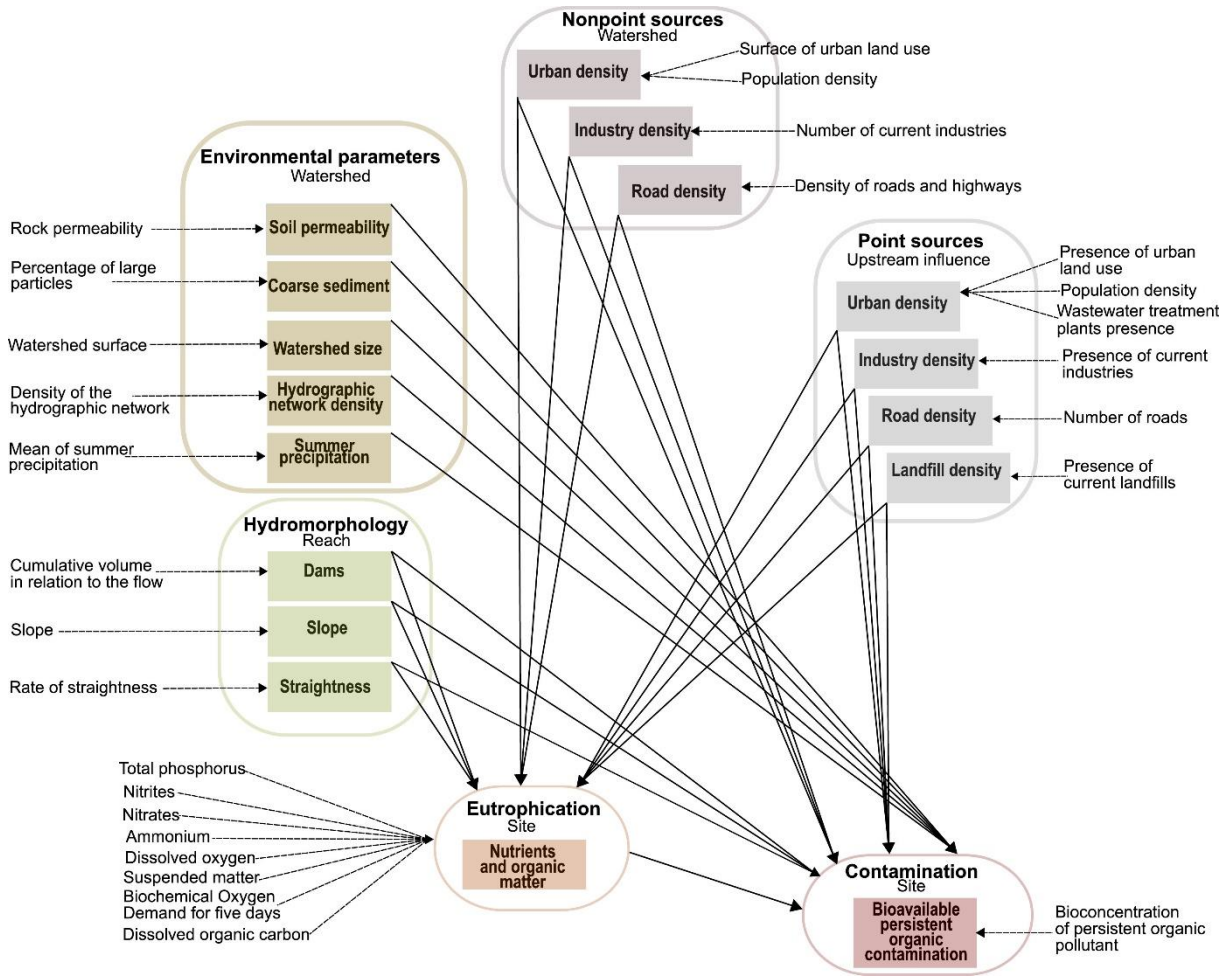


Figure III.2.3: Conceptual model representing the direct and indirect links between pressures (composed of stressors) and bioavailable persistent organic contamination at multi-scale.

Table III.2.1: Expression of pressures by stressor indicators (their scales) and data sources.

Pressures	**Stressor indicators (scales)**	**Data sources**
Nonpoint source industry density	Number of current industries (watershed)	Corine Land Cover 2018 David (2019)
Nonpoint source urban density	Surface of urban land use (watershed)	Corine Land Cover 2018 David (2019)
	Population density (watershed)	ADMIN EXPRESS IGN (2016)
Nonpoint source road density	Density of roads and highways (watershed)	BD TOPO ® IGN (2020)
Coarse sediment	Percentage of large particles (watershed)	European Soil Database & soil properties EC/ESBN (2004)
Soil permeability	Rock permeability (watershed)	Pedotransfer Rules Database (PTRDB) EC/ESBN (2004)
Watershed size	Watershed surface (watershed)	BD TOPO ® IGN (2020)
Hydrographic network density	Density of the hydrographic network (watershed)	BD Carthage ® (*Base de Données sur la CARtographie THématique des AGences de l'eau et du ministère chargé de l'environnement*) IGN (2017)
Summer precipitation	Mean of summer precipitation (watershed)	SAFRAN reanalysis Quintana-Seguí et al. (2008), Vidal et al. (2010)
Point source industry density	Presence of current industries (5, 10 and 20 km upstream influence)	Corine Land Cover 2018 David (2019)
Point source urban density	Surface of urban land use (5, 10 and 20 km upstream influence)	Corine Land Cover 2018 David (2019)
	Population density (5, 10 and 20 km upstream influence)	ADMIN EXPRESS IGN (2016)
	Wastewater treatment plants presence (5, 10 and 20 km upstream influence)	Sandre Sandre (2012)
Point source road density	Number of roads (5, 10 and 20 km upstream influence)	Corine Land Cover 2018 David (2019)
Point source landfill density	Presence of current landfills (5, 10 and 20 km upstream influence)	Corine Land Cover 2018 David (2019)
Dams	Cumulative volume in relation to the flow (reach)	SYRAH-CE (*SYstème Relationnel d'Audit de l'Hydromorphologie des cours d'eau*) Irstea/ONEMA (2017)

Slope	Slope (reach)	
Straightness	Rate of straightness (reach)	
Nutrients and organic matter	Total Phosphorus (site)	French national database of water quality (Naïades)
	Nitrites (site)	
	Nitrates (site)	
	Ammonium (site)	
	Dissolved oxygen (site)	
	Suspended matter (site)	
	BOD_5 (Biochemical Oxygen Demand for five days) (site)	
	Dissolved organic carbon (site)	

2.3. Statistical modeling

A preliminary principal component analysis (PCA), based on a site x substance matrix gathering bioavailable contamination data, was performed with XLSTAT (2019). More specifically, on the dataset including bioconcentrations of PCBs and PAHs with the sum of iPCBs and the sum of PAHs. The sum of iPCBs had already been used as a representative indicator of PCBs (Babut et al., 2009). This PCA investigates covariations in our dataset among PAHs or PCBs, and between them. This analysis led to parametrize two separate models with, respectively the sum of PAHs and the sum of iPCBs as outputs (see results).

The adopted statistical modeling methodology, for the quantification of links defined in Figure III.2.3, was the same as Villeneuve et al. (2018), Sarkis et al. (2020). PLS-PM was adopted because this modeling can quantify the links between multiple pressures, taking into account direct and indirect links without multicollinearity issues (Tenenhaus et al., 2005). It is a type of structural equation modeling constituted with two sub-models based on regressions (Fernandes, 2012; Vinzi et al., 2010). When studying the links between pressures and POPs, the measurement model defines the pressures based on stressor indicators following the Eq. (1) $Y_j = \sum_h w_{jh}\ x_{jh} = w_j\ X_j$ where Y_j is the external estimation of the pressure variable *j*; w_{jh} are the coefficients linking a linear combination between pressure *j* and stressor indicator *h*; x_{jh} are the stressor indicators h of pressure *j*; w_j and X_j are, respectively the column vectors of w_{jh} and x_{jh} representing each a matrix of one column with multiple elements. The structural model quantifies the links between pressures based on Eq. (2) $Z_j \propto \sum_{\{ i|i \neq j,\ cij \neq 0\}} e_{ji}\ Y_i$ where

Z_j is the internal estimation of the pressure *j*; ∝ shows that the variable on the left of this symbol is obtained by a reduction of the variable on the right of this symbol; e_{ji} is the path coefficient (regression coefficient of the structural model); Y_i is the external estimation of pressure *i*; i|i ≠j is the condition for which i is divisible by i is different from *j* and cij ≠ 0 is a non nullity of coefficients (Fernandes, 2012). The algorithm is detailed in Tenenhaus et al. (2005) and Vinzi et al. (2010). The direct link was first obtained between each two linked pressures. The indirect link was based on the product of links between two pressures and an intermediate pressure. The total link resulted from the sum of direct and indirect links. For each PLS-PM model, direct and indirect links between pressures and, respectively the sum of PAHs and the sum of iPCBs were quantified with correlation values. Then, the total links of pressures with POPs bioavailable contamination were determined in XLSTAT (2019). Indirect links were mainly negligible due to the construction of the model. The coefficient of determination R^2, representing the explanation of contamination by pressures, was computed. Significant results were determined by a jackknife method. The link of each pressure with contamination was analyzed only for significant correlation values higher than 0.1.

3. Results

3.1. Co-occurrence of PCBs and PAHs bioavailable contamination

The PCA correlation circle revealed a strong structure of correlation among PCBs and PAHs bioavailable data (Figure III.2.4). The F1 axis had the most explanation with 56%, followed by the F2 axis with 18%. A clear separation appears between all the PCBs and PAHs. These groups of variables, being almost perpendicular, are weakly correlated. For each group of contaminants (PCBs and PAHs), all the substances were correlated and, respectively PAHs and PCBs were correlated with the sum of PAHs and the sum of iPCBs. Though, high molecular weight PAHs (Benzo (b+j) Fluoranthene, Benzo (k) Fluoranthene, Benzo (g,h,i) Perylene, Benzo (a) Pyrene, Chrysene and Fluoranthene) were better represented than low molecular weight PAHs

(Naphtalene, Anthracene, Pyrene, Fluorene and Phenanthrene) on the PCA. This result confirmed having two respective models for PAHs and PCBs.

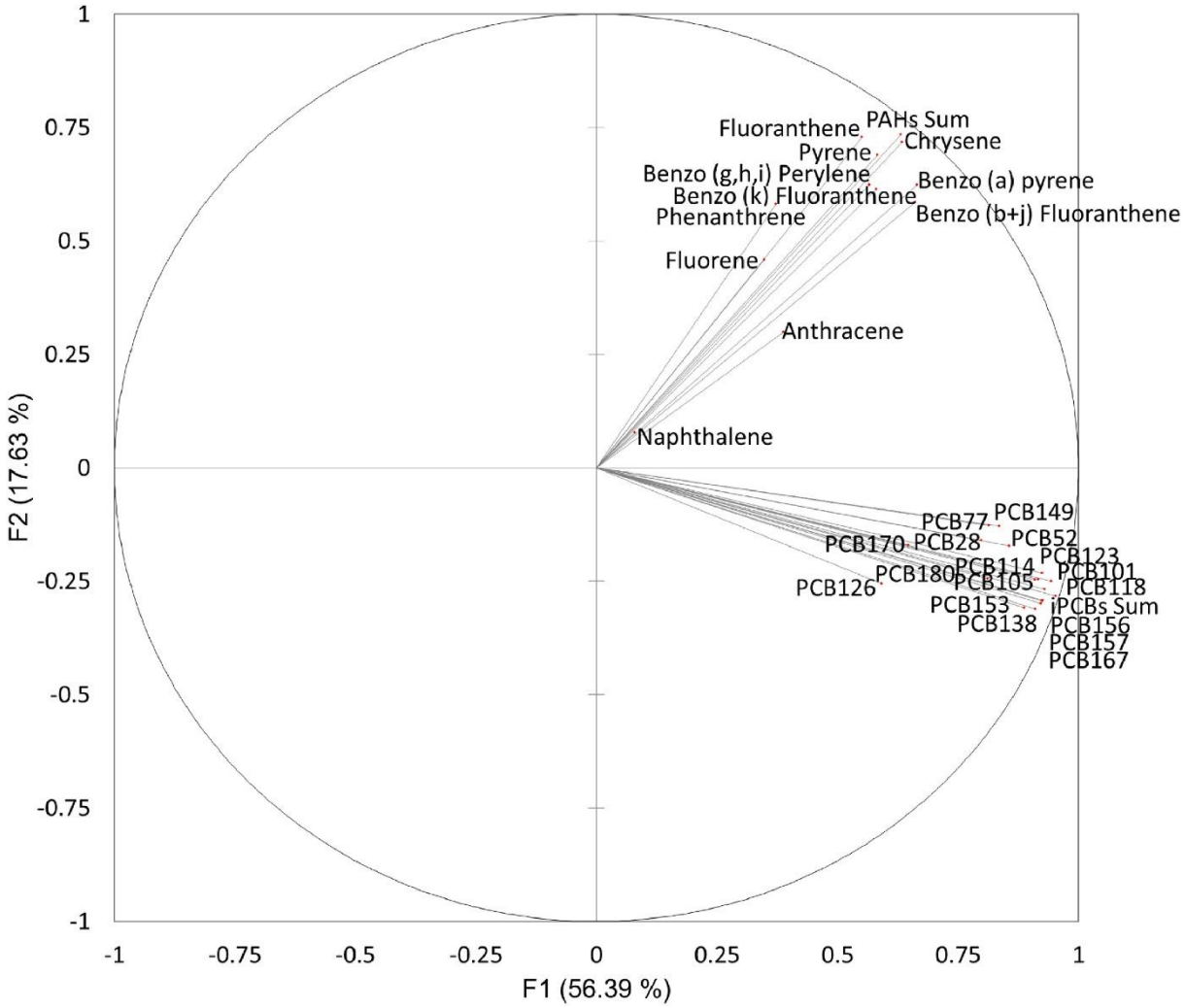


Figure III.2.4: Principal component analysis (PCA) correlation circle of links between groups of PCBs and PAHs on dimension 1 (F1) and dimension 2 (F2).

3.2. Representativeness of pressures at multiple scales

Table III.2.2 states the correlation of each stressor indicator with its specific pressure in both PLS-PM models (the PAHs sum model and iPCBs sum model). When a pressure was represented by only one stressor indicator, the correlation between the pressure and the stressor indicator was equal to 1. All stressor indicators represented their specific pressure (non-negligible values). Only population density (at the upstream influence of 5, 10 and 20 km) in both models and wastewater treatment plants presence (at the upstream influence of 5, 10 and 20 km) in the PAHs sum model had low correlations with their pressures. In the PAHs sum model, nonpoint source

urban density was correlated more with surface of urban land use (at the watershed) than population density (at the watershed) and inversely in the iPCBs sum model. In both models, point source urban density was correlated the most with surface of urban land use at 20 km upstream of the site and correlated the least with population density at 5 km upstream of the site. Stressor indicators at 5, 10 and 20 km were correlated differently with their pressure, like for point source industry density, point source urban density, point source road density and point source landfill density. Dissolved oxygen is the only stressor indicator with a negative correlation with its specific pressure (nutrients and organic matter).

Table III.2.2: Correlations of pressures with their specific stressor indicators for the PAHs sum model and iPCBs sum model.

Pressure	Stressor indicators (scales)	Correlation of pressure with stressor indicators of the PAHs sum model	Correlation of pressure with stressor indicators of the iPCBs sum model
Nonpoint source industry density	Number of current industries (watershed)	1	1
Nonpoint source urban density	Surface of urban land use (watershed)	0.99	0.83
	Population density (watershed)	0.87	0.99
Nonpoint source road density	Density of roads and highways (watershed)	1	1
Coarse sediment	Percentage of large particles (watershed)	1	1
Soil permeability	Rock permeability (watershed)	1	1
Watershed size	Watershed surface (watershed)	1	1
Hydrographic network density	Density of the hydrographic network (watershed)	1	1
Summer precipitation	Mean of summer precipitation (watershed)	1	1
Point source industry density	Presence of current industries (5 km)	0.82	0.86
	Presence of current industries (10 km)	0.44	0.52
	Presence of current industries (20 km)	0.61	0.66

Point source urban density	Surface of urban land use (5 km)	0.47	0.33
	Surface of urban land use (10 km)	0.51	0.40
	Surface of urban land use (20 km)	0.62	0.60
	Population density (5 km)	0.05	0.018
	Population density (10 km)	0.07	0.036
	Population density (20 km)	0.15	0.12
	Wastewater treatment plants presence (5 km)	0.1	0.39
	Wastewater treatment plants presence (10 km)	0.19	0.46
	Wastewater treatment plants presence (20 km)	0.20	0.37
Point source road density	Number of roads (5 km)	0.81	0.88
	Number of roads (10 km)	0.25	0.13
	Number of roads (20 km)	0.64	0.47
Point source landfill density	Presence of current landfills (5 km)	0.80	0.96
	Presence of current landfills (10 km)	0.95	0.98
	Presence of current landfills (20 km)	0.87	0.64
Dams	Cumulative volume in relation to the flow (reach)	1	1
Slope	Slope (reach)	1	1
Straightness	Rate of straightness (reach)	1	1
Nutrients and organic matter	Total Phosphorus (site)	0.74	0.82
	Nitrites (site)	0.54	0.54
	Nitrates (site)	0.50	0.48
	Ammonium (site)	0.53	0.63
	Dissolved oxygen (site)	−0.52	−0.57
	Suspended matter (site)	0.39	0.34
	BOD_5 (site)	0.89	0.86
	Dissolved organic carbon (site)	0.28	0.28
POPs contamination	Bioconcentration of POPs (site)	1	1

3.3. Quantified links between pressures and bioavailable organic contamination

Figure III.2.5 represents the total links between pressures and the sum of PAH bioavailable contamination. The R^2 is equal to 0.345, meaning that 35% of PAH's bioavailable contamination is explained by the selected pressures. The highest positive correlation with PAH bioavailable contamination was with point source urban density, represented mostly by surface of urban land use (0.237). Followed by nutrients and organic matter (0.205), summer precipitation (0.142), straightness (0.139) and point source industry density (0.106). No significant negative correlations of pressures with PAH's bioavailable contamination were reported.

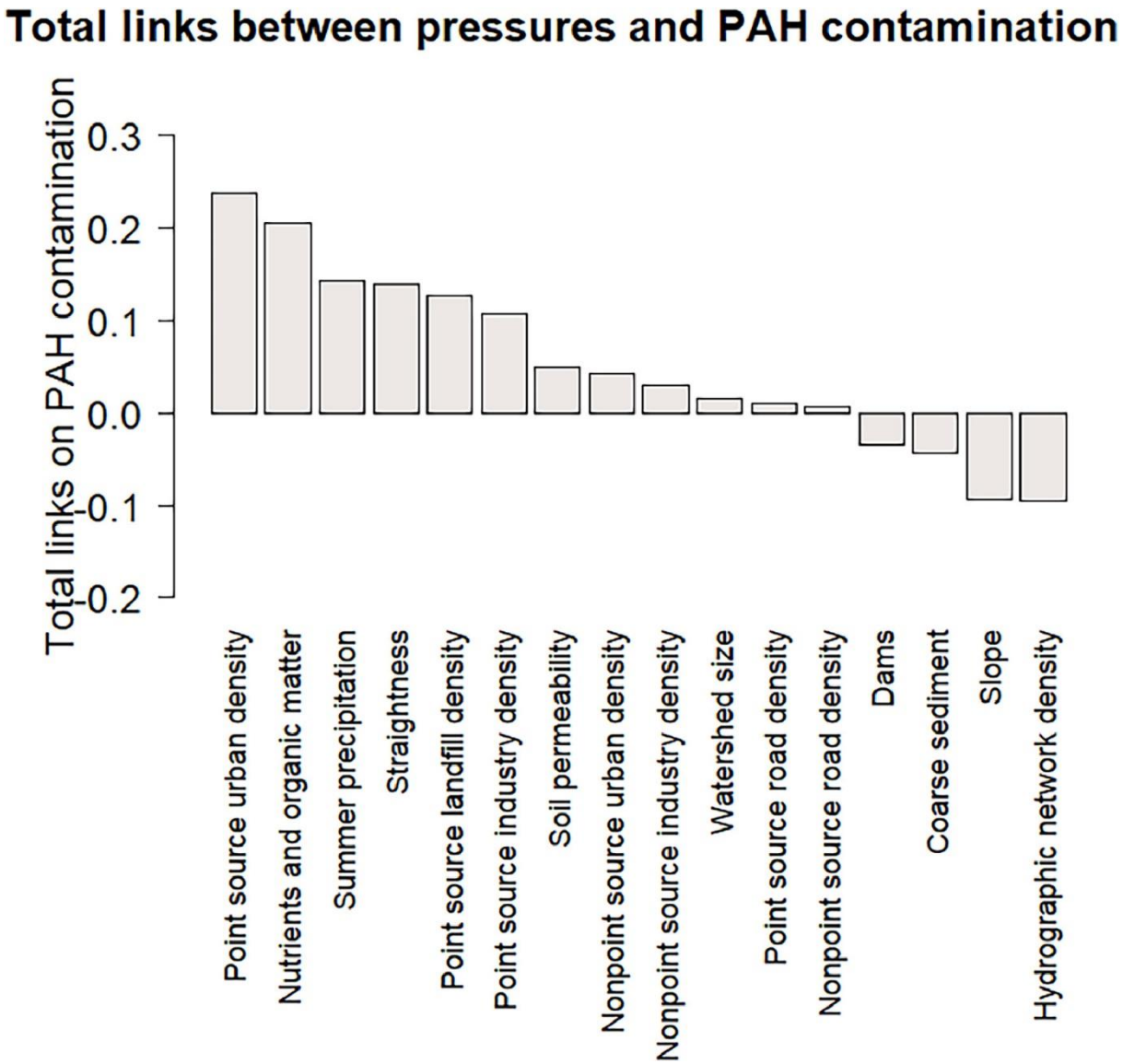


Figure III.2.5: Total links between pressures and the sum of bioavailable PAHs (correlations).

Figure III.2.6 represents total links between pressures and PCB bioavailable contamination. R^2 is equal to 0.338 meaning that 34% of PCB bioavailable contamination was explained by pressures. Four pressures are positively correlated with bioavailable iPCBs: nonpoint source urban density (0.194), nonpoint source industry density (0.131), nonpoint source road density (0.123) and watershed size (0.110). No significant negative correlations of pressures with PCB bioavailable contamination were reported.

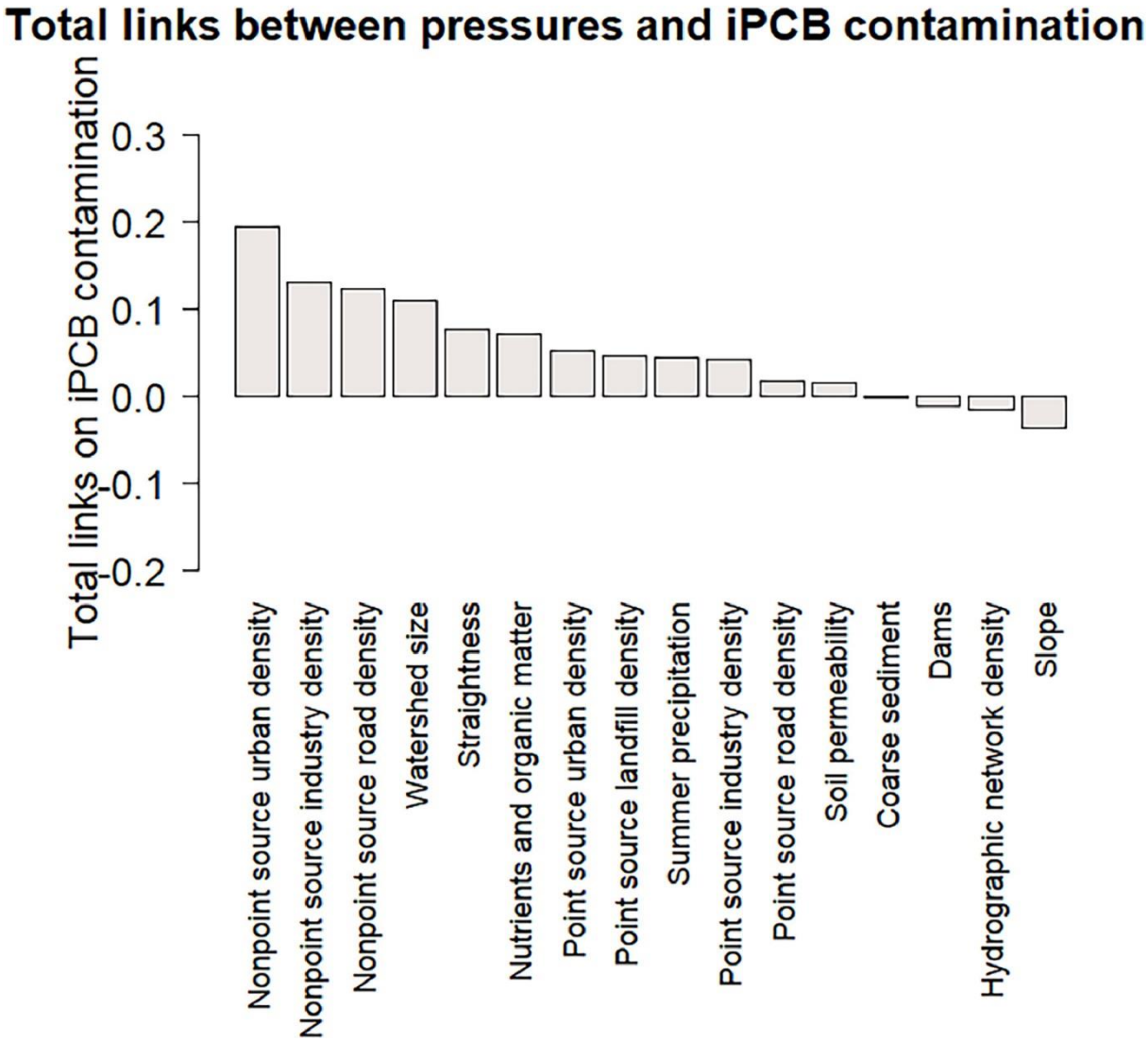


Figure III.2.6: Total links of pressures with the sum of bioavailable iPCBs (correlations).

4. Discussion

4.1. PCBs and PAHs distinctions

According to the PCA (Figure III.2.4), bioavailable PCBs and PAHs contaminations were poorly correlated among the experimented sites. Their difference can be possibly explained by having different sources and/or fate in the environment that we further investigated based on our conceptual model separately for both families (Figure III.2.3). Jones and de Voogt (1999) presented different families of POPs, including PAHs and PCBs. They share similarities in terms of hydrophobic properties, adsorption to sediments (Kimbrough et al., 2008; Mourier et al., 2014), toxicity, persistence, bioaccumulation and long range transport (Lohmann et al., 2007) but differ in molecular structure (INERIS, 2012; Soleille and Brignon, 2006) and origins (Olenycz et al., 2015). Figure III.2.4 also showed correlations between all PAHs with the sum of PAHs on one side, and all PCBs with the sum of iPCBs on the other side supporting similarities of substances in each respective family. This supports the decision of representing each family by, respectively the sum of PAHs and the sum of iPCBs. The high molecular PAHs were better represented than the low molecular PAHs on the PCA, probably due to their higher accumulation in gammarids.

4.2. Representativeness of pressures at multiple scales

In the current study, a conceptualized model linking pressures to POPs bioavailable contamination has been elaborated for the first time and applied at the national scale of France. There are often accessible data of pressures with wide gradients at a large spatial scale, but quantification of contamination in multiple sites with contrasted contamination levels at a large scale remains challenging. The use of active biomonitoring enabled this nationwide quantification of bioavailable POPs contamination. This model is constituted by a selection of pressures (anthropogenic pressures and natural parameters): point source and/or nonpoint source density (of industries, urban zones, landfills and roads), nutrients and organic matter, dams, slope, straightness, coarse sediment, soil permeability, watershed size, hydrographic network density and summer precipitation. The stressor indicators were chosen based on literature and expertise of ecotoxicologists, hydroecologists, hydromorphologists and hydrologists, and dependent on the availability of data for all sites. Representing a

pressure with a group of stressor indicators had the advantage of considering stressor indicators with different distributions and variable correlations with their pressure (Table III.2.2). Since point source urban density was mostly correlated with surface of urban land use at 5, 10 and 20 km upstream of the site, the link of this pressure with PAHs contamination will mostly be representative of urban areas and not specifically wastewater treatment plants and population density. In addition, representing stressor indicators at multiple spatial scales represented complementary information on the pressure as for, respectively point source industry density, point source urban density, point source road density and point source landfill density. The more nutrients and organic matter increased, the less dissolved oxygen there was. Hypotheses of links between pressures were used to build the conceptualized structure of the model, in order to quantify total links of pressures. Depending on data availability, other pressures and stressor indicators could be added later to the model to test other links. For example, only current landfills were integrated in the model as an influencing factor on deposition of PAHs and PCBs, but former landfills could also be considered because they are potential sources of organic contamination in waste dumping (Brunet, 2007). In the same way, not only current industries can be considered as potential sources of PAHs, but also past ones (Bertrand et al., 2015). We chose to study the links between industries and PAH bioavailable contamination, however the links with specific types of industries like petrochemical industries could be investigated (Ravindra et al., 2008).

Regarding hydrology, since caging of gammarids was performed during non-flood events, the frequency and intensity of floods were not considered. Summer precipitation was considered to describe the contrast in precipitation between different sites and geographical zones. We opted for summer precipitation in particular to represent the precipitation regimes of sites and discriminate more the contrasts in precipitations between different hydroclimatic zones rather than considering the annual precipitation mean. Storm weirs, collecting rain and enhancing leaching of pollutants from soils, could therefore be a complementary pressure (Hubaux and Perceval, 2011). The increased density of the hydrographic network was an indicator of possible drainage of more contaminants. The choice of multiple scales enabled the study of links between pressures and bioavailable organic contamination at multiple spatial scales. Point source pressures were measured at the local scale of upstream

influence and nonpoint source pressures were calculated at the watershed scale. We hypothesized that pressures represented at different scales had different correlations with bioavailable organic contamination.

4.3. The relationship of bioavailable PAHs with point and nonpoint source pressures

The construction of both models enabled a quantification of links between pressures and bioavailable organic contamination represented by, respectively the sum of bioavailable PAHs and the sum of bioavailable iPCBs. The chosen pressures explained 35% of PAH bioavailable contamination. In our dataset, four environmental pressures were positively correlated with PAH bioavailable contamination. The first positive correlation was point source urban density, reflecting a local urban runoff link with bioavailable PAH. Barhoumi et al. (2019) found that high concentrations of PAHs were detected in highly populated urban areas due to anthropogenic activities releasing these contaminants. Then the second positive correlation was with nutrients and organic matter, it reflected potentially the situation of sites with often more nutrients and organic matter with increased PAH contamination. This situation can be explained by runoffs enriched with nutrients and organic matter. For instance, with urbanization, water quality can be degraded, with a co-occurrence of enrichments with nutrients and organic matter as well as pollutants (Allan, 2004). Suspended particulate matter, a stressor indicator of altered water quality, could be adsorbed to PAHs (Li et al., 2020) and it can be a possible vector of PAHs to biota. The third positive correlation was with summer precipitation highlighting that PAH bioconcentration is dependent on a precipitation zonation. Precipitations are well known to mobilize contaminants like PAHs present in the atmosphere, to reach the watercourse (Blanchard et al., 2004; Ollivon et al., 1999). The fourth positive correlation is with straightness, an indicator of straightening, considered as a morphological alteration. Meandering rivers can induce more diverse flow and more deposits of fine sediments, thus more diverse environmental conditions (Garcia et al., 2012) and possibly more denitrification (Oraison et al., 2011). Simplifying flows and associated deposit forms often observed in straightened watercourses, as well as artificial riverbanks, can induce less adsorption of PAHs to riverbanks and more PAHs in circulation. This link is highlighted, but is not a very high correlation, possibly due to the indicator representing a probability of watercourse physical alteration and also due to other possible sources like

occurrence of roads next to straightened watercourses. The fifth positive correlation with point source industry density was supported by literature (Bertrand et al., 2015; Coles et al., 2012). To summarize, the links of pressures with bioavailable PAHs were quantified at multiple scales. Bioavailable PAH contamination was influenced by local-scale pressures, as point source urban density, nutrients and organic matter in the site and point source industry density, and large-scale pressures such as summer precipitation in the watershed. As hypothesized in the conceptual model, pressures considered as vectors of transfer of PAHs (e.g. summer precipitation and straightness) had an important link with bioavailable PAH contamination (positive correlation). The developed model may identify environmental drivers of contamination. To manage bioavailable contamination of PAHs, this first study suggests that studying specific sources of PAH contamination should be encouraged, as well as factors of transfer.

4.4. The relationship of bioavailable PCBs with nonpoint source pressures

For iPCBs, 34% of contamination was explained by pressures. Three sources of contamination (nonpoint source urban density, nonpoint source industry density and nonpoint source road density) were positively correlated with PCB bioavailable contamination, unlike PAH bioavailable contamination linked with sources and factors of transfer. These pressures acting mostly on iPCBs bioavailable contamination were mainly nonpoint source pressures, spatially diffuse, at a large scale. PCBs are banned from the 80s in France and their emissions in the environment have decreased since then (CIRE, 2010). PCBs found in the environment are mostly inherited from the recent past and mobilized by vectors of transfer. They are currently occurring in a diffuse way in the environment with a link to urbanization, roads and industries (Diamond et al., 2010). Watershed size was also positively correlated with iPCBs bioavailable contamination, highlighting the possible influence of large-scale sources of iPCBs that are more numerous in big watersheds than small ones. Coles et al. (2012) and Bertrand et al. (2015) declared a relationship between POPs and adsorption to sediments. Hubaux and Perceval (2011) also highlighted the link between sediments and PCBs. The coarse sediment indicator aimed to represent the particle size of sediments to determine the different storage types of iPCBs, from the riverbed to the floodplain and in more or less erodible geomorphic units. In the current study, there was no correlation between the particle size, at the watershed scale, and POPs. This

could be due to differences in timings between releases of POPs during sediment mobilization when there were floods and exposures of caged gammarids. More measures could better evaluate this link. In addition, gammarids are exposed in the water column and sediments are not captured in the cages compartment. Finally, PCBs adsorbed to fine sediments tend to circulate more in non-flood events and might not reach gammarids.

4.5. Contrasts in contamination sources

PCBs and PAHs had distinct links with pressures, this can be explained by having specific sources, factors of storing/transfer and/or different behaviors in the environment. This difference in distribution of origins can also be explained by the present specific use of PAH and inversely the past use of stored PCBs present nowadays in a diffuse way in the environment. PAHs and PCBs seemed to be linked to different pressures at multi-scale, respectively at local and large scales for PAHs, and at large scales for iPCBs. These quantifications nationally in France support the study of Blanchard et al. (2004) showing in the Paris area that PAHs were linked mostly to urban runoffs and PCBs had nonpoint source origins. Their spatial distributions displayed urban sources from mostly industries, shipping and/or commercial zones according to Sprovieri et al. (2007). Some of the results were also supported by exploratory analysis we performed on the highest contaminated sites. In these analyzes, sites were often close to urbanized zones, landfills and industries. Based on our dataset, punctual actions might be useful to reduce PAH contamination while diffuse PCBs management is challenging due to its past use and diffuse occurrence. It is also interesting to confront bioavailable PAH and PCB origins to the origins of other contaminants like pharmaceuticals and metals. Sarkis et al. (2020) studied the links of pressures with bioavailable metallic contamination in gammarids. The dominant pressures were different from the ones of bioavailable PAHs and PCBs. For metals, driving forces (human activities leading to pressures) (Kristensen, 2004) like anthropogenic land use had an important link with bioavailable metallic contamination as well as pressures like industry and wastewater treatment plant density. Finally, having a nationwide dataset of pressures and bioavailable POPs for 245 sites enabled the quantification of general links between them for the first time. However, these results can be dependent on the gradients of the pressures and

contamination of the studied measures. Chosen pressures provided a part of the explanation of bioavailable PAH and PCB contamination. Thus, using a bigger dataset can confirm the links between environmental pressures and bioavailable organic contamination (for PAHs and PCBs), and can possibly highlight other links in addition to providing more explanation. Some dominant pressures had wide gradients (e.g. straightness), it is possible that having more measures might increase the gradient of some pressures and other links to bioavailable POPs contamination might be quantified. Having a bigger dataset can also quantify links specific to zones with homogeneous environmental factors like sites in the same altitude or the same watercourse size. For instance, links can be investigated in lowland and mountain sites, since sediment types and their stocking capacities are different, thus sediments might be linked to POPs differently. Quantifying the links between pressures and POPs seasonally can also be explored, but will imply more frequent active biomonitoring campaigns at large scale. The temporal variation of PCBs and PAHs can highlight releases of these contaminants in the environment and can perhaps reveal complementary links to those we unraveled in this study. For freshwater management, the current approach could serve as a promising basis to understand the general links between pressures and bioavailable organic contamination. The sum of PAHs and the sum of iPCBs are representative of each family of contaminants, the application of the current approach could be adapted to investigate the links of pressures with specific PAHs and PCBs. Moreover, it might be helpful to investigate the impacts of pressures, including bioavailable organic contamination, on freshwater ecosystems (Hering et al., 2015).

