



**HAL**  
open science

## **Dynamiques écologiques temporelles des lacs du littoral aquitain - DYLAQ. Tome 4: Interactions biologiques et impacts écotoxicologiques**

Soizic Morin, Arnaud Chaumot, Olivier Geffard, Adeline François, Aurélien Jamoneau, Gwilherm Jan, Julie Neury-Ormanni, Jacky Vedrenne, Margot Wagner

### ► To cite this version:

Soizic Morin, Arnaud Chaumot, Olivier Geffard, Adeline François, Aurélien Jamoneau, et al.. Dynamiques écologiques temporelles des lacs du littoral aquitain - DYLAQ. Tome 4: Interactions biologiques et impacts écotoxicologiques. [Rapport de recherche] INRAE UR EABX. 2022, 53 p. hal-03602225

**HAL Id: hal-03602225**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03602225v1>**

Submitted on 8 Mar 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.



Centre

Nouvelle-Aquitaine Bordeaux

**INRAE**



## **Dynamiques écologiques temporelles des lacs du littoral aquitain – DYLAQ**

Tome 4 : Interactions biologiques et impacts écotoxicologiques

# Dynamiques écologiques temporelles des lacs du littoral aquitain – DYLAQ

## TOME 4 : Interactions biologiques et impacts écotoxicologiques

*La rédaction de cet ouvrage a été coordonnée par :*

Soizic Morin<sup>1</sup>

*Avec la participation de :*

Arnaud Chaumot<sup>2</sup>

Olivier Geffard<sup>2</sup>

Adeline François<sup>2</sup>

Aurélien Jamoneau<sup>1</sup>

Gwilherm Jan<sup>1</sup>

Julie Neury-Ormanni<sup>1</sup>

Jacky Vedrenne<sup>1</sup>

Margot Wagner<sup>1</sup>

Mars 2022

---

<sup>1</sup> INRAE, UR EABX Ecosystèmes Aquatiques et Changements Globaux

<sup>2</sup> INRAE, UR RiverLy Fonctionnement des Hydrosystèmes

**Remerciements :**

Ces travaux ont bénéficié du soutien financier de l'Agence de l'Eau Adour Garonne.

**Citation recommandée :**

Morin S., Chaumot A., Geffard O., François A., Jamoneau A., Jan G., Neury-Ormanni J., Vedrenne J., Wagner M. (2022) Dynamiques écologiques temporelles des lacs du littoral aquitain - Tome 4 : Interactions biologiques et impacts écotoxicologiques. Rapport d'étude, INRAE EABX, Cestas. 53 p.



# Table des matières

Objectifs et résultats principaux.....	2
<b>Axe 1 : Influence des relations biotiques sur la structuration des communautés et leur réponse aux conditions du milieu .....</b>	<b>4</b>
Interactions biologiques et impacts écotoxicologiques.....	5
Comportement alimentaire d'un microbrouteur polluosensible sous pression herbicide et/ou insecticide.....	12
Elaboration d'une base de données recensant les traits morphofonctionnels de la microméiofaune des biofilms d'eau douce.....	18
Conclusions générales – Axe 1.....	26
Bibliographie citée.....	28
<b>Axe 2 : Adaptation du protocole de biosurveillance active à partir de gammares pour quantifier les pressions micropolluants et leurs impacts écotoxiques dans les lacs aquitains .....</b>	<b>33</b>
Caractérisation de la contamination biodisponible (empreinte chimique).....	34
Mesure de l'inhibition alimentaire des gammares comme marqueur d'impact toxique.....	41
Prospection de populations autochtones de gammares et évaluation de leur sensibilité .....	44
Conclusions générales – Axe 2 .....	50
Bibliographie citée.....	52

# Interactions biologiques et impacts écotoxicologiques

La réponse des communautés végétales aquatiques aux paramètres du milieu est étudiée depuis de nombreuses années (cf. tomes 1 et 2), mais certains facteurs environnementaux, naturels ou anthropiques (déterminants biotiques et abiotiques) ne sont que rarement considérés. Parmi ceux-ci, les relations inter- et intra-spécifiques et la contamination toxique peuvent influencer significativement les relations pression-impact étudiées dans les tomes 2 et 3.

Peu d'études s'intéressent aux relations biotiques entre les différents maillons biologiques des écosystèmes lacustres, et dans la majorité des cas considèrent seulement un nombre de maillons limité (deux types de communautés). Ces relations n'ont jamais été étudiées finement sur les lacs Aquitains, d'autant plus que certains maillons biologiques, tels que la microméiofaune, n'y ont même jamais fait l'objet d'inventaires particuliers à notre connaissance, excepté ponctuellement sur le lac de Lacanau (projet LAX soutenu par l'AEAG, Jamoneau et al. 2019). En dépit de sa position intermédiaire entre le pico- et nanoplancton et les niveaux trophiques supérieurs (Weitere et al. 2018), la communauté de microméiofaune est encore peu étudiée, notamment en écotoxicologie. Par ailleurs, on connaît relativement peu de chose sur l'épiphyton (communautés microbiennes se développant sur les macrophytes). Les relations trophiques entre ces deux maillons (microalgues et micro-méiofaune) représentent très certainement un élément structurant des communautés microbiennes aquatiques. Ainsi, un certain nombre de facteurs de forçage agit de manière directe sur les espèces, ou est susceptible d'exercer un effet indirect de par les relations biotiques qui existent entre les différents maillons (effet cascade).

Parmi ces facteurs, les éléments toxiques sont reconnus comme ayant un rôle dans la structuration des communautés. Cependant, l'état chimique des lacs Aquitains n'est connu qu'au travers des prélèvements réalisés dans le cadre des programmes réglementaires de suivi des masses d'eau, réalisés sur des matrices abiotiques (eau ou sédiment). Ils ne permettent donc pas de rendre compte de la bioaccumulation de ces éléments. Pour autant, une analyse exhaustive de la pression chimique reçue par un système n'est pas envisageable : les outils écotoxicologiques, via la mesure de réponses biologiques, fournissent ainsi une alternative avantageuse permettant la mise en évidence de la présence de polluants, ainsi que l'évaluation de leur impact sur les organismes, voire la population.

---

## Objectifs et résultats principaux

L'objectif général de cette étude était d'évaluer l'état de santé des écosystèmes lacustres en relation avec le régime alimentaire des consommateurs primaires et décomposeurs, comme paramètre intégrateur des relations trophiques et de la santé globale des organismes. Les études conduites, au prisme des relations trophiques, ont utilisé une diversité d'organismes invertébrés aux régimes trophiques variés, herbivores broutant les microalgues péripHYtiques et détritivores s'alimentant de litière de feuille.

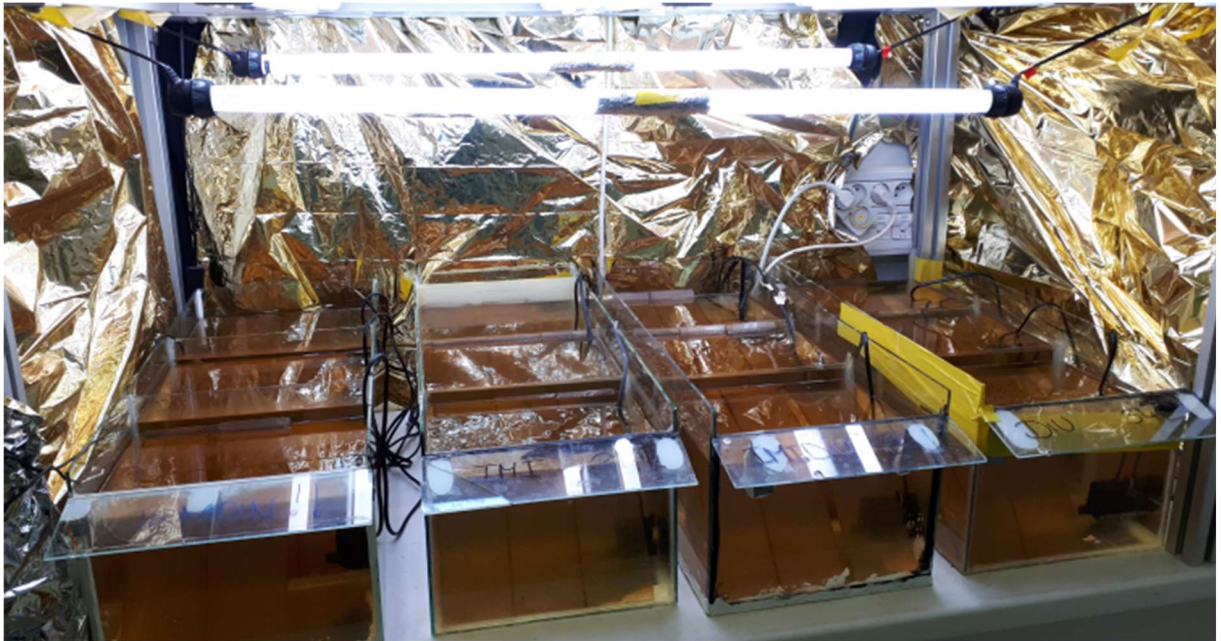
Les objectifs spécifiques des travaux menés étaient ainsi d'améliorer notre compréhension des relations trophiques au sein des biofilms lacustres, et leurs modifications en cas d'exposition à un stress toxique (Axe 1), et de tester la transposition en milieu lacustre d'une approche de biomonitoring actif par engagement de gammarex dans les plans d'eau de Lacanau et de Parentis-Biscarosse, afin d'évaluer le niveau de risque lié à une contamination toxique dans ces milieux (Axe 2).

Dans l'Axe 1, des expériences ont été menées avec des organismes périphytiques à différents niveaux de complexité biologique (monocultures d'algues ou mélanges simples d'espèces associés à un représentant de la méiofaune versus biofilm naturel complexe) et d'échelles expérimentales (microcosmes, aquariums, plan d'eau expérimental). Les résultats obtenus confirment une variabilité interspécifique de la sensibilité aux contaminants, également fonction de leur mode d'action toxique (herbicide versus insecticide). En conditions expérimentales simplifiées, la prépondérance des effets des pesticides sur ceux des relations biotiques (compétition au sein d'un niveau trophique) et trophiques (relations entre producteurs primaires et brouteurs) était mise en évidence, bien que dans les conditions expérimentales les plus complexes, des effets antagonistes entre les facteurs compétition algale, broutage et contamination chimique aient été observés. Dans ces conditions complexes, c'est-à-dire avec un biofilm naturel, l'influence des paramètres environnementaux (saisonniers notamment) primait généralement sur l'exposition aux pesticides en concentrations d'exposition réalistes, soulignant la redondance fonctionnelle des communautés au fil de l'année, qui malgré les changements d'espèces présentes assurait le maintien dans le temps de certaines fonctions en lien avec les relations trophiques.

Dans l'Axe 2, la méthodologie de biosurveillance active des cours d'eau vers les plans d'eau, utilisant des gammares encagés, a été transposée avec un certain succès : les déploiements *in situ* ont permis de caractériser l'empreinte chimique d'une vingtaine de sites répartis sur les zones rivulaires des plans d'eau de Lacanau et de Parentis-Biscarosse, indiquant une bioaccumulation modérée des composés métalliques et organiques recherchés dans ces organismes, inférieure aux valeurs médianes recensées dans les gammares en cours d'eau métropolitains. Toutefois, les températures estivales relativement élevées dans la région ont vraisemblablement causé une mortalité conséquente des organismes modèles implantés dans les plans d'eau, compliquant l'évaluation de l'impact écotoxique basé sur un biotest d'inhibition alimentaire. La prospection de nombreux sites a été mise en œuvre pour disposer de populations autochtones plus adaptées aux conditions locales, susceptibles d'être plus appropriés pour la biosurveillance active des plans d'eaux aquitains. Les gammaridés étaient présents en densités faibles dans les sites échantillonnés, la population la plus abondante de *Gammarus pulex* issue de la craste de Caupos a toutefois pu être déployée avec succès sur quelques sites du Lacanau. Des challenges de laboratoire effectués sur ces populations ont confirmé la sensibilité à l'hypoxie et à l'augmentation de température moindre chez les populations locales, en comparaison de la population source de gammares témoins.

# Axe 1 : Influence des relations biotiques sur la structuration des communautés et leur réponse aux conditions du milieu

**Contributeurs** : Julie Neury-Ormanni, Jacky Vedrenne, Gwilherm Jan, Margot Wagner, Soizic Morin (INRAE)



© Julie Neury-Ormanni - INRAE

**L'étude des relations entre producteurs primaires et consommateurs à l'échelle du biofilm ouvre de nouvelles perspectives pour la compréhension des relations biotiques entre communautés microbiennes en milieu lacustre, et leur analyse sous pression toxique.**

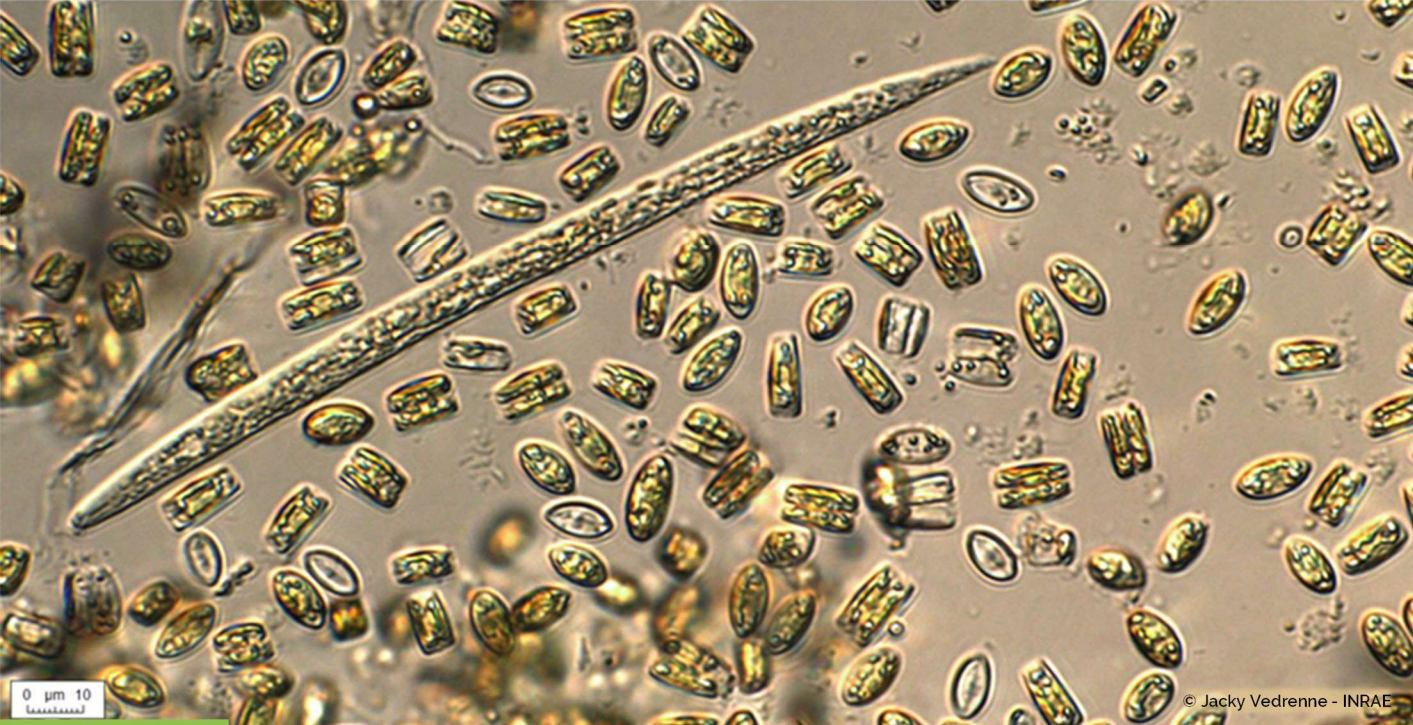
Dans cette partie, nous avons évalué l'impact d'une contamination pesticide sur des relations proie-brouteur, avec deux contaminants modèles, à mode d'action herbicide (diuron) et insecticide (imidaclopride).

Pour la première étude, nous avons principalement analysé la réponse de différentes espèces de diatomées, présentant des morphotypes variés, à deux types de relations biotiques combinées au stress chimique : la compétition ou coexistence interalgale et la présence d'un potentiel brouteur, tolérant au stress chimique, sous pression insecticide ou herbicide.

Pour la seconde étude, nous nous sommes centrés sur le comportement d'un brouteur sensible au stress chimique sous pression herbicide et/ou insecticide en termes de taux d'ingestion et de sélection de nourriture.

Enfin, pour aborder la diversité (et ses modifications) des communautés de la microméiofaune périphytique du point de vue fonctionnel, nous avons élaboré une base de données de traits morphofonctionnels des espèces du biofilm. Cette base de données a été testée sur différents inventaires afin d'analyser d'éventuelles modifications liées à la saisonnalité et à la présence de contamination toxique (insecticide, herbicide, et mélange des deux pesticides).





## Interactions biologiques et impacts écotoxicologiques

La méiofaune est un compartiment très représenté dans les biofilms. Des corrélations positives entre les diatomées et de potentiels brouteurs ont été observées, avec des ratios de 20 : 1 (diatomées : brouteurs) en conditions de laboratoire (Neury-Ormanni et al. 2016). La méiofaune benthique et les microalgues présentent des dynamiques conjointes, c'est le cas de nématodes habitant les biofilms, dont la densité augmente avec la biomasse des microalgues (Majdi et al. 2012). L'espèce de nématode herbivore *Chromadora bioculata* présente un taux d'ingestion de 58 diatomées/individu/jour (Eßer 2006). Les relations d'herbivorie ont des effets structurants sur les communautés, par effet top-down les brouteurs exercent un contrôle sur la croissance des algues (Hillebrand et Kahlert 2001) et les relations de diversité-fonction (Hart 1985, Rakowski et Cardinale 2016). Les critères d'herbivorie peuvent aider à comprendre le fonctionnement trophique d'un écosystème et la cascade d'effets qu'une contamination chimique pourrait potentiellement engendrer. Le diuron et l'imidaclopride font partie des pesticides que l'on retrouve le plus dans les eaux de surface continentales françaises (SOeS 2015). Des études ont déjà révélé leur dangerosité sur de multiples microorganismes aquatiques cibles et non-cibles à des doses de l'ordre du microgramme par litre (Giacomazzi et Cochet 2004, Pisa et al. 2021, Pisa et al. 2015, van der Sluijs et al. 2015). Mais aucune de ces études n'a exploré la réponse des microalgues soumises à une combinaison de pressions abiotique (pollution toxique) et biotique (compétition/coexistence et broutage potentiel).

## Objectifs de l'étude

Afin d'investiguer sur les effets combinés de la compétition microalgale, le broutage et l'exposition à un stress chimique, nous avons conduit une expérience en conditions contrôlées de laboratoire sur des individus originaires de communautés benthiques : le nématode herbivore *Aphelenchoides bicaudatus* et les diatomées *Planothidium lanceolatum* et *Gomphonema gracile* (deux morphotypes : normal et tératologique, lequel est de plus grande taille). Les espèces ont été sélectionnées en raison de leur occurrence dans les communautés benthiques d'eau douce. De plus, les nématodes du genre *Aphelenchoides* sp. présentent une faible sensibilité au diuron et à l'imidaclopride (Neury-Ormanni et al. 2019).

Dans un premier temps, nous avons déterminé les cinétiques de croissance des algues en culture monospécifique puis en culture plurispécifique (c'est-à-dire en mélange ternaire). Ensuite, nous avons déterminé l'effet de la présence du nématode sur leur croissance, seules et en mélange ternaire, permettant aussi d'aborder la sélectivité du potentiel brouteur (voir également [Axe 1.2](#)). Enfin, nous avons caractérisé l'impact de l'insecticide (imidaclopride) et de l'herbicide (diuron) sur les algues en monoculture, en mélange ternaire et en présence de nématodes. Les cultures ont été échantillonnées quotidiennement pour quantifier l'abondance et la mortalité des algues en période de croissance exponentielle.

## Méthodes

Le matériel biologique utilisé comprend une population de nématodes benthiques cosmopolites (*Aphelenchoides bicaudatus*), isolés d'une culture plurispécifique de biofilms mixtes originaires du Sud-Ouest de la France (Neury-Ormanni et al. 2016) et trois cultures de diatomées benthiques : *Planothidium lanceolatum* et deux morphotypes de *Gomphonema gracile* (normal et tératologique) (Coquillé et Morin 2019), cultivées dans du milieu Dauta (Dauta 1982).

Les diatomées ont été inoculées à une concentration de 30 000 cellules/mL (10 000 cellules/mL par taxon dans le cas des cultures plurispécifiques), en Erlenmeyers en verre dans une suspension de volume final de 150 mL, auxquels étaient ajoutés une centaine de nématodes dans les traitements de broutage. Les nématodes vivants (clairement mobiles), de 100 à 300  $\mu\text{m}$  de longueur, étaient préalablement isolés sous un microscope inversé (Wild, M40) équipé d'un micromanipulateur (Eppendorf, Injectman NI2), au grossissement  $\times 5$ . Les cultures étaient maintenues pour la durée de l'expérience dans une chambre thermostatée à une température moyenne de  $17 \pm 2$  °C, avec une photopériode de 16 h de jour ( $58 \pm 2$   $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ ) et 8 h de nuit. Les traitements avec des diatomées uniquement étaient réalisés en quadruplicats, ceux impliquant des nématodes en triplicats.

Les cultures ont été contaminées directement à l'aide de solutions stock préparées à partir de poudres de diuron et d'imidaclopride (fournies par Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Allemagne), à une concentration nominale de 5  $\mu\text{g/L}$ . Les diverses modalités expérimentales testées sont décrites dans la [Figure 1](#). La durée expérimentale totale était variable, de 9 à 24 jours selon la cinétique de croissance des cultures et l'atteinte de la phase stationnaire. Sur toute la durée des expériences, 1 mL de culture était échantillonné chaque jour ouvré, fixé au Lugol (0,5 %) et stocké au noir à 4 °C avant comptage. Un des réplicats de la modalité Compétition + Imidaclopride + Nématodes a finalement été éliminé à cause d'une contamination par des algues vertes.

Les densités de diatomées ont été déterminées par comptage sur cellule de Nageotte au microscope optique (Leica DMLS), au grossissement  $\times 200$ . Les diatomées vivantes et mortes ont été distinguées suivant le protocole décrit par Morin et al. (2010). Les densités de diatomées vivantes (en cellules/mL) ont servi à calculer les paramètres de croissance (taux de croissance moyen :  $\mu$ , en divisions/jour ; taux de croissance maximal, sans la phase éventuelle de latence :  $\mu_{\text{max}}$ , en divisions/jour ; densité cellulaire en phase stationnaire). La mortalité a été exprimée en %. Le volume de culture restant en fin d'expérience impliquant des nématodes a été ultrasoniqué pour détacher les organismes des parois des Erlenmeyers, puis mis à décanter dans des chambres de sédimentation selon la méthode Utermöhl. Après 90 h de décantation et élimination du surnageant, le culot a été intégralement observé sous microscope inversé (Olympus, IX70), au grossissement  $\times 10$ , pour énumérer tous les nématodes résiduels.

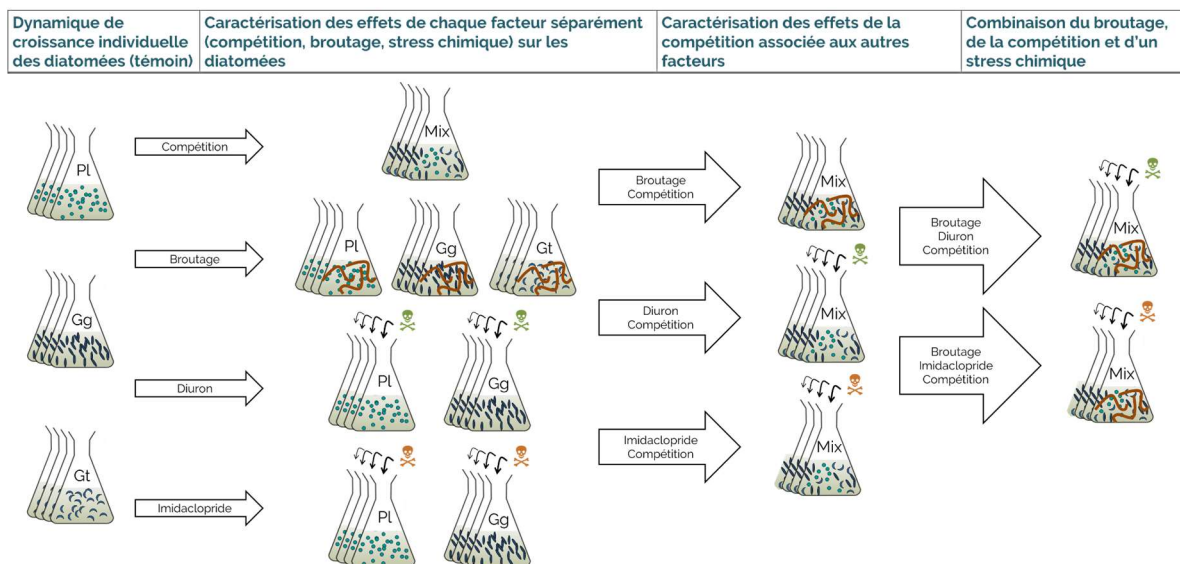


Figure 1 : Schéma du plan expérimental mis en place pour l'étude des effets combinés de la compétition microalgale, du broutage et de l'exposition à un stress chimique (☠️ : diuron, ☠️ : imidaclopride). PL : *Planothidium lanceolatum*, GG : *Gomphonema gracile*, GT : *G. gracile* morphotype tératologique ; Mix : coculture des trois populations (chacune au tiers).

Les données de densité cellulaire et de mortalité ont été log-transformées, centrées et réduites pour atteindre la normalité et l'homoscédasticité des données. Les différences entre les témoins et les différents traitements pour les taux de croissance ( $\mu_{max}$  et  $\mu$ ), la densité cellulaire au plateau et la mortalité ont été identifiées par des tests ANOVA de type II. Les facteurs les plus contributifs aux variations de réponse (Compétition, Nématodes, et exposition aux pesticides : Diuron ou Imidaclopride) ont été mis en évidence sur la base des valeurs de critère d'Akaike (*Akaike Information Criterion*, AIC) de modèles linéaires généralisés (GLM) mis en œuvre sous l'environnement R (package MASS).

