



**HAL**  
open science

## Lien entre la toxicité, la contamination des milieux aquatiques mesurés chez *Gammarus fossarum* et la perturbation des communautés biologiques Rapport final

Olivier Geffard, Alexandre Ciliberti, Adeline François, Marina Coquery, Martial Ferréol, Arnaud Chaumot

### ► To cite this version:

Olivier Geffard, Alexandre Ciliberti, Adeline François, Marina Coquery, Martial Ferréol, et al.. Lien entre la toxicité, la contamination des milieux aquatiques mesurés chez *Gammarus fossarum* et la perturbation des communautés biologiques Rapport final. [Rapport de recherche] INRAE. 2018. hal-03799759

**HAL Id: hal-03799759**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03799759v1>**

Submitted on 6 Oct 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.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



Programme 2016/2018 – Thème *Risques liés à la contamination chimique des milieux aquatiques* - Action n° 48

# Lien entre la toxicité, la contamination des milieux aquatiques mesurés chez *Gammarus fossarum* et la perturbation des communautés biologiques

Rapport final

Olivier Geffard, Alexandre Ciliberti, André Chandesris, Adeline François, Marina Coquery, Martial Ferréol, Arnaud Chaumot. (Iristea Lyon)

Janvier 2018





- **AUTEURS**

**Laboratoire d'écotoxicologie, UR RiverLy, Irstea Lyon-Villeurbanne**

**Olivier Geffard**, directeur de recherche (Irstea), [olivier.geffard@irstea.fr](mailto:olivier.geffard@irstea.fr)

**Alexandre Ciliberti**, chargé de recherche (Irstea)

**Adeline François**, Ingénieur d'étude (Irstea), [adeline.francois@irstea.fr](mailto:adeline.francois@irstea.fr)

**Arnaud Chaumot**, chargé de recherche (Irstea), [arnaud.chaumot@irstea.fr](mailto:arnaud.chaumot@irstea.fr)

**Laboratoire d'hydrobiologie quantitative, UR RiverLy, Irstea Lyon-Villeurbanne**

**André Chandesris**, chargé de recherche (Irstea), [andré.chandesris@irstea.fr](mailto:andré.chandesris@irstea.fr)

**Martial Ferréol**, Ingénieur d'étude (Irstea), [martial.ferreol@irstea.fr](mailto:martial.ferreol@irstea.fr)

**Laboratoire de chimie des milieux aquatiques, UR RiverLy, Irstea Lyon-Villeurbanne**

**Marina Coquery**, directrice de recherche (Irstea), [marina.coquery@irstea.fr](mailto:marina.coquery@irstea.fr)

- **CORRESPONDANTS**

**Onema : Olivier Perceval**, DAST (AFB), [olivier.perceval@afb.fr](mailto:olivier.perceval@afb.fr)

**Partenaire : Olivier Geffard**, Directeur de recherche (Irstea), [olivier.geffard@irstea.fr](mailto:olivier.geffard@irstea.fr)

- **AUTRES CONTRIBUTEURS**

**Droits d'usage** : accès libre

**Niveau géographique** : national

**Couverture géographique** : nationale

**Niveau de lecture** : experts

[Les rubriques propres au partenaire (visa par ex.) peuvent être insérer dans cette page ou ajouter sur une page supplémentaire]





[Le résumé, en une page max., est intégré dans la notice qui référence le document dans les bases documentaires qui sont mises à disposition des lecteurs]