5. Conclusion

To conclude, in this approach:

- For the first time, the links between pressures and, respectively PAH and PCB bioavailable contamination were quantified with a dataset of 245 sites distributed at a large scale.
- Active biomonitoring measures took into account bioavailability of these contaminants with a fine dosage range and enabled a confrontation with pressures at the national level of France.

- The links were quantified with structural equation modeling (more specifically PLS-PM) and the dominant pressures acting on bioavailable contamination were different between PAHs and PCBs.
- Point source urban density represented by urban zones at the upstream influence scale, water quality degradation characterized by nutrients and organic matter at the site scale, summer precipitation at the watershed scale, straightness at the reach scale and point source industry density at the upstream influence scale were linked with positive correlations with PAH bioavailable contamination.
- Four pressures at the large scale of the watershed (nonpoint source urban density, nonpoint source industry density, nonpoint source road density, and watershed size) were linked with positive correlations with PCB bioavailable contamination.
- As expected, the dominant pressures were different between PAH (local and large-scale pressures) and PCB (large-scale pressures) bioavailable contamination showing quantitatively that the sources and vectors of transfer of these two families of contaminants were different.
- These pioneer results, can highlight the importance of some general pressures that can be further investigated when managing environmental PCB and PAH freshwater contamination. This approach can subsequently be applied on a bigger nationwide dataset to confirm the quantified links and open up new investigations on POPs origins in specific types of watercourses and at specific seasons. It can be used in risk evaluation to understand the links between pressures at multi-scale and the exposition to chemical contamination within aquatic ecosystems.

Declaration of Competing Interest

The authors confirm not having any competing interest. The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

INRAE and the Regional Water Agency Rhône-Méditerranée-Corse funded this research. The authors thank the Ecotoxicology and EcoFlowS teams for their help in this project. More specifically M. Babut for exchanging on PCBs, A. Beaufort for

discussions on precipitation and JM. Choubert for talking about wastewater treatment plants. As well as the scientists who participated in previous experiments of ABM, the 6 French regional water agencies for funding the experiments, BIOMAE for data collection and external scientists who participated in the follow up of the project.

References

AFNOR (2019) Qualité de l'eau - encagement in situ de gammares pour la mesure de la bioaccumulation de substances chimiques. Norme XP T90-721. https://www.boutique.afnor.org/norme/xp-t90-721/qualite-de-l-eau-encagement-in-situ-de-gammares-pour-la-mesure-de-la-bioaccumulation-de-substances-chimiques/article/925230/fa193552.

J. Akkanen, T. Slootweg, K. Mäenpää, M.T. Leppänen, S. Agbo, C. Gallampois, J.V.K. Kukkonen **Bioavailability of organic contaminants in freshwater environments** Emerg. Prior. Pollut. Rivers, 19 (2012), pp. 25-53, https://doi.org/10.1007/978-3-642-25722-3_2 The Handbook of Environmental Chemistry

J.D. Allan **Influence of land use and landscape setting on the ecological status of Rivers** Limnetica, 23 (3-4) (2004), pp. 187-198

B. Alric, O. Geffard, A. Chandesris, M. Ferréol, A. François, O. Perceval, J. Piffady, B. Villeneuve, A. Chaumot **Multisubstance indicators based on caged gammarus bioaccumulation reveal the influence of chemical contamination on stream macroinvertebrate abundances across France** Environ. Sci. Technol., 53 (10) (2019), pp. 5906-5915, https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01271

J.C. Amiard, T. Meunier, M Babut **PCB, environnement et santé** Lavoisier (2016), p. 738

A. Arnold, J.F. Murphy, J.L. Pretty, C.P. Duerdoth, B.D. Smith, P.S. Rainbow, K.L. Spencer, A.L. Collins, J.I. Jones **Accumulation of trace metals in freshwater macroinvertebrates across metal contamination gradients** Environ. Pollut., 276 (2021), pp. 116721-116730, https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116721

M. Babut, B.J.D. Ferrari, P. Jame, A. Assoumani, F. Lestremau, N. Hette-Tronquart, C. Miege, O. Perceval **Monitoring priority substances in biota under the water framework directive: how effective is a tiered approach based on caged invertebrates? A proof-of-concept study targeting PFOS in French**

rivers Environ. Sci. Eur., 32 (1) (2020), p. 131, https://doi.org/10.1186/s12302-020- 00416-4

M. Babut, C. Miege, A. Roy, C. Lopes, G. Roux, M. Desmet, H. Persat **Transferts de contaminants hydrophobes du sédiment au biote: construction de modèles dans une perspective de gestion** Irstea (2011), p. 186 https://hal.inrae.fr/hal-02595310

M. Babut, C. Miege, B. Villeneuve, A. Abarnou, J. Duchemin, P. Marchand, J.F. Narbonne **Correlations between dioxin-like and indicators PCBs: potential consequences for environmental studies involving fish or sediment** Environ. Pollut., 157 (12) (2009), pp. 3451-3456, https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.06.016

B. Barhoumi, M.S. Beldean-Galea, A.M. Al-Rawabdeh, C. Roba, I.M. Martonos, R. Bălc, M. Kahlaoui, S. Touil, M. Tedetti, M.R. Driss, C. Baciu **Occurrence, distribution and ecological risk of trace metals and organic pollutants in surface sediments from a Southeastern European river (Someşu Mic River, Romania)** Sci. Total Environ., 660 (2019), pp. 660-676, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.428

O. Bertrand, L. Mondamert, C. Grosbois, E. Dhivert, X. Bourrain, J. Labanowski, M. Desmet **Storage and source of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments downstream of a major coal district in France** Environ. Pollut., 207 (2015), pp. 329-340, https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.09.028

J.P. Besse, M. Coquery, C. Lopes, A. Chaumot, H. Budzinski, P. Labadie, O. Geffard **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 Res., 47 (2) (2013), pp. 650-660, https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024

M. Blanchard, M.J. Teil, D. Ollivon, L. Legenti, M. Chevreuil **Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorobiphenyls in wastewaters and sewage sludges from the Paris area (France)** Environ. Res., 95 (2) (2004), pp. 184-197, https://doi.org/10.1016/j.envres.2003.07.003

Brunet, J.F. (2007) État des lieux sur la pollution des fleuves par les PCB dans le monde. Actions des pouvoirs publics. Exemples de décontamination. Rapport “final”, BRGM/RP-55835-FR, p. 167.

P.M. Chapman **Negatives and positives: contaminants and other stressors in**

aquatic ecosystems Bull. Environ. Contam. Toxicol., 100 (1) (2018), pp. 3-7, https://doi.org/10.1007/s00128-017-2229-9

A. Chaumot, O. Geffard, J. Armengaud, L. Maltby **Gammarids as reference species for freshwater monitoring** Aquat. Ecotoxicol. (2015), pp. 253-280, https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800949-9.00011-5

A. Ciliberti, A. Chaumot, R. Recoura-Massaquant, A. Chandesris, A. François, M. Coquery, M. Ferréol, O. Geffard **Caged Gammarus as biomonitors identifying thresholds of toxic metal bioavailability that affect gammarid densities at the French national scale** Water Res., 118 (2017), pp. 131-140, https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031

CIRE (2010) PCB (Polychlorobiphényles). Accessed on 09/10/2020. https://www.rhone-mediterranee.eaufrance.fr/gestions-des-pollutionspollution-par-les-pcb/fiches-substances.

J.F. Coles, G. McMahon, A.H. Bell, L.R. Brown, F.A. Fitzpatrick, B.C. Scudder Eikenberry, M.D. Woodside, T.F. Cuffney, W.L. Bryant, K. Cappiella, L. Fraley-McNeal, W.P. **Stack Effects of urban development on stream ecosystems in nine metropolitan study areas across the United States**, 1373, U.S. Geological Survey Circular (2012), p. 138 https://pubs.usgs.gov/circ/1373/

L.S. Craig, J.D. Olden, A.H. Arthington, S. Entrekin, C.P. Hawkins, J.J. Kelly, T.A. Kennedy, B.M. Maitland, E.J. Rosi, A.H. Roy, D.L. Strayer, J.L. Tank, A.O. West, M.S. Wooten **Meeting the challenge of interacting threats in freshwater ecosystems: a call to scientists and managers** Elem. Sci. Anthrop., 5 (2017), p. 15, https://doi.org/10.1525/elementa.256

V. Dahm, D. Hering, D. Nemitz, G. Wolfram, A. Schmidt-Kloiber, P. Leitner, A. Melcher, C.K. Feld **Effects of physico-chemistry, land use and hydromorphology on three riverine organism groups: a comparative analysis with monitoring data from Germany and Austria** Hydrobiologia, 704 (2013), pp. 389-415, https://doi.org/10.1007/s10750-012-1431-3

David, J.Y. (2019) Corine land cover edition 2018 France métropolitaine. Accessed on 09/02/2021. https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/corine-land-cover-edition-2018-france-metropolitaine/.

Degiorgi, F., Badot, P.M., 2020. **Étude de l'état de santé des rivières karstiques en**

relation avec les pressions anthropiques sur leurs bassins versants. Bilan Synthétique des Opérations Réalisées et des Recherches et Analyses Effectuées et Disponibles. Université de Franche-Comté, p. 47.

Dendievel, A.M., Mourier, B., Coynel, A., Evrard, O., Labadie, P., Ayrault, S., Debret, M., Koltalo, F., Copard, Y., Faivre, Q., Gardes, T., Vauclin, S., Budzinski, H., Grosbois, C., Winiarski, T. and Desmet, M. (2019) Spatiotemporal assessment of the PCB sediment contamination in the four main French river basins (19452018). 23. https://doi.org/10.5194/essd-2019-167.

M.L. Diamond, L. Melymuk, S.A. Csiszar, M. Robson **Estimation of PCB stocks, emissions, and urban fate: will our policies reduce concentrations and exposure?** Environ. Sci. Technol., 44 (8) (2010), pp. 2777-2783, https://doi.org/10.1021/es9012036

European Commission and the European Soil Bureau Network (2004) The European soil database distribution version 2.0. Accessed on 09/02/2021, CD-ROM, EUR 19945 EN. https://esdac.jrc.ec.europa.eu/content/european-soil-database-v20-vector-and-attribute-data.

European Commission **Directive 2008/105/EC of the European parliament and of the council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council** Off. J. Eur. Union L, 348 (2008), pp. 84-97

V. Fernandes **En quoi l'approche PLS est-elle une méthode a (re)-découvrir pour les chercheurs en management ?** M@n@gement, 15 (1) (2012), pp. 102-123, https://doi.org/10.3917/mana.151.0102

C.A. Frissell, W.J. Liss, C.E. Warren, M.D. Hurley **A hierarchical framework for stream habitat classification: viewing streams in a watershed context** Environ.Manag., 10 (2) (1986), pp. 199-214, https://doi.org/10.1007/BF01867358

X.F. Garcia, I. Schnauder, M.T. Pusch **Complex hydromorphology of meanders can support benthic invertebrate diversity in rivers** Hydrobiologia, 685 (2012), pp. 49-68, https://doi.org/10.1007/s10750-011-0905-z

C.G. Gustafson **PCB's-prevalent and persistent. Intensified research is needed to**

minimize their dangers Environ. Sci. Technol., 4 (10) (1970), pp. 814-819, https://doi.org/10.1021/es60045a008

D. Hering, L. Carvalho, C. Argillier, M. Beklioglu, A. Borja, A.C. Cardoso, H. Duel, T. Ferreira, L. Globevnik, J. Hanganu, S. Hellsten, E. Jeppesen, V. Kodes, A. Lyche Solheim, T. Nõges, S. Ormerod, Y. Panagopoulos, S. Schmutz, M. Venohr, S. Birk **Managing aquatic ecosystems and water resources under multiple stress – an introduction to the MARS project** Sci. Total Environ., 503-504 (2015), pp. 10-21, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.106

Hubaux, N. and Perceval, O. (2011) Pollution des milieux aquatiques par les polychlorobiphényles (PCB) en France: principaux enjeux de gestion et lacunes identifiées dans les connaissances environnementales. Rapport final ONEMA, 52. https://manualzz.com/doc/5212616/rapport-final-pollution-des-milieux-aquatiques-par.

Ifremer (2008) ROCCH Accessed on 08/02/2021. Environnement et Ressources des Pertuis Charentais. https://wwz.ifremer.fr/lerpc/Activites-et-Missions/Surveillance/ROCCH.

IGN (2016) ADMIN EXPRESS Accessed on 09/02/2021. https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/admin-express/.

IGN (2017) BD Carthage® Accessed on 09/02/2021. http://services.sandre.eaufrance.fr/telechargement/geo/ETH/BDCarthage/FXX/2017/.

IGN (2020) BD TOPO®. Accessed on 09/02/2021. https://geoservices.ign.fr/documentation/diffusion/telechargement-donnees-libres.html#bd-topo.

INERIS, 2012. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France: les Polychlorobiphenyles (PCB). INERIS, 89. http://www.ineris.fr/substances/fr/.

Irstea/ONEMA (2017) Fiche de métadonnées du jeu SYRAH-CE (SYstème Relationnel d'Audit de l'Hydromorphologie des Cours d'Eau). Accessed on 09/02/2021. http://www.data.eaufrance.fr/jdd/9c86a5da-88f4-4819-a84e-c09a69394a34.

K.C. Jones, P. de Voogt **Persistent organic pollutants (POPs): state of the science**

Environ. Pollut., 100 (1-3) (1999), pp. 209-221, https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00098-6

S.S. Kaushal, P.M. Mayer, P.G. Vidon, R.M. Smith, M.J. Pennino, T.A. Newcomer, S. Duan, C. Welty, K.T. Belt **Land use and climate variability amplify carbon, nutrient, and contaminant pulses: a review with management implications** J. Am. Water Resour. Assoc., 50 (3) (2014), pp. 585-614, https://doi.org/10.1111/jawr.12204

K.L. Kimbrough, W.E. Johnson, G.G. Lauenstein, J.D. Christensen, D.A. Apeti **An Assessment of two decades of contaminant monitoring in the nation's coastal zone** NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS 74, 105, Silver Spring, MD. (2008) https://coastalscience.noaa.gov/data_reports/an-assessment-of-two-decades-of-contaminant-monitoring-in-the-nations-coastal-zone/

P. Kristensen **The DPSIR Framework** National Environmental Research Institute, Denmark (2004) R. Li, P. Hua, J. Zhang, P. Krebs **Effect of anthropogenic activities on the occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic suspended particulate matter: evidence from Rhine and Elbe rivers** Water Res., 179 (2020), Article 115901, https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115901

R. Lohmann, K. Breivik, J. Dachs, D Muir **Global fate of POPs: current and future research directions** Environ. Pollut., 150 (1) (2007), pp. 150-165, https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.051

A. Motelay-Massei, D. Ollivon, B. Garban, M.J. Teil, M. Blanchard, M. Chevreuil **Distribution and spatial trends of PAHs and PCBs in soils in the seine river basin, France** Chemosphere, 55 (4) (2004), pp. 555-565, https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.11.054

B. Mourier, M. Desmet, P.C. Van Metre, B.J. Mahler, Y. Perrodin, G. Roux, J.P. Bedell, I. Lefèvre, M. Babut **Historical records, sources, and spatial trends of PCBs along the Rhône River (France)** Sci. Total Environ., 476-477 (2014), pp. 568-576, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.026

Naïades Accessed on 09/02/2021 http://www.naiades.eaufrance.fr

M. Olenycz, A. Sokołowski, A. Niewińska, M. Wołowicz, J. Namieśnik, H. Hummel, J. Jansen **Comparison of PCBs and PAHs levels in European coastal waters using mussels from the Mytilus edulis complex as biomonitors** Oceanologia, 57 (2) (2015), pp. 196-211, https://doi.org/10.1016/j.oceano.2014.12.001

D. Ollivon, M. Blanchard, B. Garban **PAH fluctuations in rivers in the Paris region (France): impact of floods and rainy events** Water Air Soil Pollut., 115 (1999), pp. 429-444, https://doi.org/10.1023/A:1005162128490

F. Oraison, Y. Souchon, K. Van Looy **Restaurer l'hydromorphologie des cours d'eau et mieux maitriser les nutriments: une voie commune?** Onema et Cemagref, 42 (2011) https://www.documentation.eauetbiodiversite.fr/notice/restaurer-l-hydromorphologie-des-cours-d-eau-et-mieux-maitriser-les-nutriments-une-voie-commune-synt0

Poff, N.L. (1997) Landscape filters and species traits: towards mechanistic understanding and prediction in stream ecology. 16(2), 391409, https://doi.org/10.2307/1468026.

P. Quintana-Seguí, P. Le Moigne, Y. Durand, E. Martin, F. Habets, M. Baillon, C. Canellas, L. Franchisteguy, S. Morel **Analysis of near-surface atmospheric variables: validation of the Safran analysis over France** J. Appl. Meteorol. Climatol., 47 (1) (2008), pp. 92-107, https://doi.org/10.1175/2007JAMC1636.1

K. Ravindra, R. Sokhi, R. Van Grieken **Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation** Atmos. Environ., 42 (13) (2008), pp. 2895-2921, https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.12.010

C.M. Riseng, M.J. Wiley, R.W. Black, M.D. Munn **Impacts of agricultural land use on biological integrity: a causal analysis** Ecol. Appl., 21 (8) (2011), pp. 3128-3146, https://doi.org/10.1890/11-0077.1

Sandre (2012) Stations de traitement des eaux usées - France entière Accessed on 09/02/2021. https://www.sandre.eaufrance.fr.

N. Sarkis, O. Geffard, Y. Souchon, A. Chandesris, M. Férréol, L. Valette, B. Alric, A. François, J. Piffady, A. Chaumot, B. Villeneuve **How to quantify the links between bioavailable contamination in watercourses and pressures of anthropogenic land cover, contamination sources and hydromorphology at multiple scales?** Sci. Total Environ., 735 (2020), Article 139492, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139492

S. Soleille, J.M. Brignon **Données technico-économiques sur les substances chimiques en France** HAP. Ineris (2006), p. 45

M. Sprovieri, M.L. Feo, L. Prevedello, D.S. Manta, S. Sammartino, S. Tamburrino, E.

Marsella **Heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in surface sediments of the Naples Harbour (Southern Italy)** Chemosphere, 67 (5) (2007), pp. 998-1009, https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.055

M.K. Steele, W.H. McDowell, J.A. Aitkenhead-Peterson **Chemistry of urban, suburban and rural surface waters** Urban Ecosyst. Ecol., 55 (2010), pp. 297-339, https://doi.org/10.2134/agronmonogr55.c15

S. Stendera, R. Adrian, N. Bonada, M. Cañedo-Argüelles, B. Hugueny, K. Januschke, F. Pletterbauer, D Hering **Drivers and stressors of freshwater biodiversity patterns across different ecosystems and scales: a review** Hydrobiologia, 696 (2012), pp. 1-28, https://doi.org/10.1007/s10750-012-1183-0

Y. Tao, J. Yu, G. Lei, B. Xue, F. Zhang, S. Yao **Indirect influence of eutrophication on air – water exchange fluxes, sinking fluxes, and occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons** Water Res., 122 (2017), pp. 512-525, https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.026

M. Tenenhaus, V.E. Vinzi, Y.M. Chatelin, C. Lauro **PLS path modeling** Comput. Stat. Data Anal., 48 (1) (2005), pp. 159-205, 10.1016/j.csda.2004.03.005

E. Uher, C. Mirande-Bret, C. Gourlay-Francé **Assessing the relation between anthropogenic pressure and PAH concentrations in surface water in the Seine River basin using multivariate analysis** Sci. Total Environ., 557-558 (2016), pp. 551-561, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.118

J.P. Vidal, E. Martin, L. Franchistéguy, M. Baillon, J.M. Soubeyroux **A 50-year high-resolution atmospheric reanalysis over France with the Safran system** Int. J. Climatol., 30 (11) (2010), pp. 1627-1644, https://doi.org/10.1002/joc.2003

B. Villeneuve, J. Piffady, L. Valette, Y. Souchon, P. Usseglio-Polatera **Direct and Indirect effects of multiple stressors on stream invertebrates across watershed, reach and site scales: a structural equation modeling better informing on hydromorphological impacts** Sci. Total Environ., 612 (2018), pp. 660-671, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.197

Esposito Vinzi, V., Chin, W.W., Henseler, J., Wang, H., 2010. In: Handbook of Partial Least Squares. Springer Handbooks of Computational Statistics, 798, https://doi.org/10.1007/978-3-540-32827-8.

J.G. Wasson, A. Chandesris, H. Pella, L. Blanc **Les hydro-écorégions de France métropolitaine approche régionale de la typologie des eaux courantes et éléments pour la définition des peuplements de référence d'invertébrés** Cemagref, 190 (2002)

V. Wepener **Active biomonitoring** Encycl. Aquat. Ecotoxicol. (2013), pp. 15-20, https://doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2_3

XLSTAT (2019). https://www.xlstat.com/fr/articles/xlstat-version-2019-1.

H. Zhi, Z. Zhao, L. Zhang **The fate of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organochlorine pesticides (OCPs) in water from Poyang Lake, the largest freshwater lake in China** Chemosphere, 119 (2015), pp. 1134-1140, https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.09.054

CHAPITRE IV : QUEL EST LE ROLE DE LA TOXICITE CHIMIQUE SUR LES COMMUNAUTES DE MACRO-INVERTEBRES BENTHIQUES, DANS UN CONTEXTE MULTI-PRESSIONS ?

Partie 1 : Est-ce qu'une toxicité chimique forte aggrave les liens pressions anthropiques/état général des communautés de macroinvertébrés benthiques?

Synthèse du chapitre IV, partie 1

La directive cadre sur l'eau (DCE), élaborée en Europe pour améliorer les conditions des milieux aquatiques, s'est accompagnée de la mise en place de programmes nationaux pour prioriser les actions de remédiation de multiples pressions anthropiques. Ces pressions (physico-chimiques, occupation du sol, hydromorphologiques, etc.) sont susceptibles d'avoir des effets sur les communautés biologiques aquatiques.

La DCE, repose sur une évaluation de l'état écologique des écosystèmes aquatiques, construite à partir d'échantillonnages des communautés. Des indicateurs multi-métriques ont été développés et standardisés au niveau européen pour répondre à cette exigence. L'indice macroinvertébrés multi-métrique (I_2M_2) permet la surveillance de l'état écologique en se basant sur les communautés de macroinvertébrés. La DCE impose également l'évaluation de l'état chimique des milieux, via la mesure de substances dites prioritaires. En revanche, la DCE ne requière pas aujourd'hui la prise en compte ou l'évaluation de la toxicité chimique globale, qui résulte des effets de l'ensemble des substances toxiques en mélange dans les milieux. Ce constat est sans aucun doute lié à l'absence de méthodes validées et normalisées au moment de la mise en place de cette directive.

Depuis quelques années, de nombreux travaux visent à proposer des outils de terrain pour évaluer et quantifier la toxicité chimique des milieux. La biosurveillance active, basée sur l'encagement d'organismes contrôles et calibrés, offre l'opportunité d'avoir accès à la mesure de traits d'histoire de vie directement en milieux naturels, tels que le taux de mortalité ou encore le taux d'inhibition de l'alimentation.

Dans ce chapitre, nous avons cherché à évaluer si la toxicité chimique pouvait aggraver l'effet connu des pressions sur l'indicateur invertébrés multi-métrique I_2M_2. Deux jeux de données ont été utilisés, l'un sur la toxicité chimique sublétale (taux d'inhibition de l'alimentation) et le second sur la toxicité létale (taux de mortalité), issus

de programmes de surveillance mis en place par les agences de l'eau à partir de gammares encagés à l'échelle nationale de la France. Les jeux de données de la toxicité chimique étaient constitués de 222 mesures de toxicité létale et 101 mesures de toxicité sublétale. Nous avons tout d'abord évalué le lien direct entre la toxicité chimique et l'I_2M_2, puis les effets des stresseurs, incluant la toxicité chimique, sur l'I_2M_2. Enfin, nous avons évalué si une toxicité chimique forte pourrait potentiellement aggraver les relations entre stresseurs et état écologique mesuré par l'I_2M_2.

Une relation linéaire décroissante faible entre les métriques de toxicité chimique (toxicité létale et toxicité sublétale) et l'I_2M_2 a été observée (Figure IV.1.3 et Figure IV.1.4). Cette faible relation pourrait être reliée aux gradients de toxicité chimique létale et sublétale des jeux de données incluant peu de valeurs de toxicité forte (Figure IV.1.2). Les stresseurs (modifications hydromorphologiques et, nutriments et matières organiques), incluant la toxicité chimique, sont corrélés négativement avec l'I_2M_2 (Figure IV.1.5 et Figure IV.1.6). Comme attendu, à forte toxicité, quand les stresseurs augmentaient, l'I_2M_2 diminuait plus qu'à faible toxicité (Figure IV.1.7 et Figure IV.1.8). Pour le jeu de données avec la toxicité sublétale, les stresseurs qui varient significativement selon ce constat sont : ammonium, nitrates, ratio d'irrigation, ratio de drainage, taux de franchissement et le taux d'urbanisation dans le lit majeur. Quand les métriques environnementales naturelles comme le taux de végétation à 10 m et le taux de végétation à 30 m augmentaient, le bon état écologique s'éloignait plus de la référence à forte toxicité létale. Pour le jeu de données avec la toxicité sublétale, l'oxygène dissous est inclus en plus dans cette relation. La prise en compte de la toxicité chimique sur le terrain dans les relations stresseurs/état écologique apparait alors comme une piste importante à investiguer. Néanmoins, les liens explorés dans cette première approche restent encore à confirmer.

Enfin de façon complémentaire, nous avons voulu évaluer le rôle de la toxicité chimique létale et sublétale sur l'I_2M_2 dans un contexte de pressions multiples (occupation du sol, hydromorphologie, et nutriments et matières organiques). En s'inspirant du modèle de Villeneuve et al. (2018), nous avons donc mis en place deux modèles d'équations structurelles pour respectivement les effets des pressions incluant la toxicité létale et la toxicité sublétale sur l'I_2M_2. Ces travaux ont pu montrer un effet très faible de la toxicité chimique par rapport aux effets des cinq catégories de pressions (Figure IV.1.12 et Figure IV.1.13).

Identifying the impact of chemical toxicity on macroinvertebrate communities in a multi-stressor context at large spatial scale

Noëlle Sarkis [a], Olivier Geffard [b], Yves Souchon [a], André Chandesris [a], Martial Ferréol [a], Laurent Valette [a], Adeline François [b], Jérémy Piffady [a], Arnaud Chaumot [b] and Bertrand Villeneuve [c]

[a] INRAE, UR RiverLy, EcoFlowS, F-69625, Villeurbanne, France

[b] INRAE, UR RiverLy, Ecotoxicology laboratory, F-69625, Villeurbanne, France

[c] INRAE, EABX, FREEMA, F-33612, Cestas, France

Abstract

Directives like the European Water Framework Directive (WFD) require an amelioration of surface water quality to ensure better freshwater conditions for living communities. To reach this target, it is recommended to evaluate nationally: (1) the ecological status of communities via general multimetrics as the macroinvertebrate-based multimetric index (I_2M_2) opted in France and, (2) the impacts of multiple anthropogenic stressors in particular hydromorphological alterations, eutrophication and chemical pollution. Nevertheless, it is currently impossible to monitor chemical contamination of all possible chemical substances discharged in the environment. Today, chemical toxicity follow up can be suggested as a general indicator of these mixtures of substances. In France, a large-scale monitoring of chemical pollution is finally available through in field chemical toxicity measures of caged gammarids. The current study aims to study for the first time the effect of chemical toxicity on the ecological status of macroinvertebrate communities in a multistressor context at the national scale of France. Here, we used active biomonitoring data measuring toxic pollution through lethal toxicity (222 measures from 2009 to 2010 and, 2012 to 2018) and sublethal toxicity (101 measures from 2015 to 2017). These newly acquired chemical toxicity datasets were confronted to other stressors and the ecological status. We hypothesized that in field chemical toxicity can possibly affect the ecological status in combination to other stressors. Through exploratory analyses, we first highlighted a light negative correlation between chemical toxicity and the I_2M_2 score for good status. Then, we showed that anthropogenic stressors (hydromorphology, nutrients and organic matter, and chemical toxicity) were negatively correlated with the I_2M_2 score for good status. We also highlighted a possible aggravating effect of chemical toxicity

on the relationship between stressors and the I_2M_2 index. In the future, further investigations concerning the role of in field toxic pollution on the ecological status in a multi-stressor context are encouraged.

1. Introduction

Over the years, many nations implemented freshwater monitoring programs, like the European Water Framework Directive (WFD) and the Clean Water Act (CWA) in the United States of America, to ameliorate environmental conditions of surface water quality. The WFD requires the evaluation of the ecological status of aquatic ecosystems in waterbodies and stressors like chemical contamination (European Commission 2000). Regarding the ecological status, multimetric bioindicators are developed for general ecological assessments. Invertebrates have often been used to assess the effects of multiple stressors on freshwater ecosystems (Hering et al. 2006, Villeneuve et al. 2015). For instance, they are known for their sensibility to oxygen deficit and toxic substances (Statzner and Bêche 2010). They also respond to nutrients and hydromorphological gradients (Dahm et al. 2013). In France, the surveillance of the ecological status through macroinvertebrate communities was first based on the normalized global biological index (IBGN) and currently replaced by the macroinvertebrate-based multimetric index (I_2M_2). Its application in French wadeable streams showed a more precise detection of altered conditions (Argillier et al. 2020, Mondy et al. 2012).

Concerning the evaluation of chemical contamination levels, the WFD defined a list of 45 priority chemical substances that should be followed and should not exceed the defined quality standards (Brack et al. 2019). However, freshwater ecosystems are subject to more hazardous substances from different families (heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), pesticides, pharmaceuticals, etc.). This monitoring is thus challenging and only focuses on measures of concentrations of a selection of substances without considering the toxicity of chemical mixtures present nowadays in water bodies. Chemical toxicity is defined as the responses of organisms exposed to one or many substances (Brack et al. 2019, Martinez et al. 2015, Milinkovitch et al. 2019, Wernersson et al. 2015). Today, we need the evaluation of chemical toxicity in order to determine the effects of these

multiple contaminants and to assess the global chemical threat. But, chemical toxicity measures often remain limited to local measures with few large-scale monitoring programs (Brooks et al. 2020, Schäfer et al. 2016). Active biomonitoring (ABM) is a method assessing aquatic chemical toxicity through the observed effects on transplanted organisms (Smolders et al. 2003, Wepener 2013). Biological standardized probes (test organisms) used in ABM are for instance molluscs (Wepener et al. 2005), fish (Lu et al. 2010, Quesada-García et al. 2013, Wepener et al. 2005) and gammarids (Brettschneider et al. 2019, Coulaud et al. 2011, Ganser et al. 2019, Gouveia et al. 2017, Lopes et al. 2020). Organisms like ubiquitous gammarids are able to quantify chemical toxicity of bioavailable micropollutants present in aquatic systems at multiple sites (Dedourge-Geffard et al. 2013). In this context, these measures are comparable between sites at large spatial scales and for different timings (Ciliberti et al. 2017). The toxicity of chemicals can induce sublethal effects like altered feeding rates and in more severe situations lethal effects (Kunz et al. 2010). Feeding inhibition, indicative of toxic effects on digestive enzymes (Charron et al. 2013), is currently used as a chemical toxicity measure in gammarids (Chaumot et al. 2015, Coulaud et al. 2011, Dedourge-Geffard et al. 2009). In addition, the rate of mortality is representative of lethal chemical toxicity in gammarids (Charron et al. 2013, Kunz et al. 2010).

To prioritize management actions, understanding the impacts of multiple environmental stressors on aquatic communities was performed (Allan et al. 2013, Mantyka-Pringle et al. 2016). For instance, the effects of physico-chemistry, land use and hydromorphology on fish, diatom and macroinvertebrate groups have been analyzed for 2302 sites in German and Austrian rivers (Dahm et al. 2013). In this study, land use at the watershed scale associated to nutrients and hydromorphologic stress affected all considered organism groups. The responses of fish, benthic invertebrates and aquatic macrophytes to riparian land use, physical habitat quality and nutrient enrichment were studied for 1095 sites in a German mountainous catchment (Gieswein et al. 2017). In this approach, physical stressors had the most effect. The direct and indirect effects of land use, hydromorphological alterations and, nutrients and organic matter on the stream ecological status were quantified in French streams for 1200 sites (Villeneuve et al. 2018). Here, nutrients and organic matter had the most direct effect on macroinvertebrate communities and hydromorphological alteration had a major indirect effect. Overall, these studies did not consider chemical pollution.

Chemical pollution was often studied separately from other pressures (Posthuma et al. 2019). There is an increasing need to understand the responses of communities to chemical pollution (Brack et al. 2015) in the context of multiple stressors. Therefore, multi-stressor approaches started integrating chemical stressors. Several studies investigated the role of chemical contamination on freshwater biology in a multi-stressor context (Malaj et al. 2014, Schäfer et al. 2016, Schmidt et al. 2019). The links between bioavailable chemical contamination and biology with various metrics were studied. For instance, Inostroza et al. (2016) showed that the genetic structure of natural populations and ecologic functions could be altered by contamination. In the study of Namba et al. (2020), the ecological state of macroinvertebrate communities was linked to metals. Another research highlighted that the ecological status decreased with the increase of chemical risk for fish and invertebrates (Malaj et al. 2014). In addition, the abundance of freshwater macroinvertebrate populations decreased with the increase of integrated bioavailable contamination by respectively metals and persistent organic pollutants (Alric et al. 2019). Chemical toxicity was estimated from contamination measures and integrated in these approaches too. Weber et al. (2018) investigated the applicability of the ecological indicator $SPEAR_{pesticides}$ (Species at Risk of pesticides), measuring the sensibility of the biocenose to pesticides toxicity (via toxic units) in small watercourses. Inostroza et al. (2016) showed that exposure to chemical pollution had an effect on *Gammarus pulex* populations. Toxicity from the bioaccumulation of pesticides in gammarids and the concentrations of pesticides in water explained the change in community structure.

There is a need to evaluate the impact of toxic stress on communities in a multi-stressor context at a large spatial scale (Brooks et al. 2020, Martinez-Haro et al. 2015). In the current study, we propose studying the impact of chemical toxicity on the ecological status of benthic macroinvertebrate communities in a multi-stressor context, specifically alterations of hydromorphology and nutrients. To achieve this objective, we used and exploited two large-scale active biomonitoring datasets recently acquired for lethal toxicity (mortality rate) and sublethal toxicity (feeding inhibition) with caged calibrated gammarids. Our work focused on three objectives: firstly, we studied the possible links between the I_2M_2 index and chemical toxicity (respectively for the two toxicity metrics); secondly, we highlighted the associations of stressors, including chemical toxicity, with the I_2M_2 index at large spatial scale; and thirdly, we investigated

the impact of toxicity (respectively for both toxicity metrics) on stressor/I_2M_2 relationships at large scale.

2. Material and Methods

2.1. Construction of the database on chemical toxicity measured via active biomonitoring

Active biomonitoring chemical toxicity data was implemented by French water agencies. The caging procedure is detailed in Alric et al. (2019) and Besse et al. (2013). Briefly, control gammarids from the 'Tour du pin' site in France were sampled and acclimated in the laboratory for three weeks in controlled conditions. Size-calibrated-males were transplanted in streams of the French surveillance network for seven days. The in situ exposition was during non-flood events and the cages contained leaf discs of known surface to measure feeding rates afterwards. Feeding inhibition was calculated (the calculation is detailed in Coulaud et al. (2011)) and mortality rate was reported in each site. Sites with low oxygen levels, very high water hardness and very low temperature, outside the conditions required for the ABM application, were removed from our datasets. We obtained two datasets with respectively 222 measures of mortality rate and 101 measures for feeding inhibition. The mortality dataset covered measures from 2009 to 2010 and 2012 to 2018 while the feeding inhibition dataset had measures from 2015 to 2017. The sites were represented all over metropolitan France (Figure IV.1.1) in more hydroecoregions for mortality rate than feeding inhibition. These datasets contained 59 common sites between the feeding inhibition dataset (101 sites) and the mortality dataset (118 sites). 59 sites were with only mortality measures and 42 sites were with only feeding inhibition measures. The gradient of lethal and sublethal toxicity was represented in a scattergram (Figure IV.1.2). Lethal toxicity was ranged from 0 to 91.2 and sublethal toxicity was ranged from 0 to 87.52 (Figure IV.1.2). Thresholds for high toxicity were set based on expert knowledge and previous studies. The threshold for high lethal toxicity was set at 25 (Coulaud et al. 2011), and the one of high sublethal toxicity was set at 30 (Geffard et al. 2019). For both datasets, there were more low values than high values. For lethal toxicity, 189 values were below this threshold and 33 values

were above it. For sublethal toxicity, 30 values were higher than 30 and 71 values were below 30.