## Résultats principaux

**La compétition microalgale favorise les espèces à croissance rapide.** En conditions de monoculture, toutes les espèces présentaient des taux de croissance  $\mu$  et  $\mu_{max}$  similaires. *P. lanceolatum* avait la croissance la plus lente, mais atteignait les densités en phase stationnaire les plus élevées, contrairement à *G. gracile* (croissance identique pour les deux morphotypes). La mortalité était plus élevée dans les cultures de *Gomphonema* (12 % en moyenne pour les deux morphotypes) que de *P. lanceolatum* (5 %). Les conditions de compétition n'ont eu aucun impact sur les cinétiques de croissance de *Gomphonema*. Les espèces dites « high profile » (Passy 2007) comme *G. gracile* ont de fortes capacités de croissance et de compétition. Au contraire, la croissance dans les cultures de *P. lanceolatum* a fortement diminué et la mortalité augmenté (Figure 2). Cette espèce est qualifiée de « low profile » par Passy (2007), guildes regroupant des taxons à faible capacité compétitive dans des conditions riches en ressources (telles que le milieu Dauta).

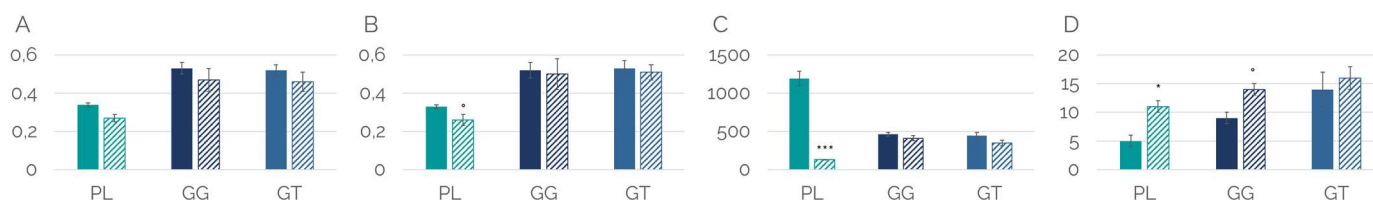
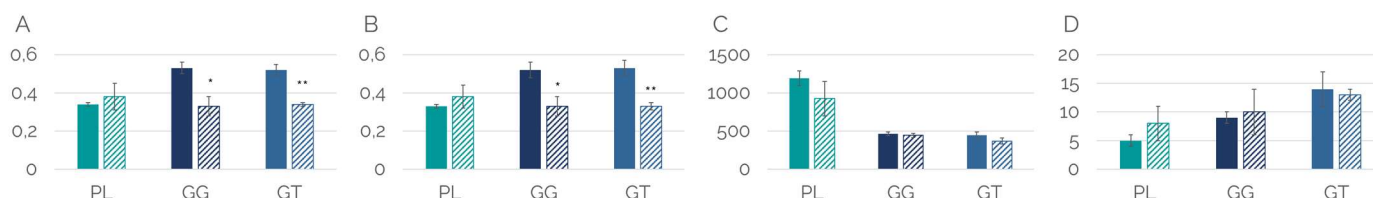


Figure 2 : Valeurs moyennes ( $\pm$  erreurs standards) de (A)  $\mu_{max}$  en divisions/jour, (B)  $\mu$  en divisions/jour, (C) densité de cellules en phase stationnaire (milliers de cellules/mL), (D) mortalité en %, dans les témoins (histogrammes pleins) et les cultures plurispécifiques (histogrammes hachurés), pour les trois morphotypes de diatomées testés (PL : *Planothidium lanceolatum*, GG : *Gomphonema gracile*, GT : *G. gracile* morphotype tératologique). Les différences statistiques par rapport aux témoins et leur significativité sont signalées par : \*\*\*  $p < 0,001$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$  ; °  $p < 0,1$ .

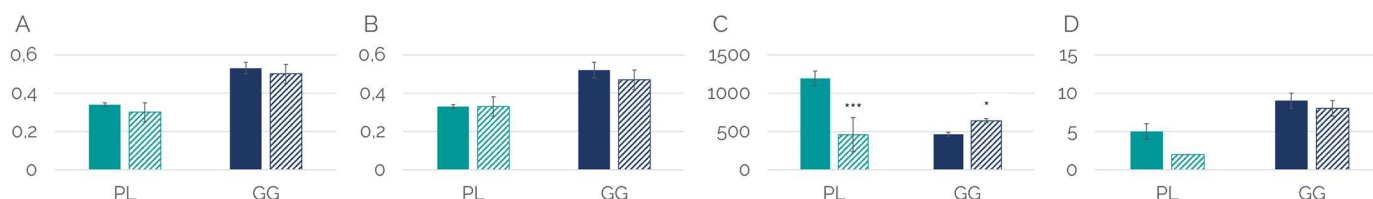


**La présence de nématodes impacte les taux de croissance des diatomées de manière variable.** Les taux de croissance de *G. gracile* ( $\mu$  et  $\mu_{max}$ ) ont diminué d'environ 35 % en présence de nématodes, pour les deux formes (Figure 3), alors qu'aucun effet n'était observable pour *P. lanceolatum*. Cette différence n'est vraisemblablement pas attribuable au mode d'alimentation de *Aphelenchoides* qui dispose d'un stylet perceur (donc non limité par la taille ni la morphologie de la proie), mais est peut-être liée à des différences interspécifiques d'appétence (voir aussi Axe 1.2).



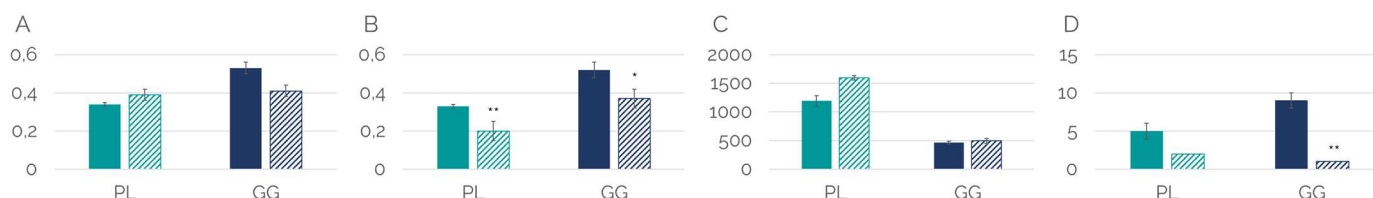
**Figure 3** : Valeurs moyennes ( $\pm$  erreurs standards) de (A)  $\mu_{max}$  en divisions/jour, (B)  $\mu$  en divisions/jour, (C) densité de cellules en phase stationnaire (milliers de cellules/mL), (D) mortalité en %, dans les témoins (histogrammes pleins) et les cultures incubées avec des nématodes (histogrammes hachurés), pour les trois morphotypes de diatomées testés (PL : *Planothidium lanceolatum*, GG : *Gomphonema gracile*, GT : *G. gracile* morphotype tératologique). Les différences statistiques par rapport aux témoins et leur significativité sont signalées par : \*\*\*  $p < 0,001$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$  ; °  $p < 0,1$ .

**Des impacts marginaux du diuron sur les diatomées.** Pour *P. lanceolatum*, la densité de cellules maximale, atteinte à la phase stationnaire, était fortement réduite par l'exposition au diuron (Figure 4). Au contraire, une légère augmentation était observable chez *G. gracile*. Les effets toxiques du diuron apparaissent très rapidement, et à faible concentration (Morin et al. 2018, Ricart et al. 2009). A la concentration testée (5  $\mu\text{g/L}$ ), les impacts sur la croissance étaient très faibles, contrairement aux résultats de Moisset et al. (2015) qui observaient une inhibition complète de la croissance. Les observations microscopiques montraient que les chloroplastes étaient, toutefois, très pâles (diaphanes) dans ce traitement.



**Figure 4** : Valeurs moyennes ( $\pm$  erreurs standards) de (A)  $\mu_{max}$  en divisions/jour, (B)  $\mu$  en divisions/jour, (C) densité de cellules en phase stationnaire (milliers de cellules/mL), (D) mortalité en %, dans les témoins (histogrammes pleins) et les cultures exposées au diuron (histogrammes hachurés), pour les deux espèces de diatomées testées (PL : *Planothidium lanceolatum*, GG : *Gomphonema gracile*). Les différences statistiques par rapport aux témoins et leur significativité sont signalées par : \*\*\*  $p < 0,001$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$  ; °  $p < 0,1$ .

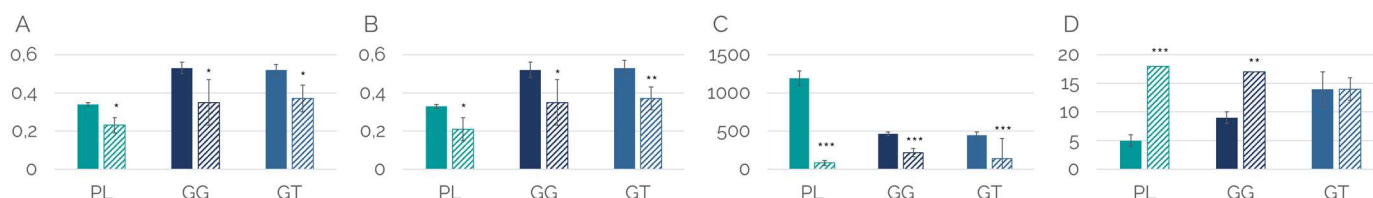
**L'imidaclopride provoque un retard de croissance.** Les différences entre les taux de croissance  $\mu$  et  $\mu_{max}$  sous exposition à l'imidaclopride (Figure 5) traduisent une phase de latence avant la phase exponentielle de croissance (4 jours pour *P. lanceolatum* et 1-2 jours pour *G. gracile*). Bien que les effets toxicologiques reportés de cet insecticide soient bien moindres pour les algues que pour la méiofaune, une plus grande sensibilité des diatomées (comparées aux algues vertes) a déjà été démontrée (SERA 2005).



**Figure 5** : Valeurs moyennes ( $\pm$  erreurs standards) de (A)  $\mu_{max}$  en divisions/jour, (B)  $\mu$  en divisions/jour, (C) densité de cellules en phase stationnaire (milliers de cellules/mL), (D) mortalité en %, dans les témoins (histogrammes pleins) et les cultures exposées à l'imidaclopride (histogrammes hachurés), pour les deux espèces de diatomées testées (PL : *Planothidium lanceolatum*, GG : *Gomphonema gracile*). Les différences statistiques par rapport aux témoins et leur significativité sont signalées par : \*\*\*  $p < 0,001$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$  ; °  $p < 0,1$ .

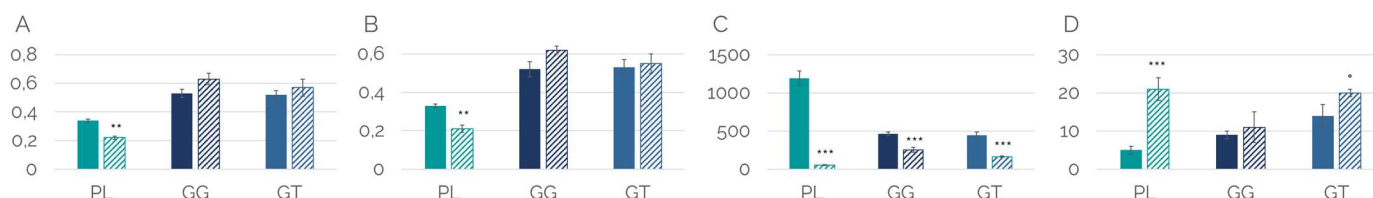


**En conditions plurispécifiques, la présence de nématodes modifie les relations de compétition entre diatomées.** En conditions de culture plurispécifique, la présence de nématodes a affecté marginalement la croissance de *P. lanceolatum* (Figure 6), comparée aux conditions sans brouteur (Figure 2). A l'inverse, la croissance de *G. gracile* en conditions plurispécifiques était significativement inhibée en présence d'*Aphelenchoides*. Ces effets cumulatifs étaient remarquables sur le nombre maximum de cellules atteint à la phase stationnaire, avec une réduction de 49 à 62 % par rapport aux densités atteintes pour chacun des facteurs seuls (interaction significative à  $p < 0,01$  pour les deux morphotypes). La mortalité était en hausse pour les deux espèces. Ces résultats sont en accord avec ceux de Guasch et al. (2016) qui démontraient un contrôle top-down par les escargots aquatiques plus fort sur les grosses espèces de diatomées.



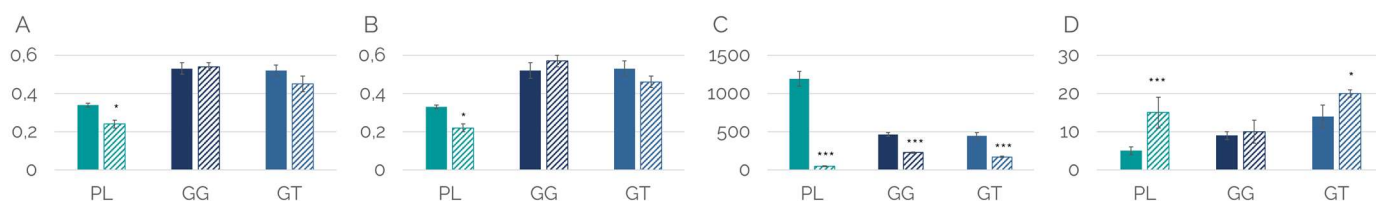
**Figure 6 :** Valeurs moyennes ( $\pm$  erreurs standards) de (A)  $\mu_{max}$  en divisions/jour, (B)  $\mu$  en divisions/jour, (C) densité de cellules en phase stationnaire (milliers de cellules/mL), (D) mortalité en %, dans les témoins (histogrammes pleins) et les cultures plurispécifiques incubées avec des nématodes (histogrammes hachurés), pour les trois morphotypes de diatomées testés (PL : *Planothidium lanceolatum*, GG : *Gomphonema gracile*, GT : *G. gracile* morphotype tératologique). Les différences statistiques par rapport aux témoins et leur significativité sont signalées par : \*\*\*  $p < 0,001$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$  ; °  $p < 0,1$ .

**Les conditions plurispécifiques exacerbent les impacts du diuron sur les diatomées.** Les impacts toxiques du diuron, en conditions de compétition plurispécifique, étaient notables sur les densités de cellules en phase stationnaire de *G. gracile* (interaction significative à  $p < 0,001$  avec une réduction de 30 à 60 % comparées aux facteurs seuls) et sur la mortalité (interaction significative à  $p < 0,05$ , taux intermédiaire entre les deux facteurs seuls), en particulier (Figure 7). Ces résultats concordent avec la théorie que les patrons observés dans une communauté sous pression chimique découlent d'effets directs (toxicité du diuron) et indirects (relations biotiques) (Guasch et al. 2012).



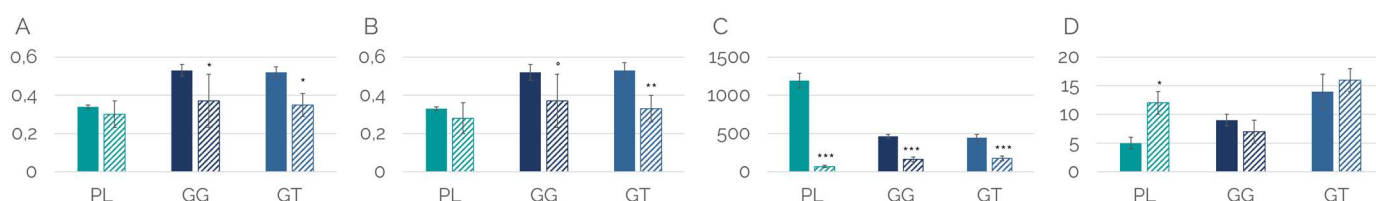
**Figure 7 :** Valeurs moyennes ( $\pm$  erreurs standards) de (A)  $\mu_{max}$  en divisions/jour, (B)  $\mu$  en divisions/jour, (C) densité de cellules en phase stationnaire (milliers de cellules/mL), (D) mortalité en %, dans les témoins (histogrammes pleins) et les cultures plurispécifiques exposées au diuron (histogrammes hachurés), pour les trois morphotypes de diatomées testés (PL : *Planothidium lanceolatum*, GG : *Gomphonema gracile*, GT : *G. gracile* morphotype tératologique). Les différences statistiques par rapport aux témoins et leur significativité sont signalées par : \*\*\*  $p < 0,001$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$  ; °  $p < 0,1$ .

**Des effets de l'imidaclopride variables sur les cultures plurispécifiques.** Comme pour le diuron, des effets d'interaction ont été mis en évidence, en particulier sur la densité de cellules atteinte en phase stationnaire. L'amplification des impacts était significative à  $p < 0,001$  pour *P. lanceolatum*, avec une diminution de 64 à 97 % par rapport aux facteurs seuls (cultures monospécifiques ou exposition à l'imidaclopride), et à  $p < 0,01$  pour *G. gracile*, avec une réduction de 50 % des densités (Figure 8). L'interaction était également remarquable pour le taux de croissance  $\mu$  de *P. lanceolatum* ( $p < 0,01$ ). Lors des observations microscopiques, la formation de biofilms plurispécifiques adhérent au fond des Erlenmeyers était visible, suggérant un mécanisme de défense mutualiste plutôt que compétitif. Toutefois, l'augmentation de la mortalité confirme un impact toxique des néonicotinoïdes sur les communautés de diatomées (Sabater et al. 2016).



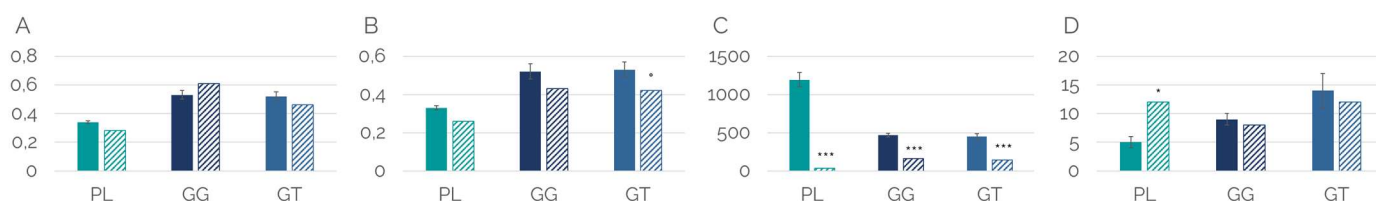
**Figure 8 :** Valeurs moyennes ( $\pm$  erreurs standards) de (A)  $\mu_{\max}$  en divisions/jour, (B)  $\mu$  en divisions/jour, (C) densité de cellules en phase stationnaire (milliers de cellules/mL), (D) mortalité en %, dans les témoins (histogrammes pleins) et les cultures plurispécifiques exposées à l'imidaclopride (histogrammes hachurés), pour les trois morphotypes de diatomées testés (PL : *Planothidium lanceolatum*, GG : *Gomphonema gracile*, GT : *G. gracile* morphotype tératologique). Les différences statistiques par rapport aux témoins et leur significativité sont signalées par : \*\*\*  $p < 0,001$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$  ; °  $p < 0,1$ .

**Impacts combinés de la compétition, du broutage et de l'exposition au diuron.** L'interaction de l'exposition au diuron et des nématodes impactait fortement la densité de diatomées (Figure 6 et 7), avec des impacts similaires aux combinaisons binaires de facteurs. En conditions plurispécifiques, cette réduction de la population était encore mise en évidence chez *P. lanceolatum* (Figure 9). L'exposition au diuron ne semblait pas affecter l'impact des nématodes, confirmant la tolérance élevée des spécimens du genre *Aphelenchoides* à cet herbicide (Neury-Ormanni et al. 2019). En effet, l'impact du diuron prédominait sur celui de la présence de nématodes, avec une interaction antagoniste des trois facteurs mise en évidence pour *G. gracile* forme tératologique (interaction significative à  $p < 0,001$ ). Contrairement aux observations réalisées sous exposition au diuron seul, dans ces conditions les chloroplastes étaient colorés ; l'effet stimulateur pour la photosynthèse du broutage (Guasch et al. 2016) pourrait avoir contré partiellement la toxicité du diuron. La présence du nématode pourrait également avoir eu un effet antagoniste, compensant les impacts toxiques par son enrichissement du milieu en nutriments (excrétion, production de mucus ; Kaehler et Froneman 2002, Majdi et Traunspurger 2015).



**Figure 9 :** Valeurs moyennes ( $\pm$  erreurs standards) de (A)  $\mu_{\max}$  en divisions/jour, (B)  $\mu$  en divisions/jour, (C) densité de cellules en phase stationnaire (milliers de cellules/mL), (D) mortalité en %, dans les témoins (histogrammes pleins) et les cultures plurispécifiques exposées au diuron et inoculées avec des nématodes (histogrammes hachurés), pour les trois morphotypes de diatomées testés (PL : *Planothidium lanceolatum*, GG : *Gomphonema gracile*, GT : *G. gracile* morphotype tératologique). Les différences statistiques par rapport aux témoins et leur significativité sont signalées par : \*\*\*  $p < 0,001$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$  ; °  $p < 0,1$ .

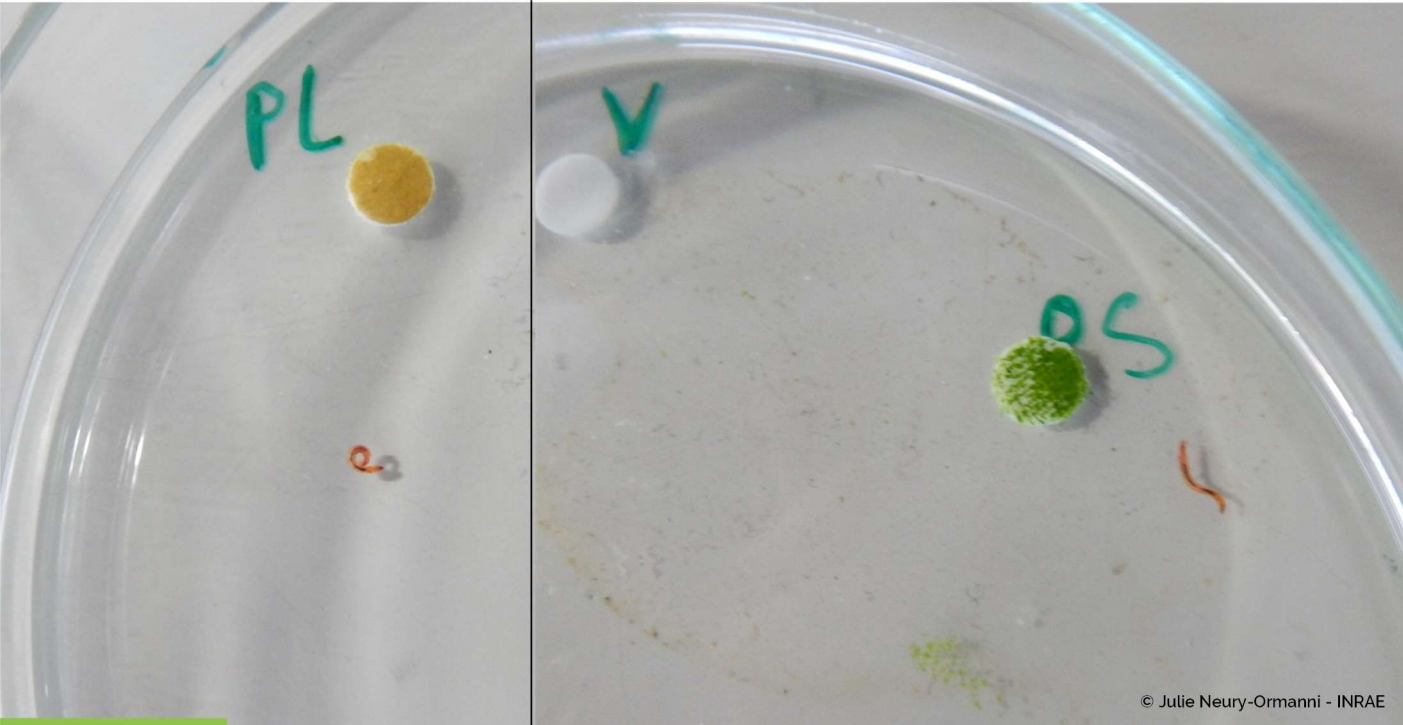
**Impacts combinés de la compétition, du broutage et de l'exposition à l'imidaclopride.** La perte d'un des réplicats, envahi par des chlorophycées probablement inoculées en même temps que les nématodes, limite les conclusions de cette partie de l'étude. Toutefois, l'impact de la combinaison des facteurs deux à deux sur les densités de diatomées était confirmé également dans ces conditions, ainsi qu'une augmentation de la mortalité chez *P. lanceolatum* (Figure 10). Un effet d'interaction significative (antagoniste) entre la présence de nématodes et la contamination à l'imidaclopride était également notable sur la croissance du morphotype tératologique de *G. gracile*.



**Figure 10 :** Valeurs moyennes ( $n=2$ ) de (A)  $\mu_{\max}$  en divisions/jour, (B)  $\mu$  en divisions/jour, (C) densité de cellules en phase stationnaire (milliers de cellules/mL), (D) mortalité en %, dans les témoins (histogrammes pleins) et les cultures plurispécifiques exposées à l'imidaclopride et inoculées avec des nématodes (histogrammes hachurés), pour les trois morphotypes de diatomées testés (PL : *Planothidium lanceolatum*, GG : *Gomphonema gracile*, GT : *G. gracile* morphotype tératologique). Les différences statistiques par rapport aux témoins et leur significativité sont signalées par : \*\*\*  $p < 0,001$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$  ; °  $p < 0,1$ .