- **RESUME**

Les concentrations en contaminants biodisponibles, mesurées chez des espèces d'invertébrés bio-indicatrices, ont déjà été utilisées avec succès pour établir des liens entre la pression chimique et les dégradations des communautés d'invertébrés, ceci à l'échelle d'un cours d'eau ou de petits bassins versants. Cependant, la mise en œuvre de cette approche comparative et empirique à une plus grande échelle spatiale demeure un défi en raison de la diversité des contextes biogéographiques. Au niveau national, il est d'une part difficile de trouver une espèce sentinelle répartie sur l'ensemble du territoire et d'autre part, l'impact de facteurs biotiques (état physiologique des organismes, espèces, historique d'exposition, mécanismes d'adaptation) joue un rôle important sur la concentration accumulée et donc la possibilité de comparer les systèmes hydriques étudiés. Dans nos travaux précédents, il a été montré que l'utilisation de l'encagement d'organismes calibrés et de référence permet d'utiliser un outil commun pour la biosurveillance des milieux aquatiques et à une large échelle géographique, en limitant l'influence de facteurs de confusion sur les niveaux de contamination biodisponible (concentration accumulée). Dans la présente étude, les niveaux de contamination biodisponible en Cd, Hg, Ni et Pb, évaluées par biosurveillance active avec l'amphipode *Gammarus fossarum*, ont été comparés à l'abondance des gammaridés natifs, sur 94 sites répartis en France. Les densités de gammares pour chaque site d'étude ont été extraites des bases de données du programme de surveillance de l'état écologique, mis en œuvre par les agences françaises de l'eau dans le cadre de la directive cadre sur l'eau. Les abondances relatives ont été déterminées, intégrant l'influence de la typologie physico-chimique des cours d'eau sur leur capacité maximale à accueillir des gammaridés, afin de pouvoir comparer les niveaux d'abondances observés sur les 94 sites étudiés. Les résultats montrent un lien clair entre la densité en gammares et les niveaux de contamination biodisponible pour trois des quatre éléments métalliques étudiés (Cd, Ni et Pb). Des concentrations seuils dans les organismes encagés au-dessus desquels la densité de gammares natifs dans le cours d'eau est anormalement faible – seuil de concentration biodisponible d'effet écologique (BEAC) - ont été déterminées. La fiabilité et la validité des BEAC, leur comparaison avec les BBAC (valeur seuil de contamination biodisponible) et leur utilité en termes de priorisation des contaminants, des sites dans la gestion des milieux aquatiques continentaux, sont discutées.

- **MOTS CLES (BIOSURVEILLANCE ACTIVE, BIOACCUMULATION, EFFETS ECOLOGIQUES, EAUX DOUCES, GAMMARIDES, METAUX PRIORITAIRES, ECHELLE NATIONALE)**



Titre– Sous-titre  
Statut du document  
Auteur 1, Auteur 2



## RELATIONSHIP BETWEEN TOXICITY, BIOAVAILABLE METALS CONTAMINATION MEASURED IN CAGED *GAMMARUS FOSSARUM* AND DISTURBANCE OF COMMUNITIES

- **ABSTRACT**

Bioaccumulated concentrations of toxic elements in biomonitor invertebrate species have already been used to successfully link metal bioavailability and impairments of stream macroinvertebrate communities at the scale of the watershed. However, implementing this empirical comparative approach at a greater spatial scale remains a challenge due to the diversity of biogeographical contexts encompassed by regional and national scales. We showed in previous studies that the use of standard organisms caged permits the use of a common biomonitor over a far greater geographical range, while limiting the influence of confounding factors on levels of bioavailable contamination. In this study, levels of Cd, Hg, Ni and Pb contamination assessed by active biomonitoring with caged *Gammarus fossarum* were compared to abundances of on-site gammarids on 94 sites in France. On-site gammarid abundances were retrieved from monitoring programs implemented by French water agencies for the evaluation of ecological status for the European Water Framework Directive. These abundances were corrected for the influence of stream physico-chemical typology in order to permit a reliable comparison of gammarid densities between sites at the national scale. Clear trends of degradation of gammarid densities with increasing levels of bioaccumulated concentrations were identified for three of the four elements (Cd, Ni and Pb). Threshold concentrations in caged organisms above which the numbers of free-ranging gammarids were abnormally low - namely bioavailable ecological assessment concentrations (BEACs) - were determined. The reliability and validity of the BEACs, their comparison with BBACs and their usefulness in terms of prioritization of contaminants, sites in freshwater management, are discussed.