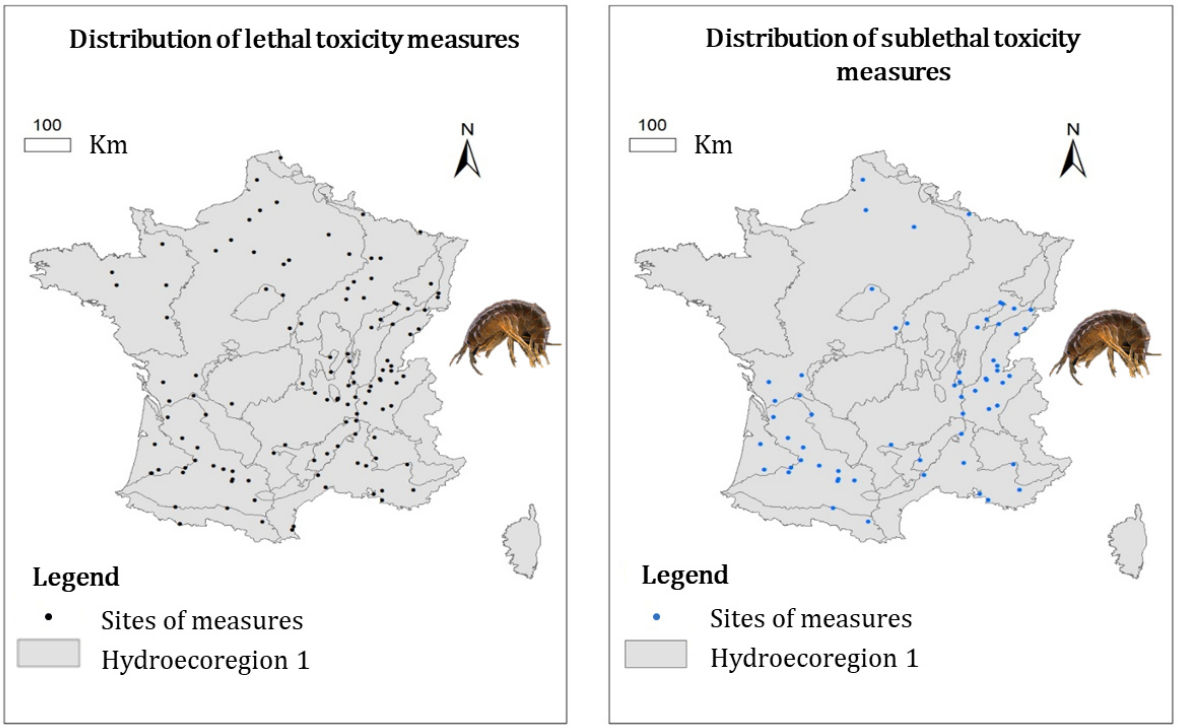


Figure IV.1.1: Distribution of measuring active biomonitoring sites (for lethal toxicity on the left cartography and sublethal toxicity on the right cartography) over the hydroecoregions of type 1 in metropolitan France.

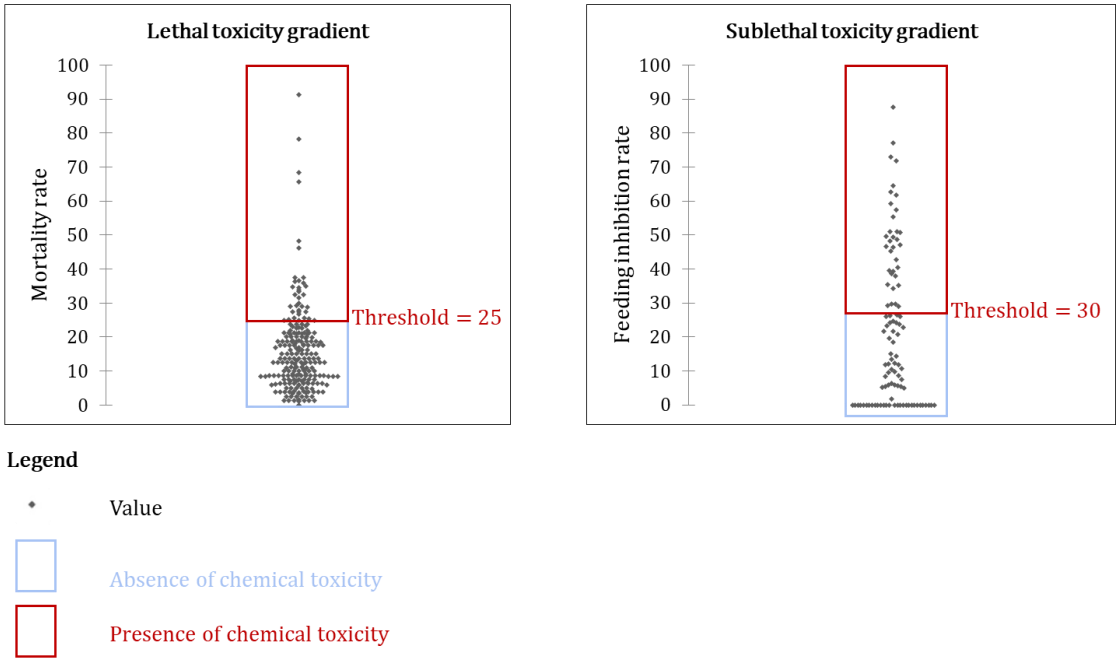


Figure IV.1.2: Gradients of lethal toxicity (left scattergram) and sublethal toxicity (right scattergram).

2.2. I_2M_2 measures for the ecological status of benthic macroinvertebrate communities

In the context of the WFD, benthic macroinvertebrate samplings have been performed in the past at each site of the French national monitoring network. The I_2M_2 data was obtained from the French national monitoring network (Naïades). Thus, the protocol and calculations are briefly detailed here. The standardized I_2M_2 protocol was followed and the determination of 17 pressure categories at each site was also determined previously (Mondy et al. 2012). These pressures were defined by physical, chemical (substances in water) and hydromorphological stressors (Corneil et al. 2018). The five metrics constituting the I_2M_2 (average score per taxon (ASPT), taxonomic richness, shannon diversity index, the relative abundance of polyvoltine taxa and the relative abundance of ovoviviparous taxa) were determined for the observed communities. Ecological quality ratio (EQR) was calculated for each pressure, and integrated both the typology of the site and the difference to the reference state for each of these five metrics. The I_2M_2 score is the arithmetic mean of these 17 indices. The I_2M_2 multimetric index gradients varied from near reference state (close to 1) to deviation from the reference state (close to 0) (Usseglio-Polatera 2016). Further details on the calculations are presented in Mondy et al. (2012). We obtained the I_2M_2 score for wadeable rivers at the closest date to caging measures, up until a maximum one-year difference between the I_2M_2 and the caging measures to avoid big delays between chemical toxicity and ecological responses.

2.3. Pressures and stressors indicators at multi-scale

We have chosen: hydromorphology and, nutrients and organic matter because they can act on macroinvertebrate benthic communities. We listed their measured stressor indicators with the data sources (Table IV.1.1). The drainage ratio and the irrigation ratio were used to represent the possible disturbance caused by the arrival of sediments and contaminants. The rate of trees on banks (10 m from the watercourse) and the rate of vegetation on banks (30 m from the watercourse) were used to evaluate the buffer effect of vegetation possibly stopping the arrival to the watercourse of stressors like contaminants. The rate of artificial land use near riverbed represented the impermeability of the artificial soils near the stream, possibly increasing the runoff of sediments and contaminants. The rate of stream crossings by roads can be a

possible source of contaminants from roads. Total Phosphorus, nitrites, nitrates and ammonium are nutrients able to cause eutrophication of watercourses and degradation of water quality at high concentrations. We also suspect that in altered sites, the occurrence of nutrients can be accompanied with an occurrence of chemical contaminants. Water quality can also be influenced by dissolved oxygen and BOD_5 (Biochemical Oxygen Demand for five days).

Table IV.1.1: Stressors affiliated to pressures and their dataset sources.

Stressors	**Data sources**
Drainage ratio	*Aléa érosion des sols* (Montier et al. 1998)
Irrigation ratio	
Rate of trees on banks “screen of trees”	BD TOPO (IGN 2020)
Rate of vegetation on banks “riparian vegetation”	
Rate of artificial land use near riverbed	
Rate of stream crossings	
Total Phosphorus	French national database of water quality (Naïades)
Nitrites	
Nitrates	
Ammonium	
Dissolved oxygen	
BOD_5	

de Vries et al. (2020) highlighted the importance of considering the suitable spatial scale for each stressor. The watershed for large-scale stressors was defined based on a digital elevation model (DEM). This scale was associated with drainage ratio and irrigation ratio. The reach scale for specific segments of the watercourse with similar hydrologic conditions, was affiliated to the rate of trees on banks, the rate of vegetation on banks, the rate of artificial land use near riverbed and the rate of stream crossings. The delimitation of reaches was extracted from the project « Systèmes relationnel

d'audit de l'hydromorphologie des cours d'eau » (SYRAH-CE) (Valette et al., 2012) (Irstea/ONEMA 2017). The site scale was used for punctual locations, more specifically for stressors of nutrients and organic matter and chemical toxicity. At each active biomonitoring site, the selected stressor indicators values were determined at the chosen spatial scale.

2.4. Statistical analyses

To study if chemical toxicity had an important role on macroinvertebrate communities, we performed three main analyses. Firstly, the I_2M_2 measures were confronted to chemical toxicity (respectively lethal toxicity and sublethal toxicity) measures in a scatterplot with linear regressions to evaluate the I_2M_2/chemical toxicity general links. We expected chemical toxicity to have a negative correlation with the good ecological status represented with the I_2M_2 index. Secondly, the links between stressors, including respectively lethal and sublethal toxicity, with the I_2M_2 index were highlighted in a principle component analysis (PCA). When these pressures increased, we expected a more deteriorated ecological status. Thirdly, scatterplots of links between the I_2M_2 index and each stressor of: (1) nutrients and organic matter and, (2) hydromorphology were represented with a separation between the absence and the presence of chemical toxicity data. In the current analyses, we focused on the following hypothesis that polluted waters can aggravate the effects of respectively nutrients and altered hydromorphology.

When the link between the I_2M_2 metric and a stressor was represented with sparse points, highlighting a wide distribution, the linear regression between the I_2M_2 index and the stressor was represented based on the whole dataset. For example, the I_2M_2 values depending on nitrate variations was represented with a linear regression based on each category of toxicity for the whole dataset. In the occurrence of few out of the lot values called outliers, scatterplots and linear regressions were represented without these outliers. For the lethal toxicity dataset, the distribution of ammonium, BOD_5, nitrites and total phosphorus, were obtained without outliers. For the sublethal toxicity dataset, the distribution of ammonium, BOD_5 and the rate of artificial land use near riverbed, were performed without outliers. The choice of considering outliers is tricky, because they are valid stressor values that occur in the environment but when they

are not considered in big numbers in our dataset they can weight on the links and blur the information since they do not occur frequently.

Analysis of covariance (ANCOVA) testing was used when having quantitative variables (nutrients and organic matter, hydromorphology and the I_2M_2 index) and qualitative variables (absence and presence of chemical toxicity). A linear model 1 was modeled following the principle of equation (1).

Equation (1): I_2M_2 = stressor + group of chemical toxicity

Then, a linear model 2 was modeled following the principle of equation (2).

Equation (2): I_2M_2 = Stressor + group of chemical toxicity + interaction between stressor and group of chemical toxicity

The coefficient of determination R^2 was determined for each model. The significativity of intercept differences at absence and presence of chemical toxicity was quantified via model 1 (marked with * when lower than 0.05 and thus significative). The significativity of slope differences at absence and presence of chemical toxicity was quantified via model 2 (marked with * when lower than 0.05 and thus significative). When at least one output for either the intercept or the slope was significant, the variable was highlighted in bold. For variables with outliers, the scatterplots, the linear regressions and the ANCOVA analyses were performed without the outliers to represent more reliable linear regressions.

3. Results

3.1. The links between the ecological status and chemical toxicity

Figure IV.1.3 presents the relationship between chemical toxicity and the I_2M_2 index. When lethal toxicity in gammarids increased, the I_2M_2 index decreased (Figure IV.1.3), nevertheless with few high lethal toxicity values. When sublethal toxicity increased, the I_2M_2 index decreased (Figure IV.1.4). Nevertheless, there were no clear separation in variation between low and high sublethal toxicity values. The slope of the linear regression with lethal toxicity was higher than the slope of sublethal toxicity.

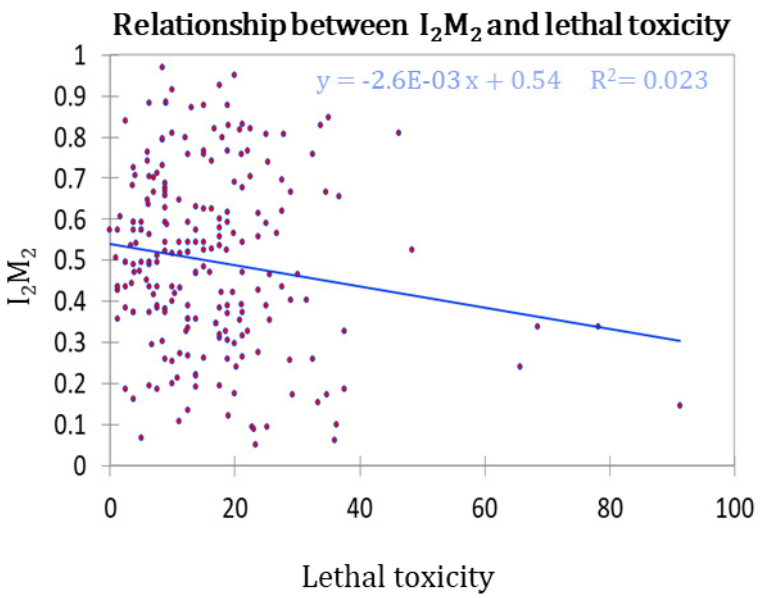


Figure IV.1.3: Scatterplot of the link between I_2M_2 and lethal toxicity (purple dots) with a linear regression (blue line).

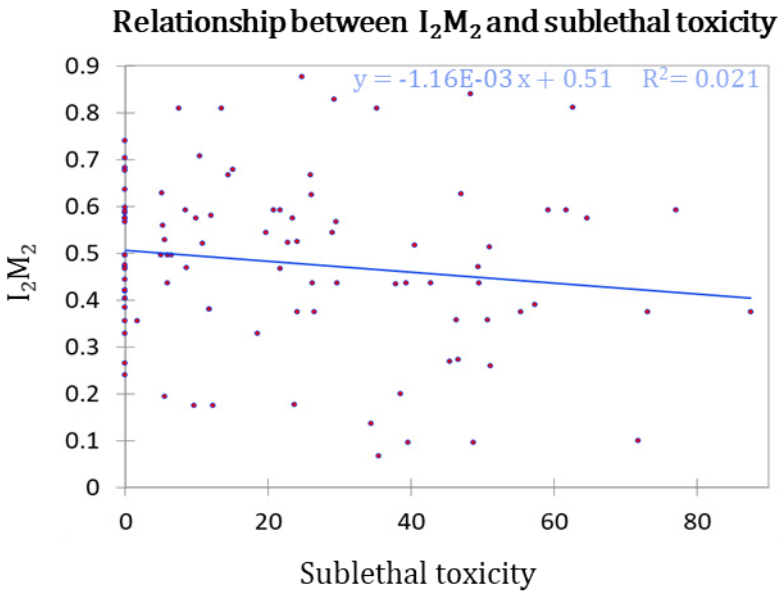
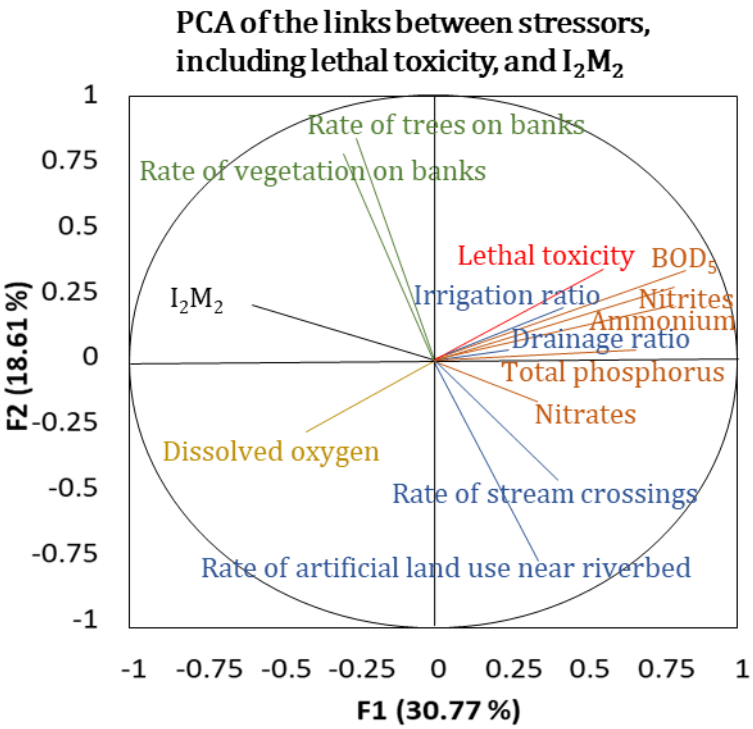


Figure IV.1.4: Scatterplot of the link between I_2M_2 and sublethal toxicity (purple dots) with a linear regression (blue line).

3.2. <u>The links between the ecological status and chemical toxicity in a multi-stressor context</u>

For the lethal toxicity dataset, the PCA has 31% of explanation on the F1 axis and 19% on the F2 axis (Figure IV.1.5). For the sublethal dataset, the PCA has 32% of

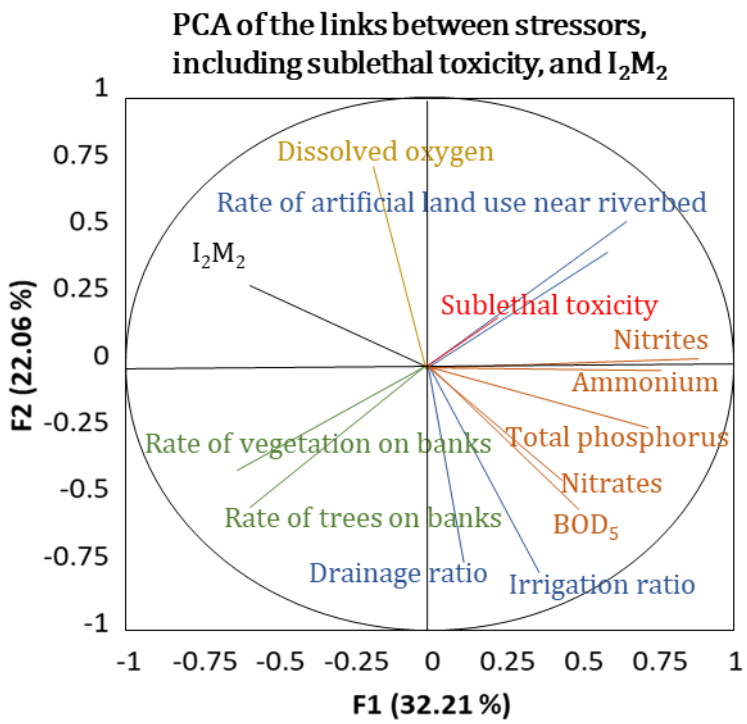
explanation on the F1 axis and 22% on the F2 axis (Figure IV.1.6). For both PCAs, the I_2M_2 index is positively correlated the most with dissolved oxygen then with the rate of vegetation on banks and the rate of trees on banks. In the lethal chemical toxicity dataset, the I_2M_2 index is negatively correlated the most with total phosphorus, then the irrigation ratio, the rate of artificial land use near river bed, the rate of stream crossings, the drainage ratio, nitrates, ammonium, BOD_5, nitrites and lethal toxicity (Figure IV.1.5). Hydromorphological variables at the reach scale were associated together. Nutrients and organic matter and chemical toxicity at the site scale as well as hydromorphology variables at the watershed scale were associated. Nitrates, the drainage ratio and the irrigation ratio arrows on the PCA were short so not well represented. In the sublethal chemical toxicity dataset, the I_2M_2 index is negatively correlated the most with BOD_5, then with the irrigation ratio, nitrites, total phosphorus, the drainage ratio, ammonium, the rate of artificial land use near river bed, the rate of stream crossings and sublethal toxicity (Figure IV.1.6). Hydromorphological variables at the reach scale were associated with sublethal toxicity. Nutrients and organic matter at the site scale as well as hydromorphology variables at the watershed scale were associated. Nitrates and sublethal toxicity arrows on the PCA were short so not well represented.



Legend of the colors of metrics

In green: Natural hydromorphology
In black: I_2M_2
In yellow: Natural physico-chemistry
In blue: Anthropic hydromorphology
In red: Chemical toxicity
In brown: Nutrients and organic matter

Figure IV.1.5: Principal component analysis (PCA) of links of pressures with I_2M_2 on communities in the lethal toxicity dataset.



Legend of the colors of metrics

In green: Natural hydromorphology
In black: I_2M_2
In yellow: Natural physico-chemistry
In blue: Anthropic hydromorphology
In red: Chemical toxicity
In brown: Nutrients and organic matter

Figure IV.1.6: Principal component analysis (PCA) of links of pressures with I_2M_2 on communities in the sublethal toxicity dataset.

3.3. Combined effect of toxic pollution and stressors on the status of benthic macroinvertebrate communities

The linear regressions of the I_2M_2 index with stressors were obtained, for no lethal toxicity (with 189 values) and for lethal toxicity (33 values) (Figure IV.1.7). The increasing regression with lethal toxicity data (in red) was significatively below the increasing regression with no lethal toxicity data (in blue) for the following stressors: the rate of trees on banks and the rate of vegetation on banks. The ANCOVA outputs for model 1 and 2 including the significativity of differences between respectively slopes and intercepts and the R^2 for model 1 and model 2 were presented (Table IV.1.2). For the regressions with the rate of trees on banks and the rate of vegetation on banks, the intercept was different for lethal toxicity and no lethal toxicity. The R^2 of model 2 increased compared to model 1 for nitrates, the drainage ratio, the rate of trees on banks and the rate of vegetation on banks. The results were considered with caution when the R^2 was lower than 0.10 for the drainage ratio, the rate of trees on banks and the rate of vegetation on banks. Non-statistically-significative regressions were represented in Figure IV.1.9.

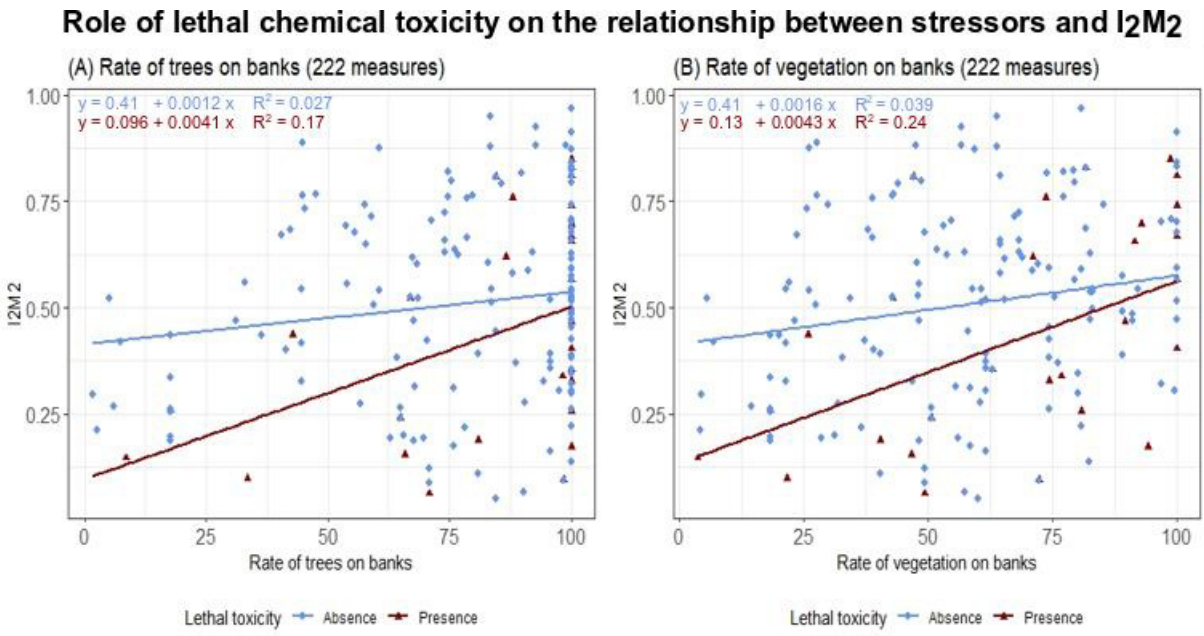


Figure IV.1.7: Impact of lethal toxicity on the I_2M_2/Stressor link (scatter plot with linear regressions for no lethal toxicity data in blue diamonds and lethal toxicity data in red triangles).

Table IV.1.2: ANCOVA outputs for the lethal toxicity dataset with stressors in bold when the slope and/or the intercept is with significant differences between no lethal toxicity and lethal toxicity (Pvalue <0.05).

Stressor	**Pvalue model 1 indicative of intercept difference**	**Pvalue model 2 indicative of slope difference**	**R^2 model 1**	**R^2 model 2**
Ammonium	0.28	0.70	0.23	0.23
Dissolved oxygen	0.44	0.42	0.13	0.13
BOD_5	0.39	0.70	0.21	0.21
Nitrites	0.29	0.99	0.32	0.32
Nitrates	0.08	0.23	0.10	0.11
Total phosphorus	0.37	0.50	0.34	0.34
Irrigation ratio	0.49	0.92	0.13	0.13
Drainage ratio	0.24	0.56	0.095	0.097
Rate of stream crossings	0.12	0.56	0.11	0.11
Rate of artificial land use near riverbed	0.10	0.16	0.13	0.13
Rate of trees on banks	**0.045***	0.066	0.054	0.069
Rate of vegetation on banks	**0.018***	0.060	0.076	0.091

The linear regressions of the I_2M_2 index with stressors were obtained, for no sublethal toxicity data (71 values) and sublethal toxicity data (30 values) (Figure IV.1.8). The increasing regression with sublethal toxicity data (in red) was significatively below the increasing regression with no sublethal toxicity data (in blue) for the following stressors: dissolved oxygen, rate of trees on banks and rate of vegetation on banks. The decreasing regression with sublethal toxicity data was significatively below the decreasing regression with no sublethal toxicity data for the following stressors: ammonium, nitrates, irrigation ratio, the drainage ratio, the rate of stream crossings and the rate of artificial land use near riverbed. Table IV.1.3 summarizes the ANCOVA outputs for the sublethal toxicity dataset. It shows ammonium, dissolved oxygen, nitrates, the irrigation ratio, the drainage ratio, the rate of artificial land use near riverbed, the rate of trees on banks and the rate of vegetation on banks with at least a significant difference of intercept or slope. The R^2 of model 2 increased for dissolved oxygen, nitrates, the irrigation ratio, the drainage ratio, the rate of stream crossings, the rate of trees on banks and rate of vegetation on banks, compared to the R^2 of model 1. Non-statistically-significative regressions were represented in Figure IV.1.10.

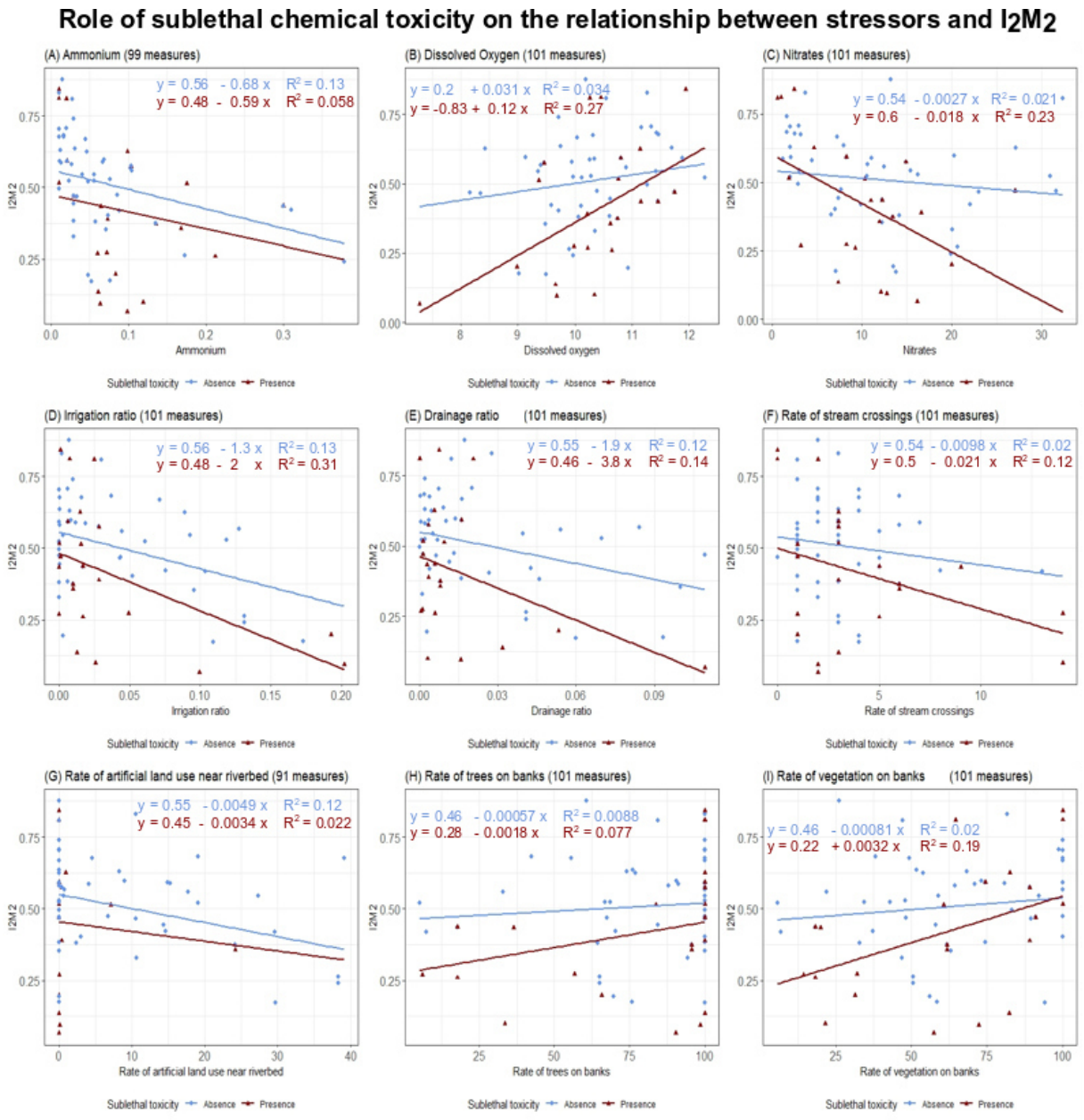


Figure IV.1.8: Impact of sublethal toxicity on the I_2M_2/stressor link (scatter plot with linear regressions for no sublethal toxicity data in blue diamonds and sublethal toxicity data triangles in red).

Table IV.1.3: ANCOVA outputs for the sublethal toxicity dataset with stressors in bold when the slope and/or the intercept is with significant differences between no sublethal toxicity and sublethal toxicity (Pvalue <0.05).

Stressor	**Pvalue model 1 indicative of intercept difference**	**Pvalue model 2 indicative of slope difference**	**R^2 model 1**	**R^2 model 2**
Ammonium	**0.04***	0.85	0.16	0.16
Dissolved oxygen	**0.004****	**0.024***	0.15	0.19
BOD_5	0.06	0.67	0.17	0.17
Nitrites	0.050	0.81	0.18	0.18
Nitrates	**0.006****	**0.01***	0.11	0.17
Total phosphorus	0.07	0.85	0.17	0.17
Irrigation ratio	**0.004****	0.26	0.25	0.26
Drainage ratio	**0.002****	0.23	0.17	0.18
Rate of stream crossings	**0.04***	0.38	0.11	0.12
Rate of artificial land use near riverbed	**0.04***	0.71	0.11	0.11
Rate of trees on banks	**0.02***	0.34	0.09	0.10
Rate of vegetation on banks	**0.02***	0.068	0.12	0.15

4. Discussion

4.1. Synthesis of the main outcomes

The present study focused for the first time on the role of chemical toxicity (measured directly in the field via active biomonitoring) on the ecological status of macroinvertebrate communities in a multi-stressor context. Firstly, we have shown that the I_2M_2 index was negatively correlated with respectively lethal chemical toxicity and sublethal chemical toxicity. Secondly, we highlighted that anthropogenic pressures, including hydromorphological alterations, nutrients and, respectively lethal chemical toxicity and sublethal chemical toxicity, were negatively correlated with the I_2M_2 index. While natural metrics (dissolved oxygen, the rate of trees on banks and the rate of vegetation on banks) were positively correlated with the I_2M_2 index. Thirdly, we illustrated how the relationship between some stressors and the I_2M_2 index can be aggravated by respectively lethal chemical toxicity and sublethal chemical toxicity. In the lethal toxicity dataset, the good ecological status increased with respectively the rate of trees on banks and the rate of vegetation on banks. But, the intercepts of the regressions between the ecological status and these factors were different, with the absence of lethal toxicity and the presence of lethal toxicity. In the sublethal toxicity dataset, the same situation occurred for the same variables and for dissolved oxygen. For nitrates, ammonium, the irrigation ratio, the drainage ratio, the rate of stream crossings and the rate of artificial land use near riverbed, the intercept differed between no sublethal toxicity and sublethal toxicity. The I_2M_2 was lower (far from the reference) with the increase of these variables with sublethal toxicity.

4.2. Role of toxic pollution on the ecological status of benthic macroinvertebrate communities in a multi-stressor context

In the current study, we investigated the influence of in field chemical toxicity on the ecological status. In both scatterplots of the I_2M_2 index in regard to chemical toxicity (Figure IV.1.3 and Figure IV.1.4), when the chemical toxicity metrics “lethal toxicity” or “sublethal toxicity” increased, the I_2M_2 multimetric decreased and moved away from the near reference state. For lethal toxicity, the decrease was more important than for sublethal toxicity. Other studies highlighted that chemical contamination can limit the occurrence of a good ecological status (Malaj et al. 2014, Posthuma et al. 2020). The

literature also showed that estimated chemical toxicity (often for pesticide concentrations) was also associated to an altered ecological status (Inostroza et al. 2016, Weber et al. 2018). Nevertheless, the occurrence of few high chemical toxicity values limited our analysis (Figure IV.1.2). In order to have more robust linear regressions, a wider gradient of chemical toxicity is necessary, thus considering more sites with high chemical toxicity is recommended. Currently, in field chemical toxicity data from caging of gammarids are increasing in France and can confirm more robust links. Results in Figure IV.1.3 and Figure IV.1.4 were completed with an investigation of stressor/ecological status links in a multi-stressor context.