## Conclusions

Les écosystèmes aquatiques sont régis par de multiples interactions écologiques intra- et interspécifiques telles que la compétition et le broutage, qui peuvent avoir des effets variables en fonction des conditions abiotiques du milieu (ici, la contamination pesticide). L'objectif de cette étude était dans un premier temps d'étudier l'impact de la présence d'un brouteur sur les cinétiques de croissance de trois morphotypes distincts de diatomées (deux espèces). Cette approche par étapes de complexité croissante nous a permis de discriminer les effets de chaque facteur individuellement et conjointement sur les populations de *Gomphonema gracile* et *Planothidium lanceolatum*. La compétition s'avère être un facteur extrêmement structurant pour la plus petite des diatomées testées : *Planothidium lanceolatum*. L'effet toxique des pesticides était prépondérant sur l'impact des nématodes pour les microalgues, en particulier pour l'espèce *Gomphonema gracile* sur laquelle les nématodes semblaient moins voraces (perte d'efficacité de broutage ? agglomérat de diatomées plus difficiles à capturer ?). En effet, cette dernière (particulièrement le morphotype tératologique) est fortement influencée par la présence de nématodes qui perturbent son taux de croissance en conditions témoin, suggérant qu'ils se nourrissent préférentiellement d'algues de taille plus importante pour économiser l'énergie allouée à leur mode d'alimentation (« suction-feeders ») (Moens et al. 2014, Moens et Vincx 1997). La pression qu'ils exercent sur cette diatomée, et l'enrichissement nutritif qu'ils provoquent dans le milieu par le biais de fèces ou de sécrétion de mucus (Majdi et Traunspurger 2015, Riemann et Helmke 2002), stimulent la croissance d'algues opportunistes comme *Planothidium lanceolatum* (Guasch et al. 2016, Rakowski et Cardinale 2016). Sous le traitement au diuron, la présence d'*Aphelenchoides bicaudatus* réduit l'effet de diuron sur la vitesse de croissance, les impacts sur la biomasse algale étant modulés par l'addition de nutriments dans le milieu (excrétion, sécrétion de mucus) (Kaehler et Froneman 2002, Majdi et al. 2012).



## Comportement alimentaire d'un microbrouteur polluosensible sous pression herbicide et/ou insecticide

Les relations biotiques sont structurantes en termes de composition et de santé d'une culture plurispécifique d'algues, et les réponses des algues à un stress chimique, en termes de cinétique de croissance, diffèrent si elles sont en présence d'autres espèces et/ou d'un brouteur potentiel (cf. [Axe 1.1](#)). Afin de focaliser sur les réponses des algues et s'assurer du maintien du niveau de broutage tout au long de l'expérience, nous avons choisi un nématode tolérant aux deux substances modèles sélectionnées.

Dans la partie suivante, nous avons étudié les impacts du diuron et de l'imidaclopride, seuls et en mélange binaire sur le comportement alimentaire d'un brouteur. De manière à pouvoir observer des effets directs et indirects, nous avons opté pour un brouteur sensible à l'insecticide : des larves de chironomes. En effet, Stoughton et al. (2008) ont démontré qu'une concentration de 5,75 µg/L d'imidaclopride pouvait tuer plus de 50 % d'une population de *Chironomus tentans* après 4 jours d'exposition. Les chironomidés sont fréquents dans les biofilms, ils jouent un rôle important dans le recyclage des nutriments (Bryce et Hobart 1972) et occupent une place clé d'intermédiaire entre les producteurs primaires et les consommateurs secondaires (Tokeshi 1995). En fonction de leur stade de développement, les larves de chironomes se nourrissent sélectivement de diatomées ou d'autres microalgues considérées comme d'une grande qualité nutritionnelle (Lamberti 1984). Cependant, sous une pression pesticide, la nourriture contaminée pourrait impacter la santé des consommateurs par réduction de l'apport nutritionnel (altération de la composition en acides gras, Demailly et al. 2019) ou par un empoisonnement via le transfert trophique de pesticide (Roche et al. 2009), ou les obliger à modifier leurs habitudes alimentaires (Schrama et al. 2017).



## Objectifs de l'étude

Nous avons conduit deux expériences sous conditions contrôlées en laboratoire. La première consistait à déterminer les effets d'un herbicide et d'un insecticide, seuls et en mélange binaire, à des concentrations environnementales (5 µg/L), sur les taux d'ingestion de diatomées et d'algues vertes par un chironome. Sachant que dans un environnement naturel, les chironomes rencontrent un multiple choix de sources alimentaires, nous nous sommes posé la question de sa nourriture préférentielle et enfin si son choix pouvait être influencé par une contamination pesticide. Pour ce faire, nous avons effectué une deuxième expérience de « cafeteria design », inspiré de Weber et Traunspurger (2013). Un chironome était mis en présence de plusieurs sortes d'algues, exposés aux mêmes traitements que pour l'expérience sur les taux d'ingestion, et nous avons analysé le nombre de fois où il passait d'une algue à l'autre, le temps passé sur chaque source de nourriture et la distance qu'il parcourait pendant le temps d'exposition.

## Méthodes

Les larves de chironomes de la tribu des Tanytarsini (Tachet et al. 2010) ont été collectées par tamisage (maille : 0,5 mm) de sédiments de la rivière Johannesbach (Bielefeld, Allemagne), puis triées au laboratoire et rincées à l'eau minérale Volvic. Les spécimens ont été maintenus dans l'eau de Volvic à l'obscurité et à 20 °C pendant 24 h afin de les affamer avant le démarrage des expériences. Leur poids moyen individuel était de  $408,3 \pm 13,3$  µg. Quatre cultures de microalgues ont été sélectionnées comme source de nourriture : deux espèces de diatomées (*Planothidium lanceolatum* et les morphotypes normal et tératologique de *Gomphonema gracile*), et une espèce de chlorophycée (*Desmodesmus* sp.). Ces algues étaient cultivées dans des flasques de 1 L de milieu Dauta (Dauta 1982) sous lumière continue afin d'optimiser leur croissance et de disposer de suffisamment de cellules pour les expériences.

**[Expérience 1 : Quantification du broutage]** La première expérience visait à déterminer les effets des pesticides, seuls et en combinaison, sur le taux de broutage des larves de chironome sur les quatre monocultures algales. Afin de comparer la biomasse ingérée, les biovolumes de chaque taxon, calculés à partir des dimensions mesurées de 30 individus par culture, ont été convertis en masse sèche (Sládeček et Sládečková 1963). Une larve de chironome a été placée dans un flacon en verre avec un volume de 1,5 mL de culture (aux concentrations algales définies dans le [Tableau 1](#)). Le taux d'élimination par les chironomes a été mesuré sous différentes conditions : témoin (Volvic), témoin solvant (Volvic + 0,05 % d'acétonitrile correspondant à la concentration en solvant dans les traitements pesticides), 5 µg/L d'imidaclopride (Imi), 5 µg/L de diuron (Diu) et le mélange de ces deux pesticides (à 5 µg/L chacun, noté ID). Le taux d'élimination par les chironomes a été calculé comme la perte de biomasse algale rapportée à la biomasse de chironome, suivant les équations détaillées dans Neury-Ormanni, Doose et al. (2020b). A cette fin, les concentrations algales ont été préalablement converties en poids sec. Chaque condition a été testée pour 9 réplicats, avec et sans chironomes pour différencier l'impact du broutage de la croissance/mortalité des algues, et pour les chironomes seuls pour déterminer la toxicité intrinsèque des composés sur le brouteur. Après vérification de la viabilité des chironomes (réaction à une stimulation), les larves ont été prélevées, congelées à -20 °C, lyophilisées et pesées. La concentration en cellules algales vivantes à la fin de l'expérience a été déterminée sur les échantillons fixés au Lugol (concentration finale 0,5 %) par comptage microscopique sur cellule de Nageotte au microscope optique (Leica DMLS), au grossissement  $\times 20$ . Les concentrations en microalgues ont ensuite été converties en biovolume, sur la base des valeurs présentées dans le [Tableau 1](#).

**Tableau 1** : Concentrations algales et biovolumes individuels (µm<sup>3</sup>) dans les différentes cultures de microalgues utilisées.

Microalgue	Concentration (cellules/µL)	Biovolume cellulaire (µm <sup>3</sup> /individu)
<i>Gomphonema gracile</i>	860 ± 92,8	247,4 ± 28,3
<i>Gomphonema gracile</i> forme tératologique	863,4 ± 133,8	461,2 ± 55,7
<i>Planothidium lanceolatum</i>	1259 ± 160,8	42,5 ± 3,7
<i>Desmodesmus</i> sp.	2050 ± 88,8	74,4 ± 3,0

Le test de Kruskal-Wallis ayant révélé des différences significatives entre les témoins et les témoins solvants sur les taux d'élimination ( $p < 0,001$ ), ces derniers ont été ensuite utilisés comme références pour les comparaisons. Le test non paramétrique de Scheirer-Ray-Hare a été mis en œuvre pour examiner si les taux d'élimination étaient affectés par l'espèce d'algue ou par l'exposition aux pesticides.

Le cas échéant, les différences statistiques étaient confirmées par un test *post hoc* de Dunn. Ces analyses ont été réalisées sous R (packages *rcompanion* et *FSA*).

**[Expérience 2 : Sélectivité de la diète]** La seconde expérience visait à évaluer la sélectivité du régime alimentaire des chironomes sous des expositions similaires à la première expérience, sur une durée de 4 heures. Le design expérimental s'inspirait du protocole de « cafeteria design » de Weber et Traunspurger (2013). Des quantités identiques de microalgues étaient filtrées et placées à égale distance (6,5 cm) du centre de boîtes de Pétri (Ø 15 cm) en verre (Figure 11), dans des pastilles de 1,3 mm<sup>3</sup>, contenant  $6,2 \times 10^4$  cellules/mL. Les pastilles témoins étaient vides (sans algues). Ensuite, les boîtes de Pétri étaient remplies avec 5 mL des différents milieux d'exposition préparés dans la Volvic (témoin solvant ou modalités pesticides identiques à celles de l'expérience 1). Une larve de chironome était placée au centre de chaque boîte de Pétri. La position des larves dans la boîte de Pétri était suivie toutes les 5 minutes pendant la première demi-heure, toutes les 10 minutes pendant la demi-heure suivante, et enfin toutes les demi-heures jusqu'à la fin de l'expérience.

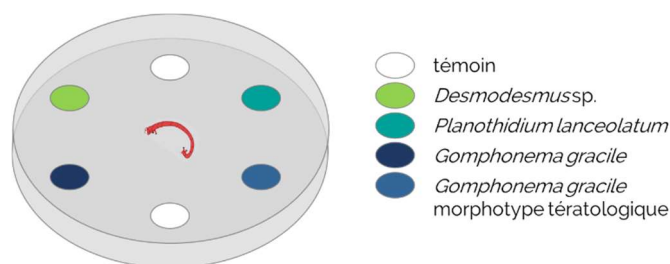


Figure 11 : Design expérimental et distribution des pastilles d'algues dans une boîte de Pétri.

A partir de ces observations, les indicateurs suivants ont été calculés :

- le nombre de changements de source nutritive, calculé comme le nombre de fois où le chironome était trouvé sur une pastille différente de l'observation précédente, et exprimé en pourcentage des valeurs obtenues pour les témoins ;
- la distance parcourue, déterminée par des calculs géométriques basés sur le rayon et le périmètre de la boîte de Pétri, et exprimée en pourcentage de la distance totale parcourue dans les conditions témoins ;
- le temps total passé sur chaque pastille, c'est-à-dire le temps cumulé de présence par pastille sur la durée totale de l'expérience, exprimé en pourcentage du temps total d'exposition (4 h).

Pour les données suivant la loi normale et l'homogénéité des variances (temps passé sur chaque pastille), les différences significatives entre conditions ont été mises en évidence par une ANOVA à 2 facteurs sous R (package *Vegan*). Pour les autres indicateurs, les tests de Kruskal-Wallis (pour un facteur) et de Scheirer-Ray-Hare (pour deux facteurs et leur interaction) ont été utilisés.

## Résultats principaux

**Quantification du broutage.** Dans les témoins, tous les chironomes étaient vivants à la fin de l'expérience. Sous exposition au diuron, la mortalité des chironomes était plus élevée avec la chlorophycée *Desmodesmus* sp. (22 %) qu'avec les diatomées (11 %). La mortalité sous exposition à l'imidaclopride était toujours supérieure à 50 %, et atteignait 65 % dans les conditions avec diatomées. La mortalité la plus élevée était observée dans les conditions d'exposition au mélange de pesticides pour les deux morphotypes de *Gomphonema gracile*, alors qu'elle était moindre que celle provoquée par l'imidaclopride seul chez *Planothidium lanceolatum* et *Desmodesmus* sp. (33 %). La toxicité de l'imidaclopride pour les chironomes était attendue, compte tenu du mode d'action de l'insecticide ciblant directement les larves d'insectes (Simon-Delso et al. 2015). Stoughton et al. (2008) ont d'ailleurs établi une dose létale d'exposition à l'imidaclopride sur 96 heures (DL<sub>50</sub>, concentration d'exposition causant la mort de 50% des individus) de 5,75 µg/L pour *Chironomus tentans*.

La croissance algale sans chironomes était comparable pour tous les traitements chez *Desmodesmus* sp. Au contraire, tous les traitements (pesticides) causaient une inhibition totale de la croissance de *P. lanceolatum*. Pour les deux morphotypes de *G. gracile*, une réduction des taux de croissance était observable suite à l'exposition au diuron uniquement. L'effet du diuron, plus marqué sur les

algues que sur les chironomes, traduit son mode d'action herbicide, par inhibition de la photosynthèse (Giacomazzi et Cochet 2004). Cet effet significatif sur les deux plus grosses espèces découlerait, entre autres hypothèses, des capacités de bioaccumulation des composés dépendantes du ratio cellulaire surface/volume, de la composition lipidique des organismes (déterminant la vitesse d'entrée dans la cellule ; Tang et al. 1998) et de la polarité des contaminants et leur affinité pour les composés cellulaires (González-Barreiro et al. 2006, Rioboo et al. 2002).

Concernant les taux d'élimination, le test de Scheirer-Ray-Hare distinguait deux groupes homogènes de réponse (Figure 12). Ces taux étaient significativement plus élevés pour le groupe A composé des deux morphotypes de *G. gracile* que pour le groupe B constitué de *P. lanceolatum* et *Desmodesmus* sp. ( $p < 0,05$ , ddl = 3, H = 848,3). Pour les algues du groupe A, l'imidaclopride augmentait les taux d'élimination (de manière significative uniquement pour le morphotype normal de *G. gracile*), et l'exposition au mélange de pesticides les réduisait. Le taux d'élimination exprime le ratio de biomasse algale consommée par unité de biomasse de brouteur. Sous exposition à l'imidaclopride, ce rapport en augmentation traduisait une biomasse individuelle plus élevée de *G. gracile* (Tableau 1) broutée, par un nombre réduit de larves de chironomes (biomasse plus faible). La réponse inverse au mélange de pesticides pourrait s'expliquer par la toxicité du diuron sur ces diatomées, couplée à une certaine léthargie des chironomes. Pour les algues du groupe B, l'exposition au diuron augmentait les taux d'élimination, contrairement à l'imidaclopride et au mélange de pesticides qui les réduisaient, avec un effet significatif du mélange uniquement pour l'algue verte *Desmodesmus* sp. (test de Dunn,  $p < 0,05$ ). Cette moindre élimination découlait de la toxicité (léthargie, mortalité accrue) provoquée par l'imidaclopride sur les chironomes. Au contraire, sous exposition au diuron, l'augmentation du broutage pourrait traduire une compensation de la perte de qualité nutritive de ces petites algues par un accroissement des taux d'alimentation.

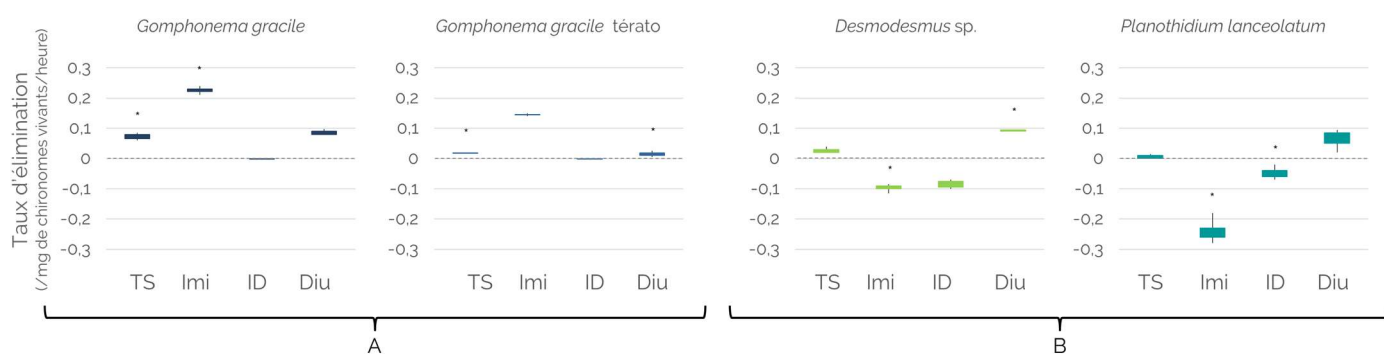


Figure 12 : Taux d'élimination horaires exprimés par mg de chironomes vivants à la fin de l'expérience, en fonction des algues fournies comme nourriture et de l'exposition aux pesticides. TS : témoin solvant, Imi : Imidaclopride, ID : Imidaclopride+Diuron ; Diu : diuron. A et B représentent les groupes déterminés par le test de Scheirer-Ray-Hare suivi d'un test *post hoc* de Dunn ( $p < 0,05$ ). \* Significativement différent du témoin (Volvic seule).

**Sélectivité de la diète.** En conditions témoins, les larves de chironomes se retrouvaient sur les différentes pastilles, à l'exception du morphotype tératologique de *Gomphonema gracile* où les chironomes étaient rarement observés (Figure 13). Le « désintéret » pour ce morphotype pourrait être lié à des raisons morphologiques pouvant en entraver l'ingestion ; en effet ces spécimens étaient de grande taille (biovolume deux fois plus élevé que le morphotype normal : Tableau 1), et étaient les seuls à présenter une asymétrie de forme (Coquillé et Morin 2019). Pour tous les traitements, le temps passé par les larves sur cette pastille était statistiquement plus faible que pour les autres pastilles (ANOVA,  $p < 0,02$ , ddl = 5, F = 2,82). Aucune différence statistique n'était détectable entre les différentes conditions d'exposition, en raison d'une dispersion importante des données. Notons que l'exposition à l'imidaclopride résultait en une immobilisation des larves de chironomes au centre des boîtes de Pétri ( $53 \pm 22$  % du temps total d'expérience pour l'imidaclopride seul,  $30 \pm 21$  % pour le mélange). Azevedo-Pereira et al. (2011) avaient déjà décrit une inhibition de la mobilité chez *Chironomus riparius* après 96 heures d'exposition à une concentration de 2,15  $\mu\text{g/L}$ .

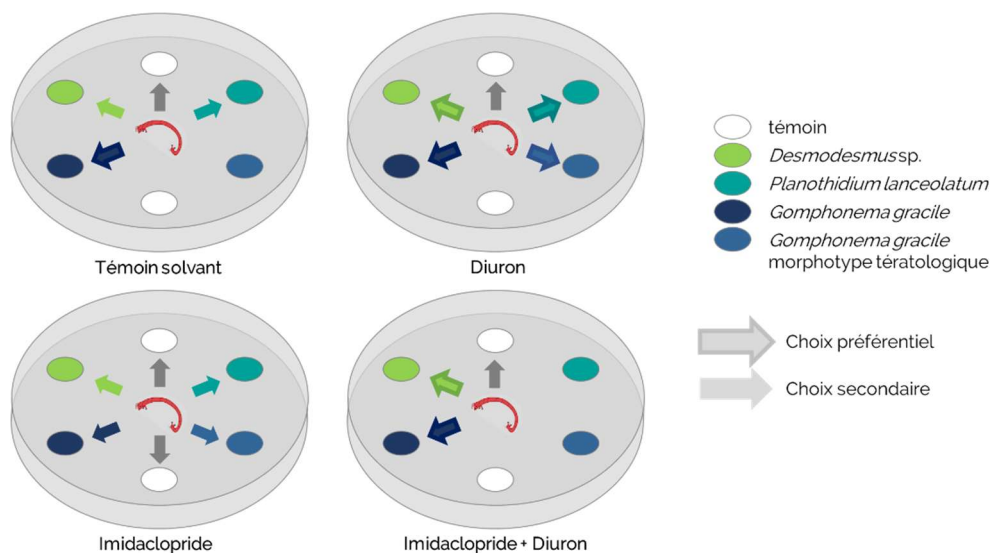


Figure 13 : Sélectivité des proies sous les différents traitements pesticides.

Le temps cumulé passé sur les pastilles algales était utilisé comme critère de sélectivité de la nourriture de la part des chironomes, et le nombre de changements de pastilles et/ou la distance parcourue (Figure 14) étaient assimilés à des manifestations de la perturbation de la diète causée par l'exposition aux pesticides. Globalement, les chironomes passaient plus de temps sur les pastilles de diatomées que sur celles de la chlorophycée, cette préférence pouvant s'expliquer par la richesse des diatomées en acides gras essentiels (oméga 3) (Perhar et Arhonditsis 2012) et en protéines (Tenore 1989). L'hypothèse d'une sélectivité de la diète pour ces taxons est renforcée par la dépense énergétique nécessaire à la consommation de diatomées (présence d'un frustule rigide), supérieure à celle nécessaire au franchissement de la paroi des chlorophycées. Sous exposition au diuron, la diminution de la proportion d'acides gras essentiels chez les diatomées (voir pour *G. gracile*, par exemple : Demailly et al. 2019) aurait pu contraindre les brouteurs à changer plus régulièrement de nourriture pour compenser cette perte nutritive (Vos et al. 2000). Ce comportement plus actif et versatile se traduisait également par une pression de broutage accrue sur *Desmodesmus* sp.

L'effet du mélange de pesticides sur la diète était intermédiaire entre les deux substances individuelles testées : la perte de mobilité des larves traduisait l'effet de l'imidaclopride, tandis que le choix préférentiel de nourriture était plus ciblé, vers *G. gracile* et *Desmodesmus* sp., en accord avec les observations réalisées sous exposition au diuron. L'imidaclopride affectait ainsi directement la capacité des larves à s'alimenter, alors que l'exposition au diuron modifiait l'appétence globale des différentes sources de nourriture proposées.

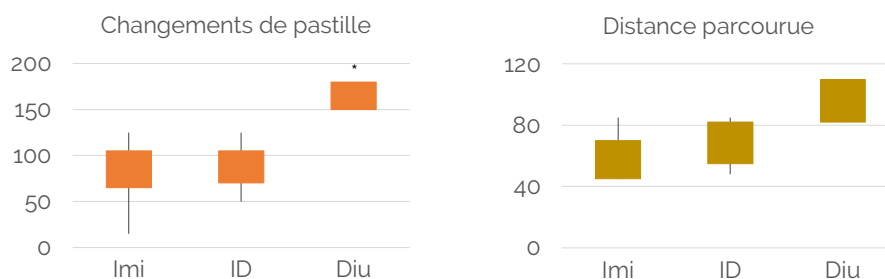


Figure 14 : Changements de pastilles et distance parcourue par les chironomes, en pourcentage des valeurs témoins. Imi : Imidaclopride, ID : Imidaclopride+Diuron ; Diu : diuron. \* Significativement différent du témoin sur la base du test de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

La Figure 14 reporte le nombre de changements de pastilles effectués par les chironomes, et la distance parcourue sur la durée de l'expérience. Les patrons de réponse pour ces deux indicateurs étaient similaires entre l'imidaclopride et le mélange, avec un nombre de changements de pastilles inférieur aux témoins ( $87,5 \pm 18,6$  et  $81,3 \pm 24,7$  %, respectivement) et une distance parcourue plus



faible. Au contraire, l'exposition au diuron augmentait significativement le nombre de changements de pastilles, de  $162,5 \pm 8,3$  % en moyenne, par rapport aux témoins. En conséquence, les distances parcourues dans ces conditions étaient supérieures à celles couvertes lors de l'exposition à l'imidaclopride et au mélange (Figure 14).

## Conclusions

Cette étude, qui focalisait principalement sur le comportement du brouteur, corrobore l'importance d'étudier les impacts d'une combinaison de facteurs biotiques et abiotiques. L'herbicide (diuron) et l'insecticide (imidaclopride) ont, tous deux, altéré le comportement alimentaire des larves de chironomes à des concentrations environnementales ( $5 \mu\text{g/L}$ ). Plusieurs effets ont été démontrés sur le brouteur : une mortalité variable en fonction de l'algue ingérée et du traitement pesticide, et divers changements comportementaux. L'imidaclopride, seul ou en mélange avec le diuron, affectait principalement la mobilité de la larve. L'inhibition de l'activité de broutage était une conséquence de la paralysie ou de la mort du brouteur. Le diuron, en impactant l'appétence des algues (Demailly et al. 2019, Troton et al. 1986), obligeait les chironomes à augmenter leur taux d'ingestion, probablement pour compenser la perte de qualité dans l'apport nutritif par la quantité (Vos et al. 2000). D'ailleurs les résultats de la seconde expérience confirment cette hypothèse de compensation via une diversification de l'apport nutritif. En effet, dans le témoin, les larves montraient une préférence pour les diatomées, qui sont généralement plus riches en protéines et acides gras que leurs congénères vertes (Tenore 1989). Alors que lorsque le milieu était contaminé au diuron, les larves changeaient activement de source de nourriture et devenaient plus opportunistes. Ce type de changements comportementaux de choix de nourriture, d'augmentation ou réduction de taux d'ingestion peuvent engendrer une cascade d'effets sur des chaînes trophiques plus complexes et restructurer des communautés entières (Fleeger et al. 2003).



© Julie Neury-Ormanni - INRAE

## Elaboration d'une base de données recensant les traits morphofonctionnels de la microméiofaune des biofilms d'eau douce

L'approche par les traits morphofonctionnels des organismes pour explorer et comprendre la diversité des formes et des fonctions dans un écosystème est en pleine émergence (Gravel et al. 2016, Weisse et al. 2016). Cette approche prend en compte les relations qui s'établissent entre les organismes davantage que la seule description de la richesse spécifique, notamment si l'on s'intéresse aux relations trophiques. En effet, étudier la diversité des modes d'alimentation et les capacités des organismes à trouver leur nourriture considère forcément le facteur biotique de relation entre différents compartiments, ici : microméiofaune/microalgues. Cette méthode permet de pallier les limites inhérentes à la taxonomie en regroupant des organismes possédant les mêmes attributs fonctionnels. Aborder la diversité d'un écosystème du point de vue de sa fonctionnalité présente des avantages. Cela peut réduire les erreurs d'identification et simplifier les informations sur la structure de la communauté (Bortolus 2008), permettant de comparer des écosystèmes à plus large échelle (Violle et al. 2007).