- **KEY WORDS (ACTIVE BIOMONITORING, BIOACCUMULATION, ECOLOGICAL EFFECTS, FRESHWATERS, GAMMARIDS, PRIORITY METALS, NATIONAL SCALE)**



## Lien entre la toxicité, la contamination des milieux aquatiques mesurés chez *Gammarus fossarum* et la perturbation des communautés biologiques

### Synthèse pour l'action opérationnelle

#### Contexte général

La présente étude s'inscrit dans le contexte de la Directive cadre sur l'eau (DCE) et notamment de la surveillance de l'état chimique pour les eaux continentales. La nouvelle directive européenne adoptée en août 2013 (2013/39/CE) généralise l'utilisation du biote en surveillance, notamment pour l'évaluation de la conformité des prélèvements vis-à-vis de NQE définies pour le biote et pour l'évaluation des tendances de la contamination (i.e. objectif de non dégradation de la qualité des milieux aquatiques). Dans un précédent rapport méthodologique (Geffard *et al.*, 2014), nous avons validé l'utilisation de l'encagement de gammare, *Gammarus fossarum*, comme approche pour évaluer la contamination biodisponible des milieux aquatiques d'eau douce, à l'échelle nationale. Cette approche permet d'étudier la contamination de n'importe quels sites aquatiques, mais également de qualifier leur niveau de contamination par rapport à un niveau bas national. Ainsi des valeurs seuils de contamination biodisponible (BBAC) ont été définies pour 10 métaux. Cependant, si la mesure de la contamination dans les organismes encagés permet de qualifier la contamination des milieux étudiés, elle ne permet pas d'évaluer le risque toxique pour les espèces du milieu, ou de prédire l'impact de cette contamination sur les communautés, ceci nécessitant de pouvoir établir au préalable un lien entre la contamination chimique et les effets écologiques.

#### Objectifs

L'objectif de ce travail était d'étudier empiriquement les liens entre la contamination métallique et un impact écologique à l'échelle du territoire, en utilisant une base de données de contaminations obtenue à l'aide de gammares encagés sur une centaine de sites nationaux et pour lesquels l'abondance en gammares natifs pouvait être également estimée à partir des données du suivi de l'état écologique réalisé dans le cadre du programme de surveillance des agences de l'eau en réponse à la directive cadre sur l'eau. Il s'agissait de bénéficier de l'approche par encagement chez *G. fossarum* qui permet d'une part d'accéder à la fraction biodisponible de la contamination (potentiellement toxique), et d'autre part de qualifier la contamination chimique de systèmes hydriques déconnectés et repartis sur une large échelle spatiale (ici nationale).

#### Méthodologie

Pour mener à bien cette étude, il nous a fallu construire une base de données concernant des sites répartis au niveau national et pour lesquels nous disposions de données réglementaires de bio-indication, notamment des abondances en gammaridés.

Pour le niveau de contamination, ces travaux se sont intéressés aux Cd, Hg, Ni et Pb et nous avons utilisé la base de données construite lors de nos précédents travaux sur 129 sites d'études. Pour obtenir les données concernant l'abondance en gammares natifs sur les sites étudiés, nous avons croisé les informations disponibles entre les bases de données liées à la surveillance de l'état écologique et obtenue à l'aide de protocole normalisé (XP T 90-333 AFNOR, 2009) et la liste des sites pour lesquels l'information de la contamination des gammares encagés, était disponible. Une liste de 94 sites a été établie, pour lesquels nous disposions des niveaux de contamination biodisponible pour les 4 métaux et des abondances en gammares natifs.



Evaluer une dégradation des populations locales de gammarès nécessite la définition de niveaux de référence, correspondant aux niveaux d'abondance observées sur divers bassins versants non impactés. Pour établir ces valeurs de référence, nous avons utilisé les données du réseau de référence et la classification des cours d'eau au regard de leur typologie physico-chimique (le niveau de dureté- fort H ou faible S- et le gradient longitudinal - de l'amont 1 à l'aval 3-). Pour chacune des 6 typologies, le 95<sup>ème</sup> percentile des abondances de gammaridés observées sur les sites du réseau de référence a été calculé (Figure A) et proposé comme une mesure de capacité d'accueil optimale en gammarès des différents types de cours d'eau nationaux, puis utilisé pour normaliser et pouvoir comparer les abondances observées sur les 94 sites de cette étude.