For the lethal and sublethal toxicity datasets, Figure IV.1.5 and Figure IV.1.6 confirm that all stressors with possible harmful effects on biology (hydromorphology, nutrients and organic matter and chemical toxicity metrics) were negatively correlated with the bad ecological status of communities. While more natural metrics (dissolved oxygen, rate of trees on banks and rate of vegetation on banks) were positively correlated with the good ecological status of communities. The dominant impacts were specific to stressors like total phosphorus and the irrigation ratio. Invertebrates are known to be sensible to nutrients (Gieswein et al. 2017) as well as inputs of sediments influenced by hydromorphology (Miler and Brauns 2020). Shi et al. (2019) also highlighted the important contribution of physico-chemical parameters firstly and hydromorphological parameters secondly on benthic macroinvertebrate integrity. In addition, the toxic units of over a hundred organic substances were correlated with hydromorphology (Schäfer et al. 2016). In both PCAs when the chemical toxicity metrics “lethal toxicity” and “sublethal toxicity” increased, the I_2M_2 multimetric decreased and moved away from the near reference state. The impact of chemical toxicity (estimated from concentration effects) was lower than other stressors like highlighted by Rico et al. (2016) where physico-chemical parameters influenced the most on invertebrate communities. Lemm et al. (2020) highlighted the descending importance of altered hydromorphology, nutrient enrichment and toxic substances estimated from concentration effects. Sabater et al. (2016) found that the biological communities of diatoms and invertebrates responded to multiple stressors (10% of share from nutrients, altered discharges and dissolved organic matter, 6% from land use occupation and 2% from organic micropollutants like herbicides and neonicotinoids). The usage of either sublethal toxicity or lethal toxicity in this type of multivariate analysis provided similar

information, it is possible that the occurrence of common sites in both datasets can explain these similarities. These analyses linking stressors, including toxic pollution, to the I_2M_2 multimetric can serve as a basis to further investigate these links. Previous research showed that organic toxicity contributes to the ecological risk of rivers, while habitat degradation and nutrients are the major stressors (Schäfer et al. 2016). Schmidt et al. (2019) quantified the responses of multiple stressors on the integrity of biological communities, using passive samplers to measure pesticides. The dominant stressors were pesticides, ammonia and channel erosion. The differences in data (for example, contamination in their case and chemical toxicity in ours) and the number of measures might explain such differences between our results and the ones of this study.

4.3. Influence of toxic pollution on the status of benthic macroinvertebrate communities in combination with stressors

Chemical toxicity can aggravate the relationship between other stressors and communities status. The gradients of stressors and chemical toxicity played an important role in the analyses and were either wide or specific to certain conditions with some outliers (Figure IV.1.7 and Figure IV.1.8). On one hand, considering the whole dataset in these analyses was important for studying global influences. On the other hand, performing some analyses without the outliers enabled studying influences in dominant conditions for stressors. Natural environmental factors, as the rate of trees on banks and the rate of vegetation on banks, was accompanied with lower I_2M_2 values and lethal toxicity compared to no lethal toxicity. Nevertheless, these results must be considered carefully since only two out of twelve relationships between stressors/I_2M_2 index were significatively aggravated with chemical toxicity (lethal toxicity). This is the case of the rate of trees on banks and the rate of vegetation on banks with a significatively different intercept at lethal toxicity and no lethal toxicity.

Testing the influence of another chemical toxicity metric “sublethal toxicity” showed similar patterns than “lethal toxicity”. Ten out of twelve stressor/I_2M_2 relationships were significatively aggravated with chemical toxicity increase. These stressors were ammonium, dissolved oxygen, nitrates, the irrigation ratio, the drainage ratio, the rate of stream crossings, the rate of artificial land use near riverbed, the rate of trees on banks and the rate of vegetation on banks.

Interactions between stressors are possible (Pilière et al. 2014, Schinegger et al. 2016) and needed to be described and considered more frequently (de Vries et al. 2020), like the combination of hydromorphological alteration and eutrophication (Blöcher et al. 2020, Davis et al. 2019). To our knowledge, we did not find a study on the interaction between chemical toxicity measured in the field and respectively nutrients and hydromorphology, but we found papers studying the interactions between these stressors and chemical contamination. For instance, Alexander et al. (2013) suggested a combined effect of nutrients and chemical substances on community responses. They experimented in a stream-side artificial stream setup and obtained that high toxic units (estimated effects from concentrations of contaminants) of insecticides were more toxic in mesotrophic conditions (moderate quantities of nutrients). Lemm et al. (2020) also highlighted the importance of stressor interactions between nutrient enrichment and toxic substances on the ecological status. It was also emphasized that 50% of responses of communities were explained by combinations of nutrients and an insecticide “imidacloprid” (Alexander et al. 2016). Impacts of nutrients like ammonium are strong in heavily polluted aquatic systems (Maltby 1995). Concerning nutrients effect, Nessel et al. (2021) evaluated the impact of nitrogen on the structure of invertebrates. In addition, nitrate is known to have an impact on invertebrates (Camargo et al. 2005). Here, we hypothesized a higher impact of nitrates on biology when combined with sublethal chemical toxicity. Moreover, at high chemical toxicity, the increase of drainage ratio was linked to a lower I_2M_2 compared to no chemical toxicity. Drainage can be representative of the arrival of sediments to the watercourse linked to toxicants. It was stated that the bioavailability of certain toxicants can be influenced by sediments (Burton and Johnston 2010). In another study, the interaction between pesticides and degraded habitats was investigated (Rasmussen et al. 2012). And there was an increase in pesticides effects on macroinvertebrate abundance of species at risk (SPEAR index) with the occurrence of degraded habitats. These habitats were often accompanied with slower flow and less oxygen. Weber et al. (2018) studied the impacts of estimated toxic units of pesticides as well as hydromorphology on an ecological indicator, and suggested considering toxicity parameters in parallel to hydromorphology. Finally, Table IV.1.3 highlighted more significative differences in stressors effects with sublethal toxicity dataset compared to lethal toxicity dataset. This can be due to the smaller number of data for sublethal toxicity dataset in comparison

with the one of lethal toxicity. The use of two metrics representing chemical toxicity (lethal and sublethal toxicity) enabled the evaluation of complementary links.

4.4. Approach adaptations

The present approach can serve as a methodology to understand multi-stressor's impacts on benthic macroinvertebrate communities. It considered the effects of nutrients and organic matter, hydromorphology and chemical toxicity on the ecological status. We have seen some links with either nutrients and organic matter or hydromorphology, and chemical toxicity on the I_2M_2 index. The stressor, the biological and the chemical toxicity data were compiled for the same location at the closest date but still a temporal and spatial scale gap could have occurred, possibly explaining why some links did not stand out. Due to this lag, the exposition to toxicants might have been associated to recovered communities (Malaj et al. 2014). A harmonization of biological and chemical surveillance is recommended to reduce this temporal bias.

The highlighted relationships are indicative of possible links but considering bigger datasets will confirm them. The chemical toxicity gradient for instance was mainly focused on low toxicity with few high toxicity measures (Figure IV.1.2) because the sampling campaigns were not high-toxicity focused (with important sources of chemical contamination). The developed approach can be applied on more recent datasets in France, as currently more chemical toxicity data are measured in the field. The same evaluations can be applied on other active biomonitoring probes with possible different chemical toxicity effects. However, to our knowledge only active biomonitoring of caged gammarids was available at large spatial scale.

To understand more specific impacts of stressors on communities, trait approaches can also be considered (Usseglio-Polatera et al. 2001). The studied biological hierarchy is also important to consider. Hodkinson and Jackson (2005) explain for instance that the individual scale can respond to pollution while communities can respond to stressors like deforestation. Considering the community level can be double-edged because it takes into account the response of different populations. Communities are integrative of responses to anthropic perturbations and might not be stress-specific markers (Martinez-Haro et al. 2015). It can also be useful to identify the

taxonomic composition of communities present in the studied sites, because certain groups can be dominant and representative of the presented ecological status. Testing the same methodology on different communities can highlight supplementary links because each community can be sensitive to various dominant stressors and the scales of management action would thus be different (Dahm et al. 2013, Gieswein et al. 2017).

5. Conclusion

The current study linked in field chemical pollution to the ecological status of macroinvertebrate communities in a multi-stressor context and presented the role of toxic pollution on the links between stressors and the ecological status. Sublethal and lethal chemical toxicity metrics were used. We showed that when in field chemical toxicity metrics increased, the I_2M_2 multimetric index decreased. This can highlight the links between toxic pollution and the ecological status. We also proposed considering in field chemical toxicity metrics in a multi-stressor context. Stressors like hydromorphological alteration, nutrients and organic matter, and toxic pollution were negatively correlated with the I_2M_2 index. While more natural environmental parameters (dissolved oxygen, rate of trees on banks and rate of vegetation on banks) were positively correlated with the I_2M_2 index. We suggested that chemical toxicity can possibly aggravate the links between stressors and the I_2M_2 index (nutrients, irrigation and drainage ratio, runoffs from roads and urban zones). This preliminary approach can be used as a base to further assess the effect of chemical toxicity on freshwater communities exposed to multiple anthropogenic stressors.

Supplementary information

For the lethal toxicity dataset, the I_2M_2 index decreased with the increase of the following stressors: ammonium, BOD_5, nitrites, nitrates, total phosphorus, irrigation ratio, drainage ratio, rate of stream crossings and rate of artificial land use near riverbed (Figure IV.1.9). The regression with lethal toxicity data was below the regression with no lethal toxicity data even though this difference was not significative

(Table IV.1.2). Thus, for a specific value of the stressor, the I_2M_2 index was further from the reference with lethal toxicity than with no lethal toxicity.

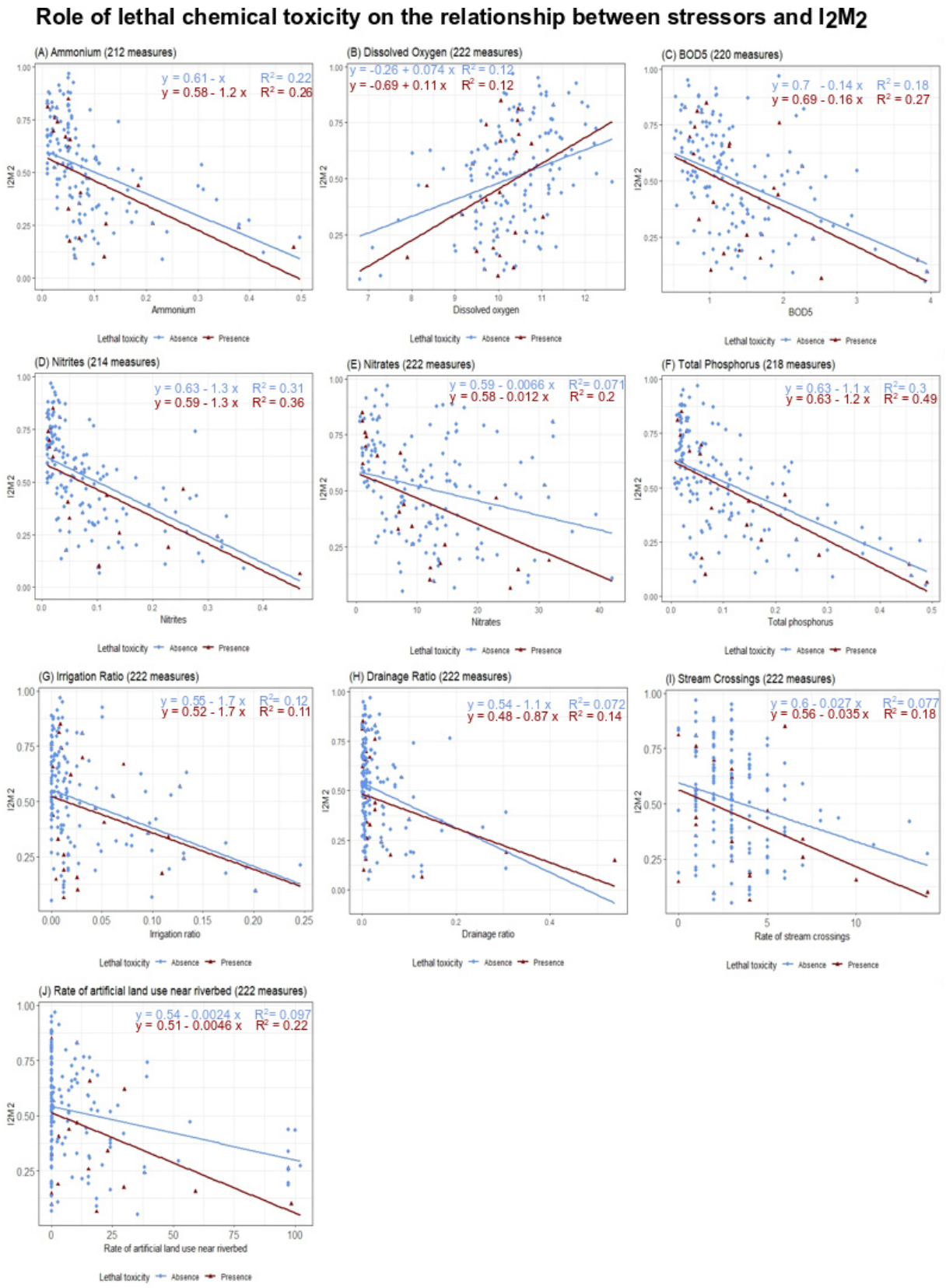


Figure IV.1.9: Impact of lethal toxicity on the I_2M_2/Stressor link (scatter plot with linear regressions for no lethal toxicity data in blue diamonds and lethal toxicity data in red triangles) with non-significative differences.

For the sublethal toxicity dataset, the I_2M_2 index decreased with the increase of the following stressors: ammonium, BOD_5, nitrites, nitrates, total phosphorus, irrigation ratio, drainage ratio, rate of stream crossings and rate of artificial land use near riverbed (Figure IV.1.10). The regression with sublethal toxicity data was below the regression with no sublethal toxicity data even though this difference was not significative (Table IV.1.3).

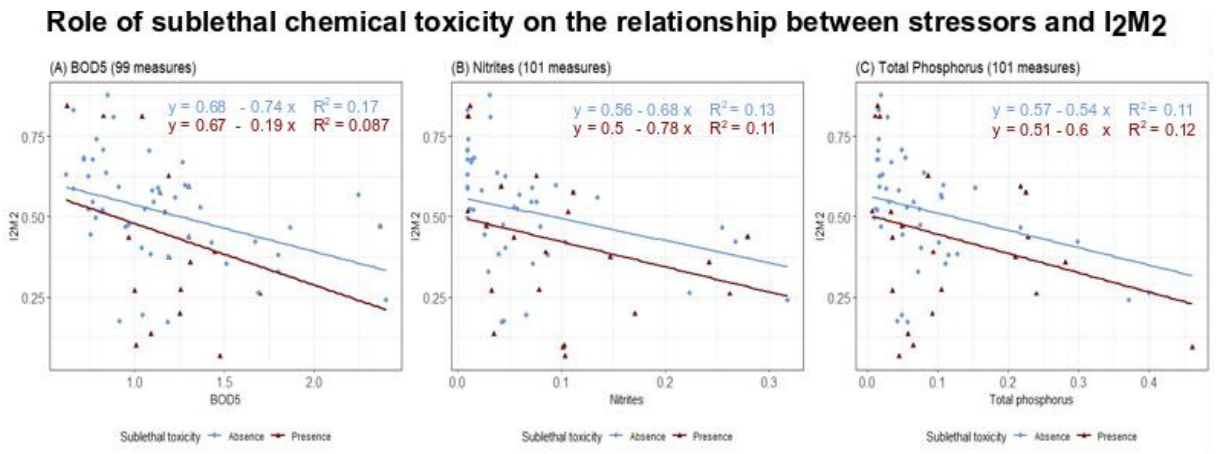


Figure IV.1.10: Impact of sublethal toxicity on the I_2M_2/Stressor link (scatter plot with linear regressions for no sublethal toxicity data in blue diamonds and sublethal toxicity data in red triangles) with non-significative differences.

References

Alexander, A.C., Culp, J.M., Baird, D.J. and Cessna, A.J. (2016) Nutrient–insecticide interactions decouple density-dependent predation pressure in aquatic insects. Freshwater Biology 61(12), 2090-2101. https://doi.org/10.1111/fwb.12711.

Alexander, A.C., Luis, A.T., Culp, J.M., Baird, D.J. and Cessna, A.J. (2013) Can nutrients mask community responses to insecticide mixtures? Ecotoxicology 22(7), 1085-1100. https://doi.org/10.1007/s10646-013-1096-3.

Allan, J.D., McIntyre, P.B., Smith, S.D.P., Halpern, B.S., Boyer, G.L., Buchsbaum, A., Burton Jr, G.A., Campbell, L.M., Chadderton, W.L., Ciborowski, J.J.H., Doran, P.J., Eder, T., Infante, D.M., Johnson, L.B., Joseph, C.A., Marino, A.L., Prusevich, A., Read, J.G., Rose, J.B., Rutherford, E.S., Sowa, S.P. and Steinman, A.D. (2013) Joint analysis of stressors and ecosystem services to enhance restoration effectiveness. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 110(1), 372. https://doi.org/10.1073/pnas.1213841110.

Alric, B., Geffard, O., Chandesris, A., Ferréol, M., François, A., Perceval, O., Piffady,

J., Villeneuve, B. and Chaumot, A. (2019) Multisubstance Indicators Based on Caged Gammarus Bioaccumulation Reveal the Influence of Chemical Contamination on Stream Macroinvertebrate Abundances across France. Environmental Science & Technology 53(10), 5906-5915. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01271.

Argillier, C., Chauvin, C., Lepage, M., Logez, M., Souchon, Y. and Villeneuve, B. (2020) 20 ans de recherche pour le développement des méthodes hydroécologiques en appui à la directive-cadre européenne sur l'eau. INRAE, 126. https://doi.org/15454/kf6j-qw05.

Besse, J.-P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P. and 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(2), 650-660. https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024.

Blöcher, J.R., Ward, M.R., Matthaei, C.D. and Piggott, J.J. (2020) Multiple stressors and stream macroinvertebrate community dynamics: Interactions between fine sediment grain size and flow velocity. Science of the Total Environment 717, 137070. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137070.

Brack, W., Aissa, S.A., Backhaus, T., Dulio, V., Escher, B.I., Faust, M., Hilscherova, K., Hollender, J., Hollert, H., Müller, C., Munthe, J., Posthuma, L., Seiler, T.-B., Slobodnik, J., Teodorovic, I., Tindall, A.J., de Aragão Umbuzeiro, G., Zhang, X. and Altenburger, R. (2019) Effect-based methods are key. The European Collaborative Project SOLUTIONS recommends integrating effect-based methods for diagnosis and monitoring of water quality. Environmental Sciences Europe 31(1), 10. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0192-2.

Brack, W., Altenburger, R., Schüürmann, G., Krauss, M., López Herráez, D., van Gils, J., Slobodnik, J., Munthe, J., Gawlik, B.M., van Wezel, A., Schriks, M., Hollender, J., Tollefsen, K.E., Mekenyan, O., Dimitrov, S., Bunke, D., Cousins, I., Posthuma, L., van den Brink, P.J., López de Alda, M., Barceló, D., Faust, M., Kortenkamp, A., Scrimshaw, M., Ignatova, S., Engelen, G., Massmann, G., Lemkine, G., Teodorovic, I., Walz, K.-H., Dulio, V., Jonker, M.T.O., Jäger, F., Chipman, K., Falciani, F., Liska, I., Rooke, D., Zhang, X., Hollert, H., Vrana, B., Hilscherova, K., Kramer, K., Neumann, S., Hammerbacher, R., Backhaus, T., Mack, J., Segner, H., Escher, B. and de Aragão Umbuzeiro, G. (2015) The SOLUTIONS project: Challenges and responses for present and future emerging pollutants in land and water resources management. Science of the Total Environment 503-504, 22-31. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.143.

Brettschneider, D.J., Misovic, A., Schulte-Oehlmann, U., Oetken, M. and Oehlmann, J. (2019) Poison in paradise: increase of toxic effects in restored sections of two rivers jeopardizes the success of hydromorphological restoration measures. Environmental Sciences Europe 31(1), 1-20. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0218-9.

Brooks, B.W., Sabo-Attwood, T., Choi, K., Kim, S., Kostal, J., LaLone, C.A., Langan, L.M., Margiotta-Casaluci, L., You, J. and Zhang, X. (2020) Toxicology Advances for 21(st) Century Chemical Pollution. One Earth 2(4), 312-316. https://doi.org/10.1016/j.oneear.2020.04.007.

Burton, G.A. and Johnston, E.L. (2010) Assessing contaminated sediments in the context of multiple stressors. Environmental Toxicology and Chemistry 29(12), 2625-2643. https://doi.org/10.1002/etc.332.

Camargo, J.A., Alonso, A. and Salamanca, A. (2005) Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. Chemosphere 58(9), 1255-1267. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.044.

Charron, L., Geffard, O., Chaumot, A., Coulaud, R., Queau, H., Geffard, A. and Dedourge-Geffard, O. (2013) Effect of water quality and confounding factors on digestive enzyme activities in Gammarus fossarum. Environmental Science and Pollution Research 20(12), 9044-9056. https://doi.org/10.1007/s11356-013-1921-5.

Chaumot, A., Geffard, O., Armengaud, J. and Maltby, L. (2015) Gammarids as Reference Species for Freshwater Monitoring. Aquatic Ecotoxicology, 253-280. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800949-9.00011-5.

Ciliberti, A., Chaumot, A., Recoura-Massaquant, R., Chandesris, A., François, A., Coquery, M., Ferréol, M. and 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. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031.

Corneil, D., Villeneuve, B., Piffady, J., Chandesris, A., Usseglio-Polatera, P. and Souchon, Y. (2018) Introducing nested spatial scales in multi-stress models: towards better assessment of human impacts on river ecosystems. Hydrobiologia 806(1), 347-361. https://doi.org/10.1007/s10750-017-3374-1.

Coulaud, R., Geffard, O., Xuereb, B., Lacaze, E., Quéau, H., Garric, J., Charles, S. and 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(19), 6417-6429. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.035.

Dahm, V., Hering, D., Nemitz, D., Wolfram, G., Schmidt-Kloiber, A., Leitner, P., Melcher, A. and Feld, C.K. (2013) Effects of Physico-Chemistry, Land Use and Hydromorphology on Three Riverine Organism Groups: A Comparative Analysis with Monitoring Data from Germany and Austria. Hydrobiologia 704, 389-415. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1431-3.

Davis, S.J., Ó hUallacháin, D., Mellander, P.-E., Matthaei, C.D., Piggott, J.J. and Kelly-Quinn, M. (2019) Chronic nutrient inputs affect stream macroinvertebrate communities more than acute inputs: An experiment manipulating phosphorus,

nitrogen and sediment. Science of the Total Environment 683, 9-20. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.031.

de Vries, J., Kraak, M.H.S. and Verdonschot, P.F.M. (2020) A conceptual model for simulating responses of freshwater macroinvertebrate assemblages to multiple stressors. Ecological Indicators 117, 106604. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106604.

Dedourge-Geffard, O., Charron, L., Hofbauer, C., Gaillet, V., Palais, F., Lacaze, E., Geffard, A. and Geffard, O. (2013) Temporal patterns of digestive enzyme activities and feeding rate in gammarids (Gammarus fossarum) exposed to inland polluted waters. Ecotoxicology and environmental safety 97, 139-146. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.07.016.

Dedourge-Geffard, O., Palais, F., Biagianti-Risbourg, S., Geffard, O. and Geffard, A. (2009) Effects of metals on feeding rate and digestive enzymes in Gammarus fossarum: An in situ experiment. Chemosphere 77(11), 1569-1576. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.042.

European Commission (2000) Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy, p. 72, Official Journal of the European Union

Ganser, B., Bundschuh, M., Werner, I., Homazava, N., Vermeirssen, E.L.M., Moschet, C. and Kienle, C. (2019) Wastewater alters feeding rate but not vitellogenin level of Gammarus fossarum (Amphipoda). Science of the Total Environment 657, 1246-1252. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.035.

Geffard, O. Alric, B. François, A. Delorme, N. Noury, P. Chaumot A. (2019) Lien entre la toxicité, la contamination des milieux aquatiques mesurés chez Gammarus fossarum et la perturbation des communautés biologiques. Irstea et AFB.

Gieswein, A., Hering, D. and Feld, C.K. (2017) Additive effects prevail: The response of biota to multiple stressors in an intensively monitored watershed. Science of the Total Environment 593-594, 27-35. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.116.

Gouveia, D., Chaumot, A., Charnot, A., Almunia, C., François, A., Navarro, L., Armengaud, J., Salvador, A. and Geffard, O. (2017) Ecotoxico-Proteomics for Aquatic Environmental Monitoring: First in Situ Application of a New Proteomics-Based Multibiomarker Assay Using Caged Amphipods. Environmental Science & Technology 51(22), 13417-13426. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03736.

Hering, D., Johnson, R.K., Kramm, S., Schmutz, S., Szoszkiewicz, K. and Verdonschot, P.F.M. (2006) Assessment of European streams with diatoms, macrophytes, macroinvertebrates and fish: a comparative metric-based analysis of organism response to stress. Freshwater Biology 51(9), 1757-1785. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2006.01610.x.

Hodkinson, I.D. and Jackson, J.K. (2005) Terrestrial and Aquatic Invertebrates as

Bioindicators for Environmental Monitoring, with Particular Reference to Mountain Ecosystems. Environmental Management 35(5), 649-666. https://doi.org/10.1007/s00267-004-0211-x.

IGN (2020) BD TOPO®. Accessed on 09/02/2021. https://geoservices.ign.fr/documentation/diffusion/telechargement-donnees-libres.html#bd-topo.

Inostroza, P.A., Vera-Escalona, I., Wicht, A.-J., Krauss, M., Brack, W. and Norf, H. (2016) Anthropogenic Stressors Shape Genetic Structure: Insights from a Model Freshwater Population along a Land Use Gradient. Environmental Science & Technology 50(20), 11346-11356. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04629.

Irstea/ONEMA (2017) SYRAH-CE. Accessed on 09/02/2021. http://www.data.eaufrance.fr/jdd/9c86a5da-88f4-4819-a84e-c09a69394a34.

Kunz, P.Y., Kienle, C. and Gerhardt, A. (2010) Gammarus spp. in Aquatic Ecotoxicology and Water Quality Assessment: Toward Integrated Multilevel Tests. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 205, 1-76. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_1.

Lemm, J.U., Venohr, M., Globevnik, L., Stefanidis, K., Panagopoulos, Y., van Gils, J., Posthuma, L., Kristensen, P., Feld, C.K., Mahnkopf, J., Hering, D. and Birk, S. (2020) Multiple stressors determine river ecological status at the European scale: Towards an integrated understanding of river status deterioration. Global Change Biology 27(9), 1962-1975. https://doi.org/10.1111/gcb.15504.

Lopes, C., Chaumot, A., Xuereb, B., Coulaud, R., Jubeaux, G., Quéau, H., François, A. and Geffard, O. (2020) In Situ Reproductive Bioassay with Caged Gammarus fossarum (Crustacea): Part 2—Evaluating the Relevance of Using a Molt Cycle Temperature-Dependent Model as a Reference to Assess Toxicity in Freshwater Monitoring. Environmental Toxicology and Chemistry 39(3), 678-691. https://doi.org/10.1002/etc.4656.

Lu, G.H., Ji, Y., Zhang, H.Z., Wu, H., Qin, J. and Wang, C. (2010) Active biomonitoring of complex pollution in Taihu Lake with Carassius auratus. Chemosphere 79(5), 588-594. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.053.

Malaj, E., von der Ohe, P.C., Grote, M., Kühne, R., Mondy, C.P., Usseglio-Polatera, P., Brack, W. and Schäfer, R.B. (2014) Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 111(26), 9549-9554. https://doi.org/10.1073/pnas.1321082111.

Maltby, L. (1995) Sensitivity of the crustaceans Gammarus pulex (L.) and Asellus aquaticus (L.) to short-term exposure to hypoxia and unionized ammonia: Observations and possible mechanisms. Water Research 29(3), 781-787. https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00231-U.

Mantyka-Pringle, C.S., Martin, T.G., Moffatt, D.B., Udy, J., Olley, J., Saxton, N.,

Sheldon, F., Bunn, S.E. and Rhodes, J.R. (2016) Prioritizing management actions for the conservation of freshwater biodiversity under changing climate and land-cover. Biological Conservation 197, 80-89. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.02.033.

Martinez-Haro, M., Beiras, R., Bellas, J., Capela, R., Coelho, J.P., Lopes, I., Moreira-Santos, M., Reis-Henriques, A.M., Ribeiro, R., Santos, M.M. and Marques, J.C. (2015) A review on the ecological quality status assessment in aquatic systems using community based indicators and ecotoxicological tools: what might be the added value of their combination? Ecological Indicators 48, 8-16. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.07.024.

Martinez, A., Spak, S.N., Petrich, N.T., Hu, D., Carmichael, G.R. and Hornbuckle, K.C. (2015) Atmospheric dispersion of PCB from a contaminated Lake Michigan harbor. Atmospheric Environment 122, 791-798. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.10.040.

Miler, O. and Brauns, M. (2020) Hierarchical response of littoral macroinvertebrates to altered hydromorphology and eutrophication. Science of the Total Environment 743, 140582. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140582.

Milinkovitch, T., Geffard, O., Geffard, A., Mouneyrac, C., Chaumot, A., Xuereb, B., Fisson, C., Minier, C., Auffret, M., Perceval, O., Egea, E. and Sanchez, W. (2019) Biomarkers as tools for monitoring within the Water Framework Directive context: concept, opinions and advancement of expertise. Environmental Science and Pollution Research 26(32), 32759-32763. https://doi.org/10.1007/s11356-019-06434-x.

Mondy, C.P., Villeneuve, B., Archaimbault, V. and Usseglio-Polatera, P. (2012) A new macroinvertebrate-based multimetric index (I2M2) to evaluate ecological quality of French wadeable streams fulfilling the WFD demands: A taxonomical and trait approach. Ecological Indicators 18, 452-467. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.12.013.

Montier, C., Daroussin, J. and King, D. (1998) Cartographie de l'aléa ''Erosion des Sols'' en France. INRA, Orléans.

Naïades Accessed on 09/02/2021. http://www.naiades.eaufrance.fr.

Namba, H., Iwasaki, Y., Heino, J. and Matsuda, H. (2020) What to Survey? A Systematic Review of the Choice of Biological Groups in Assessing Ecological Impacts of Metals in Running Waters. Environmental Toxicology and Chemistry 39(10), 1964-1972. https://doi.org/10.1002/etc.4810.

Nessel, M.P., Konnovitch, T., Romero, G.Q. and González, A.L. (2021) Nitrogen and phosphorus enrichment cause declines in invertebrate populations: a global meta-analysis. Biological Reviews. https://doi.org/10.1111/brv.12771.

Pilière, A., Schipper, A.M., Breure, T.M., Posthuma, L., de Zwart, D., Dyer, S.D. and

Huijbregts, M.A.J. (2014) Unraveling the relationships between freshwater invertebrate assemblages and interacting environmental factors. Freshwater Science 33(4), 1148-1158. https://doi.org/10.1086/677898.

Posthuma, L., Brack, W., van Gils, J., Focks, A., Müller, C., de Zwart, D. and Birk, S. (2019) Mixtures of chemicals are important drivers of impacts on ecological status in European surface waters. Environmental Sciences Europe 31(1), 71. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0247-4.

Posthuma, L., Zijp, M.C., De Zwart, D., Van de Meent, D., Globevnik, L., Koprivsek, M., Focks, A., Van Gils, J. and Birk, S. (2020) Chemical pollution imposes limitations to the ecological status of European surface waters. Scientific Reports 10(1), 14825. https://doi.org/10.1038/s41598-020-71537-2.

Quesada-García, A., Valdehita, A., Torrent, F., Villarroel, M., Hernando, M.D. and Navas, J.M. (2013) Use of fish farms to assess river contamination: Combining biomarker responses, active biomonitoring, and chemical analysis. Aquatic Toxicology 140-141, 439-448. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.07.007.

Rasmussen, J.J., Wiberg-Larsen, P., Baattrup-Pedersen, A., Friberg, N. and Kronvang, B. (2012) Stream habitat structure influences macroinvertebrate response to pesticides. Environmental Pollution 164, 142-149. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.01.007.

Rico, A., Van den Brink, P.J., Leitner, P., Graf, W. and Focks, A. (2016) Relative influence of chemical and non-chemical stressors on invertebrate communities: A case study in the Danube River. Science of the Total Environment 571, 1370-1382. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.087.

Sabater, S., Barceló, D., De Castro-Català, N., Ginebreda, A., Kuzmanovic, M., Petrovic, M., Picó, Y., Ponsatí, L., Tornés, E. and Muñoz, I. (2016) Shared effects of organic microcontaminants and environmental stressors on biofilms and invertebrates in impaired rivers. Environmental Pollution 210, 303-314. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.037.

Schäfer, R.B., Kühn, B., Malaj, E., König, A. and Gergs, R. (2016) Contribution of organic toxicants to multiple stress in river ecosystems. Freshwater Biology 61(12), 2116-2128. https://doi.org/10.1111/fwb.12811.

Schinegger, R., Palt, M., Segurado, P. and Schmutz, S. (2016) Untangling the effects of multiple human stressors and their impacts on fish assemblages in European running waters. Science of the Total Environment 573, 1079-1088. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.143.

Schmidt, T.S., Van Metre, P.C. and Carlisle, D.M. (2019) Linking the Agricultural Landscape of the Midwest to Stream Health with Structural Equation Modeling. Environmental Science & Technology 53(1), 452-462. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04381.

Shi, X., Liu, J., You, X., Bao, K. and Meng, B. (2019) Shared effects of

hydromorphological and physico-chemical factors on benthic macroinvertebrate integrity for substrate types. Ecological Indicators 105, 406-414. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.02.028.

Smolders, R., Bervoets, L., Wepener, V. and Blust, R. (2003) A Conceptual Framework for Using Mussels as Biomonitors in Whole Effluent Toxicity. Human and Ecological Risk Assessment 9(3), 741-760. https://doi.org/10.1080/713609965.

Statzner, B. and Bêche, L.A. (2010) Can biological invertebrate traits resolve effects of multiple stressors on running water ecosystems? Freshwater Biology 55(s1), 80-119. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02369.x.

Usseglio-Polatera, P. (2016) Invertébrés https://hydrobio-dce.inrae.fr/cours-deau/invertebres/.

Usseglio-Polatera, P., Richoux, P., Bournaud, M. and Tachet, H. (2001) A functional classification of benthic macroinvertebrates based on biological and ecological traits: Application to river condition assessment and stream management. Archiv für Hydrobiologie 139, 53-83.

Villeneuve, B., Piffady, J., Valette, L., Souchon, Y. and Usseglio-Polatera, P. (2018) Direct and indirect effects of multiple stressors on stream invertebrates across watershed, reach and site scales: A structural equation modelling better informing on hydromorphological impacts. Science of the Total Environment 612, 660-671. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.197.

Villeneuve, B., Souchon, Y., Usseglio-Polatera, P., Ferréol, M. and Valette, L. (2015) Can we predict biological condition of stream ecosystems? A multi-stressors approach linking three biological indices to physico-chemistry, hydromorphology and land use. Ecological Indicators 48, 88-98. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.07.016.

Weber, G., Christmann, N., Thiery, A.-C., Martens, D. and Kubiniok, J. (2018) Pesticides in agricultural headwater streams in southwestern Germany and effects on macroinvertebrate populations. Science of the Total Environment 619-620, 638-648. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.155.

Wepener, V. (2013) Active Biomonitoring. Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology, 15-20. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2_3.

Wepener, V., van Vuren, J.H.J., Chatiza, F.P., Mbizi, Z., Slabbert, L. and Masola, B. (2005) Active biomonitoring in freshwater environments: early warning signals from biomarkers in assessing biological effects of diffuse sources of pollutants. Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C 30(11-16), 751-761. https://doi.org/10.1016/j.pce.2005.08.018.

Wernersson, A.-S., Carere, M., Maggi, C., Tusil, P., Soldan, P., James, A., Sanchez, W., Dulio, V., Broeg, K., Reifferscheid, G., Buchinger, S., Maas, H., Van Der Grinten, E., O'Toole, S., Ausili, A., Manfra, L., Marziali, L., Polesello, S., Lacchetti, I., Mancini, L., Lilja, K., Linderoth, M., Lundeberg, T., Fjällborg, B.,

Porsbring, T., Larsson, D.G.J., Bengtsson-Palme, J., Förlin, L., Kienle, C., Kunz, P., Vermeirssen, E., Werner, I., Robinson, C.D., Lyons, B., Katsiadaki, I., Whalley, C., den Haan, K., Messiaen, M., Clayton, H., Lettieri, T., Carvalho, R.N., Gawlik, B.M., Hollert, H., Di Paolo, C., Brack, W., Kammann, U. and Kase, R. (2015) The European technical report on aquatic effect-based monitoring tools under the water framework directive. Environmental Sciences Europe 27(1), 7. https://doi.org/10.1186/s12302-015-0039-4.