## Objectifs de l'étude

Les approches d'écologie fonctionnelle portent plus communément sur d'autres organismes plus grands et plus facilement identifiables, avec des traits mieux connus comme les macroinvertébrés (Usseglio-Polatera et al. 2001). Les premiers travaux traitant des traits fonctionnels ont été conduits sur les plantes (Petchey et Gaston 2006, Stanca et al. 2013, Violle et al. 2007). Puis ce type d'approche a émergé et des bases de données sur les traits fonctionnels ont été créées sur les invertébrés (Usseglio-Polatera et al. 2001), sur les poissons (Boyle et Horn 2006, Villéger et al. 2010) ou sur des communautés de vertébrés terrestres (Luck et al. 2012) ; principalement sur des types d'organismes facilement déterminables pour lesquels un large ensemble de connaissances existait déjà. Des travaux ont déjà été réalisés sur de plus petits organismes comme Pratt et Cairns (1985) qui ont catégorisé les protozoaires en fonction de leur régime alimentaire, ou plus récemment la classification trophique des ciliés de Weisse (2017). Mais bien que la microméiofaune occupe une place clé dans le flux d'énergie vers les chaînes trophiques supérieures (Elwood et Nelson 1972) et représente une part abondante de la communauté benthique (Neury-Ormanni et al. 2016), l'étude de ces organismes est souvent négligée.

Nous avons donc élaboré une base de données recensant les traits morphofonctionnels de la microméiofaune sur la base d'une abondante revue de la littérature (Tableau 2). Elle a été écrite en anglais pour permettre une plus ample diffusion et compte 49 espèces et 36 traits morphofonctionnels. Les espèces ont été prioritairement choisies en fonction de leur abondance relative dans nos échantillons à chaque saison. Les traits morphofonctionnels sont inspirés de la base de données de Usseglio-Polatera et al. (2000) sur les traits morphofonctionnels des macroinvertébrés d'eau douce pour assurer la compatibilité des deux bases sur un maximum de traits. Ils sont composés de traits écologiques comme la distribution générale, les microhabitats, les saisons et les préférences physico-chimiques (courant, statut trophique, type d'eau, salinité, température, saprobie, pH) et de traits biologiques comme le cycle de vie (stade aquatique, taux de croissance, stratégie de survie), la morphologie générale (longueur, largeur, forme du corps), les traits d'histoire de vie (la relation au substrat, le style de vie), la physiologie générale (organe respiratoire) ; et les traits d'aspect comportemental de nutrition (nourriture, régime alimentaire, type trophique, mode d'alimentation, taille de proie assimilable, taille de la bouche, position de la bouche, organe et mode de capture), de relation (aux microalgues), de locomotion (organe de locomotion, vitesse de déplacement) et de reproduction (mode de reproduction).

Cette base de données se présente sous un tableur Excel et est composée de trois onglets. Le premier onglet renseigne les informations relatives aux créateurs de cette base et le journal dans lequel elle a été publiée en matériel supplémentaire (Neury-Ormanni et al. 2020a). Le second onglet présente la base de traits. Le vocabulaire a été simplifié car cette base regroupe des organismes unicellulaires et pluricellulaires. Chaque information est reliée à une référence numérotée. Ces références sont organisées dans le troisième onglet du tableur Excel. Il peut s'agir de littérature existante (publications, sites internet) ou d'observations faites sur nos propres échantillons pendant la phase d'identification des organismes.

### Analyse des relations trophiques au sein du biofilm

Cette base de données a servi à construire le Tableau 2 regroupant les traits morphofonctionnels liés à l'activité trophique. Pour la construction de ce tableau, seize traits ont été sélectionnés avant analyse. Les traits pour lesquels les informations étaient manquantes, et ceux pour lesquels il n'y avait pas de variation entre les taxons choisis ou non informatifs, avaient été écartés au préalable. La qualité « non-informative » a été déterminée en réalisant un test d'indépendance (test du Chi carré) entre la variable espèce et chaque variable caractérisant un trait morphofonctionnel, sur la base des données d'inventaires disponibles.

Tableau 2 : Liste des 16 traits (126 modalités) liés à l'activité trophique retenus pour les analyses suivantes.

Trait	Modalité	Code	Trait	Modalité	Code	Trait	Modalité	Code			
Longueur maximale	20 – 99 µm	Lx1	Mode de vie	Colonial	Vie1	Distribution générale	Anaérobie, boues ou zone pélagique	Di1			
	100 – 249 µm	Lx2		Solitaire	Vie2		Aphotique	Di2			
	250 – 999 µm	Lx3	Taille des proies assimilables	0 – 20 µm	TpA1		Benthique	Di3			
	1000 – 20000 µm	Lx4		21 – 50 µm	TpA2		Cosmopolite	Di4			
Nourriture	Algues filamenteuses	Nou1		>50 µm	TpA3		Non limitée par la taille de la bouche/du prédateur	TpA4	Epizoïque	Di5	
	Algues unicellulaires	Nou2	Mode/ organes de capture des proies	Cavité buccale profonde	Cap1		Interstitiel	Di7			
	Algues vertes	Nou3			Ciliature buccale : Adoral Zone of Membranelles (AZM)		Cap2	Pélagique	Di8		
	Algues vertes filamenteuses	Nou4					Ciliature buccale : cinéties périorales	Cap3	Périphytique	Di9	
	Algues vertes unicellulaires	Nou5			Ciliature buccale : cinétosomes, membrane ondulante			Cap4	Photique	Di10	
	Bactéries	Nou6					Ciliature buccale : haplocinétie parorale	Cap5	Terrestre	Di11	
	Ciliés	Nou7			Ciliature buccale : membrane adoral (pseudo AZM)			Cap6	Organes de locomotion	Aucun	Dor1
	Cyanobactéries	Nou8				Ciliature buccale : membrane parorale	Cap7	Cils		Dor2	
	Détritus	Nou9			Ciliature buccale : polycinétie		Cap8	Cirrhés		Dor3	
	Diatomées	Nou10				Couronne ciliaire	Cap9	Couronne ciliaire		Dor4	
	Microalgues	Nou11			Cytopharynx		Cap10	Pied		Dor5	
	Particules minérales	Nou12				Cytostome	Cap11	Pseudopodes/cytoplasme		Dor6	
	Petits métazoaires	Nou13	Extrusome	Cap12	Soies		Dor7				
	Phytoflagellés	Nou14		Infundibulum	Cap13	Vitesse de déplacement	Très lent	Dvi1			
	Protistes	Nou15	Mastax forcipé		Cap14		Lent	Dvi2			
	Protistes hétérotrophes	Nou16		Mastax malle	Cap15		Moyen	Dvi3			
	Rotifères	Nou17	Mastax ramé		Cap16		Rapide	Dvi4			
	Bactéries sulfureuses	Nou18		Mastax unciné	Cap17		Très rapide	Dvi5			
	Zooflagellés	Nou19	Mastax virgè à fulcrum long		Cap18		Nulle	Dvi6			
Régime alimentaire	Bactérovore	Ral1		Relation au substrat	Endobenthique	Sub1	Mode de reproduction	Autogamie	Rep1		
	Cannibalisme	Ral2	Fixation permanente			Sub2		Conjugaison	Rep2		
	Détritivore	Ral3				Fixation temporaire		Sub3	Gamétogamie	Rep3	
	Herbivore	Ral4	Marcheur					Sub4	Oeufs isolés fixes	Rep4	
	Histophage	Ral5				Nageur		Sub5	Oeufs isolés libres	Rep5	
	Macrophage	Ral6	Reptation/glisse					Sub6	Ovipare	Rep6	
	Microphage	Ral7				Aucune		Stratégie de survie	Paratomie	Rep7	
	Omnivore	Ral8	Diapause						Sur1	Parthénogénèse	Rep8
	Prédateur	Ral9				Dormance			Sur2	Reproduction asexuée	Rep9
Relation avec les microalgues	Aucune	Mic1	Extrusome						Sur3	Reproduction sexuée	Rep10
	Commensalisme	Mic2				Oviposition			Sur4	Scissiparité	Rep11
	Consommateur primaire	Mic3	Protection du corps				Sur5		Aucune	Organes de respiration	Branchies
	Symbiose	Mic4				Zoïde	Sur6				Intestin
Mode d'alimentation	Absorbeur/suceur	Mal1	Branchies				Sur7		Membrane plasmique		Res3
	Broyeur	Mal2				Téguments	Res4				
	Filtreur	Mal3	Intestin				Res2				
	Phagocytose	Mal4				Membrane plasmique	Res3				
	Racleur	Mal5	Téguments				Res4				
Position de la bouche	Aucune	Bou1				Branchies	Res1				
	Antérieure	Bou2	Intestin				Res2				
	Latérale	Bou3				Membrane plasmique	Res3				
	Postérieure	Bou4	Téguments				Res4				
	Ventrale	Bou5				Téguments	Res4				

Une analyse sous contrainte à trois tableaux de type RLQ (Figure 15) permet de mettre en relation l'environnement (matrice R) avec les traits morphofonctionnels de la microméiofaune (matrice Q). Les matrices L (inventaires taxonomiques) et Q sont obtenues à partir des données d'abondance et de la base de données des traits morphofonctionnels de la microméiofaune, respectivement. La matrice R répertorie les données des variables environnementales. Pour ce faire, des analyses en composantes principales (ACP) sont réalisées sur les deux matrices explicatives (R et Q) en pondérant les lignes par le score obtenu pour ces mêmes lignes par l'analyse factorielle des correspondances (AFC) de la matrice L. Pour la matrice L, la moyenne de l'abondance de chaque espèce est calculée à partir des



réplicats (le cas échéant) afin de faire correspondre strictement les relevés entre les matrices R et L. Cette analyse est menée à l'aide du package *ade4* (Chessel et al. 2004, Dray et Dufour 2007, Dray et al. 2007).

Deux exemples d'utilisation de cette base de données pour la compréhension des relations trophiques dans le biofilm sont présentés par la suite.

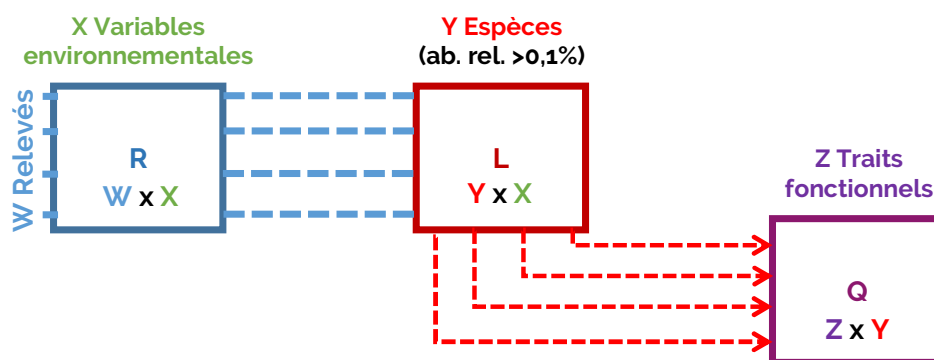


Figure 15 : Schéma récapitulatif de l'analyse RLO afin de déterminer le lien entre l'environnement et les traits fonctionnels de la communauté microméiofaunique.

### Traits morphofonctionnels de la microméiofaune liés à l'activité trophique

**Analyse de la variabilité saisonnière des traits morphofonctionnels de la microméiofaune liés à l'activité trophique dans un biofilm de milieu hypereutrophe.** Les fluctuations saisonnières des traits morphofonctionnels de la microméiofaune ont été étudiés sur une année, sur la base des inventaires taxonomiques réalisés sur quatre cycles de croissance du biofilm (un par saison) et de la base de données de traits. Des lames de verre ont été colonisées par du biofilm pendant 28 jours en hiver (Février 2017), au printemps (Mai 2017), en été (Juillet 2018), et en automne (Novembre 2018) dans l'étang de Gazinet-Cestas. Les conditions environnementales ont été relevées aux jours d'échantillonnage et la microméiofaune a été identifiée et comptée.

La Figure 16 présente les résultats obtenus pour quatre traits liés à l'activité trophique. Ces résultats démontrent que la diversité fonctionnelle liée à l'activité trophique de la microméiofaune varie en fonction des saisons. En hiver, la microméiofaune était principalement représentée par une microfaune herbivore, bactérivore et microphage qui s'alimentait par filtration. Au printemps, la microméiofaune était herbivore, macrophage et prédatrice, majoritairement peuplée d'une microfaune assimilant ses proies par phagocytose et d'une méiofaune broyeuse. En été, la microméiofaune était prédominée par une microfaune qui filtrait et raclait bactéries, détritres et microalgues, et une méiofaune capable d'assimiler ses proies par succion. La saison estivale était également marquée par la présence d'un escargot de la macrofaune (*Physa* sp.) qui broutait de manière non sélective sur le biofilm (Hunter 1980), structurant ainsi les échelons inférieurs du réseau trophique (Guasch et al. 2016). En automne, la topologie de la chaîne alimentaire se décomplexifiait. La microméiofaune était principalement représentée par une microfaune filtreuse bactérivore et racleuse détritrovo. En effet, les détritrovores sont généralement plus présents sur la fin de l'été et le début de l'automne, ces microorganismes aquatiques participant à la décomposition de la litière de feuilles et des organismes morts (Garden et Davies 1988, Herbst 1982).

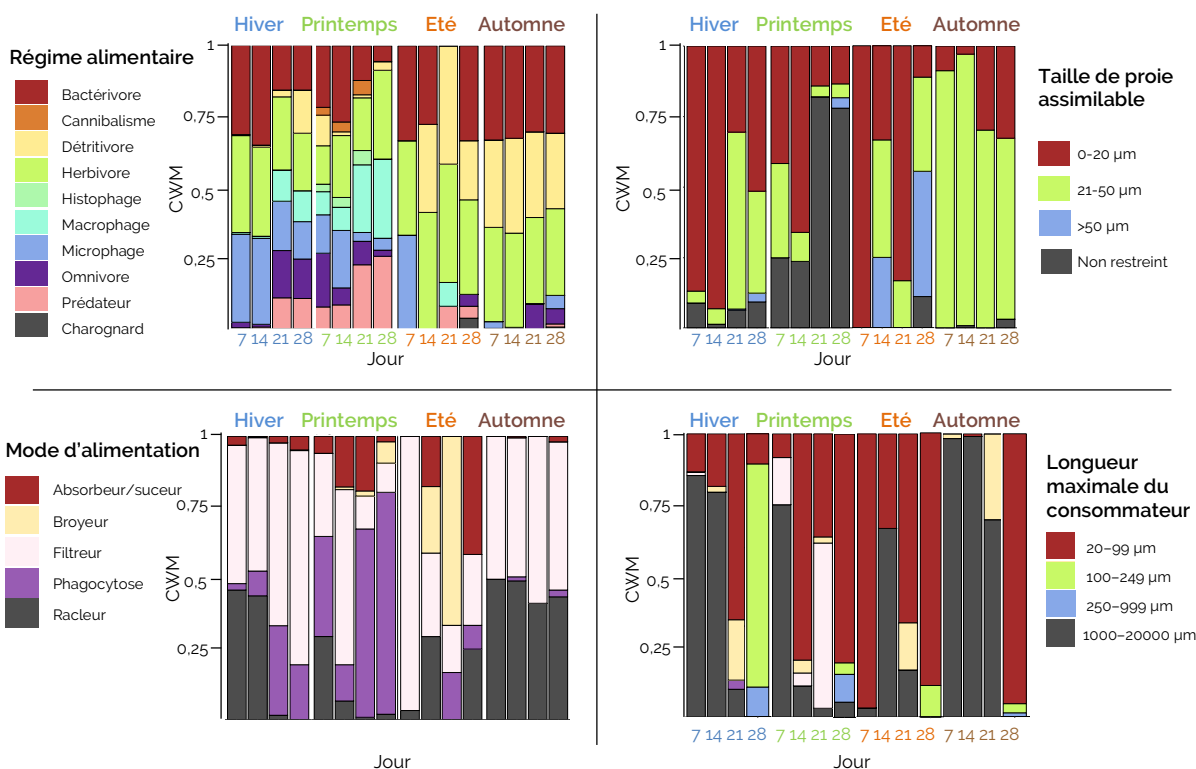


Figure 16 : Résultats des analyses *Community Weighted Means* (CWM : représentation en pourcentage des traits morphofonctionnels présents dans la communauté) décrivant l'évolution temporelle et saisonnière de la distribution des modalités de traits liés au régime alimentaire, au mode d'alimentation, à la taille de proie assimilable et à la dimension maximale (longueur) du consommateur.

**Des contraintes abiotiques saisonnières plus structurantes sur les caractéristiques morphofonctionnelles que l'impact chimique.** Pour approfondir notre compréhension des réponses du biofilm aux contaminants, nous avons analysé les variations fonctionnelles de communautés périphytiques développées en milieu hypereutrophe aux différentes saisons : hiver, printemps, été et automne sous la pression d'un herbicide (diuron) et d'un insecticide (imidaclopride) seuls et en mélange. Pour ce faire, des lames de biofilm mature (28 jours, cf. ci-dessus) ont été transférées dans quatre aquariums dans une salle thermorégulée, dont la température et la photopériode était ajustée aux conditions environnementales du milieu lors du prélèvement. Quatre modalités ont été testées : un aquarium témoin, un contaminé au diuron à 5 µg/L, un autre à l'imidaclopride à 5 µg/L et une modalité présentant un mélange binaire de ces deux substances à 5 µg/L, durant 14 jours dans de l'eau de l'étang filtrée à 30 µm.

Le plan principal de l'analyse RLQ (Figure 17) est fortement explicatif avec 71 % de l'inertie totale portée par le premier axe et 19 % par le deuxième axe. Le premier axe est assimilable à la distinction des saisons, qui s'est avérée être le facteur majeur de la structuration morphofonctionnelle des communautés, plus que l'impact chimique (Diuron, Imidaclopride ou mélange binaire) et la durée d'exposition aux pesticides (7 et 14 jours). Les saisons sont caractérisées par des conditions environnementales différentes (Figure 17). En hiver, les concentrations en phosphore total, azote organique et chlorophylle a dans l'eau sont les plus élevées. Les algues vertes sont dominantes dans la colonne d'eau. Pour la saison printanière, les concentrations en orthophosphates et en ammonium dans l'eau sont plus fortes. L'indice d'autotrophie (ratio entre organismes autotrophes et hétérotrophes) y est plus élevé que pour les autres saisons. Les algues bleues sont dominantes dans l'eau et dans le biofilm du printemps, et les diatomées périphytiques sont plus présentes que les algues vertes qui sont complètement anti-corrélées à cette saison. Le milieu environnant des communautés estivales est principalement caractérisé par l'augmentation des températures et des concentrations en nitrates et en silice dans l'eau. Le groupe algal des diatomées domine les microalgues planctoniques. Les relevés d'automne occupent une place intermédiaire entre toutes les autres saisons. Les variations saisonnières des paramètres climatiques et physico-chimiques semblent principalement responsables des changements au sein des fonctions de la microméiofaune. Jiang et al. (2007) ont d'ailleurs démontré que la structure, en termes d'espèces, des communautés de protozoaires du lac Donghu était principalement dépendante de la variabilité des paramètres de qualité de l'eau (azote, phosphore, oxygène dissout).

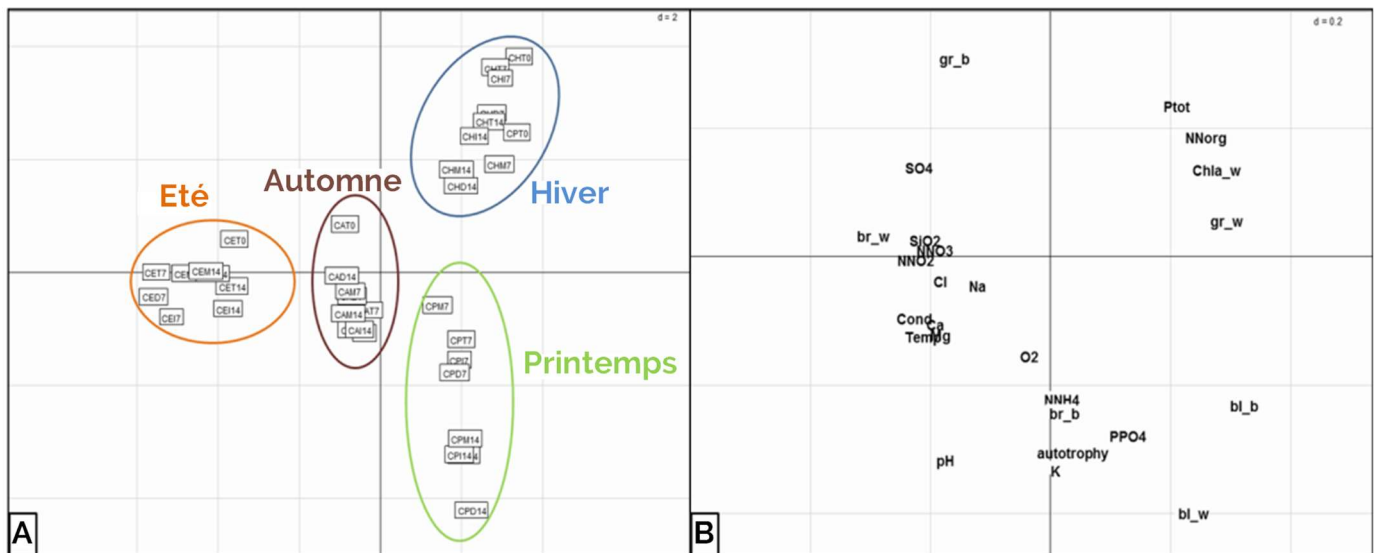


Figure 17 : Résultats des deux premiers axes de l'analyse RLO : axe 1 (horizontal, 71 %) et axe 2 (vertical, 19 %). (A) Scores des relevés des aquariums de toutes les saisons (H = Hiver, P = Printemps, E = Eté, A = Automne), à chaque temps d'exposition (0 = Temps initial, 7 = 7 jours d'exposition, 14 = 14 jours d'exposition). (B) Scores des conditions physico-chimiques et climatiques : (gr\_b) concentration en algues vertes dans le biofilm, (bl\_b) concentration en algues bleues dans le biofilm, (br\_b) concentration en algues brunes dans le biofilm, (gr\_w) concentration en algues vertes dans l'eau, (bl\_w) concentration en algues bleues dans l'eau, (br\_w) concentration en algues brunes dans l'eau, (Chla\_w) concentration en chlorophylle a dans l'eau, (autotrophy) indice d'autotrophie, (Cond) Conductivité de l'eau, (Temp) Température de l'eau, (pH) pH de l'eau, (O2) Oxygène dissout, (Ptot) Phosphore total, (PPO4) Orthophosphates, (NNorg) Azote organique, (NNO3) Nitrates, (NNO2) Nitrites, (NNH4) Ammonium, (SiO2) Silice, (Cl) Chlorure, (Na) Sodium, (SO4) Sulfates, (Mg) Magnésium, (Ca) Calcium, (K) Potassium.

Pour s'affranchir de l'impact des facteurs saisonniers sur la structure des communautés, une *Principal Response Curve* (PRC) a été élaborée (Figure 18). Ce type d'analyse permet d'évaluer une divergence de trajectoire temporelle des traitements (insecticide, herbicide, mélange binaire), en comparaison de l'évolution des témoins. En prenant en compte les compositions fonctionnelles de chaque saison, au 14<sup>ème</sup> jour d'exposition, l'analyse PRC indique que la variation saisonnière de l'exposition chronique aux pesticides sur les traits liés à l'activité trophique de la microméiofaune est marginalement significative ( $p = 0,074$ , Figure 18). La courbe de référence (grisée) représente l'aquarium témoin, sans pesticide.

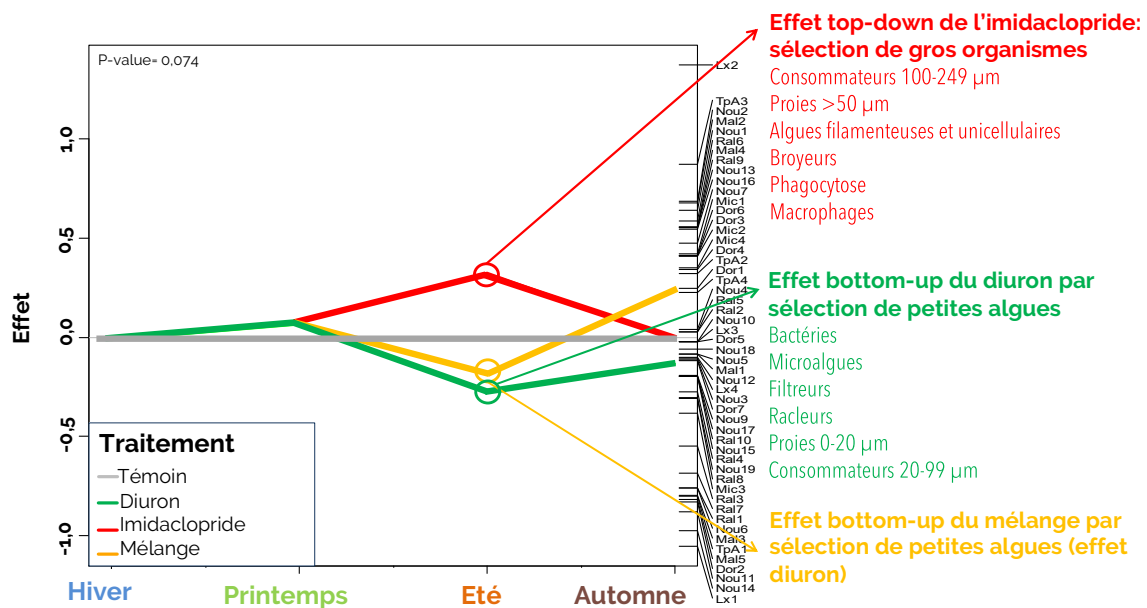


Figure 18 : Courbes de réponse principale (PRC) sur les traits morphofonctionnels de la microméiofaune liés à l'activité trophique, indiquant les effets de l'imidaclopride (insecticide) et du diuron (herbicide), seuls et en mélange, en fonction des saisons ( $p = 0,074$ ). Les traits et modalités correspondantes sont listés dans le Tableau 2.