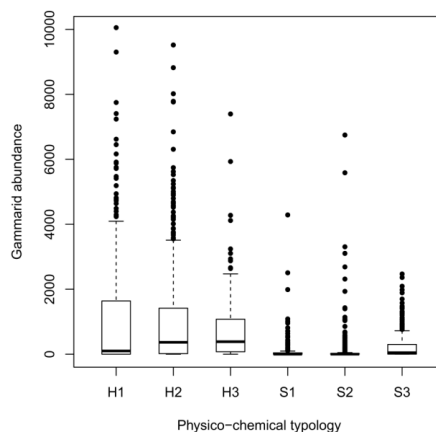


Figure A : Abondance de gammaridés natifs sur 365 sites de référence (1915 mesures, réseau de référence national français) en fonction de la typologie physico-chimique associée: H1 (eau dure, haute altitude), H2 (eau dure, altitude intermédiaire), H3 ( eau dure, basse altitude), S1 (eau douce, haute altitude), S2 (eau douce, altitude intermédiaire), S3 (eau douce, basse altitude)

### Principaux acquis

Les sites retenus dans cette étude présente une grande diversité en termes de taille, de géologie, d'occupation des sols, mais également en termes d'état écologique (I2M2), avec des distributions proches de celles observées dans les programmes de surveillance. Toutefois, le type « grand cours d'eau » a été sous représenté dans cette étude (5% contre 15 % pour le réseau de surveillance national). De la même façon, concernant la géologie, la proportion de sites dans les groupes « rocheux » ou « mixte » est plus faible dans notre étude que pour le réseau de surveillance.

Les taux de quantification des métaux observés pour les 94 sites étudiés sont respectivement de 100, 98, 97 et 80% pour le Cd, Hg, Pb et Ni. Ces taux sont en parfait accord avec ceux observés par Besse *et al.* (2013) qui étaient de 100%, 100%, 93% et 85% pour le Cd, Hg, Pb et Ni, respectivement. Ces travaux confirment également l'intérêt d'utiliser le biote pour la surveillance de la contamination métallique des milieux. A titre de comparaison, sur les mêmes stations et en même temps, les pourcentages de quantification observés dans les colonnes d'eau sont de 37 % pour le Pb, 41% pour le Ni et 45% pour le Cd (Urien *et al.*, 2016). Considérant que la DCE est basée sur la mesure des teneurs en métaux dissous dans la colonne d'eau, nos observations conduisent à s'interroger sur la capacité de la surveillance chimique actuelle à détecter plusieurs situations de contamination. De la même façon, l'identification des risques biologiques liés à une contamination métallique apparaît difficile lorsqu'elle est basée sur les teneurs en métaux dissous, notamment pour évaluer l'exposition des communautés biologiques. A titre d'exemple, Van Ael *et al.* (2015) ont récemment tenté d'établir une relation entre les teneurs en métaux dissous et les effets écologiques exprimés sous la forme de l'indice biotique basée sur le suivi des macro-invertébrés. Bien que leur étude se soit basée sur une très grosse base de données (1 189 sites en Belgique), ils n'ont pas pu démontrer de relations claires et évidentes entre les concentrations en métaux dans l'eau et les impacts écologiques. Dans notre étude, l'utilisation de la fraction bidisponible et de l'encagement pour limiter l'impact de facteurs biologiques de confusion aident clairement à la description et l'établissement de relations existantes entre la contamination et son impact sur les communautés (Figure B). Excepté pour le Hg, et bien que

s'appuyant sur relativement peu de sites, les résultats montrent qu'il est possible de décrire une relation entre la contamination biodisponible en Cd, Ni ou Pb et la densité de gammarés natifs sur les 94 sites étudiés et qu'il est possible de définir une valeur de contamination seuil (BEAC : bioavailable ecological assessment concentrations) au-dessus de laquelle les abondances observées sont anormalement faibles. Ces résultats sont en parfaite cohérence avec les travaux de Luoma *et al.* (2009), ainsi que de Rainbow *et al.* (2012) réalisés à de petites échelles spatiales, et confirment que les niveaux de contamination dans le biote peuvent être interprétés en termes d'impacts à des niveaux d'organisation biologique élevé (abondance, diversité etc.) et ainsi que le danger d'une contamination métallique pour les populations natives de gammarés peut être prédit. Les travaux menés autour du gammaré encagé offrent aujourd'hui au gestionnaire un outil lui permettant de prioriser / qualifier les sites au regard de leur niveau de contamination, mais également du danger qu'ils constituent vis-à-vis des populations de gammarés.