Modèle pressions-impacts tenant compte de la toxicité chimique

Nous avons ensuite construit un modèle pressions-impacts PLS-PM tenant compte de la toxicité chimique mesurée par biosurveillance active (encagement de gammares). Le but était de tester l'effet relatif de la toxicité chimique au sein de l'ensemble des pressions prises en compte dans les modèles pressions-impacts existants. Nous avons pour cela émis l'hypothèse d'un impact spécifique de la toxicité dans le complexe de pressions (artificialisation, agriculture intensive, agriculture faible, paysage naturel, nutriments et matières organiques, altération hydromorphologique, respectivement la toxicité chimique létale et la toxicité chimique sublétale) sur l'état général des communautés de macroinvertébrés benthiques via l'I_2M_2. Ainsi les pressions (liées à l'artificialisation, l'agriculture intensive, l'agriculture faible, l'altération hydromorphologique, les nutriments et la matière organique et respectivement la toxicité chimique létale et la toxicité chimique sublétale) pourraient a priori être corrélées négativement avec l'état écologique des communautés de macroinvertébrés. Une occupation du sol non anthropisée pourrait a contratio être corrélée positivement avec l'état général des communautés de macroinvertébrés benthiques. L'ensemble de ces hypothèses sont appuyées par la littérature (Tableau IV.1.1).

Tableau IV.1.1: Hypothèses de liens entre les pressions et l'état général des communautés, appuyées par la littérature.

Pression 1	**Pression 2**	**Référence**
Artificialisation	Nutriments et matières organiques	(Kaushal et al. 2014)
Agriculture intensive	Nutriments et matières organiques	(Feld et al. 2018) (Davis et al. 2019) (Matthaei et al. 2010) (Riseng et al. 2011)
Agriculture faible	Nutriments et matières organiques	(Kaushal et al. 2014) (Riseng et al. 2011)
Paysage naturel	Nutriments et matières organiques	(Kaushal et al. 2014)
Altération hydromorphologique	Nutriments et matières organiques	(Oraison et al. 2011) (Kail and Hering 2009)
Artificialisation	Altération hydromorphologique	(Paul and Meyer 2001)
Agriculture intensive	Altération hydromorphologique	(Davis and Bidwell 2008) (Davis et al. 2018) (Davis et al. 2019)
Agriculture faible	Altération hydromorphologique	(Davis and Bidwell 2008) (Davis et al. 2018) (Davis et al. 2019)

Paysage naturel	Altération hydromorphologique	(Paul and Meyer 2001)
Artificialisation	Toxicité chimique	(Wang et al. 2008)
Agriculture intensive	Toxicité chimique	(Davis and Bidwell 2008)
Agriculture faible	Toxicité chimique	(Davis and Bidwell 2008)
Paysage naturel	Toxicité chimique	(Wang et al. 2008)
Nutriments et matières organiques	Toxicité chimique	(Alexander et al. 2013)
Altération hydromorphologique	Toxicité chimique	(Kail and Hering 2009)
Artificialisation	Communautés	(Roy et al. 2003) (Donohue et al. 2006) (Jones and Leather 2012) (Sterling et al. 2016) (Grizzetti et al. 2017)
Agriculture intensive	Communautés	(Davis and Bidwell 2008) (Schmidt et al. 2019) (Riseng et al. 2011)
Agriculture faible	Communautés	(Riseng et al. 2011)
Paysage naturel	Communautés	(Roy et al. 2003)
Nutriments et matières organiques	Communautés	(Davis et al. 2018) (Glendell et al. 2019)

Altération hydromorphologique	Communautés	(Garcia et al. 2012) (Lorenz and Feld 2013) (Urbanič 2014) (Davis et al. 2019) (Brettschneider et al. 2019) (Blöcher et al. 2020)
Toxicité chimique	Communautés	(Funck et al. 2013)

Nous nous sommes appuyés sur les travaux de Villeneuve et al. (2018) pour développer un modèle structurel multi-pressions et multi-échelles reprenant l'ensemble de ces hypothèses, intégrant les mêmes catégories de pressions et en y ajoutant la toxicité, pour en mesurer l'effet relatif.

Dans cette étape préalable, nous avons recensé l'ensemble des stresseurs permettant de construire les pressions représentées dans le modèle (Tableau IV.1.2).

Tableau IV.1.2: Stresseurs affiliés aux pressions et les sources des données.

Pressions	**Stresseurs**	**Source des données**
Artificialisation	Pourcentage de surface de tissu urbain continu	Corine Land Cover 2012 (Hościło and Tomaszewska 2014)
	Pourcentage de surface de tissu urbain discontinu	
	Pourcentage de surface de zones industrielles et commerciales	
	Pourcentage de surface des réseaux routier et ferroviaire et espaces associés	
	Pourcentage de surface d'extraction de matériaux	
	Pourcentage de surface de décharges	
	Pourcentage de surface des espaces verts urbains	
	Pourcentage de surface d'équipements sportifs et de loisirs	
Agriculture intensive	Pourcentage de surface de terres arables hors périmètre d'irrigation	Corine Land Cover 2012 (Hościło and Tomaszewska 2014)
	Pourcentage de surface de vignobles	

	Pourcentage de surface de vergers et petits fruits	
	Pourcentage de surface de systèmes culturaux et parcellaires complexes	
	Pourcentage de surface de cultures annuelles associées aux cultures permanentes	
Agriculture faible	Pourcentage de surface de prairies	Corine Land Cover 2012 (Hościło and Tomaszewska 2014)
	Pourcentage de surface de territoires principalement occupés par l'agriculture, avec présence de végétation	
Paysage naturel	Pourcentage de surface de forêts de feuillus	Corine Land Cover 2012 (Hościło and Tomaszewska 2014)
	Pourcentage de surface de forêts de conifères	
	Pourcentage de surface de forêts mélangées	
	Pourcentage de surface de pelouses et pâturages naturels	
	Pourcentage de surface de landes et broussailles	
	Pourcentage de surface de végétation sclérophylle	
	Pourcentage de surface de forêt et végétation arbustive en mutation	
	Pourcentage de surface de roches nues	
	Pourcentage de surface de végétation clairsemée	

	Pourcentage de surface de marais intérieurs	
	Pourcentage de surface de tourbières	
	Pourcentage de surface de cours et voies d'eau	
	Pourcentage de surface de plans d'eau	
Altération hydromorphologique	Ratio de drainage	*Aléa érosion des sols* (Montier et al. 1998)
	Ratio irrigation	
	Présence de voies de communications à proximité du lit mineur	BD TOPO (IGN 2020) pour la représentation des stresseurs.
	Présence de voies de communications à proximité du lit majeur	
	Présence de digues à proximité du lit mineur	
	Présence de digues à proximité du lit majeur	
	Taux de boisement des berges: Rideau d'arbres (Buffer 10 m)	
	Taux de boisement des berges: Ripisylve (Buffer 30 m)	
	Taux d'occupation du sol de type artificiel à proximité du lit mineur	
	Taux de franchissement	
	Taux de plans d'eau sur le réseau hydrographique	
	Surlargeur des grands cours d'eau	

	Rectitude du tracé en plan	
Nutriments et matières organiques	Phosphore total	Jeu de données du réseau national de surveillance des qualités des eaux en France (Naïades)
	Nitrites	
	Nitrates	
	Ammonium	
	Oxygène dissous	
	Matières en suspension	
	DBO_5 (Demande Biochimique en Oxygène sur 5 jours)	
Toxicité chimique	Pourcentage du taux de mortalité de gammares	Jeu de données du réseau national de surveillance des qualités des eaux en France
	Taux d'inhibition de l'alimentation	

Chaque pression a été prise en compte à l'échelle spatiale adéquate. L'échelle du bassin versant a été choisie pour l'artificialisation, l'agriculture intensive, l'agriculture faible, le paysage naturel, les stresseurs ratio de drainage et ratio d'irrigation de la pression altération hydromorphologique. Cette échelle a été délimitée au niveau de chaque site par un modèle numérique de terrain. L'échelle du tronçon a été choisie pour les autres stresseurs de la pression altération hydromorphologique. Les tronçons ont été délimités dans le projet SYRAH-CE « *Systèmes relationnel d'audit de l'hydromorphologie des cours d'eau* » (SYRAH-CE) (Irstea/ONEMA 2017, Valette et al. 2012) et chaque site a ensuite été positionné dans son tronçon. L'échelle du site a été choisie pour les nutriments et les matières organiques, la toxicité chimique (respectivement létale et sublétale) et l'I_2M_2. Le schéma conceptuel du modèle développé avec les pressions choisies, leurs échelles et les liens entre les pressions et l'I_2M_2 sont représentés dans la Figure IV.1.11.

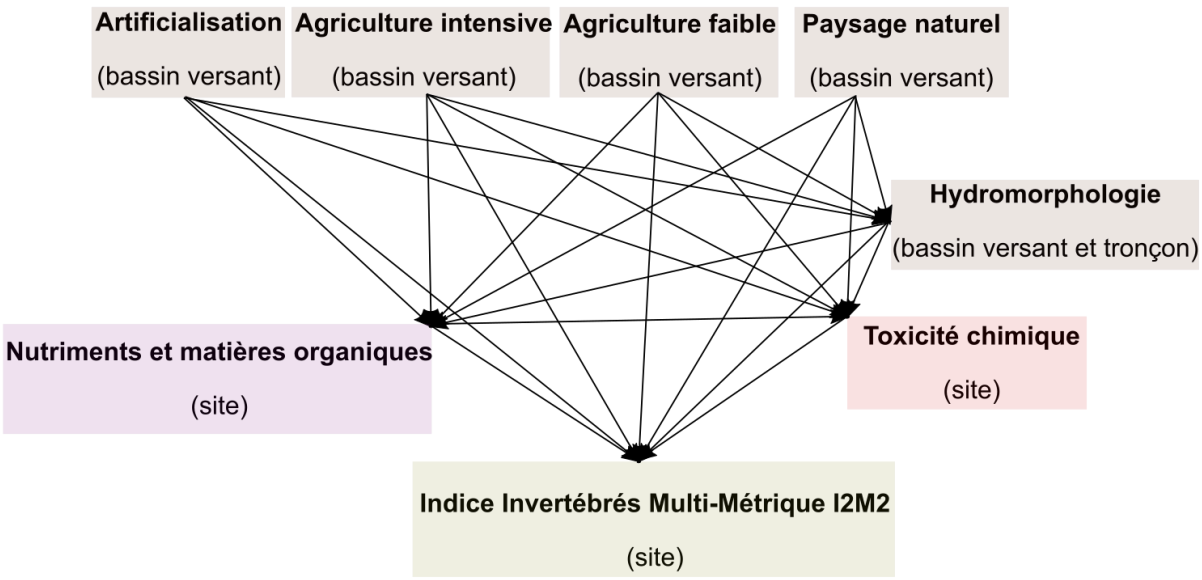


Figure IV.1.11: Schéma conceptuel du modèle pressions-impacts tenant compte de la toxicité chimique.

Ce modèle a été développé sur des jeux de données de respectivement 222 échantillonnages pour la toxicité chimique létale et 101 échantillonnages pour la toxicité chimique sublétale.

Nous avons ensuite évalué les effets directs des pressions à partir de leurs coefficients de régressions calculés via la PLS-PM (Figure IV.1.12 et Figure IV.1.13).

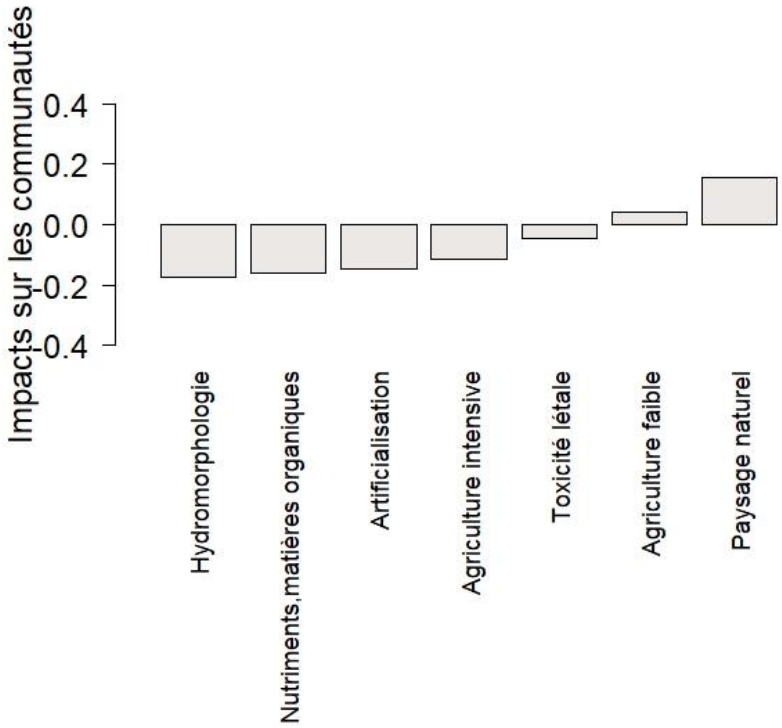


Figure IV.1.12: Effets directs des pressions, incluant la toxicité chimique létale, sur l'état général des communautés de macroinvertébrés benthiques.

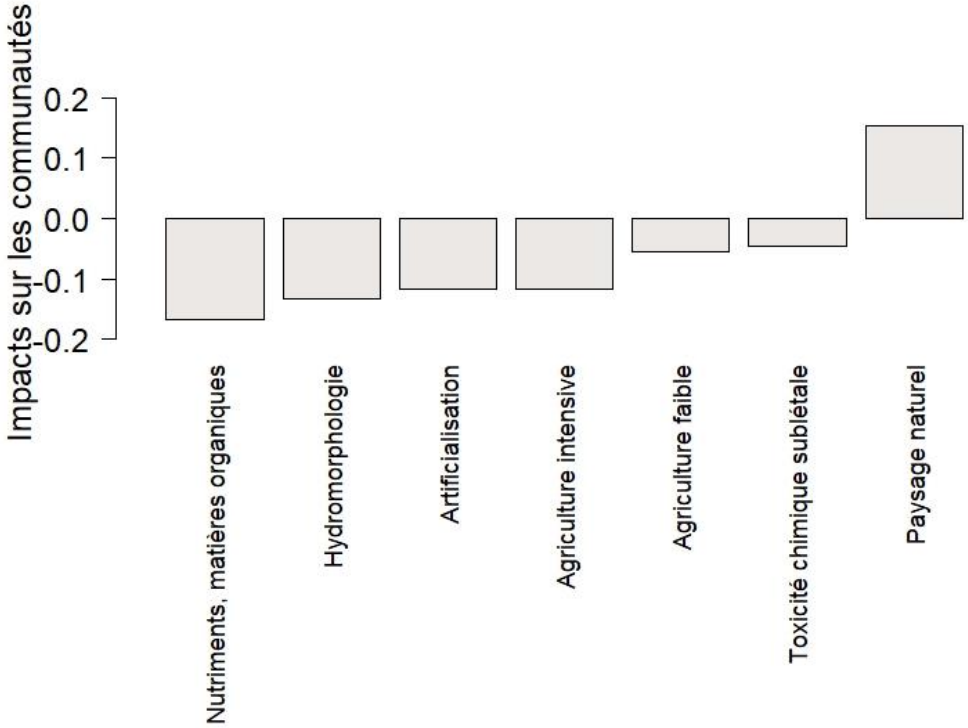


Figure IV.1.13: Effets directs des pressions, incluant la toxicité chimique sublétale, sur l'état général des macroinvertébrés benthiques.

Pour le jeu de données tenant compte de la toxicité chimique létale, 38% de l'I_2M_2 a été expliqué par les pressions choisies. Les pressions corrélées négativement avec l'I_2M_2 dans l'ordre ascendant sont : l'altération hydromorphologique (-0.174), les nutriments, matières organiques (-0.160), l'artificialisation (-0.148) et l'agriculture intensive (-0.116). La toxicité chimique létale a eu un effet négatif faible avec l'I_2M_2 (-0.048). L'agriculture faible et le paysage naturel sont positivement corrélés avec l'I_2M_2 respectivement avec (0.042) et (0.158).

Pour le jeu de données tenant compte de la toxicité chimique sublétale, 33% de l'I_2M_2 a été expliqué par les pressions choisies. Les pressions corrélées négativement avec l'I_2M_2 dans l'ordre ascendant sont les nutriments, et matières organiques (-0.167), les altérations hydromorphologiques (-0.133), l'artificialisation (-0.118) et l'agriculture intensive (-0.118). L'agriculture faible et la toxicité chimique sublétale ont eu des corrélations négatives faibles respectivement (-0.056) et (-0.045). Le paysage naturel a été positivement corrélé avec l'I_2M_2 (0.154).

Dans le modèle PLS-PM tenant compte de la toxicité chimique létale, toutes les pressions avec des effets nocifs sur la biologie (altération hydromorphologique, nutriments et matières organiques, artificialisation, agriculture intensive et toxicité chimique létale) ont été négativement corrélées avec le mauvais état des communautés en cohérence avec l'hypothèse émise a priori. Les métriques plus représentatives d'un paysage naturel (agriculture faible et paysage naturel) ont été positivement corrélées avec le bon état des communautés. Les impacts dominants étaient spécifiques à des pressions comme l'altération hydromorphologique, les nutriments et matières organiques et l'occupation du sol intensive. Cette dernière est signalée comme dominante par d'autres auteurs au vu de sa capacité intégratrice de multiples pressions (Dahm et al. 2013). Par exemple, l'artificialisation due à l'urbanisation inclut de multiples pressions (Sterling et al. 2016). L'occupation du sol intensive a eu l'effet le plus dominant sur la détérioration environnementale (Dahm et al. 2013, Donohue et al. 2006, Villeneuve et al. 2018). De plus, les invertébrés sont connus pour leur sensibilité aux nutriments (Gieswein et al. 2017) ainsi que les apports en sédiments influencés par la structure hydromorphologique (Miler and Brauns 2020).

Dans le modèle PLS-PM tenant compte de la toxicité chimique sublétale, les pressions dominantes (corrélées négativement avec le mauvais état écologique)

étaient les mêmes que dans le modèle tenant compte de la toxicité chimique létale et en plus avec l'agriculture faible. Seul le paysage naturel a été positivement corrélé avec le bon état écologique.

Dans les deux modèles, quand la toxicité chimique (respectivement létale et sublétale) augmente, l'I_2M_2 décroit et s'éloigne de l'état de référence. Cependant, l'impact de la toxicité chimique était faible comparé aux autres pressions intégratrices. Cela pourrait être dû au fait que les autres pressions intègrent beaucoup plus de stresseurs dans leur construction et sont aussi par nature plus intégratrices. Rico et al. (2016) ont mis en avant le fait que les paramètres de physico-chimie avaient une influence sur les communautés d'invertébrés plus importante que les composés chimiques représentés par les unités toxiques. L'occurrence d'impacts semblables entre les deux modèles peut s'expliquer par l'occurrence de sites communs entre les deux jeux de données.

Cependant, ces résultats restent difficiles à interpréter car les jeux de données sur lesquels ces modèles ont été développés restent encore de taille modeste par rapport au potentiel explicatif de la méthode utilisée. Villeneuve et al. (2018) ont travaillé sur un jeu de données de 1200 sites pour pouvoir représenter l'ensemble du territoire et être représentatifs des associations possibles entre les différents gradients de pressions et les valeurs d'indice I_2M_2. Ici l'ordre relatif d'impact des pressions doit par conséquent être interprété avec précaution et le positionnement de la toxicité chimique qu'elle soit létale ou sublétale n'est pas suffisamment robuste pour tirer des conclusions fortes de cette analyse.

Cette méthode reste toutefois prometteuse dans ce contexte multi-pressions et multi-échelles et c'est pour cela que nous avons tenu à présenter ces résultats dans ce manuscrit. Lorsque les jeux de données intégrant des mesures de toxicité de taille suffisante seront disponibles, nous serons en mesure de développer des modèles qui permettront de la positionner de manière robuste au sein du complexe de pressions influençant l'état écologique.

Références

Alexander, A.C., Luis, A.T., Culp, J.M., Baird, D.J. and Cessna, A.J. (2013) Can nutrients mask community responses to insecticide mixtures? Ecotoxicology 22(7), 1085-1100. https://doi.org/10.1007/s10646-013-1096-3.

Blöcher, J.R., Ward, M.R., Matthaei, C.D. and Piggott, J.J. (2020) Multiple stressors and stream macroinvertebrate community dynamics: Interactions between fine sediment grain size and flow velocity. Science of the Total Environment 717, 137070. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137070.

Brettschneider, D.J., Misovic, A., Schulte-Oehlmann, U., Oetken, M. and Oehlmann, J. (2019) Poison in paradise: increase of toxic effects in restored sections of two rivers jeopardizes the success of hydromorphological restoration measures. Environmental Sciences Europe 31(1), 1-20. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0218-9.

Dahm, V., Hering, D., Nemitz, D., Wolfram, G., Schmidt-Kloiber, A., Leitner, P., Melcher, A. and Feld, C.K. (2013) Effects of Physico-Chemistry, Land Use and Hydromorphology on Three Riverine Organism Groups: A Comparative Analysis with Monitoring Data from Germany and Austria. Hydrobiologia 704, 389-415. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1431-3.

Davis, C.A. and Bidwell, J.R. (2008) Response of aquatic invertebrates to vegetation management and agriculture. Wetlands 28(3), 793-805. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1431-310.1672/07-156.1.

Davis, S.J., Ó hUallacháin, D., Mellander, P.-E., Matthaei, C.D., Piggott, J.J. and Kelly-Quinn, M. (2019) Chronic nutrient inputs affect stream macroinvertebrate communities more than acute inputs: An experiment manipulating phosphorus, nitrogen and sediment. Science of the Total Environment 683, 9-20. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.031.

Davis, S.J., Ó hUallacháin, D., Mellander, P.-E., Kelly, A.-M., Matthaei, C.D., Piggott, J.J. and Kelly-Quinn, M. (2018) Multiple-stressor effects of sediment, phosphorus and nitrogen on stream macroinvertebrate communities. Science of the Total Environment 637-638, 577-587. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.052.

Donohue, I., McGarrigle, M.L. and Mills, P. (2006) Linking catchment characteristics and water chemistry with the ecological status of Irish rivers. Water Research 40(1), 91-98. https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.10.027.

Feld, C.K., Fernandes, M.R., Ferreira, M.T., Hering, D., Ormerod, S.J., Venohr, M. and Gutiérrez-Cánovas, C. (2018) Evaluating riparian solutions to multiple stressor problems in river ecosystems — A conceptual study. Water Research 139, 381-394. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.04.014.

Funck, J.A., Clivot, H., Felten, V., Rousselle, P., Guérold, F. and Danger, M. (2013) Phosphorus availability modulates the toxic effect of silver on aquatic fungi and leaf litter decomposition. Aquatic Toxicology 144-145, 199-207. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.10.001.

Garcia, X.F., Schnauder, I. and Pusch, M.T. (2012) Complex hydromorphology of meanders can support benthic invertebrate diversity in rivers. Hydrobiologia 685(1), 49-68. https://doi.org/10.1007/s10750-011-0905-z.

Gieswein, A., Hering, D. and Feld, C.K. (2017) Additive effects prevail: The response of biota to multiple stressors in an intensively monitored watershed. Science of the Total Environment 593-594, 27-35. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.116.

Glendell, M., Palarea-Albaladejo, J., Pohle, I., Marrero, S., McCreadie, B., Cameron, G. and Stutter, M. (2019) Modeling the Ecological Impact of Phosphorus in Catchments with Multiple Environmental Stressors. Journal of Environmental Quality 48(5), 1336-1346. https://doi.org/10.2134/jeq2019.05.0195.

Grizzetti, B., Pistocchi, A., Liquete, C., Udias, A., Bouraoui, F. and van de Bund, W. (2017) Human pressures and ecological status of European rivers. Scientific Reports 7(1), 1-11. https://doi.org/10.1038/s41598-017-00324-3.

Hościło, A. and Tomaszewska, M. (2014) CORINE Land Cover 2012 - 4th CLC inventory completed in Poland. Geoinformation Issues 6, 49-58. https://doi.org/10.34867/gi.2014.4.

IGN (2020) BD TOPO®. Accessed on 09/02/2021. https://geoservices.ign.fr/documentation/diffusion/telechargement-donnees-libres.html#bd-topo.

Irstea/ONEMA (2017) SYRAH-CE. Accessed on 09/02/2021. http://www.data.eaufrance.fr/jdd/9c86a5da-88f4-4819-a84e-c09a69394a34.

Jones, E.L. and Leather, S.R. (2012) Invertebrates in urban areas: A review. European Journal of Entomology 109(4), 463-478. https://doi.org/10.14411/eje.2012.060.

Kail, J. and Hering, D. (2009) The influence of adjacent stream reaches on the local ecological status of Central European mountain streams. River Research and Applications 25(5), 537-550. https://doi.org/10.1002/rra.1238.

Kaushal, S.S., Mayer, P.M., Vidon, P.G., Smith, R.M., Pennino, M.J., Newcomer, T.A., Duan, S., Welty, C. and Belt, K.T. (2014) Land use and climate variability amplify carbon, nutrient, and contaminant pulses: a review with management implications. Journal of the American Water Resources Association 50(3), 585–614. https://doi.org/10.1111/jawr.12204.

Lorenz, A.W. and Feld, C.K. (2013) Upstream river morphology and riparian land use overrule local restoration effects on ecological status assessment. Hydrobiologia 704, 489-501. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1326-3.

Matthaei, C.D., Piggott, J.J. and Townsend, C.R. (2010) Multiple stressors in agricultural streams: interactions among sediment addition, nutrient enrichment and water abstraction. Journal of Applied Ecology 47(3), 639-649. https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01809.x.

Miler, O. and Brauns, M. (2020) Hierarchical response of littoral macroinvertebrates to altered hydromorphology and eutrophication. Science of the Total Environment 743, 140582. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140582.

Montier, C., Daroussin, J. and King, D. (1998) Cartographie de l'aléa ''Erosion des Sols'' en France. INRA, Orléans.

Naïades Accessed on 09/02/2021. http://www.naiades.eaufrance.fr.

Oraison, F., Souchon, Y. and Van Looy, K. (2011) Restaurer l'hydromorphologie des cours d'eau et mieux maitriser les nutriments: une voie commune? ONEMA et Cemagref, 42.

Paul, M.J. and Meyer, J.L. (2001) Streams in the Urban Landscape. Annual Review of Ecology and Systematics 32(1), 333-365. https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114040.

Rico, A., Van den Brink, P.J., Leitner, P., Graf, W. and Focks, A. (2016) Relative influence of chemical and non-chemical stressors on invertebrate communities: A case study in the Danube River. Science of the Total Environment 571, 1370-1382. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.087.

Riseng, C.M., Wiley, M.J., Black, R.W. and Munn, M.D. (2011) Impacts of agricultural land use on biological integrity: A causal analysis. Ecological Applications 21(8), 3128-3146. https://doi.org/10.1890/11-0077.1.

Roy, A.H., Rosemond, A.D., Paul, M.J., Leigh, D.S. and Wallace, J.B. (2003) Stream macroinvertebrate response to catchment urbanisation (Georgia, U.S.A.). Freshwater Biology 48(2), 329-346. https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2003.00979.x.

Schmidt, T.S., Van Metre, P.C. and Carlisle, D.M. (2019) Linking the Agricultural Landscape of the Midwest to Stream Health with Structural Equation Modeling. Environmental Science & Technology 53(1), 452-462. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04381.

Sterling, J.L., Rosemond, A.D. and Wenger, S.J. (2016) Watershed urbanization affects macroinvertebrate community structure and reduces biomass through similar pathways in Piedmont streams, Georgia, USA. Freshwater Science 35(2), 676-688. https://doi.org/10.1086/686614.

Urbanič, G. (2014) Hydromorphological degradation impact on benthic invertebrates in large rivers in Slovenia. Hydrobiologia 729(1), 191-207. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1430-4.

Valette, L., Piffady, J., Chandesris, A. and Souchon, Y. (2012) SYRAH-CE : description des données et modélisation du risque d'altération de l'hydromorphologie des cours d'eau pour l'Etat des lieux DCE. Pôle hydroécologie des cours d'eau Onema/Irstea Lyon, 1-104.

Villeneuve, B., Piffady, J., Valette, L., Souchon, Y. and Usseglio-Polatera, P. (2018) Direct and indirect effects of multiple stressors on stream invertebrates across watershed, reach and site scales: A structural equation modelling better

informing on hydromorphological impacts. Science of the Total Environment 612, 660-671. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.197.

Wang, L., Brenden, T., Seelbach, P., Cooper, A., Allan, D., Clarck Jr, R. and Wiley, M. (2008) Landscape based identification of human disturbance gradients and reference conditions for Michigan streams. Environmental Monitoring and Assessment 144(1), 483-484. https://doi.org/10.1007/s10661-008-0397-0.

Partie 2 : Quel est le rôle de la toxicité chimique sur le fonctionnement des communautés de macroinvertébrés benthiques dans un contexte multi-stresseurs ?

Synthèse du chapitre IV, partie 2

Les effets des pressions (nutriments et matières organiques, les altérations hydromorphologiques et la pollution chimique) sont susceptibles d'influencer les communautés de macroinvertébrés benthiques, non seulement en terme de composition faunistique mais aussi en terme de fonctionnement des communautés. La toxicité chimique peut affecter les fonctions des communautés mais évaluer son effet à large échelle reste un défi. La biosurveilance active permet par ailleurs de mesurer des métriques de toxicité (taux de mortalité et inhibition de l'alimentation) à large échelle spatiale et de façon comparable.

Dans ce chapitre, nous avons évalué l'association de stresseurs, incluant la toxicité chimique, avec des indicateurs fonctionnels des communautés biologiques de macroinvertébrés benthiques. La toxicité chimique sublétale (inhibition de l'alimentation) et létale (taux de mortalité) ont été mesurées suivant des encagements de gammares sur 152 échantillonnages entre 2015 et 2018 (Figure IV.2.1). Au niveau de chaque site expérimenté, les affinités des communautés de macroinvertébrés benthiques vis-à-vis de 48 modalités pour l'ensemble des 11 traits biologiques ont été calculées (Table IV.2.1). Les stresseurs représentant des pressions d'occupation du sol, la pollution aux nutriments et à la matière organique et, les altérations hydromorphologiques ont été évalués au niveau de chaque site à l'échelle spatiale appropriée. Une analyse de co-inertie a été appliquée pour évaluer les associations des variables du jeu de données de traits avec le jeu de données des stresseurs (occupation du sol, nutriments et matières organiques, hydromorphologie et toxicité chimique).

Concernant les stresseurs, nous avons observé un gradient entre les variables allant d'une faible à une forte dégradation. Egalement un gradient entre l'agriculture et l'urbanisation a été mis en évidence. Quant aux métriques de toxicité chimique (létale et sublétale), elles ont été séparées sur notre représentation de co-inertie, suivant un gradient d'agriculture. La toxicité létale a été associée à l'agriculture intensive alors

que la toxicité sublétale a été associée à l'agriculture à faible impact. Cette analyse de co-inertie a aussi mis en évidence une association des stresseurs incluant la toxicité chimique (létale et sublétale) avec les modalités de traits suivants : les grandes tailles, les générations multiples par an, les adultes, l'ovoviviparité, les œufs libres, la dispersion aquatique passive, la diapause ou la dormance, les fouisseurs, l'alimentation à base de microinvertébrés vivants et les filtreurs (Figure IV.2.2). A l'inverse, les variables naturelles (oxygène dissous, les espaces naturels, la ripisylve à 10 m et la ripisylve à 30 m) sont associées aux modalités de traits suivants : les petites tailles, moins d'une génération par an, les larves, les œufs isolés et adhérents, les œufs isolés et libres, les œufs terrestres, la dispersion aérienne active, les spiracles, les plastrons, les organismes qui se déplacent à la surface, l'alimentation de microphytes vivants et les racleurs. Une séparation entre paysages anthropiques et naturels a également été mise en évidence grâce à une opposition des modalités de traits, montrant des stratégies fonctionnelles différentes des communautés biologiques en fonction du paysage de pressions qu'elles subissent. De plus, chacune des métriques de toxicité chimique a été liée à des modalités de traits. Ces traits (stade aquatique, taille maximale, reproduction, mode de locomotion et relation avec le substrat) peuvent potentiellement répondre à la toxicité chimique.

Evaluating the role of chemical toxicity on macroinvertebrates functional traits in a large scale multi-stressor context

Noëlle Sarkis [a], Olivier Geffard [b], Yves Souchon [a], Philippe Usseglio-Polatera [c], Cédric P. Mondy [d], André Chandesris [a], Martial Ferréol [a], Laurent Valette [a], Rémi Recoura-Massaquant [b], Jérémy Piffady [a], Arnaud Chaumot [b] and Bertrand Villeneuve [e]

[a] INRAE, UR RiverLy, EcoFlowS, F-69625 Villeurbanne, France

[b] INRAE, UR RiverLy, Laboratoire d'écotoxicologie, F-69625 Villeurbanne, France

[c] Université du Lorraine, LIEC, CNRS UMR 7360, Avenue du Général Delestraint, F-57070 Metz, France

[d] Office Français de la Biodiversité, Direction Régionale Ile-de-France, F-94300 Vincennes, France

[e] INRAE, UR EABX, F-33612 Cestas, France

Abstract

Freshwater ecosystems are subject to multiple pressures affecting functions of communities. Biological traits, representative of life history characteristics, are susceptible of change based on the assemblages of anthropic pressures. To our knowledge, no study to date investigated the role of in field chemical toxicity on biological traits in a multi-pressure context at a large spatial scale. Active biomonitoring enables large-scale measures of chemical toxicity in caged gammarids. In the current approach, we studied the role of chemical toxicity (lethal and sublethal toxicity) on biological traits of benthic macroinvertebrate communities, in the context of multi-pressure (land use, hydromorphological modifications and nutrient enrichment) with a co-inertia analysis for 152 samplings. We highlighted the association of modalities of traits (size >4-8cm, size >2-4cm, number of generation per year >1, adult, ovoviviparity, clutches, free, aquatic passive dispersal, diapause or dormancy, burrower, feeding on living microinvertebrates and filter-feeder) with anthropic pressures including chemical toxicity. Some of these modalities were considered in association to pressures, like ovoviviparity adopted when toxic pressure occurs. Inversely, the association of the following modalities of traits (size >1-2cm, number of generation per year <1, larva, isolated eggs, cemented, isolated eggs, free, clutches

terrestrial, aerial active dispersal, spiracle (aerial), plastron, crawler, feeding on living microphytes and scraper) was linked more to natural parameters. Finally, this study suggests further investigations on the role of supplementary measures of chemical toxicity on biological traits in a multi-pressure context.

1. Introduction

1.1. Pressures acting on freshwater biology

Freshwater ecosystems are threatened by multiple anthropogenic pressures like water contamination (by nutrients and chemical pollutants) and hydromorphological alterations (Dudgeon et al. 2006, Steffen et al. 2015). Hydromorphology can modify the flow of water and sediments, and river channel form, affecting aquatic habitats and thus ecosystem functioning (Elosegi and Sabater 2013). More specifically, hydromorphological degradation can affect benthic invertebrates (Urbanič 2014). Nutrient enrichment as phosphorus and nitrogen can lead to eutrophication. This process can reduce oxygen with a possible effect on macroinvertebrate communities (Davis et al. 2018). Hering et al. (2015) highlighted the importance of understanding the links between stressors in order to implement restoration measures. These diagnoses should be performed at not only local but also at large spatial scales (Vörösmarty et al. 2010). The direct and indirect effects of land use, hydromorphological alteration risk and nutrients and organic matter, on macroinvertebrate state were quantified at multi-scale (Villeneuve et al. 2018). Also, the combined effects of hydromorphology, eutrophication and chemical stressors on rivers, were investigated (Teichert et al. 2016).

1.2. Trait approaches describing functions

Variations in habitats can select specific functions of organisms. These functions described through combinations of traits, can thus respond to different pressures (Archaimbault et al. 2010). Biological traits represent life history characteristics (Van den Brink et al. 2011) like the size, morphology and life cycle (Statzner and Bêche 2010). They reflect the relationship of communities with environmental factors (Maasri 2019). These life history traits are recommended when studying community responses

to environmental variables (Wilkes et al. 2020). A list of eleven biological traits and their categories called “modalities” was evaluated on macroinvertebrates in France. These organisms are known as bioindicators of water quality (Usseglio-Polatera et al. 2001). They are widely used to evaluate effects of stressors on ecosystems (Statzner and Bêche 2010). These traits are listed in Usseglio-Polatera et al. (2001) and the affiliated database on the determination keys of macroinvertebrates are described in the Tachet et al. (2000). Functional approaches identify the sensibility of traits to ecosystem functioning, which is a useful tool for specific managing (Archaimbault et al. 2010, Dolédec et al. 2006, Dolédec and Statzner 2008, 2010). It has the advantage of comparing community functions instead of species over different regions, at large spatial scales (Dolédec et al. 2006, Verberk et al. 2008, Verberk et al. 2013). These approaches can be focused on multiple traits affected by multiple pressures (Dolédec and Statzner 2010). Trait-based approaches can provide understanding on the link between stressors and functions of biota (Archaimbault et al. 2010, Van den Brink et al. 2011) because stress changes traits with a discrimination among stressors (Archaimbault et al. 2010, Demars et al. 2012, Statzner and Bêche 2010). For instance, Floury et al. (2017) assessed the effects of hydroclimatic and water quality factors on traits of invertebrates in the Loire, a large river in France.