En hiver, il n'y a aucune différenciation d'effet entre le témoin et les traitements : les conditions abiotiques extrêmes structurent potentiellement le biofilm avec des organismes plus tolérants, aux fonctions plus primitives. Au printemps, les trois courbes correspondant aux aquariums contaminés suivent la même trajectoire et atteignent un effet moindre (Effet = +0,1 ; [Figure 18](#)). La divergence aux témoins la plus élevée a été relevée à la saison estivale. Les traitements agissaient différemment sur les traits de la microméiofaune. Sous exposition à l'imidaclopride (Effet = +0,4), la microméiofaune était représentée par des organismes d'une taille de 100 à 249  $\mu\text{m}$  (Lx2), des macrophages (Ral6) capables d'assimiler des proies d'une taille supérieure à 50  $\mu\text{m}$  (TpA3) par broyage (Mal2) ou phagocytose (Mal4). Au contraire, les expositions au diuron et au mélange binaire de diuron et d'imidaclopride présentent des effets opposés (Effet = -0,3 et -0,2 respectivement). La microméiofaune est représentée par des organismes de petite taille (20-99  $\mu\text{m}$ , Lx1) se déplaçant à l'aide de cils (Dor2), des microphages (Ral7) qui se nourrissent de bactéries (Ral1, Nou6) et de microalgues (Nou11) et de particules minérales (Nou 12) de petite taille (0-20  $\mu\text{m}$ , TpA1) en filtrant (Mal3) ou en raclant (Mal5). Les effets du diuron sur les microalgues à des concentrations de l'ordre du microgramme sont reconnues (Chaumet et al. 2019, Ricart et al. 2009, Roubeix et al. 2011). Après 14 jours d'exposition au diuron, seul et en combinaison avec l'imidaclopride, la moindre disponibilité de ressource pour les herbivores a engendré une commutation de la microméiofaune en faveur d'organismes bactérivores. Des effets divergents ont aussi été observés pour la saison automnale. Alors que le traitement à l'imidaclopride ne diffère pas du témoin, le mélange a un effet positif (Effet = +0,25, [Figure 18](#)) : cette fois, la microméiofaune présente les mêmes traits que ceux décrits précédemment pour le traitement à l'imidaclopride en été. Le traitement au diuron en automne présente la même trajectoire donc les mêmes traits fonctionnels qu'en été avec un effet plus faible (Effet = -0,2, [Figure 18](#)). Ces résultats suggèrent que les modes d'action des pesticides, seuls ou en combinaison, impactent différemment les communautés en fonction des saisons (variabilité de la composition spécifique et des conditions environnementales).

Globalement, cette analyse confirme que l'impact chimique a eu peu d'effet significatif sur les communautés de microméiofaune du point de vue fonctionnel à des concentrations environnementales (5  $\mu\text{g/L}$ ). Les taxons de la communauté « perturbée » étaient différents mais fonctionnellement redondants avec ceux de la communauté témoin. La redondance fonctionnelle est un concept dans lequel différentes espèces remplissent les mêmes fonctions dans un écosystème de manière à ce que les changements de diversité d'espèces d'une communauté ne se répercutent pas sur le fonctionnement des écosystèmes (Lawton et Brown 1994). Pourtant, à ces mêmes concentrations, les expériences menées dans des conditions simplifiées ([Axes 1.1](#) et [1.2](#)) ont démontré que le diuron et l'imidaclopride impactaient les relations trophiques (comportement des microbrouleurs, disponibilité et valeur nutritionnelle des proies). Ces effets, qu'on aurait pu supposer se propager voire s'exacerber le long des chainons supérieurs de la chaîne trophique de l'écosystème, étaient ici atténués en conditions plus complexes (communauté naturelle). A l'échelle de la communauté, la coexistence spatiale des organismes (la richesse spécifique) et leur relation avec le milieu et les autres organismes augmentent la capacité de résilience globale (Allison et Martiny 2008, Loreau 2004). En effet, les organismes plus sensibles peuvent être remplacés par d'autres organismes ayant les mêmes fonctions, permettant le maintien des caractéristiques fonctionnelles de la communauté dans son ensemble.

## Conclusions

L'analyse de la variabilité saisonnière des traits morphofonctionnels de la microméiofaune liés à l'activité trophique sur un biofilm mature a montré qu'il existe une nette différence entre les saisons en termes de structure et de diversité. Par l'approche fonctionnelle, nous avons simplifié la comparaison de quatre communautés éloignées. Bien que le biofilm provienne d'une unique situation géographique et se soit développé sur des durées identiques (28 jours), la diversité des contraintes abiotiques saisonnières a influencé les traits morphofonctionnels de la microméiofaune, notamment liés à l'activité trophique en relation avec la composition « en proies » des biofilms. En hiver la microméiofaune remplissait des fonctions bactérivores, détritivores et omnivores ; au printemps elle était plutôt dominée par des herbivores et des prédateurs ; en été la macrofaune prédatrice était très structurante (bien que non dominante en effectifs) et en automne la microméiofaune jouait principalement le rôle de détritivore.



Cette base de données amorcée au cours du projet DYLAQ continuera d'être alimentée et pourra servir à la compréhension du fonctionnement d'écosystèmes microbiens benthiques ou dans des études de biomonitoring. En effet, depuis une dizaine d'années, les traits morphofonctionnels des compartiments algaux (Derot et al. 2020) ou des macroinvertébrés (Usseglio-Polatera et al. 2001) sont aussi utilisés dans le domaine de l'évaluation de la qualité des eaux pour déterminer l'état des écosystèmes aquatiques (Van den Brink et al. 2018). L'intégration progressive de la micro-méiofaune, compartiment biologique intermédiaire entre le plancton et les niveaux trophiques supérieurs (Weitere et al. 2018), dans les approches de bioindication et d'écotoxicologie pourrait être favorisée par l'utilisation de cette base de données de traits à l'avenir.



## Conclusions générales – Axe 1

**C**es travaux soulignent la complémentarité entre les observations de terrain et les approches expérimentales à différentes échelles (individus/populations/communautés). Un écosystème se définit comme un assemblage de composés biotiques et abiotiques en constante interaction (Odum 1971). De nombreux facteurs structurent taxonomiquement et fonctionnellement l'écosystème aquatique. L'étude des conséquences écologiques des stress multiples passe par l'analyse des effets d'une combinaison de facteurs et d'échelles biologiques. En effet, plus il y a de données générées à ces différentes échelles, plus les prédictions sont précises et statistiquement efficaces (Gessner et Tlili 2016).

Diverses réponses ont été observées sur des modèles d'organismes diversifiés et complémentaires. La variabilité interspécifique de la sensibilité aux contaminants a été mise en évidence aussi bien sur la microméiofaune que sur les microalgues. Les deux diatomées pennées *Planothidium lanceolatum* et *Gomphonema gracile* ont par exemple montré des sensibilités différentes aux deux pesticides testés : *P. lanceolatum* a démontré une phase de latence plus longue que sa congénère en réponse à l'imidaclopride. Les organismes modifient les conditions environnementales de leur habitat (Genter et Amyot 1994, Hillebrand et Kahlert 2001, Martin et al. 2016), et interagissent par le biais de relations de compétition ou de coexistence, ainsi que de consommation (broutage). Les interactions biotiques, principalement trophiques, ont un impact non négligeable sur la structure et la diversité de l'écosystème (Hillebrand 2002, 2008, Hillebrand et Cardinale 2004). Les consommateurs primaires exercent un effet top-down sur la densité et la croissance des algues par l'action de broutage et l'enrichissement du milieu (fèces, mucus des nématodes, sécrétions de substances polymériques extracellulaires par la microméiofaune, décomposition des cadavres). Par leur fonction de ressource alimentaire, les microalgues régulent (contrôle bottom-up) les populations de consommateurs primaires. L'efficacité de l'apport nutritionnel pour le développement du brouteur et de sa population dépend aussi de l'appétence de ces algues.

L'impact chimique peut avoir des effets sur ces interactions biotiques de manière directe et indirecte : l'effet top-down peut être amoindri lorsque l'insecticide affecte les brouteurs, l'effet bottom-up peut être variable si la croissance de population des algues est réduite (diminution de la disponibilité en ressource nutritive) ou si leur appétence décline, obligeant les brouteurs à changer leurs préférences alimentaires. Par le biais d'expériences en microcosmes sur des organismes modèles dans des conditions simplifiées, l'observation des effets de facteurs biotiques et abiotiques, mesurés individuellement ou en combinaison, a été rendue possible. Dans un contexte de stress multiples, beaucoup d'études sont nécessaires pour démêler leurs impacts seuls et en combinaison (Ormerod et al. 2010). La simplification des relations permet ainsi d'observer les effets sous différents angles. Par exemple, au cours des expériences

réalisées en laboratoire, les réponses des microbrouleurs et des microalgues ont pu être distinguées. Ainsi, nous avons mis en évidence la variabilité interspécifique de la sensibilité aux contaminants et la modification des relations trophiques sous pression pesticide.

Pour extrapoler les informations obtenues en laboratoire à la situation réelle de terrain, des études à l'échelle de la communauté sont nécessaires et complémentaires pour pallier les nombreuses incertitudes. En effet, en extrapolant du niveau individuel au niveau communautaire, les interactions biologiques et les facteurs environnementaux « naturels » ne sont pas considérés. Le développement structurel et taxonomique du biofilm est fortement dépendant des facteurs environnementaux physiques et chimiques (Sabater et al. 2007), qui fluctuent avec les saisons. La composition en espèces de diatomées périphtiques varie considérablement entre l'été et l'hiver (Duong et al. 2008). Les communautés de méiofaune et de macrofaune benthiques oscillent aussi saisonnièrement (Meurer et Netto 2007, Rudnick et al. 1985). Les variations saisonnières d'un biofilm d'eau douce étudiées ici confirment que les modifications d'assemblages saisonniers influencent les relations biotiques (Meurer et Netto 2007, Semprucci et al. 2019). L'évolution de la microméiofaune a été abordée par l'approche des traits morphofonctionnels. En termes de relation trophique, nous avons observé qu'à chaque saison correspondait une fonctionnalité. Les bactérivores étaient plus présents en hiver. Au printemps la communauté accueillait plutôt des herbivores et prédateurs. En été, nous avons noté l'importance des gros prédateurs temporaires (*Physa* sp.). Enfin en automne, la majeure partie de la communauté était composée de détritivores. La variabilité saisonnière taxonomique et fonctionnelle de la microméiofaune influençait sa sensibilité aux contaminants. En effet, les saisons procurent des habitats différents qui accueillent des organismes taxonomiquement et fonctionnellement divers. Nous avons identifié des assemblages de traits fonctionnels saisonnièrement variables, probablement structurés par les conditions environnementales qui influençaient la succession écologique du biofilm. A des concentrations environnementales de pesticides (5 µg/L), les contraintes saisonnières avaient un impact plus important qu'une contamination au diuron et/ou à l'imidaclopride. Pour une saison donnée, la communauté ne variait pas notablement du point de vue fonctionnel, mais l'impact des pesticides testés était estompé, par redondance fonctionnelle. Par contre, l'action toxique des pesticides divergeait en fonction des saisons, avec des effets les plus marqués en été. Ces résultats confirment la plus grande sensibilité des organismes aux stress cumulés pendant la saison estivale (Morin et al. 2017), renforçant la pertinence d'un suivi des impacts anthropiques sur les écosystèmes aquatiques préférentiellement à cette saison, dans une optique de biomonitoring.

#### POUR EN SAVOIR PLUS

**Neury-Ormanni J.** 2016. Prédation, compétition et stress chimique dans les biofilms d'eau douce : synergie ou antagonisme ? Etude de cas d'un nématode (*Aphelenchoides bicaudatus*) et de deux espèces de diatomées : *Planothidium lanceolatum* et *Gomphonema gracile*. Rapport de stage de M2 GEEL, Université de La Rochelle, 44 pages.

**Neury-Ormanni J.** 2019. Impact de la saisonnalité et d'une contamination pesticide environnementale sur des relations biotiques entre la micro-méiofaune et les microalgues d'un biofilm d'eau douce. Thèse de doctorat en Écologie évolutive, fonctionnelle et des communautés (ED304), Université de Bordeaux, 208 pages.

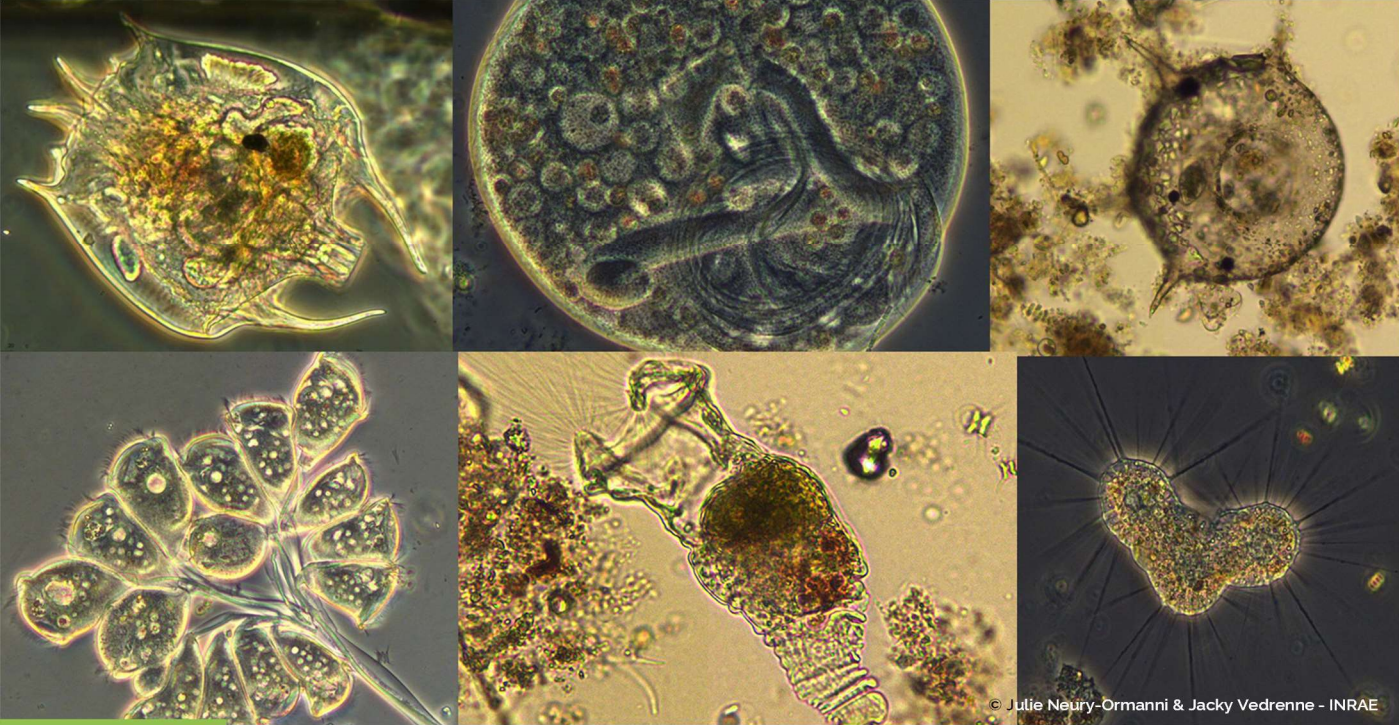
**Neury-Ormanni J., Doose C., Majdi N., Vedrenne J., Traunspurger W., Morin S.** 2020. Selective grazing behaviour of chironomids on microalgae under pesticide pressure. *Science of the Total Environment*, 730, 138673.

**Neury-Ormanni J., Vedrenne J., Morin S.** 2020. Benthic diatom growth kinetics under combined pressure of microalgal competition, predation and chemical stressors. *Science of the Total Environment*, 734, 139484.

**Neury-Ormanni J., Vedrenne J., Wagner M., Jan G., Morin S.** 2020. Micro-meiofauna morphofunctional traits linked to trophic activity. *Hydrobiologia*, 847: 2725-2736.

**Wagner M.** 2018. Analyse de la variabilité saisonnière de la diversité fonctionnelle et de la dynamique des traits liés à l'activité trophique de la microméiofaune dans un biofilm d'eau douce. Rapport de stage de M1 mention BEE, Université de Rennes 1, 23 pages.





## Bibliographie citée

Allison SD, Martiny JBH. 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105: 11512-11519.

Azevedo-Pereira HMVS, Lemos MFL, Soares AMVM. 2011. Behaviour and growth of *Chironomus riparius* Meigen (Diptera: Chironomidae) under imidacloprid pulse and constant exposure scenarios. *Water, Air, & Soil Pollution* 219: 215-224.

Bortolus A. 2008. Error cascades in the biological sciences: the unwanted consequences of using bad taxonomy in ecology. *Ambio* 37: 114-118.

Boyle KS, Horn MH. 2006. Comparison of feeding guild structure and ecomorphology of intertidal fish assemblages from central California and central Chile. *Marine Ecology Progress Series* 319: 65-84.

Bryce D, Hobart A. 1972. The biology and identification of the larvae of the Chironomidae (Diptera). *Entomologist's Gazette* 23: 175-217.

Chaumet B, Morin S, Hourtané O, Artigas J, Delest B, Eon M, Mazzella N. 2019. Flow conditions influence diuron toxicokinetics and toxicodynamics in freshwater biofilms. *Science of the Total Environment* 652: 1242-1251.

Chessel D, Dufour A-B, Thioulouse J. 2004. The ade4 package-I: One-table methods. *R News* 4: 5-10.

Coquillé N, Morin S. 2019. Fitness of teratological morphotypes and heritability of deformities in the diatom *Gomphonema gracile*. *Ecological Indicators* 106: 105442.

Dauta A. 1982. Conditions de développement du phytoplancton. Etude comparative du comportement de huit espèces en culture. I. Détermination des paramètres de croissance en fonction de la lumière et de la température. *Annales de limnologie* 18: 217-262.

Demailly F, Elfeky I, Malbezin L, Le Guédard M, Eon M, Bessoule J-J, Feurtet-Mazel A, Delmas F, Mazzella N, Gonzalez P, Morin S. 2019. Impact of diuron and S-metolachlor on the freshwater diatom *Gomphonema gracile*: Complementarity between fatty acid profiles and different kinds of ecotoxicological impact-endpoints. *Science of the Total Environment* 688: 960-969.

Derot J, Jamoneau A, Teichert N, Rosebery J, Morin S, Laplace-Treytore C. 2020. Response of phytoplankton traits to environmental variables in French lakes: New perspectives for bioindication. *Ecological Indicators* 108: 105659.

Dray S, Dufour A-B. 2007. The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software* 22: 1-20.



- Dray S, Dufour AB, Chessel D. 2007. The ade4 package-II: Two-table and K-table methods. *R News* 7: 47-52.
- Duong TT, Morin S, Herlory O, Feurtet-Mazel A, Coste M, Boudou A. 2008. Seasonal effects of cadmium accumulation in periphytic diatom communities of freshwater biofilms. *Aquatic Toxicology* 90: 19-28.
- Elwood JW, Nelson DJ. 1972. Periphyton Production and Grazing Rates in a Stream Measured with a <sup>32</sup>P Material Balance Method. *Oikos* 23: 295-303.
- Eber M. 2006. Long-term dynamics of microbial biofilm communities of the river Rhine. Universität zu Köln.
- Fleeger JW, Carman KR, Nisbet RM. 2003. Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment* 317: 207-233.
- Garden A, Davies RW. 1988. Decay rates of autumn and spring leaf litter in a stream and effects on growth of a detritivore. *Freshwater Biology* 19: 297-303.
- Genter RB, Amyot DJ. 1994. Freshwater benthic algal population and community changes due to acidity and aluminium-acid mixtures in artificial streams. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13: 369-380.
- Gessner MO, Tlili A. 2016. Fostering integration of freshwater ecology with ecotoxicology. *Freshwater Biology* 61: 1991-2001.
- Giacomazzi S, Cochet N. 2004. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere* 56: 1021-1032.
- González-Barreiro O, Rioboo C, Herrero C, Cid A. 2006. Removal of triazine herbicides from freshwater systems using photosynthetic microorganisms. *Environmental Pollution* 144: 266-271.
- Gravel D, Albouy C, Thuiller W. 2016. The meaning of functional trait composition of food webs for ecosystem functioning. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371: 20150268.
- Guasch H, Bonet B, Bonnineau C, Corcoll N, López-Doval J, Muñoz I, Ricart M, Serra A, Clements W. 2012. How to link field observations with causality? Field and experimental approaches linking chemical pollution with ecological alterations. In Guasch H, Ginebreda A, Geiszinger A, eds. *Emerging and Priority Pollutants in Rivers*, vol. 19 Springer Berlin Heidelberg, 181-218.
- Guasch H, Ricart M, López-Doval J, Bonnineau C, Proia L, Morin S, Muñoz I, Romaní AM, Sabater S. 2016. Influence of grazing on triclosan toxicity to stream periphyton. *Freshwater Biology* 61: 2002-2012.
- Herbst GN. 1982. Effects of leaf type on the consumption rates of aquatic detritivores. *Hydrobiologia* 89: 77-87.
- Hillebrand H. 2002. Top-down versus bottom-up control of autotrophic biomass—a meta-analysis on experiments with periphyton. *Journal of the North American Benthological Society* 21: 349-369.
- Hillebrand H. 2008. Grazing regulates the spatial variability of periphyton biomass. *Ecology* 89: 165-173.
- Hillebrand H, Kahlert M. 2001. Effect of grazing and nutrient supply on periphyton biomass and nutrient stoichiometry in habitats of different productivity. *Limnology and Oceanography* 46: 1881-1898.
- Hillebrand H, Cardinale BJ. 2004. Consumer effects decline with prey diversity. *Ecology Letters* 7: 192-201.
- Hunter RD. 1980. Effects of grazing on the quantity and quality of freshwater Aufwuchs. *Hydrobiologia* 69: 251-259.
- Jamoneau A, Bertrin V, Delest B, Eon M, Gery K, Jan G, Laplace-Treytore C, Mazzella N, Moreira A, Moreira S, Morin S, Neury-Ormanni J, Ribaudou C, Vedrenne J, Tison-Rosebery J. 2019. Approche multi-taxonomique des communautés aquatiques dans le lac de Lacanau. *Irstea*, 167 p.
- Jiang J-G, Wu S-G, Shen Y-F. 2007. Effects of seasonal succession and water pollution on the protozoan community structure in an eutrophic lake. *Chemosphere* 66: 523-532.
- Kaehler S, Froneman PW. 2002. Herbivore-mediated increase in the photosynthetic capacity of marine biofilms: indirect effects of changing microalgal assemblage composition. *Marine Ecology Progress Series* 234: 15-22.
- Lamberti GA. 1984. Aquatic insects as primary consumers. *The ecology of aquatic insects*.
- Lawton JH, Brown VK. 1994. Redundancy in Ecosystems. In Schulze E-D, Mooney HA, eds. *Biodiversity and Ecosystem Function*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 255-270.