La suite ce travail consistera à étudier la possibilité d'établir de tels liens en intégrant un plus grand nombre de contaminants et en allant vers la définition d'indicateurs globaux de la contamination biodisponible des milieux, mais également en travaillant sur le développement d'indicateurs biologiques (diversité, fonctionnement) plus pertinents que l'utilisation de l'abondance d'une seule espèce d'intérêt.

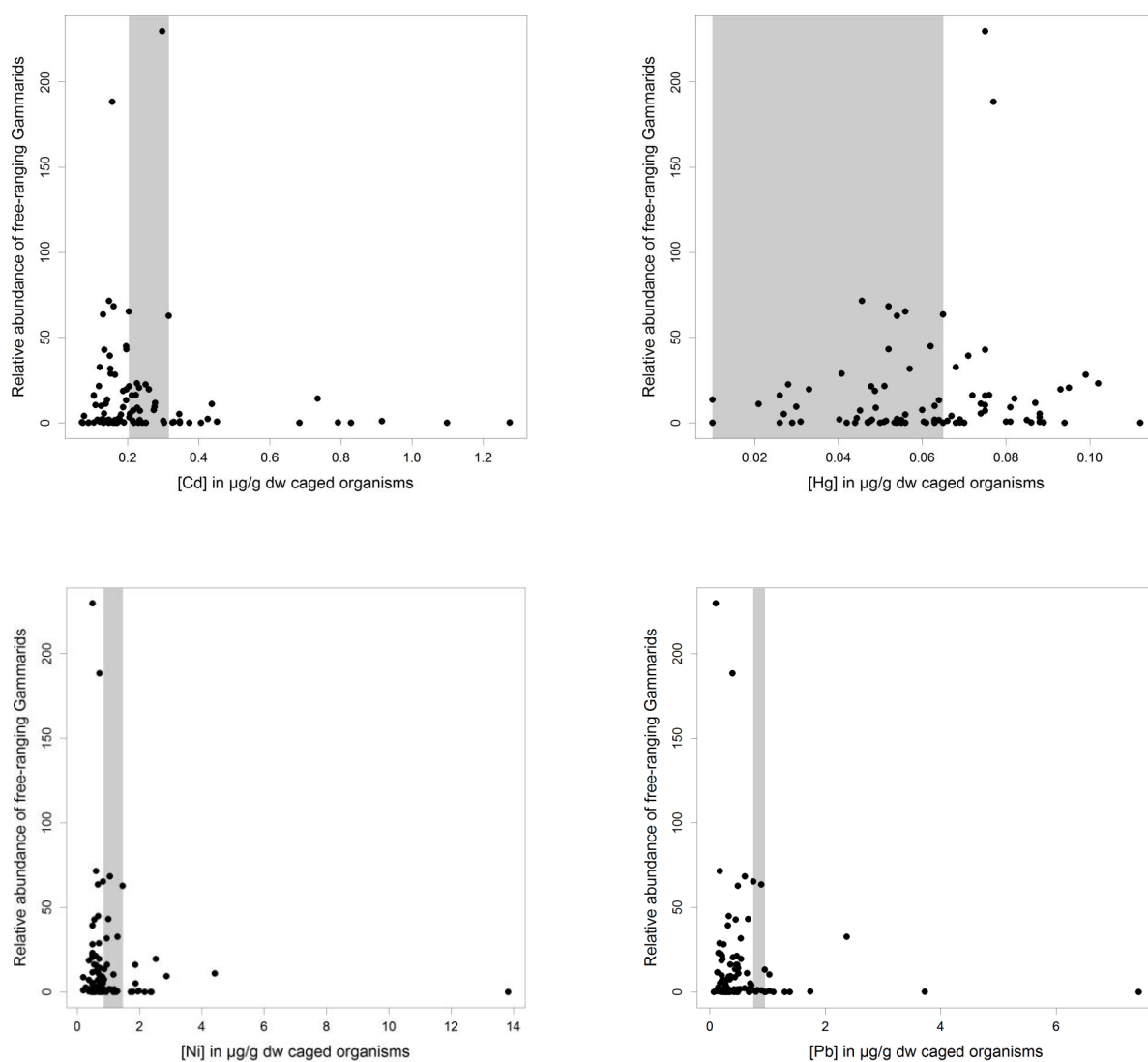


Figure B: Abondance relative de gammaridés natifs (exprimées en pourcentage du 95ième percentile des abondances observées sur des sites de référence et de typologie physico-chimique similaire) en fonction de la contamination biodisponible en Cd (4A), Hg (4B), Ni (4C) et Pb (4D), correspondant à la teneur mesurée dans des *Gammarus fossarum* encagés sur les sites d'étude. Les concentrations sont exprimées en µg/g de poids sec. La zone grise correspond à la gamme des interquartiles de la distribution des BEAC par bootstrap.

### ***Pour en savoir plus***

- Besse, J.P., Geffard, O., Coquery, M. (2011). Développement d'une méthodologie pour l'amélioration du suivi chimique des eaux continentales - Etat de l'art sur les approches de biosurveillance et application dans le cadre de la DCE. Cemagref-Irstea, 100 p.
- Besse, J.-P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Geffard, O. (2012a). Développement d'une méthodologie pour l'amélioration du suivi chimique des eaux continentales – Approche de biosurveillance active sur *Gammarus fossarum*. Irstea, 65 p.
- Besse, J.P., Geffard, O., Coquery, M. (2012b). Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive. *TrAC – Trends in Analytical Chemistry* 36, 113-127.
- Besse, J.-P., 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.
- Chabanne, Q., Chaumot, A., Coquery, M., François, A., Geffard, O., Lebrun, J., Recoura-Massaquant, R., Urien, N., Vigneron, A. (2015). Rapport sur la proposition d'indicateurs chimiques et toxicologiques utilisant le gammare : importance de l'espèce et de la population utilisées. Rapport d'étape IRSTEA-ONEMA, 66p.