1.3. Active biomonitoring evaluating chemical toxicity

Toxic pollution is susceptible of altering community functions. Therefore, functional traits can discriminate sites with high chemical contamination. Nevertheless, measuring toxic pollution at a large spatial scale remains a challenge. Active biomonitoring is based on the transplantation of organisms in streams, to measure their response to water quality (Wepener 2013). It measures integrative bioavailable chemical contamination and toxicity in situ via biological standardized probes (Besse et al. 2013). These measures are comparable between sites and at different dates (Ciliberti et al. 2017, Wepener 2013). Caged gammarids are crustaceans used as sentinel species in ecotoxicology because they are ubiquitous in West European freshwater (Charron et al. 2013, Chaumot et al. 2015, Ciliberti et al. 2017, Kunz et al. 2010). Their biology and physiology is also well known (Besse et al. 2013, Chaumot et al. 2015). Toxicity metrics are integrative of multiple substances effects. However, the European Water Framework Directive (WFD) has not required yet chemical toxicity

monitoring due to the lack of large spatial scale toxicity tools. Chemical toxicity bioassays like feeding inhibition and mortality rates are measured in caged gammarids to evaluate water quality (Coulaud et al. 2011). Feeding inhibition (digestive enzyme activity) in gammarids is affected by contaminated sites with micropollutants (Charron et al. 2013, Dedourge-Geffard et al. 2013) and mortality can be a result of exposition to environmental pollutants (Kunz et al. 2010). Feeding inhibition is a sublethal response (Kunz et al. 2010) and thus the first observed indicator of chemical toxicity (Coulaud et al. 2011). Both sublethal and lethal responses have been examined in many studies as chemical toxicity responses (Kunz et al. 2010).

1.4. Toxic pollution linked to functional tools

There is a necessity to study the links between chemical contamination and ecological effects via improved large scale monitoring tools (Ciliberti et al. 2017) and several studies addressed this topic. The link between traits of macroinvertebrate communities and sediment contamination was assessed (Archaimbault et al. 2010). Traits like passive dispersal, reproduction strategies and feeding habits were linked to chemical disturbance. The trait metrics were associated to sediment contamination with heavy metals (Desrosiers et al. 2019). Biological traits were linked to multiple stressors like metallic and organic pollution, eutrophication and land use (Statzner and Bêche 2010). The discrimination of heavy metal pollution by four functional species traits was tested for large European rivers (Dolédec and Statzner 2008). Species traits even explained 71% of variability in sensitivity to 15 toxicants (Baird and Van den Brink 2007). As for the link between toxicity and traits, it was studied but often with estimated toxicity from contamination measures. The link between an ecological indicator and pesticide toxicity (estimated via toxic units) was confronted in various hydromorphological conditions (Weber et al. 2018). The toxic mode of action of toxicants was also linked to traits (Van den Berg et al. 2019). To our knowledge, toxic pollution linked to traits was not based on direct in situ measures and at a large spatial scale. We currently have the opportunity to investigate the associations between in situ chemical toxicity and biological traits due to the availability of large spatial scale data of chemical toxicity. We hypothesized that toxic pollution in parallel to multi-stressors are associated with adaptive modalities of traits. Co-inertia analysis was applied to highlight theses associations between stressors (land use, nutrients and organic matter and

hydromorphology) including chemical toxicity (sublethal and lethal toxicity) and biological traits at the national scale of France.

2. Material and methods

2.1. Study sites and chemical toxicity measures

The active biomonitoring data for in situ chemical toxicity were acquired from the French stream monitoring network (previous experiments of the French regional water agencies, programs performed at the Ecotoxicology laboratory of INRAE and the biomonitoring aquatic environment (BIOMAE)) (Naïades). Therefore, the protocol for caging gammarids is briefly detailed here. Further details are present in Besse et al. (2013) and Ciliberti et al. (2017). *Gammarus fossarum* from an uncontaminated site “Tour du Pin” were sampled. Then, they were acclimated in the laboratory for three weeks under controlled conditions. Size-calibrated-males were caged in the French monitoring network sites for an exposition time of one week with a suitable quantity of leafs. Confounding factors like size, population and food were controlled. Sites with extreme oxygen levels were not considered. Feeding rates were measured on the seventh day following the protocol and the calculation of feeding inhibition described in Coulaud et al. (2011). The number of dead gammarids was recorded on the seventh day and the mortality rate per site was represented in percentage. For 152 samplings from 2015 to 2018, sublethal toxicity (feeding inhibition) and lethal toxicity (mortality rate) were compiled into one dataset. Feeding activation was represented with the value 0 because no feeding inhibition occurred. These study sites were distributed all over metropolitan France (Figure IV.2.1) with their respective chemical toxicity gradients representing a variety of landscapes.

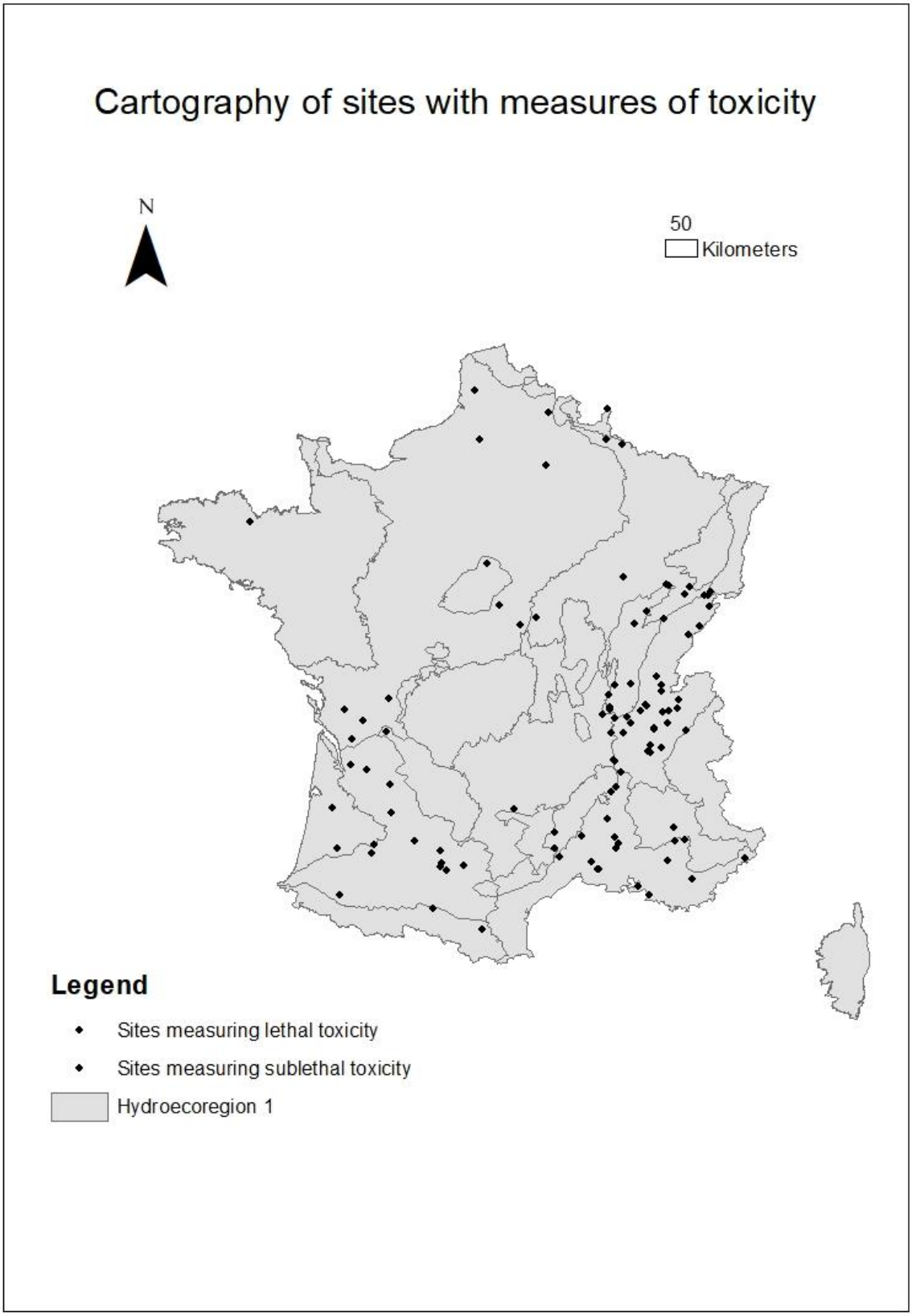


Figure IV.2.1: Cartography of sites with measures of chemical toxicity.

2.2. Biological traits for macroinvertebrate communities

Based on the sites measuring chemical toxicity, the functional trait database was constructed. Macroinvertebrates were sampled and identified in the national French surface water network and data was stored in (Naïades), following the protocol (AFNOR 2010). We based our approach on the biological traits and their modalities presented by Usseglio-Polatera et al. (2001), at the site scale and at the closest date compared to the caging data with a maximum one-year difference. The affinity of every present taxon to each modality of trait was used with fuzzy coding. The contribution of taxon to each modality was weighted with the log transformation of the abundance. Then, these values were summed for all the taxa per modality and site. The relative abundance for each trait modality was calculated for each trait. For the modalities representing less than 0.15% of the total modalities frequency (i) we removed these modalities because they couldn't be associated to similar modalities and we recalculated the relative frequencies of other modalities, or (ii) we grouped them with close modalities (Table IV.2.1). The distribution of the affinity of communities to modalities was not very wide, thus we chose this conservative threshold of 0.15 %. For maximum size, modalities 1 (≤ 0.25 cm) and 2 (> 0.25-0.5 cm) were grouped as well as modality 6 (> 4-8 cm) and 7 (> 8 cm). For reproduction, modality 6 (eggs, or clutches, in vegetation (endophytic)) and modality 8 (asexual reproduction) were removed and the other modalities were recalculated without them. For resistance form, modalities 1 (eggs, statoblasts, gemmules), 2 (cocoons) and 3 (cells against desiccation) were grouped. For respiration, modality 5 (hydrostatic vesicle (aerial)) was removed. For locomotion and substrate relation, modality 1 (flier) was removed, modalities 2 (surface swimmer) and 3 (swimmer) were grouped, and modalities 7 (temporarily attached) and 8 (permanently attached) were grouped. For food, modalities 1 (fine sediment + microorganisms) and 2 (detritus < 1 mm) were grouped, modalities 3 (plant detritus ≥ 1mm) and 6 (dead animal ≥ 1mm) were grouped because they can be both consumed by shredders, and modalities 8 (living macroinvertebrates) and 9 (vertebrates) were grouped since vertebrates are essentially insect larvae (mainly trichoptera) consuming fish eggs, Alevin fish or larvae of batrachians and predated by beetles. For feeding habits, modalities 7 (predator (carver/engulfer/swallower)) and 8 (parasite, parasitoid) were grouped.

Table IV.2.1: Eleven biological traits with the number of each modality and the 48-modality groups.

Trait	**Number**	**Modalities**
Maximum size	1 and 2	≤ 0.25 cm and > 0.25-0.5 cm
	3	> 0.5-1 cm
	4	> 1-2 cm
	5	> 2-4 cm
	6 and 7	> 4-8 cm and > 8 cm
Life cycle duration	1	≤ 1 year
	2	> 1 year
Potential number of reproductive cycles per year	1	< 1
	2	1
	3	>1
Aquatic stages	1	Egg
	2	Larva
	3	Pupa
	4	Adult
Reproduction	1	Ovoviviparity
	2	Isolated eggs, free
	3	Isolated eggs, cemented
	4	Clutches, cemented or fixed
	5	Clutches, free
	7	Clutches, terrestrial

Dispersal	1 2 3 4	Aquatic passive Aquatic active Aerial passive Aerial active
Resistance form	1, 2 and 3 4 5	Eggs, statoblats, gemmules; cocoons; cells against dessication Diapause or dormancy None
Respiration	1 2 3 4	Tegument Gill Plastron Spiracle (aerial)
Locomotion and substrate relation	2 and 3 4 5 6 7 and 8	Surface swimmer; Swimmer Crawler Burrower (epibenthic) Interstitial (endobenthic) Temporarily attached; Permanently attached
Food	1 and 2 4 5 3 and 6	Fine sediment + microorganisms; Detritus < 1 mm Living microphytes Living macrophytes Plant detritus ≥ 1 mm; Dead animal ≥ 1 mm

	7 8 and 9	Living microinvertebrates Living macroinvertebrates; Vertebrates
Feeding habits	1 and 2 3 4 5 6 7 and 8	Absorber; Deposit feeder Shredder Scraper Filter-feeder Piercer (plants or animals) Predator (carver/engulfer/swallower); Parasite, parasitoid

We hypothesized that a selection of stressors were susceptible of having an effect on functional traits of benthic macroinvertebrate communities. These stressors and their spatial scales were the same as Villeneuve et al. (2018). Based on the active biomonitoring sites, stressors were calculated at the appropriate scales. Land use was at the watershed scale, nutrients and organic matter was at the site scale, and hydromorphology was at the watershed scale and reach scale (Table IV.2.2).

Table IV.2.2: List of stressors (seven nutrient and organic matter stressors, and 13 hydromorphology stressors), their minimum and maximum range, and data source.

Stressor	Unit or categories	Scale	Minimum - Maximum range	Data source
Artificialisation	Percentage of artificialisation surface	Watershed	0-38.16	Corine Land Cover (CLC) 2012 (Hościło and Tomaszewska 2014).
Intensive agriculture	Percentage of intensive		0-92.22	

	agriculture surface			
Low agriculture	Percentage of low agriculture surface		0-48.21	
Natural spaces	Percentage of natural spaces surface		0.75-100	
Dissolved oxygen	mg/L O_2	Site	7.279-12.360	French national database of water quality (Naïades)
BOD_5 (Biochemical Oxygen Demand for five days)	mg/L O_2		0.525-9.5	
Suspended matter	mg/L		1.2-285.720	
Ammonium	mg/L NH_4^+		0.009-8.304	
Nitrites	mg/L NO_2^-		0.010-1.538	
Nitrates	mg/L NO_3^-		1-58.617	
Total phosphorus	mg/L P		0.007-1.732	
Drainage ratio	Absence =0, Presence >0	Watershed	0-0.109	*Aléa érosion des sols (Montier et al. 1998)*
Irrigation ratio	Absence =0, Presence >0		0-0.498	
Rate of roads/railways near riverbed	Low for 0-25%, Medium for 25-100%, High for >100%	Reach	0-369189%	BD TOPO ((IGN 2020)) for the representation of the stressor.

Rate of roads/railways in flood plain	Very low for <50%, Low for 50%-100%, Medium for 100%-500%, High for >500%		52.178-1173360%	
Rate of dikes in riverbed	Absence 0%, Low 0-50%, High >50%		0-114587%	
Rate of dikes in flood plain	Low <50%, Medium 50%-100%, High >100%		0-193887%	
Rate of trees on banks “screen of trees”	Very low <10%, Low 10-30%, Medium 30-60%, High 60-80%, Very High >80%		0-100%	
Rate of vegetation on banks “riparian vegetation”	Very low <10%, Low 10-30%, Medium 30-60%, High 60-80%, Very High >80%		0-100%	
Rate of artificial land use near riverbed	Absence =0, Low 0%-25%, High >25%		0-102.57%	

Rate of stream crossings	Absence =0, Low 0-0.5/km, Medium 0.1-1/km, High >1/km		0-38	
Rate of ponds in riverbed	Absence =0, Low for 0%-5%, High >5%		0-51.249%	
Rate of overwidth	Absence ≤100%, Low 100%-150%, High >150%		0-15842.100%	
Rate of straightness	Low <20%, Low 20%-50%, High >50%		0-100%	

2.3. Co-inertia analysis of associations between stressors and traits

We compiled into one multi-stressor dataset: chemical toxicity data (sublethal toxicity and lethal toxicity) and stressors for every site. For the same sites, we had another dataset for community affinity to modalities of traits. The co-inertia analysis is a multivariate method performed on simultaneously two tables to confront the respective measures and evaluate grouping of variables (Dray et al. 2003). This method presents the common co-structure of these tables while maximizing the variance (Dolédec and Chessel 1994). Often co-inertia analysis is focused on biological data and environmental conditions. Here, we confronted more specifically the multi-stressor dataset with the trait dataset. The common co-inertia between stressors and traits was obtained with its pvalue to determine its significativity based on 10000 permutations. The percentage of explanation of each axis of the co-inertia was obtained. The representation of respectively stressors and traits was obtained on the two most explained axes. The position and the coordinates of each of these variables on the respective axes were identified. Then, the close variables were highlighted.

3. Results

Figure IV.2.2 represents the outputs of the co-inertia analysis for respectively the stressors and traits. The common co-inertia between stressors and traits was a significative 27% (RV coefficient with a pvalue of 10e-05). The F1 axis is explained by 66% and the F2 axis is explained by 15%. Most of the information was on the F1 axis.

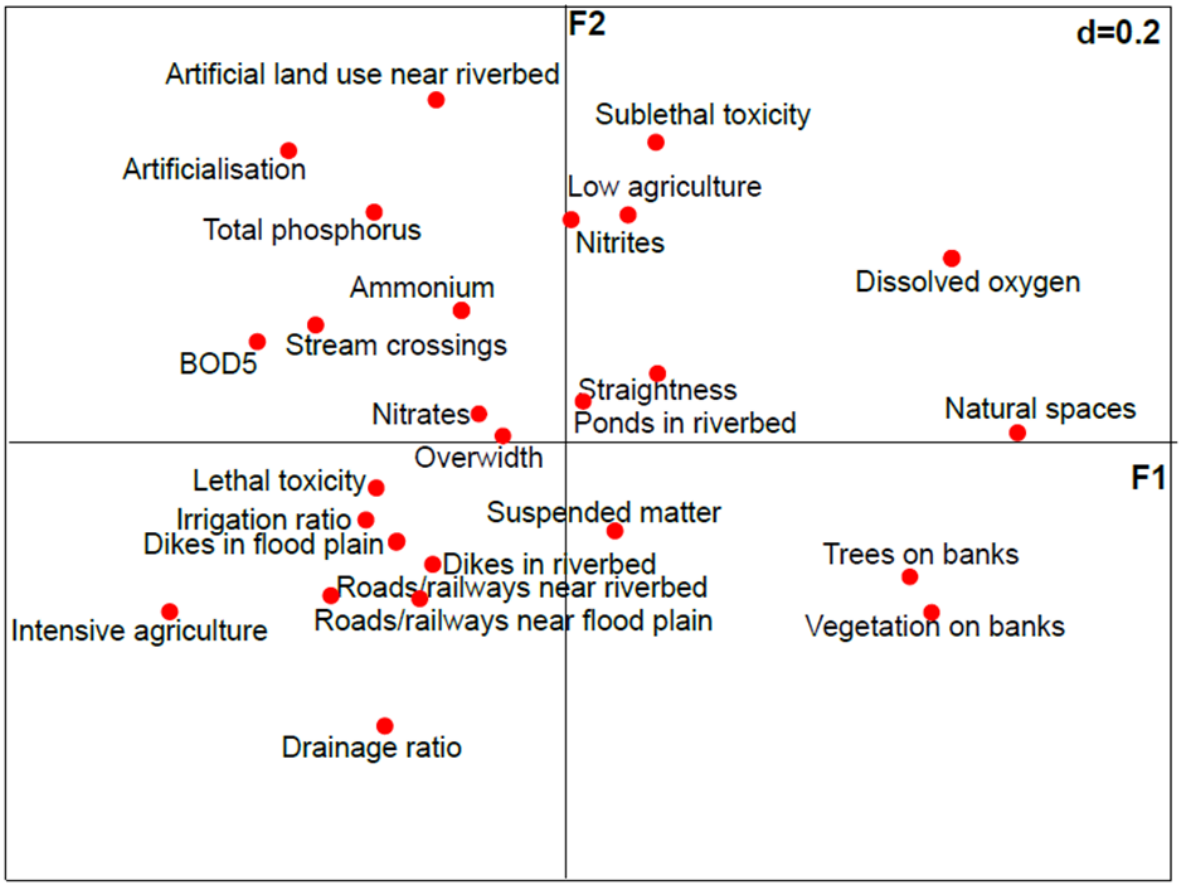
For stressors, the left side of the F1 axis is represented by intensive agriculture, BOD_5, artificialisation, stream crossings, roads/railways near flood plain, lethal toxicity, irrigation ratio, roads/railways near riverbed, total phosphorus, drainage ratio, dikes in flood plain, roads/railways near flood plain, dikes in riverbed, artificial land use near riverbed, ammonium, nitrates and overwidth. The central side of F1 axis is represented by nitrites, ponds in riverbed, low agriculture, suspended matter, sublethal toxicity and straightness. The right side of the F1 axis is represented by trees on banks, vegetation on banks, dissolved oxygen and natural spaces. Therefore, F1 represents a gradient of degradation (high on the left side and low on the right side of the axis). The upper side of the F2 axis is represented by artificial land use near riverbed, sublethal toxicity, artificialisation, total phosphorus, low agriculture, nitrites, dissolved oxygen, ammonium, stream crossings, BOD_5, straightness, ponds in riverbed, nitrates, overwidth and natural spaces. The lower side of the F2 axis is represented by drainage ratio, vegetation on banks, intensive agriculture, roads/railways near riverbed, roads/railways near flood plain, trees on banks, dikes in riverbed, dikes in flood plain, suspended matter, irrigation ratio and lethal toxicity. The F2 axis is thus representative of a gradient of land use (ranging from agriculture to urbanization). In summary, on the F1 axis, there was a separation between urban/intensive agriculture landscape with nutrients and hydromorphological alteration, and natural landscape. For the in situ chemical toxicity metrics, sublethal toxicity and lethal toxicity seem separated but they are associated with common pressures following the F1 axis. It wan be noted that in this result, lethal and sublethal toxicity are not very close.

For traits, the left side of the F1 axis is represented by size >4-8cm, size >2-4cm, number of generation per year >1, adult, ovoviviparity, clutches, free, aquatic passive dispersal, diapause or dormancy, burrower, feeding on living microinvertebrates and filter-feeder.Thus, traits on the left side of the F1 axis were associated with lethal toxicity and an urban and intensive agricultural landscape as well as

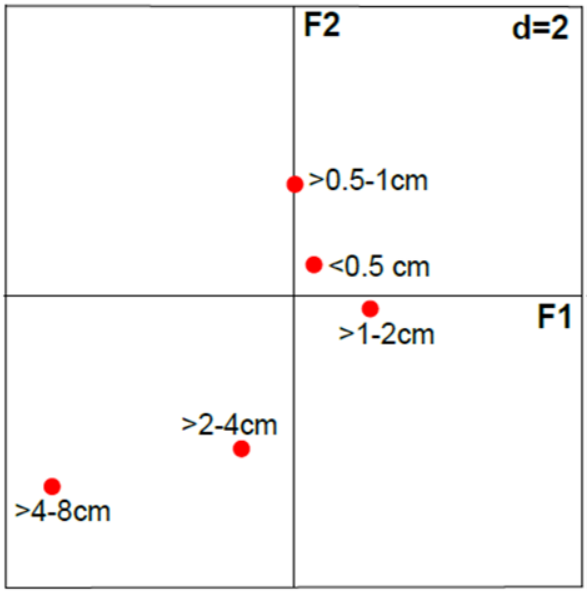
hydromorphological alteration and nutrients and organic matter stressors. The right side of the F1 axis is represented by size >1-2cm, number of generation per year <1, larva, isolated eggs, cemented, isolated eggs, free, clutches terrestrial, aerial active dispersal, spiracle (aerial), plastron, crawler, feeding on living microphytes and scraper. Therefore, natural landscape metrics were associated to these traits on the right side of the F1 axis. The upper side of the F2 axis is represented by size >0.5-1cm, pupa, clutches free, aerial passive dispersal, tegument, temporarily and permanently attached, feeding on living macrophytes and predator, parasite, parasitoid. These traits on the upper side of the F2 axis are associated with sublethal toxicity. The lower side of the F2 axis is represented by size >2-4cm, size >4-8cm, number of generation per year <1, clutches terrestrial, ovoviviparity, isolated eggs, free, plastron, burrower and shredder. These traits on the lower side of the F2 axis are associated with lethal toxicity.

Lethal toxicity and sublethal toxicity are not associated to the same modalities of traits for: maximum size, aquatic stage, reproduction and, locomotion and substrate relation.

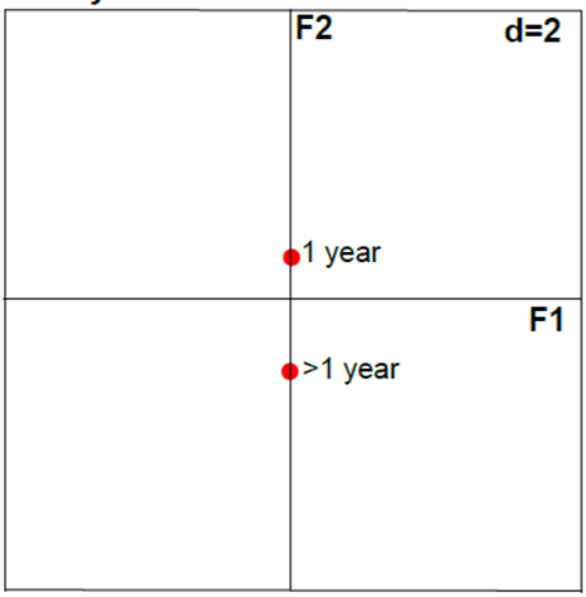
(A) Pressures

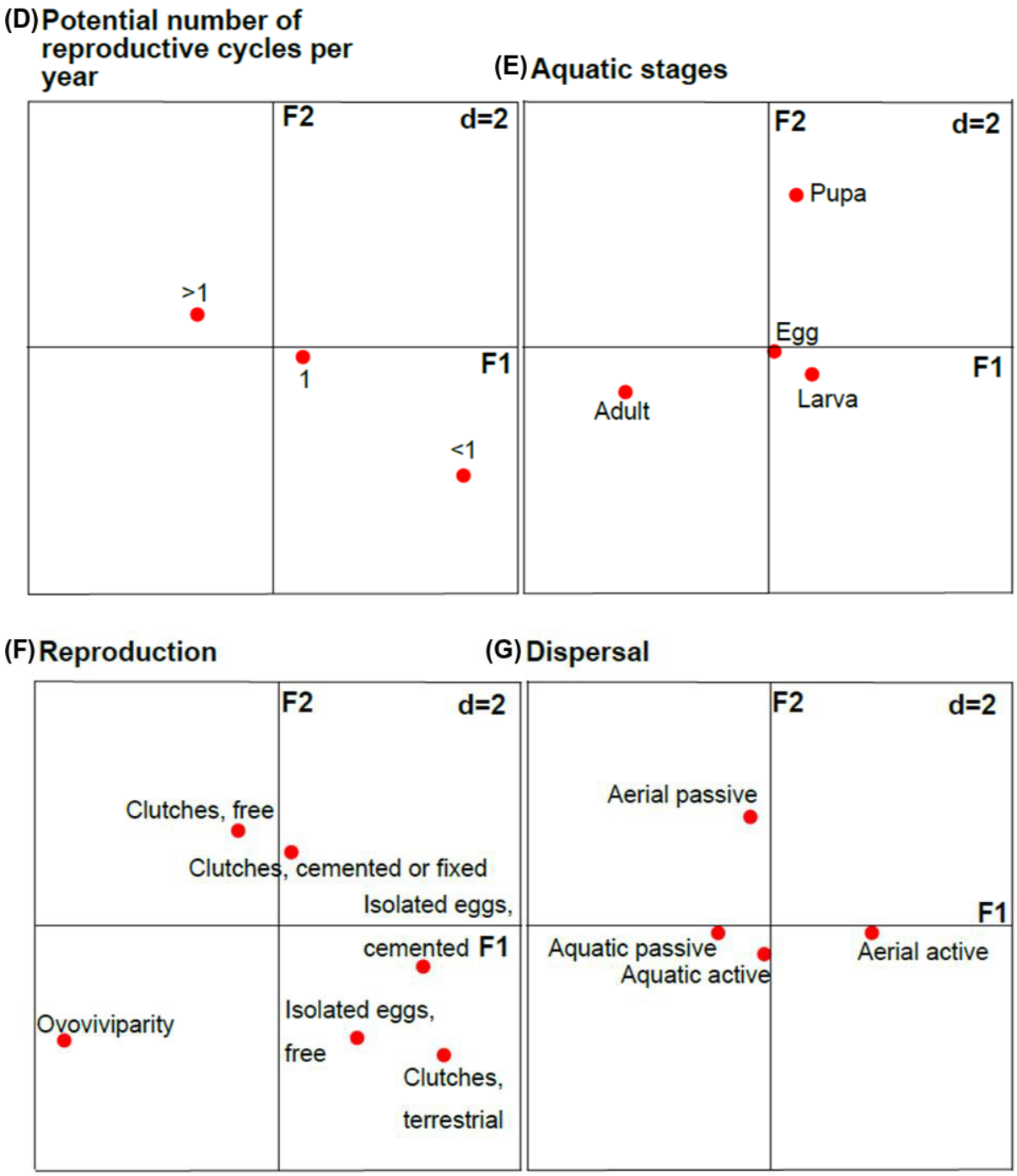


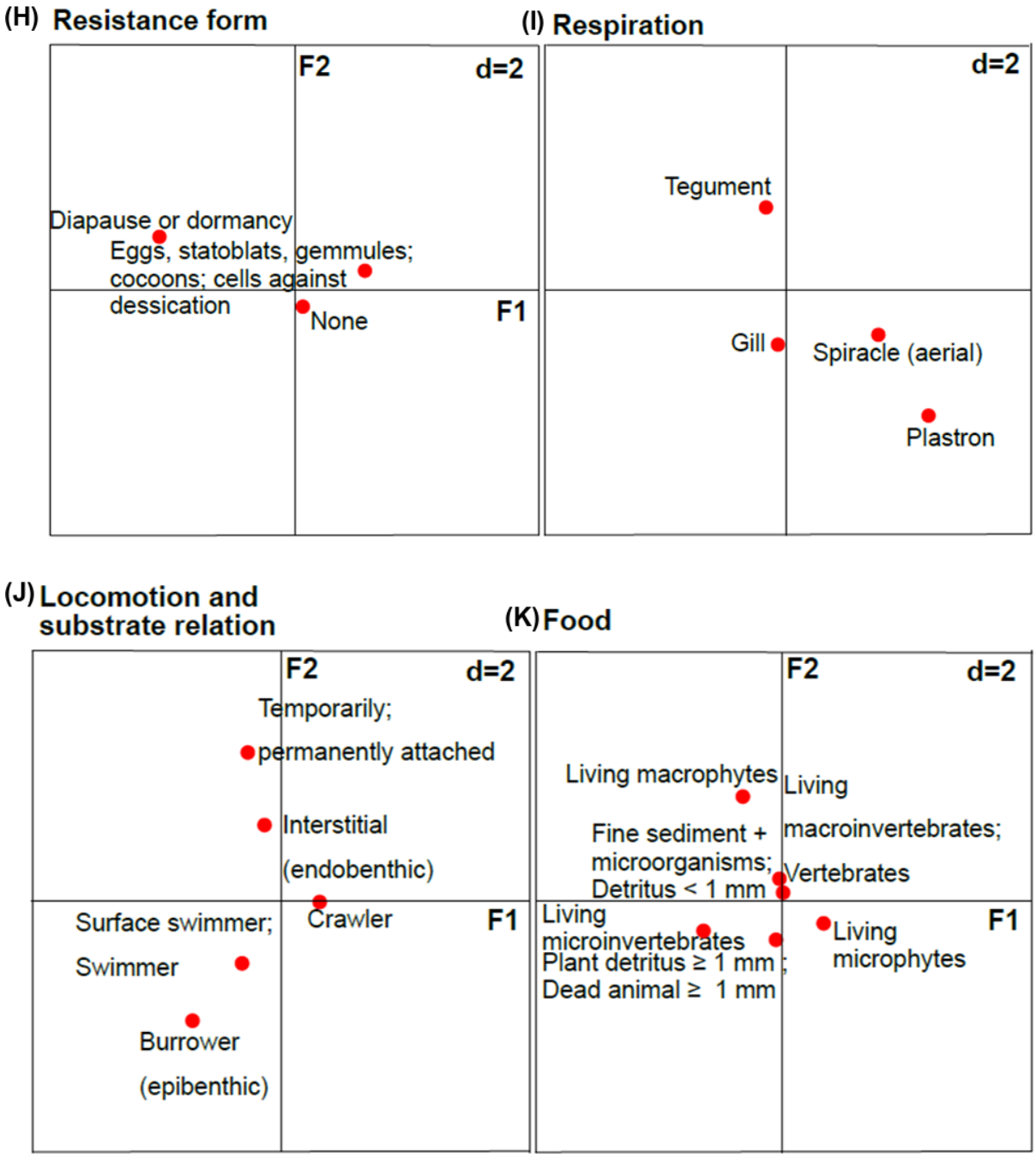
(B) Maximum size



(C) Life cycle duration




(D) Potential number of reproductive cycles per year
F2
d=2
>1
1
F1
<1
(E) Aquatic stages
F2
d=2
Pupa
Egg
F1
Adult
Larva
(F) Reproduction
F2
d=2
Clutches, free
Clutches, cemented or fixed
Isolated eggs, cemented
F1
Ovoviviparity
Isolated eggs, free
Clutches, terrestrial
(G) Dispersal
F2
d=2
Aerial passive
F1
Aquatic passive
Aquatic active
Aerial active


(H) Resistance form
F2
d=2
Diapause or dormancy
Eggs, statoblats, gemmules;
cocoons; cells against
dessication
None
F1
(I) Respiration
d=2
Tegument
Gill
Spiracle (aerial)
Plastron
(J) Locomotion and
substrate relation
F2
d=2
Temporarily;
permanently attached
Interstitial
(endobenthic)
Surface swimmer;
Swimmer
Crawler
F1
Burrower
(epibenthic)
(K) Food
F2
d=2
Living macrophytes
Living
macroinvertebrates;
Fine sediment +
microorganisms;
Detritus < 1 mm
Vertebrates
Living
microinvertebrates
Plant detritus ≥ 1 mm ;
Dead animal ≥ 1 mm
Living
microphytes
F1

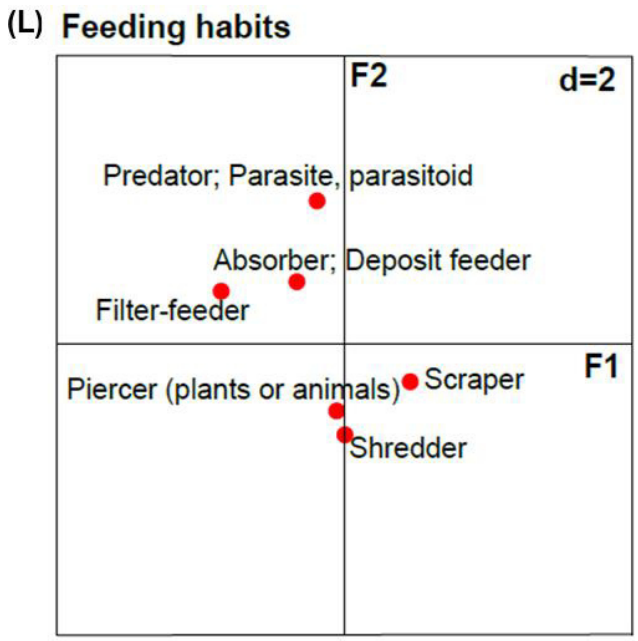


Figure IV.2.2: Co-inertia analysis of pressures and biological traits of benthic macroinvertebrate communities. Red dots are representative of each stressor and modality of trait.

The exact coordinates of respectively stressors and traits were presented in Table IV.2.3 and Table IV.2.4.

Table IV.2.3: Coordinates of stressors on the axis 1 and axis 2.

Stressors	Axis 1	Axis 2
Intensive agriculture	-0.056	-0.016
BOD_5	-0.046	0.009
Artificialisation	-0.042	0.027
Stream crossings	-0.038	0.010
Roads/railways in flood plain	-0.035	-0.015
Lethal toxicity	-0.032	-0.005
Irrigation ratio	-0.031	-0.007
Roads/railways near riverbed	-0.031	-0.015
Total phosphorus	-0.029	0.021
Drainage ratio	-0.028	-0.027
Dikes in flood plain	-0.026	-0.010
Dikes in riverbed	-0.020	-0.011
Artificial land use near riverbed	-0.020	0.031
Ammonium	-0.016	0.012

Nitrates	-0.015	0.002
Overwidth	-0.011	0.001
Nitrites	0.000	0.020
Ponds in riverbed	0.001	0.003
Low agriculture	0.003	0.020
Suspended matter	0.006	-0.009
Sublethal toxicity	0.012	0.027
Straightness	0.012	0.006
Trees on banks	0.048	-0.013
Vegetation on banks	0.051	-0.016
Dissolved oxygen	0.055	0.017
Natural spaces	0.064	0.000

Table IV.2.4: Coordinates of traits and their modalities on the axis 1 and axis 2.