- Loreau M. 2004. Does functional redundancy exist? *Oikos* 104: 606-611.
- Luck GW, Lavorel S, McIntyre S, Lumb K. 2012. Improving the application of vertebrate trait-based frameworks to the study of ecosystem services. *Journal of Animal Ecology* 81: 1065-1076.
- Majdi N, Traunspurger W. 2015. Free-Living Nematodes in the Freshwater Food Web: A Review. *Journal of Nematology* 47: 28-44.
- Majdi N, Mialet B, Boyer S, Tackx M, Leflaive J, Boulêtreau S, Ten-Hage L, Julien F, Fernandez R, Buffan-Dubau E. 2012. The relationship between epilithic biofilm stability and its associated meiofauna under two patterns of flood disturbance. *Freshwater Science* 31: 38-50.
- Martin EC, Gido KB, Bello N, Dodds WK, Veach A. 2016. Increasing fish taxonomic and functional richness affects ecosystem properties of small headwater prairie streams. *Freshwater Biology* 61: 887-898.
- Meurer AZ, Netto SA. 2007. Seasonal dynamics of benthic communities in a shallow sublittoral site of Laguna estuarine system (South, Brazil). *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology* 11: 53-62.
- Moens T, Vincx M. 1997. Observations on the feeding ecology of estuarine nematodes. *Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom* 77: 211-227.
- Moens T, Vafeiadou A-M, De Geyter E, Vanormelingen P, Sabbe K, De Troch M. 2014. Diatom feeding across trophic guilds in tidal flat nematodes, and the importance of diatom cell size. *Journal of Sea Research* 92: 125-133.
- Moisset S, Kim Tiam S, Feurtet-Mazel A, Morin S, Delmas F, Mazzella N, Gonzalez P. 2015. Genetic and physiological responses of three freshwater diatoms to realistic diuron exposures. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 4046-4055.
- Morin S, Chaumet B, Mazzella N. 2018. A Time-Dose Response Model to Assess Diuron-Induced Photosynthesis Inhibition in Freshwater Biofilms. *Frontiers in Environmental Science* 6: 131.
- Morin S, Lambert AS, Planes Rodriguez E, Dabrin A, Coquery M, Pesce S. 2017. Changes in copper toxicity towards diatom communities with experimental warming. *Journal of Hazardous Materials* 334: 223-232.
- Morin S, Proia L, Ricart M, Bonnineau C, Geiszinger A, Ricciardi F, Guasch H, Romaní A, Sabater S. 2010. Effects of a bactericide on the structure and survival of benthic diatom communities. *Vie et Milieu (Life and Environment)* 60: 109-116.
- Neury-Ormanni J, Vedrenne J, Morin S. 2016. Who eats who in biofilms? Exploring the drivers of microalgal and micro-meiofaunal abundance. *Botany Letters* 163: 83-92.
- Neury-Ormanni J, Vedrenne J, Wagner M, Jan G, Morin S. 2020a. Micro-meiofauna morphofunctional traits linked to trophic activity. *Hydrobiologia* 847: 2725-2736.
- Neury-Ormanni J, Doose C, Majdi N, Vedrenne J, Traunspurger W, Morin S. 2020b. Selective grazing behaviour of chironomids on microalgae under pesticide pressure. *Science of the Total Environment* 730: 138673.
- Neury-Ormanni J, Doose C, Majdi N, Vedrenne J, Morin S, Höss S, Traunspurger W. 2019. Tolerance of free-living nematode species to imidacloprid and diuron. *Invertebrate Biology* 138: e12272.
- Odum EP. 1971. *Fundamentals of ecology*: W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- Ormerod SJ, Dobson M, Hildrew AG, Townsend CR. 2010. Multiple stressors in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology* 55: 1-4.
- Passy SI. 2007. Diatom ecological guilds display distinct and predictable behavior along nutrient and disturbance gradients in running waters. *Aquatic Botany* 86: 171-178.
- Perhar G, Arhonditsis GB. 2012. Examination of the role of detritus food quality, phytoplankton intracellular storage capacity, and zooplankton stoichiometry on planktonic dynamics. *Ecological Informatics* 11: 76-89.
- Petchey OL, Gaston KJ. 2006. Functional diversity: back to basics and looking forward. *Ecology Letters* 9: 741-758.
- Pisa L, Goulson D, Yang E-C, Gibbons D, Sánchez-Bayo F, Mitchell E, Aebi A, van der Sluijs J, MacQuarrie CJK, Giorio C, Long EY, McField M, Bijleveld van Lexmond M, Bonmatin J-M. 2021. An update of the Worldwide Integrated

- Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 2: impacts on organisms and ecosystems. *Environmental Science and Pollution Research* 28: 11749–11797.
- Pisa LW, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bonmatin JM, Downs CA, Goulson D, Kreutzweiser DP, Krupke C, Liess M, McField M, Morrissey CA, Noome DA, Settele J, Simon-Delso N, Stark JD, Van der Sluijs JP, Van Dyck H, Wiemers M. 2015. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 68-102.
- Pratt JR, Cairns JR. J. 1985. Functional Groups in the Protozoa: Roles in Differing Ecosystems. *The Journal of Protozoology* 32: 415-423.
- Rakowski C, Cardinale BJ. 2016. Herbivores control effects of algal species richness on community biomass and stability in a laboratory microcosm experiment. *Oikos* 125: 1627-1635.
- Ricart M, Barceló D, Geiszinger A, Guasch H, Alda M, Romaní AM, Vidal G, Villagrasa M, Sabater S. 2009. Effects of low concentrations of the phenylurea herbicide diuron on biofilm algae and bacteria. *Chemosphere* 76: 1392-1401.
- Riemann F, Helmke E. 2002. Symbiotic Relations of Sediment-Agglutinating Nematodes and Bacteria in Detrital Habitats: The Enzyme-Sharing Concept. *Marine Ecology* 23: 93-113.
- Rioboo C, González O, Herrero C, Cid A. 2002. Physiological response of freshwater microalga (*Chlorella vulgaris*) to triazine and phenylurea herbicides. *Aquatic Toxicology* 59: 225-235.
- Roche H, Vollaire Y, Persic A, Buet A, Oliveira-Ribeiro C, Coulet E, Banas D, Ramade F. 2009. Organochlorines in the Vaccarès Lagoon trophic web (Biosphere Reserve of Camargue, France). *Environmental Pollution* 157: 2493-2506.
- Roubex V, Mazzella N, Schouler L, Fauvelle V, Morin S, Coste M, Delmas F, Margoum C. 2011. Variations of periphytic diatom sensitivity to the herbicide diuron and relation to species distribution in a contamination gradient: implications for biomonitoring. *Journal of Environmental Monitoring* 13: 1768-1774.
- Rudnick DT, Elmgren R, Frithsen JB. 1985. Meiofaunal prominence and benthic seasonality in a coastal marine ecosystem. *Oecologia* 67: 157-168.
- Sabater S, Guasch H, Ricart M, Romaní A, Vidal G, Klünder C, Schmitt-Jansen M. 2007. Monitoring the effect of chemicals on biological communities. The biofilm as an interface. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387: 1425-1434.
- Sabater S, Barceló D, De Castro-Català N, Ginebreda A, Kuzmanovic M, Petrovic M, Picó Y, Ponsatí L, Tornés E, Muñoz I. 2016. Shared effects of organic microcontaminants and environmental stressors on biofilms and invertebrates in impaired rivers. *Environmental Pollution* 210: 303-314.
- Schrama M, Barmantlo SH, Hunting ER, van Logtestijn RSP, Vijver MG, van Bodegom PM. 2017. Pressure-Induced Shifts in Trophic Linkages in a Simplified Aquatic Food Web. *Frontiers in Environmental Science* 5: 75.
- Semprucci F, Facca C, Ferrigno F, Balsamo M, Sfriso A, Sandulli R. 2019. Biotic and abiotic factors affecting seasonal and spatial distribution of meiofauna and macrophytobenthos in transitional coastal waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 219: 328-340.
- SERA. 2005. Imidacloprid - Human Health and Ecological Risk Assessment – Final Report. Report from Syracuse Environmental Research Associates to USDA, Forest Service, 283 p.
- Simon-Delso N, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bonmatin JM, Chagnon M, Downs C, Furlan L, Gibbons DW, Giorio C, Girolami V, Goulson D, Kreutzweiser DP, Krupke CH, Liess M, Long E, McField M, Mineau P, Mitchell EAD, Morrissey CA, Noome DA, Pisa L, Settele J, Stark JD, Tapparo A, Van Dyck H, Van Praagh J, Van der Sluijs JP, Whitehorn PR, Wiemers M. 2015. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 5-34.
- Sládeček V, Sládečková A. 1963. Relationship between wet weight and dry weight of the periphyton. *Limnology and Oceanography* 8: 309-311.
- Stanca E, Cellamare M, Basset A. 2013. Geometric shape as a trait to study phytoplankton distributions in aquatic ecosystems. *Hydrobiologia* 701: 99-116.

- Stoughton SJ, Liber K, Culp J, Cessna A. 2008. Acute and chronic toxicity of imidacloprid to the aquatic invertebrates *Chironomus tentans* and *Hyalella azteca* under constant- and pulse-exposure conditions. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54: 662-673.
- Tachet H, Richoux P, Bournaud M, Usseglio Polatera P. 2010. Invertébrés d'eau douce : systématique, biologie, écologie. Paris: CNRS Editions.
- Tang J, Hoagland KD, Siegfried BD. 1998. Uptake and bioconcentration of atrazine by selected freshwater algae. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17: 1085-1090.
- Tenore KR. 1989. Some ecological perspectives in the study of the nutrition of deposit feeders. 309-317. New York, NY: Springer New York.
- Tokeshi M. 1995. Species interactions and community structure. In Armitage PD, Cranston PS, Pinder LCV, eds. The Chironomidae: Biology and ecology of non-biting midges, Springer Netherlands, Dordrecht, 297-335.
- Troton D, Calvayrac R, Thit ATP, Laval-Martin D. 1986. Modifications of thylakoid lipids in *Euglena gracilis* during diuron-adaptation. *Phytochemistry* 25: 393-399.
- Usseglio-Polatera P, Bournaud M, Richoux P, Tachet H. 2000. Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates: relationships and definition of groups with similar traits. *Freshwater Biology* 43: 175-205.
- Usseglio-Polatera P, Richoux P, Bournaud M, 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 PJ, Boxall ABA, Maltby L, Brooks BW, Rudd MA, Backhaus T, Spurgeon D, Verougstraete V, Ajao C, Ankley GT, Apitz SE, Arnold K, Brodin T, Cañedo-Argüelles M, Chapman J, Corrales J, Coutellec M-A, Fernandes TF, Fick J, Ford AT, Giménez Papiol G, Groh KJ, Hutchinson TH, Kruger H, Kukkonen JVK, Loutseti S, Marshall S, Muir D, Ortiz-Santaliestra ME, Paul KB, Rico A, Rodea-Palomares I, Römbke J, Rydberg T, Segner H, Smit M, van Gestel CAM, Vighi M, Werner I, Zimmer EI, van Wensem J. 2018. Toward sustainable environmental quality: Priority research questions for Europe. *Environmental Toxicology and Chemistry* 37: 2281-2295.
- van der Sluijs JP, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bijleveld van Lexmond MFIJ, Bonmatin JM, Chagnon M, Downs CA, Furlan L, Gibbons DW, Giorio C, Girolami V, Goulson D, Kreutzweiser DP, Krupke C, Liess M, Long E, McField M, Mineau P, Mitchell EAD, Morrissey CA, Noome DA, Pisa L, Settele J, Simon-Delso N, Stark JD, Tapparo A, Van Dyck H, van Praagh J, Whitehorn PR, Wiemers M. 2015. Conclusions of the Worldwide Integrated Assessment on the risks of neonicotinoids and fipronil to biodiversity and ecosystem functioning. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 148-154.
- Villéger S, Miranda JR, Hernández DF, Mouillot D. 2010. Contrasting changes in taxonomic vs. functional diversity of tropical fish communities after habitat degradation. *Ecological Applications* 20: 1512-1522.
- Violle C, Navas M-L, Vile D, Kazakou E, Fortunel C, Hummel I, Garnier E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116: 882-892.
- Vos JH, Ooijevaar MAG, Postma JF, Admiraal W. 2000. Interaction between food availability and food quality during growth of early instar chironomid larvae. *Journal of the North American Benthological Society* 19: 158-168.
- Weber S, Traunspurger W. 2013. Food choice of two bacteria-feeding nematode species dependent on food source, food density and interspecific competition. *Nematology* 15: 291.
- Weisse T. 2017. Functional diversity of aquatic ciliates. *European Journal of Protistology* 61: 331-358.
- Weisse T, Anderson R, Arndt H, Calbet A, Hansen PJ, Montagnes DJS. 2016. Functional ecology of aquatic phagotrophic protists – Concepts, limitations, and perspectives. *European Journal of Protistology* 55: 50-74.
- Weitere M, Erken M, Majdi N, Arndt H, Norf H, Reinshagen M, Traunspurger W, Walterscheid A, Wey JK. 2018. The food web perspective on aquatic biofilms. *Ecological Monographs* 88: 543-559.



## Axe 2 : Adaptation du protocole de biosurveillance active à partir de gammares pour quantifier les pressions micropolluants et leurs impacts écotoxiques dans les lacs aquitains

**Contributeurs :** Adeline François, Arnaud Chaumot, Olivier Geffard (INRAE)



© Adeline François - INRAE



**Cet axe du projet DYLAQ visait à tester la transposition de l'outil de biosurveillance active gammare développé en rivière vers le milieu lacustre, pour acquérir des premières données sur les niveaux de contaminations biodisponibles des lacs de Lacanau et Parentis, ainsi que leurs impacts toxiques.**

Pour ceci, nous avons testé la faisabilité et adapté le protocole d'encagement des gammares pour ces nouveaux milieux lors de 3 campagnes d'encagement sur 20 stations distribuées dans les zones rivulaires des lacs de Lacanau et de Parentis-Biscarosse. Les contaminations biodisponibles métalliques et organiques ont été caractérisées lors de deux campagnes.

L'impact toxique des milieux a été évalué lors d'une campagne en automne 2018, à l'aide du test d'alimentation qui est un

biomarqueur intégrateur de la toxicité générale du milieu d'exposition.

Enfin, nous avons évalué la possibilité d'appliquer ce protocole en utilisant comme source d'organismes tests une population locale de gammaridés potentiellement plus adaptée au contexte environnemental lacustre aquitain que la population de *G. fossarum* utilisée en routine par le laboratoire d'écotoxicologie d'INRAE - Lyon (RiverLy) pour les déploiements en rivière principalement. Cette étude a consisté à caractériser les espèces locales dans la zone d'étude, à identifier des populations candidates comme sources d'organismes pour la transplantation par encagement, à tester la faisabilité de leur manipulation expérimentale, puis à évaluer leur sensibilité/résistance à des paramètres environnementaux et à la contamination *in situ*.



© Hervé Quéau - INRAE

## Caractérisation de la contamination biodisponible (empreinte chimique)

Depuis les années 1970, et notamment depuis l'observation de proliférations d'espèces aquatiques végétales, de nombreuses études ont été initiées par les gestionnaires et scientifiques pour comprendre les processus écologiques et les articulations entre les divers maillons trophiques des écosystèmes lacustres aquitains. Parmi toutes les données recueillies, peu concernent la caractérisation chimique en lien avec la pression en micropolluants et aucune l'impact écotoxique potentiel de la qualité des eaux de ces plans d'eau. Les seules données de contaminations disponibles ont été acquises dans le cadre des suivis chimiques imposés par la Directive Cadre sur l'Eau sur la base d'échantillons d'eaux ou de sédiments. Effectués généralement sur un seul site et de façon ponctuelle, ces prélèvements environnementaux questionnent quant à leur utilisation et interprétation en tant qu'indicateur représentatif de la qualité de l'ensemble du système. De plus, si l'analyse chimique d'une eau et/ou d'un sédiment peut sous certaines conditions informer sur les sources de contamination, elle informe en revanche peu voire pas sur la toxicité pour le milieu aquatique (problématique de biodisponibilité et d'exhaustivité/représentativité d'un nombre limité de substances recherchées au regard de l'impact toxique, Gourlay-Francé et al. 2010). Dans un contexte d'urbanisation et d'agriculture croissantes, associé aux conséquences des scénarios du réchauffement climatique, l'acquisition de connaissances sur les pressions chimiques et toxiques exercées sur les plans d'eau aquitains devient nécessaire pour faciliter la priorisation et l'orientation des mesures de gestions et d'aménagements à mener.

Le laboratoire d'écotoxicologie de INRAE - Lyon a développé une approche de biosurveillance active (encagements d'organismes) basée sur l'utilisation de l'espèce sentinelle *Gammarus fossarum* (Besse et al. 2012) pour évaluer la qualité chimique des cours d'eau. Cette espèce très présente dans les hydrosystèmes européens est ainsi utilisée comme sonde chimique et écotoxique. L'approche offre comme avantages i) de pouvoir expérimenter tous les systèmes aquatiques, y compris les milieux à forte profondeur ou ceux qui ne disposent pas d'organismes cibles en place, ii) de prendre en compte la biodisponibilité des contaminants présents qui représente la fraction potentiellement toxique, iii) d'exposer des organismes calibrés (âge, taille, statut reproducteur, etc.) pour permettre une interprétation écotoxicologique robuste et sensible de la réponse de ces organismes biologiques en limitant l'impact de nombreux facteurs de confusion connus pour influencer les niveaux de marqueurs de toxicité ou les processus de contamination iv) et de proposer notamment des valeurs seuils d'interprétation de ces indicateurs, intégrant le cas échéant la variabilité naturelle de chaque réponse au regard des facteurs environnementaux non maîtrisables (température, dureté de l'eau, etc.).

## Objectifs de l'étude

Cette expérimentation *in situ* visait à démontrer la faisabilité de la transposition de la méthodologie de biosurveillance active des cours d'eau (Besse et al. 2012) vers les milieux lacustres aquitains pour étudier la contamination en micropolluants des plans d'eau. L'approche proposée, basée sur l'exposition dans le site d'étude d'organismes standardisés prélevés dans un site témoin, permet de quantifier l'exposition aux contaminants biodisponibles des organismes ainsi introduits.

Pour ce faire, des populations de gammares (*Gammarus fossarum*) standardisées ont été engagées pendant 7 jours sur une vingtaine de stations localisées sur les zones rivulaires des lacs de Lacanau et Parentis-Biscarosse, durant deux campagnes (fin d'hiver et d'été 2017). L'empreinte chimique des organismes y a été quantifiée via la mesure des niveaux de contaminants bioaccumulés. L'intégration de ces résultats dans une métrique agrégative de contamination des résultats a ensuite servi à dresser une cartographie spatialisée de la contamination et à évaluer les variations saisonnières de la biodisponibilité des contaminants pour le biote dans ces plans d'eau.

## Méthodes

L'amphipode *Gammarus fossarum*, organisme sentinelle du laboratoire d'écotoxicologie d'INRAE-Lyon, est une espèce cosmopolite des hydrosystèmes continentaux européens dans lesquels elle joue un rôle écologique majeur, en étant à la fois détritivore (recyclage de la matière organique) et source de nourriture pour les maillons trophiques supérieurs. Elle est sensible à de nombreux contaminants chimiques, et possède de bonnes capacités de bioaccumulation.

*G. fossarum* est connu pour être préférentiellement présent en cours d'eau, et a rarement été observé en milieu lacustre. Des gammaridés ont toutefois été recensés dans les cours d'eau et plans d'eau Landais (Piscart et Bollache 2012, Aqua conseils 2007). La population source utilisée est une population témoin prélevée le 15/02/2107 au filet troubleau dans une ancienne cressiculture, située à Saint-Maurice-de-Rémens (5°17'45"E, 45°58'09"N). Les gammares ont ensuite été tamisés pour sélectionner uniquement les organismes d'une taille définie et ramenés au laboratoire (Figure 19) pour y être maintenus dans des aquariums alimentés en continu par deux renouvellements quotidiens d'eau, sous une photopériode de 16 h de jour et 8 h de nuit. Ils ont été nourris *ad libitum* à l'aide de feuilles d'aulne (*Alnus* sp.) et de larves de tubifex.



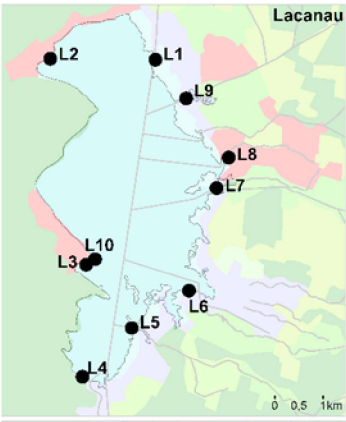
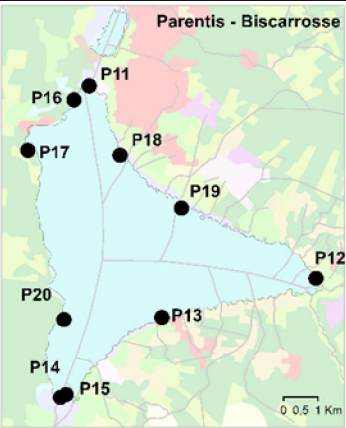
Figure 19 : Prélèvement de gammares.

Les encagements ont été déployés en fin d'hiver (février) et d'été (septembre) 2017 et sur une dizaine de stations pour chacun des deux étangs retenus, celui de Lacanau et de Parentis-Biscarosse (Tableau 3). Pour cette première application du protocole d'encagement de gammares en milieu lacustre, nous nous sommes focalisés sur les zones rivulaires des deux plans d'eau, dans des sites typologiquement variés, qui correspondent à des stations connues et ayant déjà fait l'objet de suivis par INRAE - Bordeaux. Les encagements ont ainsi été déployés sur des plages, au droit des roselières, des jonchaies, des embouchures de crastes ou suspendus au niveau des pontons des ports. Les sites de la rive ouest ne sont sous aucune influence des tributaires.

En parallèle, les teneurs en cations et anions majeurs ont été évaluées sur les eaux de chaque station. Pour ceci, 250 mL d'eau ont été prélevés et filtrés sur place à 45 µm au premier jour d'exposition, puis conditionnés en glacière avant d'être expédiés au Laboratoire d'Analyses de la Drôme (LDA26, certifié COFRAC pour ces analyses). La température, le pH et la conductivité ont également été relevés à la pose des encagements sur chaque station et à chaque campagne.



Tableau 3 : Localisation et caractéristiques des sites d'encagements de gammars

Lacanau	Site	Description
	L1	Sortie du Canal des Etangs
	L2	Baie de Carreyre (zone de mouillage)
	L3	Baie de Longarisse (zone de mouillage)
	L4	Zone sauvage, plage, roseaux, et tonne de chasse
	L5	Zone sauvage, plage, roseaux, et tonne de chasse
	L6	Zone sauvage, plage, roseaux, et tonnes de chasse
	L7	Au droit du marais de la Berle
	L8	Port de Lacanau
	L9	Embouchure du craste du Pont des Tables
	L10	En front de roselière, au droit de Longarisse
Parentis-Biscarrosse		
	P11	Sortie du Canal des Landes
	P12	Port de Piaou (Parentis-en-Born)
	P13	Port de Gastes
	P14	Zone sauvage profonde, tonne de chasse
	P15	Port
	P16	Zone de Mouillage la Merleyre
	P17	Baie ( Zone de Mouillage)
	P18	Zone sauvage, plage, au droit d'une roselière
	P19	Zone sauvage, plage, au droit d'une roselière
	P20	Zone sauvage, au droit d'une roselière (Tonnes)

Les encagements ont été réalisés selon une adaptation de la méthode normalisée à l'AFNOR XP T 90-721. Vingt individus mâles par réplicat (6 réplicats par station) ont ensuite été placés dans chaque cage de 180 mL en polypropylène, percée de toutes parts et maintenues en eau contrôlée de laboratoire avant d'être amenés sur chaque site d'étude en bateau. Sur chaque station, les cages ont été déposées et fixées dans un système d'exposition, lui-même suspendu à un ponton pour les profondeurs importantes, ou simplement posé sur le substrat pour les faibles profondeurs, comme le montre la Figure 20. Une sonde de température (Tinytag temperature logger Aquatic 2®) a été installée sur chaque site d'exposition pour obtenir les chroniques de températures journalières. Les cages et les sondes de température ont ensuite été récupérées après 7 jours d'exposition. Un seul encagement a été perdu en septembre 2017 ; il était localisé dans un site à forte fréquentation, accroché aux planches du port de Lacanau (L8). La survie des gammars au moment de la récupération a toujours été enregistrée.



Systèmes d'encagements



Système d'encagement en zone peu profonde



Système d'encagement suspendu en zone profonde

Figure 20 : Photographies d'encagement de gammars dans les plans d'eau.



Les échantillonnages et conditionnements du matériel vivant ont été réalisés sur place avant transfert au laboratoire du LDA26 pour les dosages de micropolluants. Suite à l'exposition de 7 jours dans les plans d'eau, les gammars de chaque station ont été comptabilisés sur site, rassemblés puis répartis dans un flaconnage adapté en fonction du type d'analyse : un lot de 10 individus pour l'analyse des composés métalliques et de 70 individus pour les composés organiques. Les échantillons ont été stockés avec de la carboglace, le temps du transfert vers le laboratoire de Lyon, puis dans un congélateur -20 °C jusqu'à leur expédition au laboratoire LDA26 pour lyophilisation et dosage. Deux autres répliqués de 10 et 70 individus, issus du même lot de gammars utilisés pour les encagements mais non exposés, ont également été conditionnés et stockés en début d'expérimentation pour constituer les échantillons témoins (T0).

Après minéralisation des échantillons par micro-ondes avec de l'acide nitrique, les composés métalliques ont été dosés par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS, Thermo série X7 II). Les échantillons prévus pour l'analyse des composés organiques ont été divisés en deux lots de 200 mg chacun, pour l'analyse des PFOS après extraction, par chromatographie liquide haute pression couplée à un spectromètre de masse en tandem (HPLC/MS), et pour l'analyse des autres composés par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse en tandem (GCMS/MS). Au total, 26 métaux et 177 composés organiques ont été recherchés dans les gammars. Parmi les polluants organiques persistants, des PCB, phtalates, perfluorés, insecticides, fongicides, herbicides et HAP ont été recherchés. Les données ont été exprimées en microgramme par gramme de masse sèche pour les métaux ( $\mu\text{g/g}$  de MS) et en nanogramme par gramme de masse sèche pour les composés organiques (ng/g de MS).

Dans un premier temps, les niveaux de contamination de chaque site ont été comparés entre eux sur la base des seuils disponibles (*Bioavailable Background Assessment Concentration*, BBAC ; Besse et al. 2013, Ciliberti et al. 2017), correspondant à la concentration au-dessus de laquelle le composé d'intérêt présente une concentration supérieure au niveau bas national, définie sur les cours d'eau français. A ce jour, des BBAC existent pour 18 métaux et 41 molécules organiques. Afin d'appréhender simultanément l'ensemble des contaminants présents sur chaque station, les dépassements de la BBAC observés pour chaque contaminant sur chaque site ont été intégrés au travers de l'indice multi-substances (*Integrative Bioaccumulation Contamination*, ou Indicateur de contamination biodisponible : IBC) développé en rivière par Alric et al. (2019). Pour un groupe donné de substances (métaux, HAP ou PCB par exemple), cet indice additionne les concentrations des différentes substances, en ne considérant que les concentrations supérieures à leur BBAC respective. Cette somme des concentrations est réalisée après une pondération qui permet de mettre l'ensemble des substances sur une même échelle de variation relative de contamination (ratio concentration sur moyenne de contamination nationale). L'agrégation via l'indice IBC, qui offre une vision globale de la contamination des plans d'eau, ne peut toutefois être réalisée que pour les composés pour lesquels une BBAC est disponible.

## Résultats principaux

### Des systèmes aquatiques peu minéralisés avec des températures estivales élevées défavorables à la survie des gammars.

Les deux plans d'eau ont des caractéristiques physico-chimiques proches : ce sont des milieux tamponnés, faiblement minéralisés autour de 200  $\mu\text{S/cm}$ . Le plan d'eau de Lacanau est un peu plus minéralisé et les embouchures du Canal des Etangs (Lacanau) et du Canal des Landes (Parentis-Biscarosse) sont des zones pouvant être plus acides (stations L1 : pH = 6,2 en hiver, et P11 : pH = 6,3 en fin d'été). Les faibles niveaux de minéralisation observés dans ces deux plans d'eau peuvent être comparés à des cours d'eau à substrat granitique (Morvan, Pilat, Beaujolais). Ce sont des systèmes aquatiques avec des concentrations faibles en calcium et magnésium. La variation de température moyenne entre l'hiver ( $10,8 \pm 0,4$  °C) et l'été ( $20,0 \pm 0,6$  °C) n'y dépasse pas 10 °C. Les taux de survie en hiver étaient très bons pour les deux plans d'eau (>80 %). En revanche, en fin d'été les survies sont nettement plus faibles, en lien avec les fortes températures enregistrées : elles sont de  $63,8 \pm 9,2$  % à Lacanau et  $51,2 \pm 6,7$  % à Parentis-Biscarosse. Toutefois, les mesures de bioaccumulation ont pu être réalisées sur les deux campagnes sur les organismes vivants restants.

**Variations saisonnières et spatiales dans la bioaccumulation en éléments métalliques.** Quinze métaux, tous disposant d'une BBAC, ont été quantifiés dans les gammars suite à l'exposition d'une semaine sur les deux plans d'eau et pour les deux campagnes. Pour la campagne hivernale, le lac de Lacanau montre une contamination pour trois des stations étudiées en plomb (L1, L5 et L8 :  $Pb = 1,0 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$  de MS) et en fer (L5, L7 et L8 :  $Fe = 708 \pm 259 \mu\text{g/g}$  de MS). De la même façon, le plan d'eau de Parentis-Biscarosse se caractérise par des dépassements des BBAC pour le Pb sur sept des stations étudiées (P14 à P20). Comme pour Lacanau, la plupart de ces stations présentent une contamination modérée avec des valeurs proches de la valeur seuil ; en revanche, la station P14 montre une très forte contamination ( $Pb = 16,6 \mu\text{g/g}$  de MS). Ce niveau en Pb fait partie des plus élevés enregistrés sur des gammars à ce jour, similaire à ceux rencontrés sur des sites sous forte pression de contamination métallique (La Deûle à Courrière et le Riou-Mort à Viviez). Les niveaux calciques faibles observés sur les deux plans d'eau, conduisant à une biodisponibilité forte de certains éléments métalliques comme le Pb, peuvent expliquer cette contamination. En septembre, les profils de contamination sont très différents, les deux plans d'eau se caractérisent par une contamination en baryum pour 13 des 20 stations étudiées ( $Ba = 153 \pm 46 \mu\text{g/g}$  de MS), avec des valeurs proches de la valeur seuil pour le plan d'eau de Lacanau, mais beaucoup plus élevées pour le plan d'eau de Parentis-Biscarosse. La contamination en zinc, notamment aux sites L7, P13 et P15 ( $Zn = 136 \pm 23 \mu\text{g/g}$  de MS), est également notable. Le mercure n'a pas été détectée dans les gammars avec la méthode utilisée par le LDA26. La limite de quantification élevée pour cet élément, bien que conforme pour la comparaison aux NOE-biote, est toutefois insuffisante pour un diagnostic précis de la contamination des milieux.

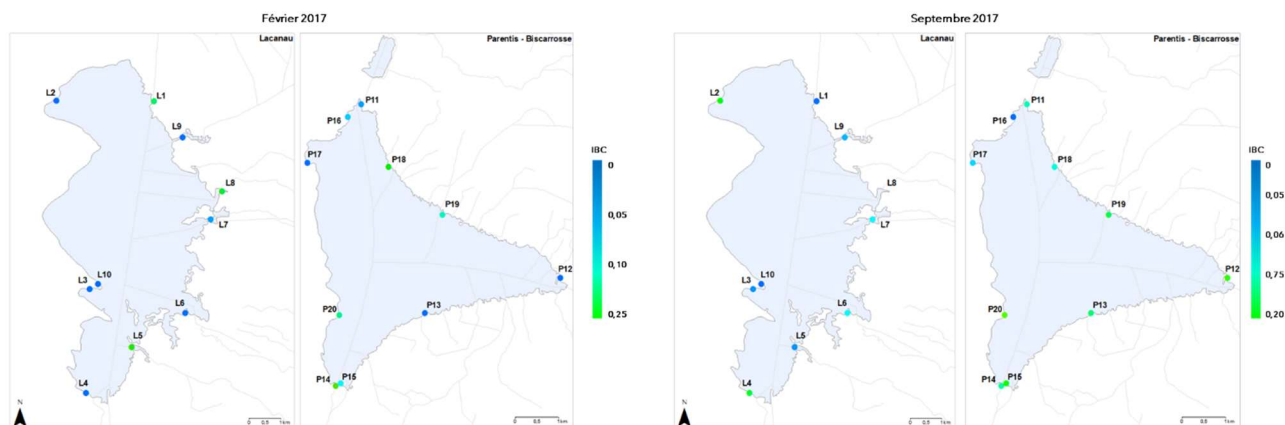


Figure 21 : Indicateur de la contamination métallique biodisponible sur les 10 stations des plans d'eau de Lacanau et de Parentis-Biscarosse, en février et septembre 2017 (7 jours d'exposition). Le gradient de couleur, du bleu (IBC=0) au vert indique le niveau de contamination croissant (les échelles diffèrent selon les saisons).

La cartographie des IBC calculés pour les métaux est présentée en Figure 21. L'IBC était nul (c'est-à-dire qu'aucun dépassement de seuil de contamination n'était observé) pour 60% des stations pour Lacanau et 20% de Parentis-Biscarosse en hiver, et 30% pour Lacanau et 10% pour Parentis-Biscarosse en fin d'été. Globalement, Parentis-Biscarosse présentait un niveau de contamination métallique biodisponible plus élevé que Lacanau. Pour le plan d'eau de Lacanau, les IBC étaient compris entre 0,05 et 0,20 pour la campagne hivernale et entre 0,05 et 0,12 pour la campagne de fin d'été. Pour Parentis-Biscarosse, les IBC sont compris entre 0,05 et 0,25 en février et entre 0,05 et 0,20 en septembre. Les IBC mesurés pour les deux plans d'eau sont inférieurs aux niveaux de contamination médians observés dans les cours d'eau français pour lesquels l'IBC est supérieur à 0 (sur la base du classement des IBC de plus de 200 stations proposé par Alric et al. 2019).

La représentation cartographique des IBC met en évidence une spatialisation de la contamination et une variabilité saisonnière. En période hivernale, la façade ouest du plan d'eau de Lacanau et les rives nord-ouest ne présentent aucune contamination métallique. Sur la façade est, les stations présentant une pression métallique correspondent au port de Lacanau (L8), à la sortie du Canal des Etangs (L1) et au point L5 situé en zone de chasse. Le plan d'eau de Parentis-Biscarosse est caractérisé par une contamination métallique hivernale localisée ; les zones les plus contaminées se situent sur les rives sud-ouest (P20, P14, P15) et nord-ouest (P18, P19). En fin de période estivale, le niveau de contamination change dans certaines stations du plan d'eau de Lacanau alors qu'il s'intensifie globalement dans le plan d'eau de Parentis-Biscarosse. Les stations de la rive ouest de Lacanau, autour de Longarisse

(L3, L10), et en sortie du craste des Pont des Tables (L7) restent non contaminées, celles de la sortie du canal, et du site au droit de la tonne de chasse (L5) ont un IBC qui diminue, alors que le niveau de contamination des stations L2, L7, L6, et L4 augmente, en particulier au nord et au sud du plan d'eau (L2 et L4). En fin d'été, la contamination du plan d'eau de Parentis-Biscarosse s'étend aux 2/3 sud des berges du plan d'eau, le nord étant non contaminé. Ces changements observés en sortie de période estivale sont en grande partie expliqués par l'observation d'une contamination généralisée des deux plans d'eau en baryum (Ba).

**De faibles niveaux de contamination en hydrocarbures aromatiques polycycliques.** Les concentrations en HAP bioaccumulés en 7 jours indiquent une faible contamination des stations étudiées. Le pérylène est le composé pour lequel le plus grand nombre de dépassements de BBAC est observé, avec les concentrations les plus élevées en L8 et P19 (environ 14 ng/g de MS) pour la campagne hivernale et en P18 (20 ng/g de MS) en septembre. Deux stations de Lacanau présentent un profil de contamination multiple en HAP : L3 en hiver et L2 en fin d'été.

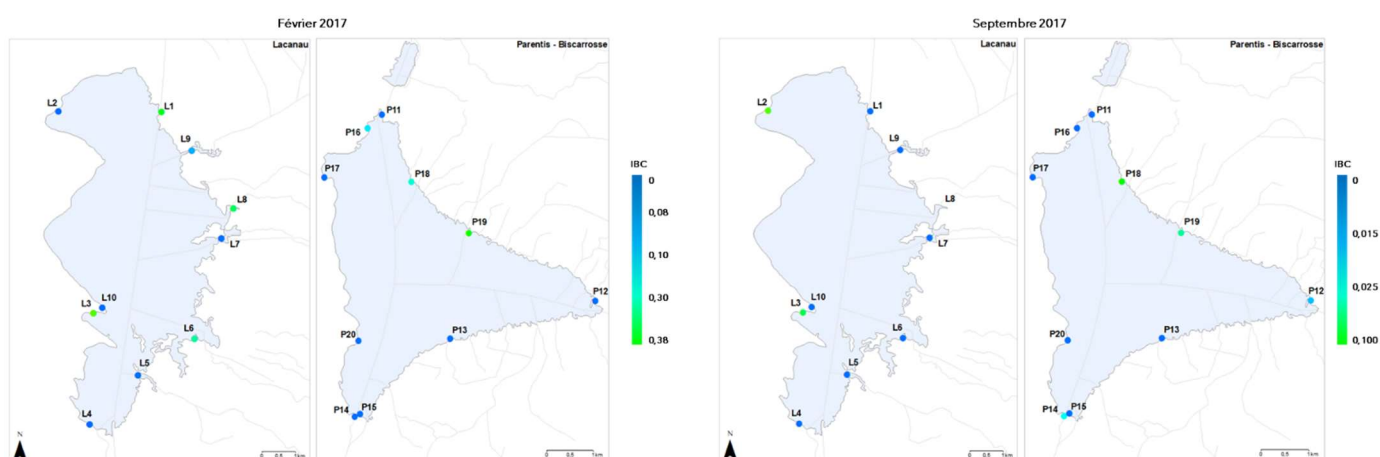


Figure 22 : Indicateur de la contamination organique biodisponible sur les 10 stations des plans d'eau de Lacanau et de Parentis-Biscarosse, en février et septembre 2017 (7 jours d'exposition). Le gradient de couleur, du bleu (IBC=0) au vert indique le niveau de contamination croissant (les échelles diffèrent selon les saisons).

Les IBC calculés pour la contamination en HAP (Figure 22) étaient nuls pour 50% des sites pour Lacanau en février, 60% en septembre, et 70% des sites de Parentis-Biscarosse aux deux saisons. Les IBC pour le plan d'eau de Lacanau sont compris entre 0,06 et 1,04 (hiver) et entre 0,07 et 0,2 (été). Pour Parentis-Biscarosse, les IBC sont compris entre 0,06 et 0,35 (hiver) et entre 0,04 et 0,09 (été). Les résultats montrent une différence saisonnière de la contamination en HAP des plans d'eau, avec une diminution lors de la campagne automnale, notamment pour le plan de Lacanau. La cartographie des IBC montre que la spatialisation de la contamination pour le plan de Parentis-Biscarosse n'évolue pas entre les deux campagnes.

**Aucune contamination notable pour les autres composés organiques recherchés.** Aucune contamination significative en PCB, BDE ou pesticides n'a été mesurée lors des campagnes, et aucun dépassement des valeurs seuils pour les 15 composés qui en disposent.

## Conclusions

Ce travail de transposition de la méthodologie de biosurveillance active des cours d'eau vers les milieux lacustres aquitains a montré la faisabilité d'une telle approche pour étudier la contamination en micropolluants des milieux lacustres. Sur une année, l'hiver est caractérisé par une contamination en plomb et HAP alors que le baryum et le zinc marquent la période estivale.

Les premières cartes de contamination chimique biodisponible des deux plans d'eau aquitains ont pu être produites à deux saisons, en fin d'hiver et fin d'été 2017. Ces cartographies discriminent clairement d'un point de vue contamination chimique, les plans d'eau de Lacanau et de Parentis-Biscarosse, spatialisent la contamination au sein d'un même plan d'eau et rendent compte d'une saisonnalité de la contamination. L'étang de Lacanau apparaît globalement moins contaminé quelle que soit la saison. Des zones plus contaminées ont été localisées dans les deux plans d'eau, au niveau des zones portuaires, de l'exutoire des tributaires ou en

zone de chasse pour le plan d'eau de Lacanau. Cette contamination spatialisée est plus étendue dans le lac de Parentis-Biscarosse, avec une pression métallique plus forte au sud qu'au nord du lac.

Replacés face aux gradients de contamination des cours d'eau à l'échelle nationale, les niveaux de contamination mesurés dans les deux plans d'eau étudiés sont globalement faibles pour les contaminations métalliques et organiques persistants. Toutefois, un record de contamination métallique en plomb a été relevé sur le point P14. L'interprétation approfondie des patrons de contamination observés nécessiterait la confrontation de ces résultats à une expertise spécifique du fonctionnement hydrogéochimique des plans d'eau, des pressions qui s'y exercent et de leur saisonnalité, etc.





## Mesure de l'inhibition alimentaire des gammares comme marqueur d'impact toxique

La biosurveillance active en plan d'eau a été réalisée par l'encagement de l'amphipode *Gammarus fossarum*. Cette espèce joue un rôle écologique majeur dans les hydrosystèmes, en étant à la fois détritivore (recyclage de la matière organique) et source de nourriture pour les maillons trophiques supérieurs. Elle est sensible à de nombreux contaminants chimiques, et possède de bonnes capacités de bioaccumulation (voir [Axe 2.1](#)). Les expérimentations d'encagement permettent d'évaluer la qualité chimique des milieux aquatiques et leur impact toxique. A partir des populations de gammares standardisées encagées pendant 7 jours, l'impact toxique des milieux a été évalué en automne 2018. L'écotoxicité potentielle sur le plan d'eau a été déterminée sur la base d'un test d'alimentation, qui est un biomarqueur intégrateur de la toxicité générale du milieu d'exposition.

Le comportement alimentaire est une réponse biologique sensible à une large gamme de contaminants aussi bien organiques que métalliques, et constitue ainsi une réponse permettant d'appréhender de façon relativement intégratrice les effets induits par la contamination dans les milieux (voir aussi [Axe 1](#)). Diverses études au laboratoire et sur le terrain ont montré que le taux d'alimentation chez plusieurs espèces d'amphipodes, et particulièrement les gammares, est inhibé par l'exposition à une large gamme de contaminants tels que des métaux lourds, des insecticides, des fongicides, des herbicides, des médicaments et d'autres composés organiques (Coulaud 2012). L'inhibition du taux d'alimentation est l'une des premières réponses observées lors d'une exposition à un stress toxique et constitue donc un marqueur très sensible (Consolandi et al. 2021, McLoughlin et al. 2000). Le lien mécaniste entre taux d'alimentation certains des traits de vie tels que la croissance, la survie ou la reproduction a été démontré par Maltby (1999) ou Xuereb et al. (2009) par exemple. L'évaluation des effets des contaminants sur le comportement alimentaire de *Gammarus fossarum* repose sur des protocoles éprouvés, développés par INRAE (Coulaud et al. 2011, Dedouge-Geffard et al. 2009, Gouveia et al. 2017, Xuereb et al. 2007 et 2009). Cet outil a fait l'objet de normalisation à l'AFNOR (norme XP T 90-722-3).

## Objectifs de l'étude

En parallèle du test de transposition de la méthodologie de biosurveillance active des cours d'eau (Besse et al. 2012) pour étudier la contamination en micropolluants des plans d'eau, l'applicabilité du marqueur de toxicité lié au taux d'alimentation des organismes *in situ* a également été évaluée.

Les organismes engagés sur le plan d'eau de Lacanau en automne 2018, auxquels étaient fournies des feuilles d'aulne, ont ainsi été utilisés pour la mesure de leur taux d'alimentation. La quantité de nourriture consommée par les gammares a été mesurée après 7 jours d'exposition afin de déterminer l'inhibition éventuelle de l'activité alimentaire.

## Méthodes

Les populations sources de *Gammarus fossarum* utilisées ont été prélevées le 5/09/2018, puis stabulées au laboratoire pendant 14 jours avant d'être engagées comme décrit dans l'[Axe 2.1](#), sur dix stations localisées sur les zones rivulaires du lac de Lacanau.

Le protocole a consisté en l'utilisation de 80 organismes mâles calibrés (taille moyenne = 10,8 mm) répartis en 4 cages (correspondant à 4 réplicats) d'exposition *in situ* auxquels ont également été ajoutées 20 disques de feuilles d'aulne d'un diamètre de 20 mm. Les organismes engagés ont été exposés pendant 7 jours aux stations L1 à L10. Un témoin de dix disques de feuille d'aulne sans gammares a été ajouté de manière à évaluer la dégradation éventuelle des feuilles par les micro-organismes présents dans les milieux testés. Après exposition, le nombre de gammares vivants a été relevé et les restes de feuilles ont été récupérés puis numérisés à l'aide d'un scanner en noir et blanc pour déterminer la surface restante de feuille non consommée à l'aide d'un logiciel d'analyse et de traitement d'image (SIGMA ScanPro v5®). L'analyse du taux d'alimentation est réalisée à condition que la mortalité des gammares n'excède pas 40 %. Le taux d'alimentation correspond à la surface de feuille d'aulne consommée par les gammares ([Figure 23](#)). Le taux d'alimentation s'exprime en mm<sup>2</sup> de feuille consommée par gammare et par jour, selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'alimentation} = \frac{\text{Surface feuilles}_{\text{témoin}} - \text{Surface feuilles}_{\text{réplicat}}}{\text{Nombre moyen de gammares vivants} \times \Delta t}$$

Où : Surface feuilles<sub>témoin</sub> et Surface feuilles<sub>réplicat</sub> représentent, respectivement, les surfaces totales (en mm<sup>2</sup>) des disques de feuilles d'aulne à la fin de l'exposition dans les encagements sans gammares et les réplicats contenant les gammares, et  $\Delta t$  la durée de l'exposition en jours.

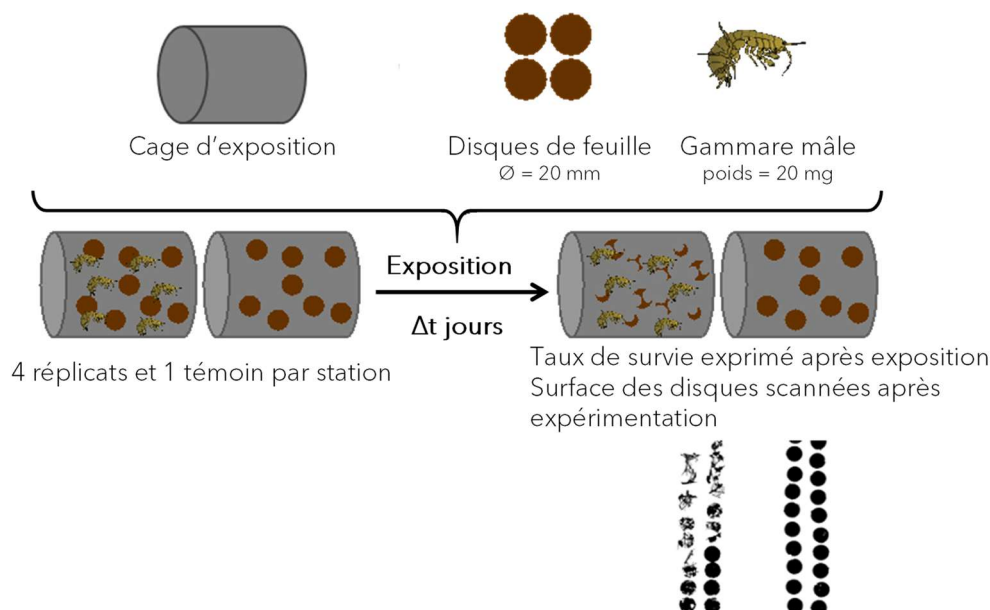


Figure 23 : Méthode utilisée pour la mesure du taux d'alimentation.

## Résultats principaux

**La forte mortalité des gammares engagés limite la portée des interprétations de l'inhibition alimentaire.** Les taux d'alimentation mesurés peuvent uniquement être discutés pour les stations L1, L3, L8 et L9, pour lesquelles la survie dépasse 60%. Comme constaté sur les campagnes précédentes pour l'évaluation de l'empreinte chimique (Axe 2.1), les faibles taux de survie sur l'ensemble des stations sont à mettre en relation avec les températures élevées des eaux. Les taux d'alimentation calculés pour ces quatre sites (Figure 24) sont homogènes entre stations (test de Kruskal-Wallis :  $p = 0,09$ ) et sont significativement inférieurs aux valeurs de référence établies pour des gammares de même taille transplantés en rivière, aux mêmes températures et sans pression toxique (Coulaud et al. 2011). Les inhibitions mesurées s'élèvent ici respectivement à 30, 45, 47 et 56 %. Il est aujourd'hui impossible d'attribuer cette inhibition à un effet toxique de la qualité de l'eau.

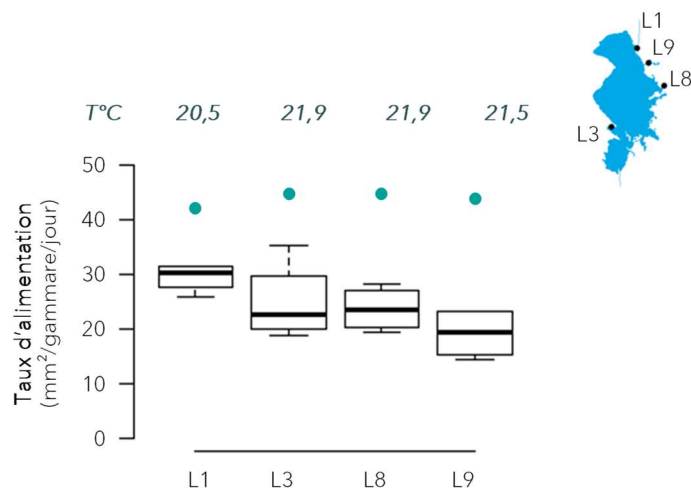


Figure 24 : Taux d'alimentation de gammares mesurés après 7 jours d'exposition dans quatre stations du plan d'eau de Lacanau (n = 4). Les points verts représentent les valeurs d'alimentation attendues chez des gammares de taille similaire exposés en rivière en l'absence de contamination, pour ces conditions de température. La température moyenne d'exposition de chaque station est mentionnée au-dessus des box plots.

## Conclusions

Ce travail de transposition de la méthodologie du biotest d'inhibition alimentaire chez les gammares des cours d'eau vers les milieux lacustres aquitains a pointé les limites de l'approche en conditions lacustres estivales. Au regard des faibles taux de survie sur l'ensemble des stations et des températures relativement élevées pendant la période d'expérimentation, les inhibitions d'alimentation mesurées sont vraisemblablement le reflet d'organismes en souffrance non acclimatés aux conditions environnementales des plans d'eau rencontrés lors de cette saison d'encagement. Ceci ouvre la question du déploiement à d'autres saisons ou encore celle de l'utilisation d'organismes issus d'une population locale, possiblement plus adaptée à ces conditions.





## Prospection de populations autochtones de gammares et évaluation de leur sensibilité

Les résultats des tests de transposition de la méthodologie de biosurveillance active en plan d'eau par engagement de populations standardisés de *Gammarus fossarum* ont mis en évidence une sensibilité forte de ces organismes aux conditions environnementales des lacs aquitains (Axes 2.1 et 2.2). En particulier, les températures estivales élevées semblent avoir joué un rôle important sur la survie des gammares, suggérant que l'utilisation d'une population locale plus adaptée aux conditions de la zone serait plus appropriée. Des gammaridés ont été recensés dans les cours d'eau et plans d'eau Landais (Piscart et Bollache 2012, Aqua conseils 2007). L'aire de répartition de *G. fossarum* couvre l'ouest de la France, toutefois l'espèce est rarement observée en milieu lacustre.

Une recherche de populations de gammaridés autochtones visant des populations du genre *Gammarus* a donc été menée dans les plans d'eau aquitains et leurs tributaires (essentiellement des crastes), dans le but de disposer d'une population plus adaptée aux caractéristiques des étangs aquitains (température élevée, faciès plus lentiques, milieux sableux, faible minéralisation). Un large panel de sites a été prospecté, et les populations de gammares collectées ont été identifiées taxonomiquement. Des engagements *in situ*, ainsi que des tests de résistance à la température et à l'hypoxie de la population la plus abondante, ont été réalisés afin de comparer les réponses de cette population aquitaine avec la population de référence.



## Objectifs de l'étude

La recherche d'organismes autochtones visait à sélectionner des gammaridés locaux afin d'évaluer l'applicabilité des protocoles de biosurveillance active à ces populations. Une vingtaine de sites ont été prospectés, afin de trouver une population locale candidate pour l'adaptation de la méthodologie. Les populations collectées ont été identifiées sur critères morphologiques et par génotypage.

La population la plus abondante de gammaridés a ensuite été utilisée pour tester la transplantation *in situ* visant à évaluer la survie des organismes locaux, en comparaison des populations de *G. fossarum* témoins, ainsi que leurs taux d'alimentation. Ces déploiements ont été réalisés pendant 7 jours, sur une sélection de sites du lac de Lacanau.

Par ailleurs, cette population locale a également été ramenée au laboratoire et soumise à des expérimentations contrôlées dont les objectifs étaient, d'une part, d'évaluer la sensibilité de ces organismes à des stress thermiques et d'hypoxie, et d'autre part, d'établir un niveau de référence du taux d'alimentation dans trois conditions de température, afin notamment de faciliter l'interprétation des résultats des tests de la campagne d'engagement *in situ*.

## Méthodes

**[Prospection de populations locales]** La recherche d'organismes autochtones a été réalisée dans les zones peu profondes (rives, roselières) des plans d'eau de Lacanau et Parentis-Biscarosse, et sur une quinzaine de tributaires des lacs de Lacanau, Cazaux-Sanguinet, Parentis-Biscarosse, et du bassin d'Arcachon (Figure 25). Les rivières naturelles de la Leyre et de la Gourgue et leurs affluents ont été également prospectés. Les recherches d'organismes autochtones ont eu lieu en février-mars et en septembre-octobre 2017. Des prélèvements ont été effectués au filet troubleau avant d'être tamisés entre 1,6 mm et 2,5 mm, et les densités d'Amphipodes ont été estimées selon 5 classes (absence, présence, densité faible, moyenne ou forte). Des organismes ont été conservés dans de l'éthanol pour une identification taxonomique ultérieure selon des critères morphologiques (clef de détermination de Piscart et Bollache 2012) et génétiques. L'approche d'identification moléculaire par barcoding, basée sur le gène mitochondrial COI (Hou et al 2007, Weiss et al 2014), a été mise en place pour un total de 65 individus provenant d'une douzaine de stations parmi les stations prospectées et couvrant des prélèvements à plusieurs dates. Extraction de l'ADN, amplification COI (primers LCO1490 et HCO2198) et double séquençage ont été sous-traités à la société GENOSCREEN.