Traits	**Axis1**	**Axis2**
Ovoviviparity	-0.579	-0.151
Size > 4-8 cm	-0.559	-0.216
Adult	-0.388	-0.056
Diapause or dormancy	-0.356	0.070
Filter-feeder	-0.268	0.057
Burrower (epibenthic)	-0.240	-0.158
Reproduction cycle per year >1	-0.209	0.040
Living microinvertebrates	-0.192	-0.041
Aquatic passive	-0.135	-0.011
Size > 2-4 cm	-0.131	-0.178
Clutches, free	-0.104	0.126
Living macrophytes	-0.092	0.135
Absorber; Deposit feeder	-0.091	0.067
Surface swimmer; Swimmer	-0.085	-0.084
Temporarily; permanently attached	-0.083	0.192
Plant detritus = 1 mm; Dead animal = 1 mm	-0.077	-0.047

Aerial passive	-0.051	0.143
Tegument	-0.048	0.105
Predator (carver/engulfer/swallower); Parasite, parasitoid	-0.044	0.158
Interstitial (endobenthic)	-0.038	0.095
Gill	-0.023	-0.076
Size > 0.5-1 cm	-0.013	0.120
Aquatic active	-0.007	-0.039
Life cycle > 1 year	-0.004	-0.081
Life cycle = 1 year	0.002	0.047
Piercer (plants or animals)	0.002	-0.077
Fine sediment + microorganisms; Detritus < 1 mm	0.002	0.015
Shredder	0.022	-0.104
Egg	0.023	-0.006
Resistance form none	0.033	-0.022
Living macroinvertebrates; Vertebrates	0.035	0.026
Size < 0.5cm	0.046	0.031
Clutches, cemented or fixed	0.057	0.098
Pupa	0.077	0.201
Reproductive cycle per year =1	0.088	-0.009
Crawler	0.104	-0.001
Living microphytes	0.112	-0.032
Larva	0.118	-0.036
Scraper	0.174	-0.044
Size > 1-2 cm	0.177	-0.018
Eggs, statoblats, gemmules; cocoons; cells against dessication	0.219	0.025
Isolated eggs, free	0.240	-0.148
Spiracle (aerial)	0.255	-0.063
Aerial active	0.291	-0.011

Plastron	0.386	-0.170
Isolated eggs, cemented	0.416	-0.054
Clutches, terrestrial	0.473	-0.171
Reproductive cycle per year < 1	0.530	-0.171

4. Discussion

4.1. Confrontation of in situ chemical toxicity to traits in a multi-stressor context

For the first time, to our knowledge, chemical toxicity measured via ABM was confronted to traits of macroinvertebrate communities in a multi-stressor context. The current approach serves as a basis to determine the groups of stressors linked to functional traits of macroinvertebrate communities. We focused on the F1 axis since most of the explanation was on this axis. There was a first group between biological traits (large sizes, multiple number of generations per year, adults, ovoviviparity, clutches, free, aquatic passive dispersal, diapause or dormancy, burrower, feeding on living microinvertebrates and filter feeders) with anthropogenic stressors (chemical toxicity, anthropogenic land use, hydromorphological alterations and nutrients and organic matter). The second group on the right side of the F1 axis was between traits (small sizes, less one generation per year, larva, isolated eggs, cemented, isolated eggs, free, clutches terrestrial, aerial active dispersal, spiracle (aerial), plastron, crawler, feeding on living microphytes and scraper) and natural landscape variables. An exposed zone to chemical stress can have more tolerant communities than sensible ones (Clements et al. 2016). This statement was obtained in their study comparing communities exposed to metallic contamination and non-exposed to contamination. Functionnal traits can also be explained with natural gradients (Chen et al. 2019). Voltinism and development for instance can differ among ecoregions (Zuellig and Schmidt 2012). A weak change of trait composition also occurred with increasing hydromorphological alterations (Feld et al. 2014). Taxonomic analysis can be proposed to identify the composition of the macroinvertebrate community and understand more why these modalities stand out. We can emit hypotheses on these taxonomic compositions. Large sized organisms can be oligochaetes burrowers in the fine sediment. Intensive agriculture associated with irrigation and rain can increase the arrival of fluxes of fine sediments in the watercourse. Burrowers are opposed to crawlers moving at the surface. Adults that have aquatic dispersal are mainly mollusks

and crustacean, polluosensible organisms. Ovoviviparity is adopted to limit mortality with increased pressures (Ducrot et al. 2005). Diapause and dormancy should be interpreted carefully because it can be present in the absence of anthropogenic pressures. Scrapers are present in upstream zones less altered while filter-feeders are present in the downstream zones with more fine organic matter in more altered zones. As for contaminants like metals, PAHs and pesticides they have impacts on dispersal, reproduction, respiration and feeding habits. Many studies, showed an impact of toxic contamination on filter-feeders and scrapers (Archaimbault et al. 2010). Some modalities like crawler was associated with Lead, Zinc and Copper. While, burrower and clutches free were associated to Mercury (Desrosiers et al. 2019). Edegbene et al. (2020) studied the associations of macroinvertebrate traits to urban and agricultural pollution in the Niger Delta. In the least altered sites, with sensitive urban-agricultural pollution there was a preference for large body size. As for the heavily impacted sites, detritus and small body size were tolerant to urban-agricultural pollution. This result is different from ours where anthropogenic stressors were associated to large body size. This difference can be explained with the difference in number of sites respectively 17 sites in Edegbene et al. (2020) and 152 samplings in the current study.

As for the association of lethal and sublethal toxicity to different modalities of traits. Lethal toxicity is associated to communities mostly adults, with sizes >4-8 cm, with ovoviviparity reproduction and burrowers. While sublethal toxicity is associated with communities mostly in the pupa stage, with maximum sizes >0.5-1 cm and reproduction via fixed clutches. These candidat traits (maximum size, aquatic stage, reproduction, locomotion and substrate relation) can respond to chemical toxicity.

4.2. Approach adaptation

Since the highlighted structures depended on the dataset, we cannot generalize our results. Anthropogenic stressors including toxic pollution were associated to possible adaptive traits. We did not obtain a different association with traits for toxic pollution and other stressors. It is possible that a bigger dataset can highlight complementary links. The typology of sites can be investigated, for instance co-inertia analysis can be performed separately for sites from each size of stream. In the current approach, we could not separate sites based on their sizes due to data number. We can also evaluate

how traits are expressed following intervals of specific stressors (low, medium and high intensity).

5. Conclusion

To conclude in the current study, we evaluated the associations between anthropogenic stressors including in situ chemical toxicity and biological traits. All anthropogenic stressors (nutrients and organic matter, hydromorphology and chemical toxicity) are linked to specific modalities of traits. While, natural parameters like dissolved oxygen and natural spaces are linked to the opposite modalities of traits. Lethal and sublethal toxicity were representative of different intensities of agriculture and potentially different profiles of chemicals and concentrations. Candidat traits (maximum size, aquatic stage, reproduction and, locomotion and substrate relation) associated to lethal and sublethal toxicity can be indicative of chemical toxicity.

References

AFNOR (2010) Traitement au laboratoire d'échantillons contenant des macro-invertébrés des cours d'eau T 90-388.

Archaimbault, V., Usseglio-Polatera, P., Garric, J., Wasson, J.G. and Babut, M. (2010) Assessing pollution of toxic sediment in streams using bio-ecological traits of benthic macroinvertebrates. Freshwater Biology 55(7), 1430-1446. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02281.x.

Baird, D.J. and Van den Brink, P.J. (2007) Using biological traits to predict species sensitivity to toxic substances. Ecotoxicology and environmental safety 67(2), 296-301. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.07.001.

Besse, J.-P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P. and 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(2), 650-660. https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024.

Charron, L., Geffard, O., Chaumot, A., Coulaud, R., Queau, H., Geffard, A. and Dedourge-Geffard, O. (2013) Effect of water quality and confounding factors on digestive enzyme activities in Gammarus fossarum. Environmental Science and Pollution Research 20(12), 9044-9056. https://doi.org/10.1007/s11356-013-1921-5.

Chaumot, A., Geffard, O., Armengaud, J. and Maltby, L. (2015) Gammarids as Reference Species for Freshwater Monitoring. Aquatic Ecotoxicology, 253-280. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800949-9.00011-5.

Chen, K., Rajper, A.R., Hughes, R.M., Olson, J.R., Wei, H. and Wang, B. (2019) Incorporating functional traits to enhance multimetric index performance and assess land use gradients. Science of the Total Environment 691, 1005-1015. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.047.

Ciliberti, A., Chaumot, A., Recoura-Massaquant, R., Chandesris, A., François, A., Coquery, M., Ferréol, M. and 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. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031.

Clements, W.H., Kashian, D.R., Kiffney, P.M. and Zuellig, R.E. (2016) Perspectives on the context-dependency of stream community responses to contaminants. Freshwater Biology 61(12), 2162-2170. https://doi.org/10.1111/fwb.12599.

Coulaud, R., Geffard, O., Xuereb, B., Lacaze, E., Quéau, H., Garric, J., Charles, S. and 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(19), 6417-6429. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.035.

Davis, S.J., Ó hUallacháin, D., Mellander, P.-E., Kelly, A.-M., Matthaei, C.D., Piggott, J.J. and Kelly-Quinn, M. (2018) Multiple-stressor effects of sediment, phosphorus and nitrogen on stream macroinvertebrate communities. Science of the Total Environment 637-638, 577-587. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.052.

Dedourge-Geffard, O., Charron, L., Hofbauer, C., Gaillet, V., Palais, F., Lacaze, E., Geffard, A. and Geffard, O. (2013) Temporal patterns of digestive enzyme activities and feeding rate in gammarids (Gammarus fossarum) exposed to inland polluted waters. Ecotoxicology and environmental safety 97, 139-146. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.07.016.

Demars, B.O.L., Kemp, J.L., Friberg, N., Usseglio-Polatera, P. and Harper, D.M. (2012) Linking biotopes to invertebrates in rivers: Biological traits, taxonomic composition and diversity. Ecological Indicators 23, 301-311. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.04.011.

Desrosiers, M., Usseglio-Polatera, P., Archaimbault, V., Larras, F., Méthot, G. and Pinel-Alloul, B. (2019) Assessing anthropogenic pressure in the St. Lawrence River using traits of benthic macroinvertebrates. Science of the Total Environment 649, 233-246. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.267.

Dolédec, S. and Chessel, D. (1994) Co-inertia analysis: an alternative method for studying species-environment relationships. Freshwater Biology 31(3), 277-294. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1994.tb01741.x.

Dolédec, S., Phillips, N., Scarsbrook, M., Riley, R.H. and Townsend, C.R. (2006) Comparison of structural and functional approaches to determining landuse effects on grassland stream invertebrate communities. Journal of the North American Benthological Society 25, 44-60. https://doi.org/10.1899/0887-3593(2006)25[44:COSAFA]2.0.CO;2.

Dolédec, S. and Statzner, B. (2008) Invertebrate Traits for the Biomonitoring of Large European Rivers: An Assessment of Specific Types of Human Impact. Freshwater Biology 53(3), 617-634. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2007.01924.x.

Dolédec, S. and Statzner, B. (2010) Responses of freshwater biota to human disturbances: Contribution of J-NABS to developments in ecological integrity assessments. Journal of the North American Benthological Society 29(1), 286-311. https://doi.org/10.1899/08-090.1.

Dray, S., Chessel, D. and Thioulouse, J. (2003) Co-Inertia analysis and the linking of ecological data tables. Ecology 84(11), 3078-3089. https://doi.org/10.1890/03-0178.

Ducrot, V., Usseglio-Polatera, P., Péry, A.R.R., Mouthon, J., Lafont, M., Roger, M.-C., Garric, J. and Férard, J.-F. (2005) Using aquatic macroinvertebrate species traits to build test batteries for sediment toxicity assessment: Accounting for the diversity of potential biological responses to toxicants. Environmental Toxicology and Chemistry 24(9), 2306-2315. https://doi.org/10.1897/04-559R.1.

Dudgeon, D., Arthington, A.H., Gessner, M.O., Kawabata, Z.-I., Knowler, D.J., Lévêque, C., J Naiman, R.J., Prieur-Richard, A.-H., Soto, D., Stiassny, M.L.J. and A Sullivan, C. (2006) Freshwater Biodiversity: Importance, Threats, Status and Conservation Challenges. Biological Reviews 81(2), 163-182. https://doi.org/10.1017/S1464793105006950.

Edegbene, A.O., Arimoro, F.O. and Odume, O.N. (2020) Exploring the distribution patterns of macroinvertebrate signature traits and ecological preferences and their responses to urban and agricultural pollution in selected rivers in the Niger Delta ecoregion, Nigeria. Aquatic Ecology 54, 553-573. https://doi.org/10.1007/s10452-020-09759-9.

Elosegi, A. and Sabater, S. (2013) Effects of hydromorphological impacts on river ecosystem functioning: a review and suggestions for assessing ecological impacts. Hydrobiologia 712(1), 129-143. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1226-6.

Feld, C.K., de Bello, F. and Dolédec, S. (2014) Biodiversity of traits and species both show weak responses to hydromorphological alteration in lowland river macroinvertebrates. Freshwater Biology 59(2), 233-248. https://doi.org/10.1111/fwb.12260.

Floury, M., Usseglio-Polatera, P., Delattre, C. and Souchon, Y. (2017) Assessing long-

term effects of multiple, potentially confounded drivers in ecosystems from species traits. Global Change Biology 23(6), 2297-2307. https://doi.org/10.1111/gcb.13575.

Hering, D., Carvalho, L., Argillier, C., Beklioglu, M., Borja, A., Cardoso, A.C., Duel, H., Ferreira, T., Globevnik, L., Hanganu, J., Hellsten, S., Jeppesen, E., Kodes, V., Lyche Solheim, A., Nõges, T., Ormerod, S., Panagopoulos, Y., Schmutz, S., Venohr, M. and Birk, S. (2015) Managing aquatic ecosystems and water resources under multiple stress — An introduction to the MARS project. Science of the Total Environment 503-504, 10-21. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.106.

Hościło, A. and Tomaszewska, M. (2014) CORINE Land Cover 2012 - 4th CLC inventory completed in Poland. Geoinformation Issues 6, 49-58. https://doi.org/10.34867/gi.2014.4.

IGN (2020) BD TOPO®. Accessed on 09/02/2021. https://geoservices.ign.fr/documentation/diffusion/telechargement-donnees-libres.html#bd-topo.

Kunz, P.Y., Kienle, C. and Gerhardt, A. (2010) Gammarus spp. in Aquatic Ecotoxicology and Water Quality Assessment: Toward Integrated Multilevel Tests. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 205, 1-76. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_1.

Maasri, A. (2019) A Global and Unified Trait Database for Aquatic Macroinvertebrates: The Missing Piece in a Global Approach. Environmental Science 7, 65. https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00065.

Montier, C., Daroussin, J. and King, D. (1998) Cartographie de l'aléa ''Erosion des Sols'' en France. INRA, Orléans.

Naïades Accessed on 09/02/2021. http://www.naiades.eaufrance.fr.

Statzner, B. and Bêche, L.A. (2010) Can biological invertebrate traits resolve effects of multiple stressors on running water ecosystems? Freshwater Biology 55(s1), 80-119. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02369.x.

Steffen, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S.E., Fetzer, I., Bennett, E.M., Biggs, R., Carpenter, S.R., de Vries, W., de Wit, C.A., Folke, C., Gerten, D., Heinke, J., Mace, G.M., Persson, L.M., Ramanathan, V., Reyers, B. and Sörlin, S. (2015) Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. Science 347(6223), 736-746. https://doi.org/10.1126/science.1259855.

Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M. and Usseglio-Polatera, P. (2000) Invertébrés d'eau douce - Systématique, biologie, écologie.

Teichert, N., Borja, A., Chust, G., Uriarte, A. and Lepage, M. (2016) Restoring fish

ecological quality in estuaries: Implication of interactive and cumulative effects among anthropogenic stressors. Science of the Total Environment 542, 383-393. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.068.

Urbanič, G. (2014) Hydromorphological degradation impact on benthic invertebrates in large rivers in Slovenia. Hydrobiologia 729(1), 191-207. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1430-4.

Usseglio-Polatera, P., Richoux, P., Bournaud, M. and Tachet, H. (2001) A functional classification of benthic macroinvertebrates based on biological and ecological traits: Application to river condition assessment and stream management. Archiv für Hydrobiologie 139, 53-83.

Van den Berg, S.J.P., Baveco, H., Butler, E., De Laender, F., Focks, A., Franco, A., Rendal, C. and Van den Brink, P.J. (2019) Modeling the Sensitivity of Aquatic Macroinvertebrates to Chemicals Using Traits. Environmental Science & Technology 53(10), 6025-6034. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b00893.

Van den Brink, P.J., Alexander, A.C., Desrosiers, M., Goedkoop, W., Goethals, P.L.M., Liess, M. and Dyer, S.D. (2011) Traits-based Approaches in Bioassessment and Ecological Risk Assessment - Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats. Integrated Environmental Assessment and Management 7(2), 198-208. https://doi.org/10.1002/ieam.109.

Verberk, W.C.E.P., Siepel, H. and Esselink, H. (2008) Life-history strategies in freshwater macroinvertebrates. Freshwater Biology 53(9), 1722-1738. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2008.02035.x.

Verberk, W.C.E.P., Van Noordwijk, C.G.E. and Hildrew, A.G. (2013) Delivering on a promise: Integrating species traits to transform descriptive community ecology into a predictive science. Freshwater Science 32(2), 531-547. https://doi.org/10.1899/12-092.1.

Villeneuve, B., Piffady, J., Valette, L., Souchon, Y. and Usseglio-Polatera, P. (2018) Direct and indirect effects of multiple stressors on stream invertebrates across watershed, reach and site scales: A structural equation modelling better informing on hydromorphological impacts. Science of the Total Environment 612, 660-671. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.197.

Vörösmarty, C.J., McIntyre, P.B., Gessner, M.O., Dudgeon, D., Prusevich, A., Green, P., Glidden, S., Bunn, S.E., Sullivan, C.A., Liermann, C.R. and Davies, P.M. (2010) Global threats to human water security and river biodiversity. Nature 467, 555-561. https://doi.org/10.1038/nature09440.

Weber, G., Christmann, N., Thiery, A.-C., Martens, D. and Kubiniok, J. (2018) Pesticides in agricultural headwater streams in southwestern Germany and effects on macroinvertebrate populations. Science of the Total Environment 619-620, 638-648. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.155.

Wepener, V. (2013) Active Biomonitoring. Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology, 15-

20. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2_3.

Wilkes, M.A., Edwards, F., Jones, J.I., Murphy, J.F., England, J., Friberg, N., Hering, D., Poff, N.L., Usseglio-Polatera, P., Verberk, W.C.E.P., Webb, J. and Brown, L.E. (2020) Trait-based ecology at large scales: Assessing functional trait correlations, phylogenetic constraints and spatial variability using open data. Global Change Biology 26(12), 7255-7267. https://doi.org/10.1111/gcb.15344.

Zuellig, R.E. and Schmidt, T.S. (2012) Characterizing invertebrate traits in wadeable streams of the contiguous US: differences among ecoregions and land uses. Freshwater Science 31(4), 1042-1056. https://doi.org/10.1899/11-150.1.

CHAPITRE V : DISCUSSION GENERALE

1. Contexte de la thèse et richesse des outils de biosurveillance active

Cette thèse a été conduite à l'interface avec des scientifiques de plusieurs disciplines, et a mobilisé des concepts et des outils relevant de l'écotoxicologie, de l'hydroécologie, des statistiques, de la géographie physique (notamment la cartographie et la géomatique), de la géomorphologie et de l'hydrologie (hydromorphologie). Nous avons eu l'opportunité de travailler sur des jeux de données de contamination chimique biodisponible et de toxicité chimique (issus de la biosurveillance active), nouvellement constitués par les agences de l'eau (à partir de 2009) et de les compiler pour la première fois avec des données de pressions (notamment hydromorphologiques et physico-chimiques) et des métriques biologiques des communautés comme l'I_2M_2. Les jeux de données de la biosurveillance active (contamination biodisponible métallique, contamination biodisponible organique, toxicité chimique létale et toxicité chimique sublétale) sont le résultat de nombreuses années de mesures, réparties sur toute la France. Malgré le fait que ces jeux de données de biosurveillance active ont été les plus complets, les relations émergentes restent très dépendantes des profils de paysages dominants de nos sites. Le développement de ces approches a nécessité un travail d'homogénéisation des données notamment la bancarisation de données de différentes bases de données, la mise en cohérence des coordonnées d'un même site et l'identification des gradients des différentes métriques. Combiner des processus issus de plusieurs disciplines nécessite des échanges d'expertises et aussi un terrain d'entente sur le lexique adopté. Certains outils et concepts d'écotoxicologie et d'écologie peuvent être utilisés entre les disciplines. Par exemple, la considération de l'outil d'encagement de gammares dans la conceptualisation d'études pressions-impacts a été intéressant. L'étude des effets de la pollution chimique en parallèle de multi-pressions sur les communautés devrait être alors plus adoptée. C'est par la combinaison de la complexité des systèmes aquatiques et des stresseurs multiples auxquels ils sont soumis que nous pouvons mieux comprendre les effets sur la biologie et y remédier. La collaboration interdisciplinaire entre les scientifiques est une des conditions pour y parvenir. D'ailleurs, la prise en considération de pressions très différentes à une échelle nationale large est un domaine encore en plein essor, qui nécessite l'acquisition continue de données standards au sein des réseaux de surveillance.

De nombreuses études pressions-impacts se sont déjà intéressées à la quantification des liens entre les pressions anthropiques et les communautés aquatiques, mais souvent sans intégrer la contamination chimique et/ou la toxicité chimique à grande échelle spatiale (Allan 2004, Dahm et al. 2013, Donohue et al. 2006, Gieswein et al. 2017, Lorenz and Feld 2013, Nkwoji et al. 2020, Rios and Bailey 2006, Villeneuve et al. 2018, Villeneuve et al. 2015, Zajicek et al. 2018). Lorsque la contamination chimique est prise en compte dans ces études pressions-impacts elle est le plus souvent qualifiée par la mesure des concentrations en contaminants dans l'eau (Birk et al. 2012, Mondy and Usseglio-Polatera 2013, Weber et al. 2018) ou à l'aide des capteurs passifs (Schmidt et al. 2019), ne permettant pas d'évaluer la fraction des contaminants dite biodisponible, c'est-à-dire celle qui a été accumulée par l'organisme et par conséquent est potentiellement toxique. La biosurveillance active permet de mesurer la contamination chimique biodisponible et la toxicité chimique des milieux aquatiques à grande échelle, via l'utilisation de « sondes biologiques » (organismes calibrés) comme le gammare (Besse et al. 2013, Ciliberti et al. 2017). Ces mesures de contamination chimique biodisponible et de toxicité chimique issues de la biosurveillance active n'avaient pas encore été confrontées aux impacts perçus par les communautés dans un contexte multi-pressions à large échelle spatiale.

Un des buts de ce travail a été de développer des approches pressions-impacts intégrant ces mesures de la contamination chimique biodisponible et de la toxicité chimique et d'évaluer si l'intégration de ces données améliore la compréhension des liens pressions-impacts. Les liens entre les pressions anthropiques et la contamination chimique biodisponible (respectivement métallique et organique) ont alors été quantifiés (Chapitre III). L'impact de la toxicité chimique mesurée dans le milieu sur les communautés dans un contexte multi-pressions a été investigué (respectivement via l'indicateur d'état écologique I_2M_2 et les traits biologiques) (Chapitre IV). L'intégration de ces mesures dans ces deux chapitres, a permis l'identification des sources et des facteurs de transfert majeurs des contaminants dans les cours d'eau pour différents types de contaminants chimiques (adaptation de l'approche possible pour identifier les leviers d'action en gestion) et aussi d'avoir plus de compréhension des liens entre les pressions et les réponses des communautés.

Développer ces approches pressions-impacts en intégrant la contamination biodisponible chimique et la toxicité chimique a permis de travailler sur un nombre

élevé de sites (101 à 245 mesures selon les jeux de données) sans valeurs manquantes pour les sites choisis. Ce travail à large échelle spatiale aurait été plus contraignant si les mesures de contamination étaient mesurées dans l'eau, par exemple, le taux de quantification des HAPs et des PCBs serait alors faible. Inversement, les mesures dans le biote contiennent peu de valeurs sous les limites de quantification et permettent donc de tenir compte de plus de substances quantifiées. Ces mesures sont aussi plus intégratrices que les mesures ponctuelles dans l'eau et le sédiment du fait d'une exposition plus longue dans le milieu (pendant une semaine ou trois semaines). Utiliser des mesures de contamination biodisponible mesurées a également permis de mesurer directement de multiples substances (huits métaux). Si on avait adopté dans nos approches des mesures de contaminants dans l'eau, il aurait fallu estimer la fraction biodisponible par des modèles comme le BLM (*Biotic Ligand Model*). Et cette estimation serait restreinte à uniquement certaines substances métalliques.

2. Liens entre les pressions et la contamination chimique biodisponible

Un cadre conceptuel a été construit pour quantifier les liens entre les pressions anthropiques et la contamination chimique biodisponible à large échelle dans le but de mieux identifier les sources et les facteurs de transferts de la contamination chimique et à terme d'améliorer les propositions d'aménagements. Ce cadre a été développé en se basant sur de la modélisation par équations structurelles PLS-PM, d'abord pour la contamination biodisponible métallique en terme de preuve de concept et ensuite il a été adapté pour la contamination biodisponible organique (HAPs et PCBs). L'atout de ces modèles développés est la considération de multiples pressions (représentées elles aussi par de multiples stresseurs mesurés), ainsi que la prise en compte de multiples échelles spécifiques à chaque pression. Ces deux critères de multi-pressions à des échelles emboitées se sont avérés importants dans l'évaluation des effets des pressions sur la contamination. En effet, pour chaque famille de contaminants (métallique, HAPs et PCBs) les pressions dominantes et leurs échelles étaient différentes. Enfin, ces modèles ont l'avantage de considérer non seulement les effets directs des pressions mais aussi les effets indirects souvent négligés. Les approches développées apportent donc une part importante d'explication de la contamination

métallique et organique (représentée par le coefficient de détermination R^2), représentatives des écosystèmes.

2.1. Pressions dominantes sur la contamination biodisponible métallique

Pour la contamination biodisponible en métaux, le poids des forces motrices comme l'occupation du sol s'est avéré dominant. Cela peut s'expliquer par le caractère intégrateur de l'occupation du sol à grande échelle (bassin versant). L'occupation du sol est un proxy pour des variables de catégories d'occupation du sol (zones urbaines, agricoles et naturelles) (Segurado et al. 2018). Par ailleurs, dans nos résultats, la contamination biodisponible métallique augmente avec l'augmentation des sources plus spécifiques (densité des industries et densités des stations d'épuration) ainsi qu'avec les pressions sur le fonctionnement hydromorphologique et des facteurs de biodisponibilité (pH, carbone organique dissous et dureté de l'eau). La contamination biodisponible métallique diminue en présence de ripisylve qui peut servir de zone tampon. Ces travaux ont permis de valider nos hypothèses de liens entre les pressions et la contamination biodisponible métallique (corrélation positive avec les pressions et corrélation négative avec la ripisylve) et sont en accord avec la littérature identifiée a priori (Garneau et al. 2012, Holt 2000, Hościło and Tomaszewska 2014, Kaushal et al. 2018, Kaushal et al. 2014a, Kaushal et al. 2014b, Leopold 1968, Naiman et al. 2005, Oursel 2013, Rios and Bailey 2006, Steele et al. 2010, Tchounwou et al. 2012, Tormos 2010, Villeneuve et al. 2018, Wang et al. 2008). A l'inverse, Brettschneider et al. (2019) ne mettaient pas en évidence de lien entre la bioconcentration et la restauration hydromorphologique. Il est possible que les différences d'échelles, très locale chez ces auteurs et beaucoup plus large et plus intégratrice dans notre cas expliquent en partie les différences de résultats.

Compiler des données provenant de différentes campagnes effectuées à des dates différentes présente des défis. Nous avons fait face à l'absence de données pour certaines pressions au niveau de certains sites, conduisant soit à réduire le jeu de données mobilisables, soit dans certains cas à ignorer la variable considérée. Et pour certaines variables, des valeurs de contamination biodisponible extrêmes ont été observées sur certains sites, traçant des situations remarquables et très spécifiques avec des sources de contamination chimique très diverses (industrie, site minier et ancienne mine) à proximité, mais pas toujours identifiables. Un exemple est présenté ci-dessous avec l'argent , dont les teneurs en contamination biodisponible présentent une distribution normale, mais également des valeurs extrêmes dans l'étendue [0.52,0.55] (Figure V.1).

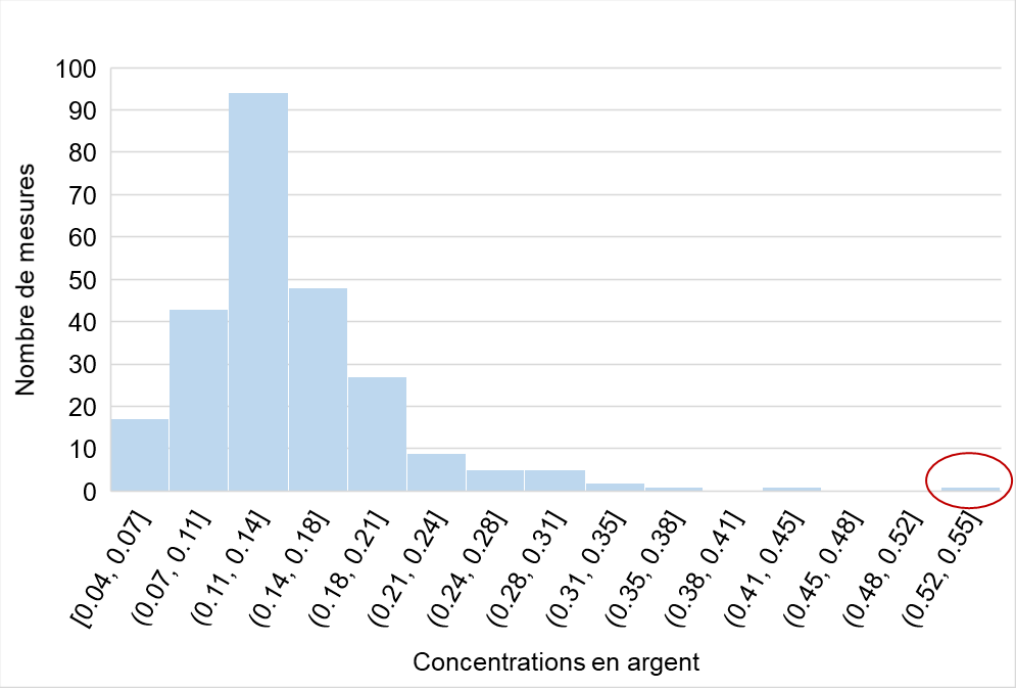


Figure V.1: Distribution de la bioconcentration de l'argent.

2.2. Pressions dominantes sur la contamination biodisponible organique

Afin d'étudier les liens entre les pressions et d'autres types de contamination préoccupante, la contamination en polluants organiques persistants a été choisie. Dans l'étude des liens entre les pressions et la contamination biodisponible en polluants organiques persistants, les bioconcentrations en HAPs et PCBs se sont montrées très faiblement corrélées entre elles. Ces familles de contaminants sont reliées à des pressions dominantes différentes et ont donc été traitées séparement.

Les PCBs sont retrouvés dans les appareils transformateurs et condensateurs électriques, la peinture, les plastiques, les huiles comme dans l'asphalte, etc. (Amiard et al. 2016). Les HAPs sont issus du charbon et des huiles dans les produits du goudron et les produits de la préservation du bois, ils sont aussi générés par la combustion de ces matières organiques (EEA and Whalley 2018). Plus spécifiquement en Europe, les HAPs sont originaires des productions et des traitements de métaux, des échappements de véhicules, de la production d'électricité au charbon, du chauffage domestique et des feux de forêt. Dans nos résultats et au sein de chaque famille, les bioconcentrations dans le gammare étaient corrélées entre elles et aussi à respectivement la somme des HAPs et des $PCB_{indicateurs}$. Ces associations ont permis les représentations respectives des HAPs et des PCBs par la somme des HAPs et la somme des $PCB_{indicateurs}$.

Pour la contamination biodisponible en HAPs, les pressions positivement corrélées sont par ordre d'intensité décroissante : la source ponctuelle de densité urbaine, les nutriments et les matières organiques, les précipitations estivales, la rectitude du cours d'eau et, la source ponctuelle de densité des industries. Ces pressions dominantes figurent aussi dans la littérature et sont présentées ici par quelques exemples.

- Les HAPs sont surtout issus du monde urbain (Barhoumi et al. 2019) tandis que les stations d'épuration ne sont pas des sources fortes en ces composés, qui pour un grand nombre d'entre eux restent associés aux boues.
- Quant au lien entre les nutriments et les polluants organiques, ces deux pressions sont souvent présentes simultanément dans des milieux pollués chimiquement et eutrophisés (Allan 2004).
- Les précipitations sont connues pour mobiliser des contaminants jusqu'au cours d'eau, cela a été mis en avant par plus de contamination en HAPs en hivers et lors des périodes de pluies intenses (Blanchard et al. 2004, Ollivon et al. 1999).
- Les méandres des rivières, modèles naturels de dissipation de l'énergie, permettent de répartir les dépôts de sédiments fins tout en offrant des conditions physiques diversifiées (Garcia et al. 2012). Inversement la rectification des cours d'eau, se base sur un modèle fluvial simplifié (représenté par le proxy utilisé de rectitude) et pourrait s'accompagner de moins d'adsorption des contaminants dans

les sédiments déposés sur les berges et par conséquent une plus forte circulation d'HAPs, notamment lors des épisodes de crue.

- Les industries sont aussi de potentielles sources d'HAPs (Bertrand et al. 2015, Coles et al. 2012).

Pour la contamination biodisponible en PCBs, les effets les plus importants ont été les sources diffuses de densité urbaine, les sources diffuses de densité d'industries, les sources diffuses de densité de routes et, la taille du bassin versant. Cela est en cohérence avec la littérature suivante :

- Les PCBs ne sont plus utilisés en France depuis les années 80 (CIRE 2010) mais circulent encore dans les milieux urbains, industriels et routiers (Diamond et al. 2010).
- Plus le bassin versant est grand, plus le nombre de sources de pollution sera grand et plus il est susceptible de contenir ce type de contaminants.

Nous nous attendions à une quantification du lien connu entre la contamination biodisponible en PCBs et les sédiments, gros réservoir pour ces composés (Hubaux and Perceval 2011) mais cela n'a pas été le cas. Toutefois, la mobilisation des sédiments est principalement générée et modulée par les crues. Le jeu de données disponible et utilisé a été construit à partir d'encagement de gammares effectués hors phénomène de crue, pouvant en partie expliquer la non corrélation observée.

Les effets de rejets de substances issues d'industries plus spécifiques pourraient être investigués. Par exemple, la relation entre les industries pétrochimiques et la contamination biodisponible en HAPs pourrait être quantifiée si les données devenaient plus facilement accessibles. De plus, une donnée quantitative plus directe des rejets des industries dans les cours d'eau serait un descripteur plus spécifique que les surfaces industrielles, la taille et le nombre d'industries. Pour étudier les liens entre les pressions et les polluants organiques persistants, des données sur les anciennes décharges et industries mériteraient également d'être intégrées.

D'autres substances préoccupantes comme les phytosanitaires (notamment les pesticides) et les contaminants émergents (notamment les produits pharmaceutiques) n'étaient pas suivis à grande échelle en biosurveillance active au démarrage de la thèse, et n'ont donc pas été intégrés dans nos approches. Ils font plutôt l'objet de travaux dans des zones spécifiques à une échelle plus réduite comme au niveau des sorties de stations d'épuration (Munz et al. 2018, Münze et al. 2017). Actuellement, avec le développement de la surveillance de ces contaminants, nos approches multi-

pressions et pressions-impacts pourront tout à fait être utilisées pour ces contaminants afin d'étudier leurs effets sur les communautés. Cette ouverture à d'autres substances permettrait de mieux comprendre leur présence afin d'identifier les actions de gestion nécessaires. Cependant, comme les cours d'eau sont soumis à de multiples substances, il ne serait pas possible de suivre par biosurveillance active la totalité des substances existantes. Certaines de ces substances présentent la difficulté d'être peu accumulables (c'est le cas de plusieurs pesticides), il serait donc intéressant de s'orienter vers des approches dites « non ciblées de substances ». Ces approches sont plutôt spécifiques de la réponse toxique globale (inhibition de l'alimentation, retard de mue, etc.) qui sont représentatives des effets de mélanges de contaminants et sont actuellement recommendées (Milinkovitch et al. 2019, Wernersson et al. 2014).

3. Liens entre les pressions et les communautés de macroinvertébrés benthiques

3.1. Effet de la toxicité chimique sur l'état écologique dans un contexte multi-pressions

Les interactions entre les pressions peuvent influencer les effets sur l'état des communautés biologiques et par conséquent sont de plus en plus investiguées. Nous avons émis ici l'hypothèse que la toxicité chimique pouvait aggraver les relations entre les pressions et l'état des communautés à grande échelle. Jusqu'à présent la toxicité des substances chimiques a été peu évaluée sur le terrain et quand c'est le cas elle est déterminée pour quelques sites et sans l'effet d'autres stresseurs (Schäfer et al. 2016). La biosurveillance active permet de s'affranchir de ces limites par des mesures de toxicité chimique létale et sublétale (comme l'inhibition de l'alimentation) à grande échelle. C'est donc la première fois que nous disposons de jeux de données de toxicité chimique dans le milieu à grande échelle spatiale. Nous avons ainsi pu étudier le rôle de la toxicité chimique sur l'I_2M_2 et les liens entre les pressions et l'I_2M_2 ainsi que le potentiel rôle aggravant de la toxicité chimique sur ces relations I_2M_2/stresseurs. Quand la toxicité chimique augmente, le bon état écologique diminue. L'augmentation de la toxicité chimique létale ainsi que celle de la toxicité chimique sublétale étaient accompagnées de la diminution de l'I_2M_2 (loin de l'état de référence). Cette tendance est en accord avec notre hypothèse selon laquelle la toxicité chimique est un stresseur qui peut altérer l'état général des communautés d'invertébrés benthiques. Cette diminution est moins importante avec la toxicité sublétale qu'avec la toxicité létale.

Comme dans la littérature, la toxicité n'est pas directement mesurée dans le milieu à grande échelle, nous comparons nos résultats à des approches tenant compte de la contamination chimique. Ces études ont montré que la contamination chimique (par exemple, les substances organiques (pesticides) ou l'estimation du risque pour un mélange de substances (modélisation msPAF)) peut limiter le bon état écologique (Inostroza et al. 2016, Malaj et al. 2014, Posthuma et al. 2020, Weber et al. 2018).

Les pressions (altération de l'hydromorphologie, excès de nutriments et de matières organiques et, respectivement la toxicité chimique létale et sublétale), étaient négativement corrélées avec l'I_2M_2, contrairement aux facteurs naturels comme l'oxygénation de l'eau ou la présence de ripisylve. Ces relations obtenues étaient attendues et ont largement été rapportées dans la littérature. Par exemple, l'intégrité écologique des communautés de macroinvertébrés benthiques est affectée par la physico-chimie (les nutriments) et les altérations hydromorphologiques (Shi et al. 2019). Selon les contextes géographiques, la toxicité chimique influence plus ou moins les communautés biologiques, en relation avec l'intensité des altérations généralisées comme celles de l'altération hydromorphologique et l'enrichissement en nutriments (Lemm et al. 2020). Nous avons également vu qu'en environnement toxique (toxicité chimique létale), certaines relations I_2M_2/stresseurs sont aggravées, en diminuant significativement par exemple l'effet protecteur des ripisylves avec des valeurs d'I_2M_2 plus faibles (plus loins de l'état de référence). Pour la toxicité chimique sublétale forte, les relations des stresseurs suivants (enrichissement en nutriments, oxygénation, irrigation, drainage, franchissement des routes, imperméabilisation par l'urbanisation, ripisylve à 10 m et à 30 m) avec l'I_2M_2 étaient aggravées significativement. L'effet combiné entre les nutriments et les substances chimiques toxiques sur l'état écologique a déjà été mis en évidence dans la littérature par une aggravation des relations en l'occurrence de la toxicité chimique (Alexander et al. 2013, Lemm et al. 2020, Rasmussen et al. 2012).

Les effets individuels des pressions, incluant la toxicité chimique, sur l'état écologique des communautés ont été étudiés par de la modélisation par équations structurelles. L'effet de la toxicité chimique sur l'I_2M_2 a été quantifié. Quand la toxicité chimique augmente, le bon état écologique diminue. Nous nous attendions à avoir plus d'effet de la toxicité chimique mais cela pourrait dépendre de la construction du modèle d'équations structurelles avec des liens plus nombreux pour les autres pressions. Les pressions dominantes (nutriments et matières organiques et, altérations

hydromorphologiques) sont déjà mises en avant dans d'autres études, tel que souvent les communautés biologiques sont influencées majoritairement par l'altération de l'hydromorphologie et l'enrichissement en nutriments et puis la toxicité chimique (Lemm et al. 2020).

Les liens quantifiés recherchés sont dépendants de la structure géographique du jeu de données « hérité » c'est-à-dire construit par différents opérateurs sans stratégie d'échantillonnage a priori vis-à-vis de la synchronisation entre la biosurveillance active, les pressions et la réponse des communautés. La durée d'exposition des gammares est de 7 jours. Si cette durée d'exposition permet d'évaluer le niveau de contamination et de toxicité chimique d'un milieu, en revanche l'intégration temporelle reste une limite au regard des réponses obtenues au niveau des communautés. Certains flashs de contaminations ponctuels dans le temps peuvent ne pas être pris en compte s'ils ont lieu à un moment différent de l'encagement des gammares. La variabilité de la contamination est dépendante des contextes, par exemple, les rejets des stations d'épuration sont plutôt constants dans l'année, alors que les rejets des pesticides dans les cours d'eau sont plus variables (saisonnabilité possible et influence de la précipitation). Peut-être qu'il faudrait considérer un suivi plus continue dans le temps pour les encagements de gammares, les suivis des communautés et les pressions. Cela permettrait d'étudier d'abord la tendance temporelle de chaque métrique et de voir si les relations déterminées entre la toxicité chimique et les communautés à une date donnée sont représentatives des liens existants sur une échelle de temps plus longue.

Les encagements ont lieu hors période de crue pour mesurer uniquement la réponse chimique et donc la prise en compte de phénomènes hydrologiques extrêmes comme les crues n'a pas été considérée. Il est possible également de cibler des dates associées à un fonctionnement d'intérêt du cours d'eau notamment pour les évènements extrêmes comme les crues, les étiages et lors des flashs de nutriments. Par exemple, les crues peuvent influencer sur la mise en circulation de sédiments fins auxquels peuvent être adsorbés les contaminants potentiellement toxiques, arrivant ainsi plus facilement aux communautés de macroinvertébrés. Nous suggérons de ne pas tenir compte des évènements extrêmes comme les crues mais plutôt de leurs conséquences, comme les réponses des communautés sont des réponses intégratrices des pressions au fils du temps. Des échantillonnages peuvent avoir lieu après les crues. La stratégie d'échantillonnage peut se focaliser sur les stations du

réseau national de surveillance des eaux de surface pour lesquelles nous avons des suivis hydrologiques (identifiant les crues et les étiages) et des suivis biologiques.

La toxicité chimique, mesurée par encagement de gammare et intégrée dans ces approches pressions-impacts, pourrait être complétée par l'évaluation de la toxicité par d'autres sondes biologiques. Disposer de plusieurs mesures de toxicité issues de différentes sondes de biosurveillance active pourrait montrer une réponse toxique plus complète et potentiellement mettre en avant plus de liens entre la toxicité et les communautés.

3.2. Liens entre la toxicité chimique et les traits biologiques dans un contexte de multi-pressions

Comme l'état écologique a été représenté de façon globale par l'I_2M_2, nous nous sommes demandés si certaines fonctions particulières des communautés de macroinvertébrés benthiques pouvaient être affectées par la toxicité chimique. Pour évaluer les liens entre la toxicité chimique et les fonctions des communautés dans un contexte multi-pressions, nous avons pu identifier par une analyse de co-inertie des associations de stresseurs, incluant la toxicité chimique, avec des modalités de traits biologiques des communautés de macroinvertébrés benthiques. Les associations entre les stresseurs et les modalités de traits biologiques se sont montrées cohérentes, allant dans le sens de nos hypothèses. Les stresseurs anthropiques (toxicité chimique létale, toxicité chimique sublétale, occupation du sol anthropique, altérations hydromorphologiques et, nutriments et matières organiques) ont été associés à des modalités de traits (grandes tailles, plusieurs nombres de générations par an, adultes, ovoviviparité, œufs libres, dispersion aquatique passive, diapause ou dormance, fouisseurs, alimentation à base de micro-invertébrés et filtreurs). Ces résultats vont dans le sens selon lequel une zone exposée aux stresseurs chimique présente en général des communautés plus tolérantes (Clements et al. 2016). Les organismes qui s'alimentent des dépôts et les filtreurs sont souvent présents dans ces zones alterrées avec plus de matières organiques fines. Inversement, les facteurs environnementaux « protecteurs » ont été associés aux modalités de traits sensibles aux altérations (petites tailles, moins d'une génération par an, larve, œufs isolés fixés, œufs isolés libres, œufs terrestres, dispersion active aérienne, stigmate, plastron, rampeurs, alimentation de microphytes vivants et racleur). Les déchiqueteurs et les racleurs sont

souvent présents dans les zones moins altérées. Nous observons donc des tendances d'associations générales vis-à-vis des signatures de communautés plus ou moins altérées et n'identifions pas des associations plus fines et spécifiques de chaque stresseur notamment la toxicité chimique avec les modalités de traits biologiques. Voici quelques exemples évoqués dans la littérature des modalités de traits biologiques qui s'associent aux stresseurs et celles qui sont présentes dans des milieux non stressés:

- L'ovoviviparité est adoptée par les organismes pour limiter la mortalité accrue avec l'augmentation des pressions notamment la pression chimique (Ducrot et al. 2005). C'est également une modalité de trait associée à la résilience (Bonada et al. 2007).
- La pollution organique, associée à un déficit en dioxygène, conduit à une préférence pour les organismes avec une respiration aérienne (Dolédec and Statzner 2010).
- Avec la pollution en métaux, les organismes sont plus de petite taille, à respiration brachiale et les prédateurs dominent. La réduction de la taille induirait une moindre exposition au polluant (Dolédec et al. 2006, Statzner and Bêche 2010).

Cette approche fonctionnelle a permis une identification des associations toxicité/traits et ce type d'approche est donc suggéré. La composition taxonomique des commuautés peut être définie pour identifier les taxons associés aux modalités de traits mis en évidence dans notre approche (notamment la taille maximale, le stade aquatique, la reproduction et, le mode de locomotion et la relation avec le substrat). Pour étudier des réponses des communautés basées sur d'autres métriques fonctionnelles, des indicateurs de diversité fonctionnelle pourront être utilisés pour représenter les communautés. L'atout de la diversité fonctionnelle des communautés est de lier l'environnement, la structure (abondance) des communautés et les propriétés écosystémiques (Villeger 2008). La diversité fonctionnelle peut être représentée par différents indicateurs comme la richesse fonctionnelle (volume fonctionnel de l'espace occupé par la communauté), la régularité fonctionnelle (régularité de la distribution de l'abondance dans ce volume) et, la divergence fonctionnelle (divergence dans la distribution de l'abondance dans ce volume) (Villéger et al. 2008) représentés dans la Figure V.2 d'après Mouillot et al. (2013).

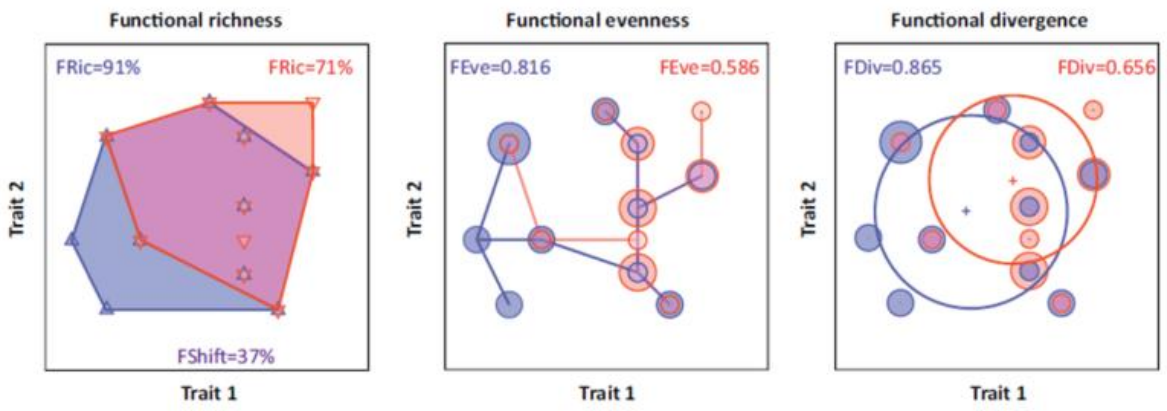


Figure V.2: Figure représentant des métriques de la diversité fonctionnelle d'après Mouillot et al. (2013) avec les espèces sous forme de points et l'abondance des espèces suivant la taille des cercles remplis.

4. Intérêts des approches développées pour la gestion des milieux

L'approche faisant les liens entre les pressions et la contamination chimique biodisponible présente un fort intérêt en gestion de milieux aquatiques. La sortie de ce travail permet ou permettrait à terme d'identifier des leviers d'action en se basant sur la considération de multi-échelles et de multi-processus et, en déterminant les sources ou les pressions fortes sur les communautés. Les pressions dominantes impliquées dans le devenir et le niveau de contamination en HAPs et en métaux ont pu être identifiées, ce qui ouvre la question d'aménagements possibles (réduction des activités émettrices, limitation de l'imperméabilisation ou développement des zones tampons). Pour les PCBs, qui ne sont plus utilisés et dont la présence est très diffuse dans les milieux, il est difficile de proposer des actions de remédiation. La Figure V.3 adaptée de Sarkis et al. (2021) illustre cette différence de pressions dominantes à des échelles différentes entre les HAPs et les PCBs mise en évidence dans nos approches. L'approche liant les pressions et l'I_2M_2 peut servir de base méthodologique pour comprendre le rôle des pressions, incluant la toxicité chimique, sur l'état général des communautés de macroinvertébrés benthiques et leurs fonctions. En conservant les mêmes contextes de pressions (c'est-à-dire les mêmes gradients) et à partir des relations obtenues (corrélations), des prédictions des risques de contamination sont possibles pour des bassins versants précis. La prédiction spatiale pourrait donc être envisagée mais la prédiction temporelle des risques de contamination semble plus

compliquée comme le contexte des sites peut varier au fils du temps suite aux actions de remédiation.

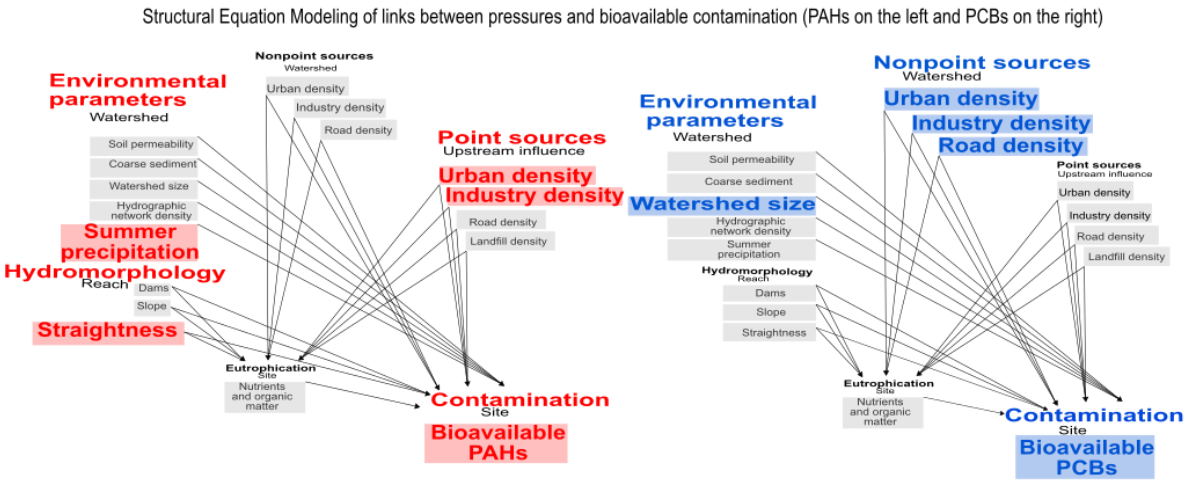


Figure V.3 : Contraste entre les pressions dominantes sur les HAPs et les PCBs (Figure adaptée de Sarkis et al. 2021).

Références

Alexander, A.C., Luis, A.T., Culp, J.M., Baird, D.J. and Cessna, A.J. (2013) Can nutrients mask community responses to insecticide mixtures? Ecotoxicology 22(7), 1085-1100. https://doi.org/10.1007/s10646-013-1096-3.

Allan, J.D. (2004) Influence of Land Use and Landscape Setting on the Ecological Status of Rivers. Limnetica 23(3-4), 187-198.

Amiard, J.C., Meunier, T. and Babut, M. (2016) PCB, environnement et santé. Barhoumi, B., Beldean-Galea, M.S., Al-Rawabdeh, A.M., Roba, C., Martonos, I.M., Bălc, R., Kahlaoui, M., Touil, S., Tedetti, M., Driss, M.R. and Baciu, C. (2019) Occurrence, distribution and ecological risk of trace metals and organic pollutants in surface sediments from a Southeastern European river (Someşu Mic River, Romania). Science of the Total Environment 660, 660-676. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.428.

Bertrand, O., Mondamert, L., Grosbois, C., Dhivert, E., Bourrain, X., Labanowski, J. and Desmet, M. (2015) Storage and source of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments downstream of a major coal district in France. Environmental Pollution 207, 329-340. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.09.028.

Besse, J.-P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P. and 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(2), 650-660. https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024.

Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., van de Bund, W., Zampoukas, N. and Hering, D. (2012) Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. Ecological Indicators 18, 31-41. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.10.009.

Blanchard, M., Teil, M.J., Ollivon, D., Legenti, L. and Chevreuil, M. (2004) Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorobiphenyls in wastewaters and sewage sludges from the Paris area (France). Environmental Research 95(2), 184-197. https://doi.org/10.1016/j.envres.2003.07.003.

Bonada, N., Dolédec, S. and Statzner, B. (2007) Taxonomic and biological trait differences of stream macroinvertebrate communities between mediterranean and temperate regions: implications for future climatic scenarios. Global Change Biology 13(8), 1658-1671. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01375.x.

Brettschneider, D.J., Misovic, A., Schulte-Oehlmann, U., Oetken, M. and Oehlmann, J. (2019) Poison in paradise: increase of toxic effects in restored sections of two rivers jeopardizes the success of hydromorphological restoration measures. Environmental Sciences Europe 31(1), 1-20. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0218-9.

Ciliberti, A., Chaumot, A., Recoura-Massaquant, R., Chandesris, A., François, A., Coquery, M., Ferréol, M. and 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. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031.

CIRE (2010) PCB (Polychlorobiphényles). Accessed on 09/10/2020. https://www.rhone-mediterranee.eaufrance.fr/gestions-des-pollutionspollution-par-les-pcb/fiches-substances

Clements, W.H., Kashian, D.R., Kiffney, P.M. and Zuellig, R.E. (2016) Perspectives on the context-dependency of stream community responses to contaminants. Freshwater Biology 61(12), 2162-2170. https://doi.org/10.1111/fwb.12599.

Coles, J.F., McMahon, G., Bell, A.H., Brown, L.R., Fitzpatrick, F.A., Scudder Eikenberry, B.C., Woodside, M.D., Cuffney, T.F., Bryant, W.L., Cappiella, K., Fraley-McNeal, L. and Stack, W.P. (2012) Effects of urban development on stream ecosystems in nine metropolitan study areas across the United States. U.S. Geological Survey Circular 1373, 138. https://pubs.usgs.gov/circ/1373/.

Dahm, V., Hering, D., Nemitz, D., Wolfram, G., Schmidt-Kloiber, A., Leitner, P., Melcher, A. and Feld, C.K. (2013) Effects of Physico-Chemistry, Land Use and Hydromorphology on Three Riverine Organism Groups: A Comparative Analysis with Monitoring Data from Germany and Austria. Hydrobiologia 704, 389-415. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1431-3.

Diamond, M.L., Melymuk, L., Csiszar, S.A. and Robson, M. (2010) Estimation of PCB

Stocks, Emissions, and Urban Fate: Will our Policies Reduce Concentrations and Exposure? Environmental Science & Technology 44(8), 2777-2783. https://doi.org/10.1021/es9012036.

Dolédec, S., Phillips, N., Scarsbrook, M., Riley, R.H. and Townsend, C.R. (2006) Comparison of structural and functional approaches to determining landuse effects on grassland stream invertebrate communities. Journal of the North American Benthological Society 25, 44-60. https://doi.org/10.1899/0887-3593(2006)25[44:COSAFA]2.0.CO;2.

Dolédec, S. and Statzner, B. (2010) Responses of freshwater biota to human disturbances: Contribution of J-NABS to developments in ecological integrity assessments. Journal of the North American Benthological Society 29(1), 286-311. https://doi.org/10.1899/08-090.1.

Donohue, I., McGarrigle, M.L. and Mills, P. (2006) Linking catchment characteristics and water chemistry with the ecological status of Irish rivers. Water Research 40(1), 91-98. https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.10.027.

Ducrot, V., Usseglio-Polatera, P., Péry, A.R.R., Mouthon, J., Lafont, M., Roger, M.-C., Garric, J. and Férard, J.-F. (2005) Using aquatic macroinvertebrate species traits to build test batteries for sediment toxicity assessment: Accounting for the diversity of potential biological responses to toxicants. Environmental Toxicology and Chemistry 24(9), 2306-2315. https://doi.org/10.1897/04-559R.1.

EEA and Whalley, C. (2018) Chemicals in European waters. Knowledge developments. European Environmental Agency, Luxembourg EEA Report No 18/2018, 80.

Garcia, X.F., Schnauder, I. and Pusch, M.T. (2012) Complex hydromorphology of meanders can support benthic invertebrate diversity in rivers. Hydrobiologia 685(1), 49-68. https://doi.org/10.1007/s10750-011-0905-z.

Garneau, C., Sauvage, S., Sanchez-Perez, J.M., Hong, Y., Aubert, D. and Probst, A. (2012) Modelling multi-pollutant fate in a large river: Role of hydro-morphological and physicochemical parameters. International Congress on Environmental Modelling and Software 179, 1-9. https://scholarsarchive.byu.edu/iemssconference/2012/Stream-B/179.

Gieswein, A., Hering, D. and Feld, C.K. (2017) Additive effects prevail: The response of biota to multiple stressors in an intensively monitored watershed. Science of the Total Environment 593-594, 27-35. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.116.

Holt, M.S. (2000) Sources of chemical contaminants and routes into the freshwater environment. Food and Chemical Toxicology 38, S21-S27. https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00136-2.

Hościło, A. and Tomaszewska, M. (2014) CORINE Land Cover 2012 - 4th CLC

inventory completed in Poland. Geoinformation Issues 6, 49-58. https://doi.org/10.34867/gi.2014.4.

Hubaux, N. and Perceval, O. (2011) Pollution des milieux aquatiques par les polychlorobiphényles (PCB) en France : principaux enjeux de gestion et lacunes identifiées dans les connaissances environnementales. Rapport final ONEMA, 52.

Inostroza, P.A., Wicht, A.-J., Huber, T., Nagy, C., Brack, W. and Krauss, M. (2016) Body burden of pesticides and wastewater-derived pollutants on freshwater invertebrates: Method development and application in the Danube River. Environmental Pollution 214, 77-85. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.03.064.

Kaushal, S.S., Gold, A.J., Bernal, S., Newcomer Johnson, T.A., Addy, K., Burgin, A., Burns, D.A., Coble, A.A., Hood, E., Lu, Y., Mayer, P., Minor, E.C., Schroth, A.W., Vidon, P., Wilson, H., Xenopoulos, M.A., Doody, T., Galella, J.G., Goodling, P., Haviland, K., Haq, S., Wessel, B., Wood, K.L., Jaworski, N. and Belt, K.T. (2018) Watershed 'chemical cocktails': forming novel elemental combinations in Anthropocene fresh waters. Biogeochemistry 141, 281-305. https://doi.org/10.1007/s10533-018-0502-6.

Kaushal, S.S., Mayer, P.M., Vidon, P.G., Smith, R.M., Pennino, M.J., Newcomer, T.A., Duan, S., Welty, C. and Belt, K.T. (2014a) Land use and climate variability amplify carbon, nutrient, and contaminant pulses: a review with management implications. Journal of the American Water Resources Association 50(3), 585–614. https://doi.org/10.1111/jawr.12204.

Kaushal, S.S., Mcdowell, W.H. and Wollheim, W.M. (2014b) Tracking evolution of urban biogeochemical cycles: past, present, and future. Biogeochemistry 121, 1-21. https://doi.org/10.1007/s10533-014-0014-y.

Lemm, J.U., Venohr, M., Globevnik, L., Stefanidis, K., Panagopoulos, Y., van Gils, J., Posthuma, L., Kristensen, P., Feld, C.K., Mahnkopf, J., Hering, D. and Birk, S. (2020) Multiple stressors determine river ecological status at the European scale: Towards an integrated understanding of river status deterioration. Global Change Biology 27(9), 1962-1975. https://doi.org/10.1111/gcb.15504.

Leopold, L.B. (1968) Hydrology for urban land planning - A guidebook on the hydrologic effects of urban land use. Circular 554, 1-26. https://doi.org/10.3133/cir554.

Lorenz, A.W. and Feld, C.K. (2013) Upstream river morphology and riparian land use overrule local restoration effects on ecological status assessment. Hydrobiologia 704, 489-501. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1326-3.

Malaj, E., von der Ohe, P.C., Grote, M., Kühne, R., Mondy, C.P., Usseglio-Polatera, P., Brack, W. and Schäfer, R.B. (2014) Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 111(26), 9549-9554. https://doi.org/10.1073/pnas.1321082111.

Milinkovitch, T., Geffard, O., Geffard, A., Mouneyrac, C., Chaumot, A., Xuereb, B., Fisson, C., Minier, C., Auffret, M., Perceval, O., Egea, E. and Sanchez, W. (2019) Biomarkers as tools for monitoring within the Water Framework Directive context: concept, opinions and advancement of expertise. Environmental Science and Pollution Research 26(32), 32759-32763. https://doi.org/10.1007/s11356-019-06434-x.

Mondy, C.P. and Usseglio-Polatera, P. (2013) Using conditional tree forests and life history traits to assess specific risks of stream degradation under multiple pressure scenario. Science of the Total Environment 461-462, 750-760. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.05.072.

Mouillot, D., Graham, N.A.J., Villéger, S., Mason, N.W.H. and Bellwood, D.R. (2013) A functional approach reveals community responses to disturbances. Trends Ecol Evol 28(3), 167-177. https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.10.004.

Munz, N.A., Fu, Q., Stamm, C. and Hollender, J. (2018) Internal Concentrations in Gammarids Reveal Increased Risk of Organic Micropollutants in Wastewater-Impacted Streams. Environmental Science & Technology 52(18), 10347-10358. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03632.

Münze, R., Hannemann, C., Orlinskiy, P., Gunold, R., Paschke, A., Foit, K., Becker, J., Kaske, O., Paulsson, E., Peterson, M., Jernstedt, H., Kreuger, J., Schüürmann, G. and Liess, M. (2017) Pesticides from wastewater treatment plant effluents affect invertebrate communities. Science of the Total Environment 599-600, 387-399. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.008.

Naiman, R.J., Décamps, H. and McClain, M.E. (2005) Riparia: Ecology, Conservation and Management of Streamside Communities. 56(4). https://doi.org/10.1016/B978-012663315-3/50003-4.

Nkwoji, J.A., Ugbana, S.I. and Ina-Salwany, M.Y. (2020) Impacts of land-based pollutants on water chemistry and benthic macroinvertebrates community in a coastal lagoon, Lagos, Nigeria. Scientific African 7, e00220. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00220.

Ollivon, D., Blanchard, M. and Garban, B. (1999) PAH Fluctuations in Rivers in the Paris Region (France): Impact of Floods and Rainy Events. Water, Air, and Soil Pollution 115, 429-444. https://doi.org/10.1023/A:1005162128490.

Oursel, B. (2013) Transferts et dynamique des contaminants métalliques en zone côtière. : Impact d'une grande agglomération méditerranéenne. 1-233. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01132521.

Posthuma, L., Zijp, M.C., De Zwart, D., Van de Meent, D., Globevnik, L., Koprivsek, M., Focks, A., Van Gils, J. and Birk, S. (2020) Chemical pollution imposes limitations to the ecological status of European surface waters. Scientific Reports 10(1), 14825. https://doi.org/10.1038/s41598-020-71537-2.

Rasmussen, J.J., Wiberg-Larsen, P., Baattrup-Pedersen, A., Friberg, N. and

Kronvang, B. (2012) Stream habitat structure influences macroinvertebrate response to pesticides. Environmental Pollution 164, 142-149. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.01.007.

Rios, S.L. and Bailey, R.C. (2006) Relationship between Riparian Vegetation and Stream Benthic Communities at Three Spatial Scales. Hydrobiologia 553(1), 153-160. https://doi.org/10.1007/s10750-005-0868-z.

Sarkis, N., Meymy, C., Geffard, O., Souchon, Y., Chandesris, A., Ferréol, M., Valette, L., Recoura-Massaquant, R., Piffady, J., Chaumot, A. and Villeneuve, B. (2021) Quantification of multi-scale links of anthropogenic pressures with PAH and PCB bioavailable contamination in French freshwaters. Water Research 203, 117546. https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117546.

Schäfer, R.B., Kühn, B., Malaj, E., König, A. and Gergs, R. (2016) Contribution of organic toxicants to multiple stress in river ecosystems. Freshwater Biology 61(12), 2116-2128. https://doi.org/10.1111/fwb.12811.

Schmidt, T.S., Van Metre, P.C. and Carlisle, D.M. (2019) Linking the Agricultural Landscape of the Midwest to Stream Health with Structural Equation Modeling. Environmental Science & Technology 53(1), 452-462. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04381.

Segurado, P., Almeida, C., Neves, R., Ferreira, M.T. and Branco, P. (2018) Understanding multiple stressors in a Mediterranean basin: Combined effects of land use, water scarcity and nutrient enrichment. Science of the Total Environment 624, 1221-1233. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.201.

Shi, X., Liu, J., You, X., Bao, K. and Meng, B. (2019) Shared effects of hydromorphological and physico-chemical factors on benthic macroinvertebrate integrity for substrate types. Ecological Indicators 105, 406-414. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.02.028.

Statzner, B. and Bêche, L.A. (2010) Can biological invertebrate traits resolve effects of multiple stressors on running water ecosystems? Freshwater Biology 55(s1), 80-119. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02369.x.

Steele, M.K., McDowell, W.H. and Aitkenhead-Peterson, J.A. (2010) Chemistry of Urban, Suburban and Rural Surface Waters. Urban Ecosystem Ecology 55, 297-339. https://doi.org/10.2134/agronmonogr55.c15.

Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K. and Sutton, D.J. (2012) Heavy metal toxicity and the environment. Molecular, Clinical and Environmental Toxicology 101, 133-164. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6.

Tormos, T. (2010) Analyse à l'échelle régionale de l'impact de l'occupation du sol dans les corridors rivulaires sur l'état écologique des cours d'eau. 1-508. https://hal.archives-ouvertes.fr/tel-02594032/.

Villeger, S. (2008) Dynamique de la diversité fonctionnelle des communautés de

poissons (Lagune de Terminos, Mexique). https://archimer.ifremer.fr/doc/2008/these-6178.pdf.

Villéger, S., Mason, N.W.H. and Mouillot, D. (2008) New multidimensional functional diversity indices for a multifaced framework in functional ecology. Ecology 89(8), 2290-2301. https://doi.org/10.1890/07-1206.1.

Villeneuve, B., Piffady, J., Valette, L., Souchon, Y. and Usseglio-Polatera, P. (2018) Direct and indirect effects of multiple stressors on stream invertebrates across watershed, reach and site scales: A structural equation modelling better informing on hydromorphological impacts. Science of the Total Environment 612, 660-671. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.197.

Villeneuve, B., Souchon, Y., Usseglio-Polatera, P., Ferréol, M. and Valette, L. (2015) Can we predict biological condition of stream ecosystems? A multi-stressors approach linking three biological indices to physico-chemistry, hydromorphology and land use. Ecological Indicators 48, 88-98. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.07.016.

Wang, L., Brenden, T., Seelbach, P., Cooper, A., Allan, D., Clarck Jr, R. and Wiley, M. (2008) Landscape based identification of human disturbance gradients and reference conditions for Michigan streams. Environmental Monitoring and Assessment 144(1), 483-484. https://doi.org/10.1007/s10661-008-0397-0.

Weber, G., Christmann, N., Thiery, A.-C., Martens, D. and Kubiniok, J. (2018) Pesticides in agricultural headwater streams in southwestern Germany and effects on macroinvertebrate populations. Science of the Total Environment 619-620, 638-648. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.155.

Wernersson, A.-S., Maggi, C. and Carere, M. (2014) Technical report on aquatic effect-based monitoring tools. Technical Report 2014–077. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. https://op.europa.eu/fr/publication-detail/-/publication/5da59ae1-6964-417c-9511-1ff983b76709.

Zajicek, P., Radinger, J. and Wolter, C. (2018) Disentangling multiple pressures on fish assemblages in large rivers. Science of the Total Environment 627, 1093-1105. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.307.

CONCLUSION

Au cours de cette thèse nous avons répondu à deux buts principaux : l'évaluation des liens entre les pressions et la contamination chimique biodisponible ainsi que l'identification du rôle de la toxicité chimique sur les réponses des communautés dans un contexte multi-pressions.

Nous avons d'abord opté pour un cadre méthodologique permettant de quantifier les liens entre les pressions anthropiques et la contamination chimique biodisponible. Nous avons quantifié les liens entre les pressions anthropiques et la contamination biodisponible en métaux. Quand toutes les pressions (occupation du sol, densité des industries, densité des stations d'épuration, pressions sur le fonctionnement hydromorphologique et facteurs de biodisponibilité) augmentent, la contamination biodisponible métallique augmente. Et quand la protection par la ripisylve augmente, la contamination biodisponible métallique diminue. Nous avons quantifié les liens entre les pressions anthropiques et la contamination biodisponible en HAPs et PCBs. La contamination biodisponible en HAPs augmente avec l'augmentation des pressions ponctuelles (sources ponctuelles de densités urbaines, nutriments et matières organiques et sources ponctuelles de densités des industries) et d'une pression diffuse (précipitations estivales). Pour les PCBs, ils augmentent avec l'augmentation des sources de contamination diffuses. Cette famille de contaminant est témoin d'une forte imprégnation historique des bassins, alors que ces sources de production et d'utilisation sont désormais bannies.

Nous avons évalué le rôle de la toxicité chimique (létale et sublétale) sur les relations état écologique/stresseurs (plus spécifiquement pour les nutriments et les matières organiques, et l'altération hydromorphologique). Nous avons également évalué les effets des pressions, incluant la toxicité chimique, sur l'état des communautés de macroinvertébrés benthiques. Plus la toxicité chimique était forte, plus la relation état écologique/stresseur était aggravée. L'état écologique, représenté par l'I_2M_2, s'éloigne de la référence avec l'augmentation de chacune des pressions, incluant la toxicité chimique. Enfin, nous avons identifié aussi les associations entre les stresseurs (des pressions occupation du sol, l'altération hydromorphologique, les nutriments et les matières organiques, la toxicité chimique létale et la toxicité chimique sublétale) et les traits biologiques des communautés de macroinvertébrés benthiques. Les univers à forte densité de stresseurs se distinguent nettement des espaces moins

anthropisés, avec également des associations de traits caractéristiques des deux ensembles de milieu anthropisé et naturel. Nous avons identifié des associations des traits de façon globale avec les stresseurs incluant cette toxicité chimique.

En résumé, nous avons pu intégrer pour la première fois la contamination chimique biodisponible et la toxicité chimique du milieu dans des approches multi-pressions et pressions-impacts. Nous avons quantifié les effets des causes potentielles de la contamination chimique. Mais aussi, nous avons mis en évidence le rôle de la toxicité chimique sur les communautés (suivant un indicateur global de l'état écologique des communautés et des traits biologiques) dans un contexte de multi-pressions.