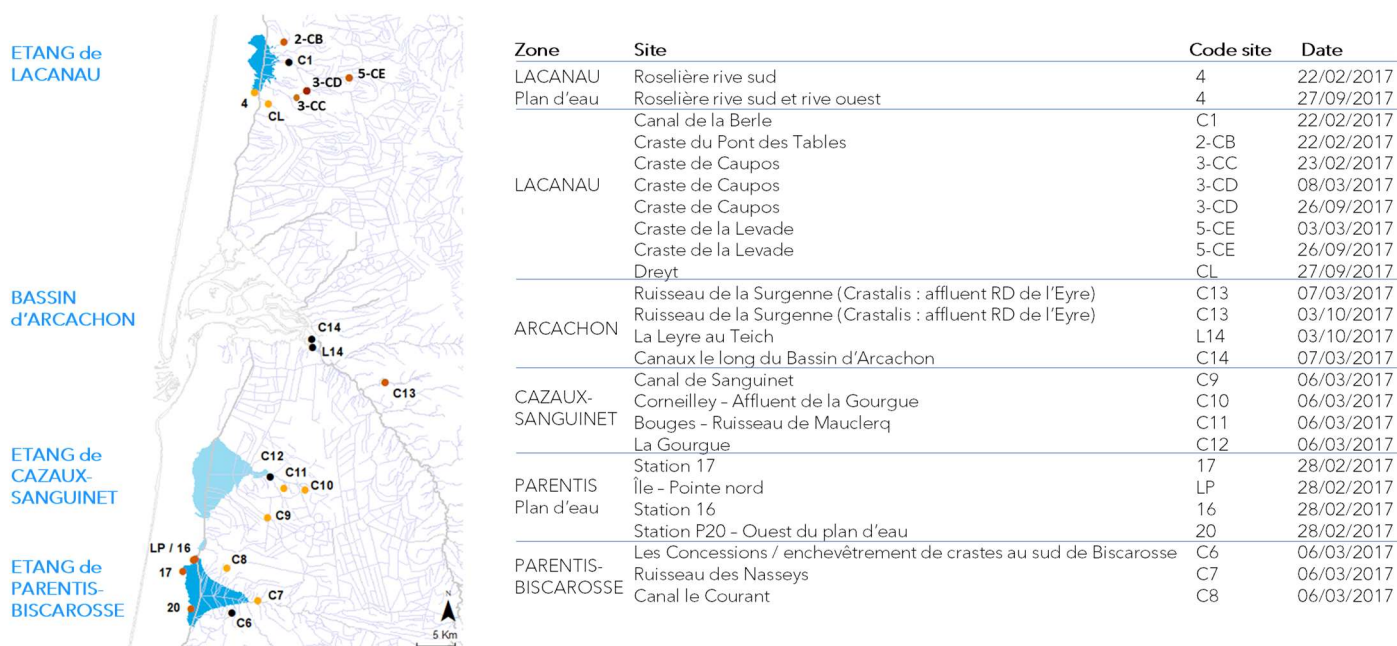


Figure 25 : Localisation des sites de prospection de populations de gammaridés. Les cercles noirs, jaunes, oranges, rouges et marrons indiquent respectivement l'absence, la présence, la faible densité, la densité moyenne et fortes d'amphipodes retrouvés.

**[Encagements *in situ*]** La population la plus abondante, prélevée le 18/09/2018 dans la craste de Caupos, a été sélectionnée pour tester la mise en œuvre de la transplantation en lac par encagement avec une population aquitaine, ceci lors de la dernière campagne de déploiement *in situ*. Après tamisage entre 1,6 et 2,5 mm, les organismes ont été stabulés une nuit dans de l'eau du site de prélèvement oxygénée avant d'être calibrés en taille et en ne conservant que les mâles conformément aux critères imposés pour la mesure du taux d'alimentation (norme XP T 90-722-3). Vingt gammares par réplicat, de taille moyenne de 8,6 mm, ont été encagés avec des disques de feuilles d'aulne dès le lendemain dans six stations du plan d'eau de Lacanau, en parallèle de l'exposition de la population contrôle du laboratoire. Le choix des stations avait pour but de contraster les sites expérimentaux en nous appuyant sur les résultats des campagnes d'encagement précédentes (**Axe 2.1**). Les encagements ont ainsi été déployés sur des sites sous pression de contamination métallique et organique (L1, L5, L8) et d'autres exempts de pression de contamination métallique mais avec une pression en micropolluants organiques (L6, L7, L10). Après 7 jours d'immersion, les organismes ont été collectés, pour les mesures de la survie et du taux d'alimentation des gammares, telles que décrites dans les **Axes 2.1** et **2.2**. L'encagement de la station L10, déposé sur le substrat au large d'un front de roselière, a été perdu.

**[Sensibilité des populations locales de gammares aux fortes températures et à l'hypoxie]** Des gammares de la craste de Caupos ont été ramenés au laboratoire d'INRAE - Lyon, et stabulés 3 semaines selon les mêmes conditions que celles utilisées pour les organismes témoins *G. fossarum*. Les tests ont été réalisés avec des gammares aquitains d'une taille de 8,5 mm et des populations de gammares témoins de 9,4 mm. Ils ont été exposés trois jours à 16, 20 et 24°C, puis la survie des organismes et leurs taux d'alimentation moyens ont été déterminés.

## Résultats principaux

**Prospection de populations locales.** Des gammares ont été échantillonnées dans la plupart des sites prospectés, dont les deux plans d'eau (toujours en très faible densité) dans les touradons et roselières des zones prospectables peu profondes (**Figure 25**). Des mâles, des couples et des femelles gravides ont été observés, témoignant de populations en place. Les crastes de la rive orientale de l'étang de Lacanau, et le ruisseau de la Surgenne, affluent rive droite de la Leyre, sont les sites les plus productifs. Des gammares de toutes classes d'âges et genres ont été observés, mais ceci toujours en densités moyennes. Les sites tributaires de l'étang de Cazaux-Sanguinet étaient en hautes eaux et difficilement prospectables ; peu d'organismes ont été recueillis. Autour de Parentis-Biscarosse, les crastes étaient également en hautes eaux au moment des prospections. Profondes, acides, et à forte charge organique, elles offrent peu d'habitats pour les communautés de gammares (substrats fins, absence de racines ou d'embâcles ...). Seuls quelques organismes épars ont été recensés dans ces drains.

La détermination taxonomique sur critères morphologiques indique que l'ensemble des individus correspondent au morpho-type *Gammarus pulex* sur la zone de Lacanau (station 4 sur le plan d'eau et crastes de Caupos, de la Levade, du Pont des Tables, Dreyt). Des *G. pulex* ont également été recensés dans la zone de la Leyre et de la Gourgue (stations C13, C11, C9) et sur les stations à proximité de Parentis-Biscarosse. La présence d'individus du genre souterrain *Niphargus* a été observée aux stations C10 et C13. Sur les stations du plan d'eau de Parentis-Biscarosse, les individus se rattachant probablement à l'espèce invasive américaine *Gammarus tigrinus* ont été déterminés. Cette assignation demande toutefois à être confirmée sur un plus grand nombre de spécimens.

Concernant la détermination moléculaire, les séquences COI de 27 individus ont pu être obtenues, nous permettant d'affecter chacun de ces individus à un groupe taxonomique en les confrontant à des séquences références disponibles sur Genbank pour différentes espèces de gammaridés, par alignement de séquences et construction d'arbres phylogénétiques à l'aide du logiciel Seaview (**Figure 26**). Le succès d'amplification était toutefois variable selon les localisations, avec 60 % d'amplifications réussies pour les zones de Lacanau, de la Leyre et de la Gourgue, alors qu'aucune amplification (de manière inexpliquée) n'a pu être réalisée sur les individus collectés sur le plan d'eau de Parentis-Biscarosse. Les assignations phylogéniques concordent avec les déterminations morphologiques : sur la zone de Lacanau et sur la Leyre, la totalité des séquences amplifiées sont très homogènes et confirment l'appartenance à l'espèce *G. pulex*. A noter que ce groupe homogène se distingue des lignées de *G. pulex* déjà décrites



moyenne du taux d'alimentation à la station L1 est significativement plus faible (28 mm<sup>2</sup>) que pour les autres stations (test de Kruskal-Wallis,  $p = 0,04$ ). Exceptée cette valeur légèrement plus faible du taux d'alimentation dans la station L1, l'ensemble des taux d'alimentation des quatre stations sont très homogènes et proches des valeurs attendues chez la population témoin en absence de contamination pour des gammars de cette taille (8,6 mm) exposés en rivière pour ces conditions de températures (niveaux d'alimentation théoriques compris entre 30 et 34 mm<sup>2</sup> par gomme et par jour).

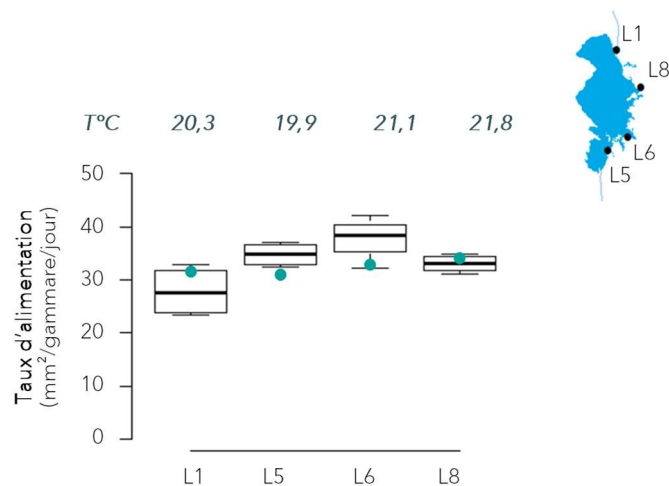


Figure 27 : Taux d'alimentation mesurés chez des gammars aquitains après 7 jours d'exposition dans quatre stations du plan d'eau de Lacanau ( $n = 4$ ). Les points verts représentent les valeurs d'alimentation attendues chez des gammars témoins de taille similaire, exposés en rivière en l'absence de contamination, pour ces conditions de température. La température moyenne d'exposition de chaque station est mentionnée au-dessus des box plots.

Les populations locales de gammars sont moins sensibles à l'augmentation de la température. La Figure 28 présente les survies mesurées à trois températures pour les organismes témoins *G. fossarum* et les gammars de la craste de Caupos, et les taux d'alimentation associés pour chaque population.

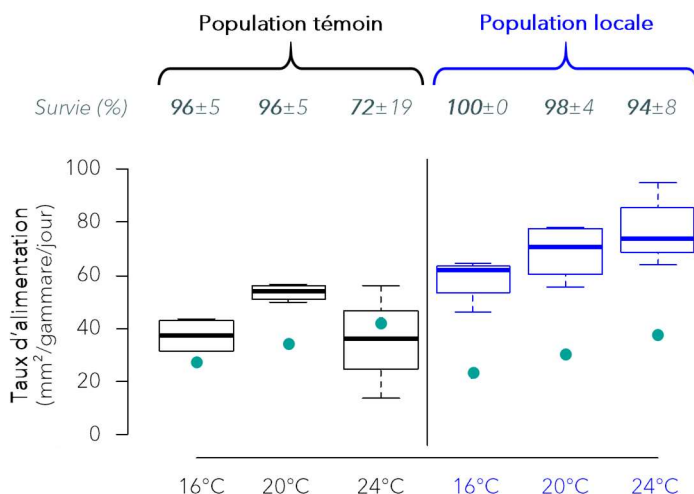


Figure 28 : Survie et taux d'alimentation des gammars témoins (noir) et aquitains (bleu) mesurés après trois jours d'exposition aux températures de 16, 20 et 24 °C ( $n = 4$ ). Les points verts représentent les valeurs d'alimentation attendues chez des gammars témoins de taille similaire, exposés en rivière en l'absence de contamination, pour ces conditions de température.

Après trois jours d'exposition, la survie des organismes aquitains est toujours supérieure à 90 % pour les trois températures testées (Figure 28). Au contraire, la survie de *G. fossarum* dépasse 95 % aux températures de 16 et 20 °C, puis chute à 72 % avec l'augmentation de la température (24 °C).



Les taux d'alimentation moyens (Figure 28) des gammares témoins augmentent d'environ 15 % entre 16 et 20 °C pour diminuer d'autant entre 20 et 24 °C. Par rapport aux valeurs attendues (modèle défini sur la population témoin, Coulaud et al 2011), les taux d'alimentation sont supérieurs à 16 et 20 °C et inhibés à 24 °C (16 %), température à laquelle la variabilité inter-réplicats est également plus élevée. Chez les gammares aquitains, le taux d'alimentation moyen augmente continuellement avec la température, de 17 % entre 16 et 20 °C et de 11 % entre 20 et 24 °C. Les taux d'alimentation des gammares aquitains sont très élevés et *a minima* supérieurs d'un facteur 2 aux valeurs attendues (Coulaud et al. 2011). La comparaison des deux populations souligne deux résultats remarquables :

- l'alimentation de la population aquitaine est toujours supérieure à celles des organismes témoins, alors que les organismes aquitains sont plus petits d'un millimètre ;
- le taux d'alimentation des gammares aquitains augmente avec la température du milieu et plafonne à 76 mm<sup>2</sup>/gammare/jour à 24 °C, température à laquelle celui des organismes témoins chute à 36 mm<sup>2</sup>/gammare/jour.

Les résultats des tests de survie et d'alimentation mettent ainsi en évidence une sensibilité des organismes témoins aux fortes températures (au-delà de 20 °C) et une tolérance des organismes aquitains à la manipulation et aux températures élevées. Par ailleurs, le comportement alimentaire plus vorace des organismes aquitains, par rapport aux taux d'alimentation attendus, a déjà été observé lors de précédentes études du laboratoire chez d'autres populations de gammaridés provenant de milieux singuliers, souvent pauvres en nourriture.

**Une résistance à l'hypoxie un peu supérieure pour les populations aquitaines.** La Figure 29 présente les survies de gammares exposés en milieu hypoxique, au cours d'une exposition au laboratoire de 11 jours. Lors de ce test, la teneur en oxygène a diminué progressivement entre le deuxième jour (4,5 mg/L) et le cinquième jour, à partir duquel elle s'est stabilisée autour de 2 mg/L. La survie des populations témoin et aquitaine a diminué progressivement jusqu'au cinquième jour, puis plus drastiquement. A la fin de l'exposition (11 jours), les taux de survie des deux populations s'approchaient de 30 %. Globalement, on constate pour les deux populations que des niveaux en oxygène inférieurs à 3 mg/L sont impactants en termes de survie, et que la population aquitaine résiste légèrement plus longtemps à l'hypoxie que la population témoin.

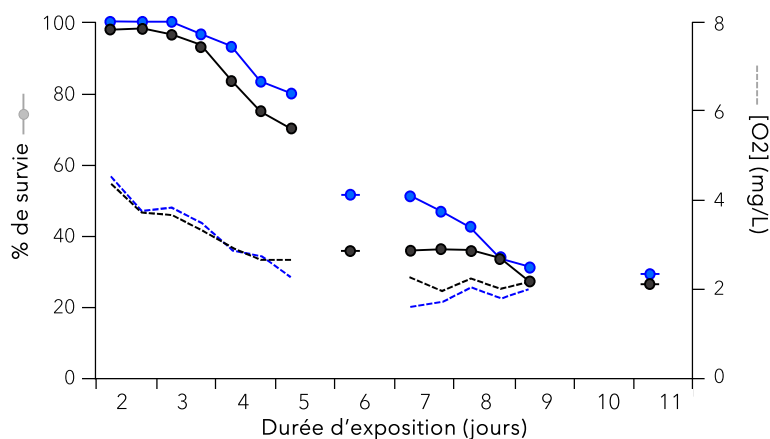


Figure 29 : Survie des populations de gammares aquitains et témoins en milieu hypoxique. Les courbes pleines avec les marques représentent les taux de survie moyens et les courbes en pointillés les concentrations moyennes en oxygène dissout (n = 4). Les courbes noires concernent la population témoin et les courbes bleues la population aquitaine.



## Conclusions générales – Axe 2

**C**ette première tentative de transposition de la méthodologie de biosurveillance active des cours d'eau vers le milieu lacustre s'est avérée très encourageante pour comprendre la contamination biodisponible dans les milieux lacustres. La transplantation d'organismes est aujourd'hui réalisable en plans d'eau mais plusieurs verrous sont encore à lever pour utiliser ces outils en routine et pour mesurer également les effets toxiques potentiels. Les principales limites révélées par ces études prospectives sont les difficultés de maintien des organismes standard aux conditions environnementales estivales des plans d'eau aquitains, et les faibles densités de gammarets autochtones retrouvées.

La première partie de cette approche de biosurveillance active a permis de caractériser la contamination en micropolluants des milieux lacustres et de ses effets écotoxicologiques. Les premières cartes de contamination chimique biodisponibles de deux plans d'eau aquitains ont pu être produites à deux saisons et complétées par des tests d'écotoxicité *in situ* en période estivale. Ces cartographies de la contamination chimique biodisponible réalisées en fin d'hiver et fin d'été 2017 discriminent clairement d'un point de vue contamination chimique, les plans d'eau de Lacanau et de Parentis-Biscarosse, spatialisent la contamination au sein d'un même plan d'eau et font état d'une saisonnalité de la contamination. Sur une année, l'hiver est caractérisé par une contamination en plomb et HAP alors que le zinc et le baryum marquent la période estivale. L'étang de Lacanau apparaît globalement moins contaminé et ceci aux deux saisons, les zones les plus contaminées étant réduites aux zones portuaires, à l'exutoire des tributaires ou en zone de chasse. La contamination du plan d'eau de Parentis-Biscarosse apparaît plus étendue et spatialisée, avec une pression métallique plus marquée au sud du plan d'eau. Replacés face aux niveaux de contamination des cours d'eau à l'échelle nationale, l'empreinte chimique du biote mesurée dans ces deux plans d'eau est globalement faible pour les contaminations métalliques et organiques persistants. Toutefois, un record de contamination au plomb a été relevé sur le point P14. La caractérisation des effets toxiques par biosurveillance active n'a pas pu aboutir du fait des fortes mortalités observées lors de l'engagement en septembre 2018. Les engagements en plans d'eau des gammarets standardisés (*Gammarus fossarum*) aux deux saisons ont mis en évidence des difficultés de maintien des organismes lyonnais lors des engagements en fin d'été (septembre 2017 et 2018), ne permettant pas de transférer la méthode en l'état en saison estivale, et appuyant alors le choix d'un engagement à d'autres saisons ou en recourant à l'utilisation d'organismes issus d'une population locale, potentiellement plus adaptée aux conditions du milieu.

Le deuxième objectif de l'étude concernait la transposition de ce protocole à une population source locale. Les résultats provenant de l'exposition *in situ* et des challenges au laboratoire avec la population du craste de Caupos montrent que cette population n'est pas stressée par la manipulation associée aux expérimentations et est probablement plus tolérante aux stress environnementaux de fortes températures et d'hypoxie que la population standard. La comparaison des tests d'alimentation au laboratoire a mis en évidence des taux d'alimentation de la population aquitaine plus élevés requérant, pour une future utilisation *in situ*, de définir de nouvelles valeurs de référence des marqueurs d'effets pour ces gammares ou à envisager d'autres modalités de préparation des organismes avant expérimentation (stabulation long terme, habituation au substrat alimentaire). En effet, il est probable que les organismes n'étaient pas dans un bon état physiologique pour l'expérimentation, et que la mise à disposition d'une nourriture plus abondante ou plus appétente que celle de leur milieu d'origine les aient rendus plus voraces.

Pour poursuivre l'adaptation du protocole, il serait nécessaire de réaliser des essais de caractérisation de la toxicité en plan d'eau en période fraîche, lorsque les conditions d'oxygénation des eaux et de température sont plus appropriées à l'encagement des organismes témoins. Il est également envisageable d'acclimater les organismes témoins pour une exposition en période estivale dans des conditions environnementales moins biogènes, pour tenter de les rendre plus résistants aux milieux à plus faible niveau de conductivité et d'oxygène et à plus forte température. Cela impliquerait de contrôler ou réévaluer les valeurs basales des différents marqueurs et la sensibilité aux contaminants des organismes acclimatés à une exposition en milieu lacustre.

Une autre voie à explorer serait de se procurer une autre population source locale, en densité conséquente. La prospection d'organismes répétée à deux saisons a soulevé des difficultés logistiques de prélèvement sur les sites (plans d'eaux et tributaires des bassins versants de Lacanau, Cazaux-Sanguinet, Arcachon) ainsi que des quantités d'organismes collectés insuffisantes pour réaliser des tests de biosurveillance active et un déploiement conséquent. En cas de volonté d'adapter le protocole à une population locale, de nouvelles prospections d'organismes seraient à réaliser, en élargissant la zone de prospection à tout le bassin versant des lacs aquitains. De l'avis des gestionnaires, l'Etang Noir pourrait par exemple constituer un milieu propice à la collecte de populations de gammaridés. Les tributaires du bassin versant de Cazaux-Sanguinet, la Leyre et la Gourgue pourraient également être prospectés de nouveau, en période plus favorable (régime hydrologique moins intense), et plus en amont. La récolte d'organismes pourrait également être facilitée par la mise en place de pièges à gammares dans les crastes dans lesquelles des organismes ont été observés. Le cas échéant, comme pour la population de la craste de Caupos, l'aptitude à la manipulation de cette population et sa résistance aux conditions lacustres devra être testée, les niveaux basaux pour les marqueurs souhaités devront être définis.

L'outil de biosurveillance active basé sur l'utilisation de gammaridés, soumis à quelques ajustements pour permettre une caractérisation de la toxicité en période chaude, pourrait être utilisé à plus large échelle pour caractériser chimiquement les autres plans d'eau du bassin versant de la chaîne des lacs aquitains. La méthodologie d'encagement offre en effet de nombreux avantages pour mieux comprendre la contamination et la toxicité des milieux, et devenir un nouvel outil pour l'étude et la gestion des plans d'eau.

#### POUR EN SAVOIR PLUS

**François A., Chaumot A., Geffard O.** 2020. Adaptation du protocole de biosurveillance active à partir du gammare pour quantifier les pressions micropolluants et leurs impacts écotoxiques dans les étangs aquitains. Rapport final du projet DYLAQ Axe 5 : Interactions biologiques et impacts écotoxicologiques, 51 pages.

**Geffard O., Chaumot A., Noury P., Delorme N.** 2021. Méthodologie d'évaluation de la qualité des masses d'eau à l'aide du gammare engagé (*Gammarus fossarum*), Guide des gestionnaires – projet Interreg DIADeM, 14p.





## Bibliographie citée

AFNOR. 2019. Qualité de l'eau - Engagement in situ de gammare pour la mesure de la bioaccumulation de substances chimiques. Norme XPT 90-721.

AFNOR. 2020. Qualité de l'eau - Mesures moléculaires, physiologiques et comportementales chez le gammare (crustacé amphipode) - Partie 3 : mesure du taux d'alimentation. Norme XP T 90-722-3.

Alric B, Geffard O, Chandesris A, Ferréol M, François A, Perceval O, Piffady J, Villeneuve B, Chaumot A. 2019. Multisubstance Indicators Based on Caged *Gammarus* Bioaccumulation Reveal the Influence of Chemical Contamination on Stream Macroinvertebrate Abundances across France. *Environmental Science and Technology* 53: 5906-5915.

Aqua conseils. 2007. Etude Préalable à l'entretien du réseau hydrographique du bassin versant des lacs médocains - phase 1 : Etat des Lieux et diagnostic, 100p.

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

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

Consolandi G, Ford AT, Bloor MC. 2021. Feeding behavioural studies with freshwater *Gammarus* spp.: the importance of a standardised methodology. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 253: 1-41.

Coulaud R. 2012. Modélisation et changement d'échelles pour l'évaluation écotoxicologique : application à deux macroinvertébrés aquatiques, *Gammarus fossarum* (crustacé amphipode) et *Potamopyrgus antipodarum* (mollusque gastéropode). Thèse de l'Université de Lyon 1, 351p.

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



- Dedourge-Geffard O, Palais F, Biagianni-Risbourg S, Geffard O, Geffard A. 2009. Effects of metals on feeding rate and digestive enzymes in *Gammarus fossarum*: an in-situ experiment. *Chemosphere* 11: 1569-1576.
- Gourlay-Francé C, Delmas F, Mazzella N, Tusseau-Vuillemin MH. 2010. Que sait-on de la biodisponibilité des contaminants dissous dans le milieu aquatique ? *Sciences Eaux & Territoires* 1: 6-11.
- Gouveia D, Chaumot A, Charnot A, Almunia C, François A, Navarro L, Armengaud J, Salvador A, Geffard O. 2017. Ecotoxic-Proteomics for Aquatic Environmental Monitoring: First in Situ Application of a New Proteomics-Based Multibiomarker Assay Using Caged Amphipods. *Environmental Science and Technology* 51: 13417-1342.
- Hou Z, Fu J, Li S. 2007. A molecular phylogeny of the genus *Gammarus* (Crustacea: Amphipoda) based on mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45: 596-611.
- Maltby L. 1999. Studying stress: the importance of organism level responses. *Ecological Applications* 9: 431-440.
- McLoughlin N, Yin DQ, Maltby L, Wood RM, Yu H. 2000. Evaluation of sensitivity and specificity of two crustacean biochemical biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19: 2085-2092.
- Pinkster S. 1972. On Members of the *Gammarus Pulex*-Group (Crustacea-Amphipoda) from Western Europe. *Bijdragen tot de Dierkunde* 42: 164-191.
- Piscart C, Bollache L. 2012. Crustacés amphipodes de surface : gammares d'eau douce. Introduction pratique à la systématique des organismes des eaux continentales de France, Association Française de Limnologie, 122p.
- Weiss M, Macher JN, Seefeldt MA, Leese F. 2014. Molecular evidence for further overlooked species within the *Gammarus fossarum* complex (Crustacea: Amphipoda). *Hydrobiologia* 721: 165-184.
- Xuereb B, Noury P, Felten V, Garric J, Geffard O. 2007. Cholinesterase activity in *Gammarus pulex* (Crustacea Amphipoda): Characterization and effects of chlorpyrifos. *Toxicology*, 236: 178-189.
- Xuereb B, Lefèvre E, Garric J, Geffard O. 2009. Acetylcholinesterase activity in *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda): Linking AChE inhibition and behavioural alteration. *Aquatic Toxicology* 94: 114-122.