- Geffard, O., Besse, J.P., A. Chaumot, A. François, R. Recoura-Massaquant, C. Lopes, J. Gahou, G. Grisot, M. Coquery (2014). Rapport de synthèse de l'étude pilote : déploiement de l'outil gammare engagé au niveau national, résultats pour les métaux ciblés. Rapport IRSTEA-ONEMA, 60p.



- **SOMMAIRE**

<b>1. Introduction</b> .....	13
<b>2. Matériels et méthodes</b> .....	14
2.1. Sites d'étude et données de bio-indication.....	14
2.2. Bio-monitoring actif avec <i>G. fossarum</i> .....	15
2.3. Abondance de gammares. ....	16
2.4. Analyses statistiques.....	17
<b>3. Résultats et discussion</b> .....	18
3.1. Sites d'étude et données de bio-indication.....	18
3.2. Niveaux de contamination dans les organismes encagés.....	19
3.3. Calibration des niveaux de contamination chez les gammares encagés. ....	20
<b>4. Glossaire</b> .....	25
<b>5. Sigles &amp; Abréviations</b> .....	26
<b>6. Bibliographie</b> .....	27
<b>7. Table des illustrations</b> .....	29

## 1. Introduction

La directive-cadre européenne sur l'eau (DCE, Commission européenne, 2000) impose d'atteindre le bon état pour les masses d'eau et oblige aux États membres de surveiller les tendances des niveaux de contamination et de l'état écologique de leurs systèmes aquatiques. À l'heure actuelle, le suivi repose sur deux approches. L'évaluation de l'état chimique évalue la conformité des concentrations dissoutes ou totales en contaminants dans les masses d'eau vis à vis des normes de qualité environnementales (NQE), constituant des valeurs de protection *a priori* pour les communautés biotiques. L'état écologique est défini à partir de paramètres physico-chimiques généraux et d'indicateurs biologiques à travers l'utilisation d'indices biocénotiques standardisés. Cependant, le couplage de ces deux approches complémentaires ne permet pas d'établir un lien spécifique entre la dégradation de l'état écologique observée et la présence d'une contamination du milieu. D'une part, les teneurs dissoutes ne renseignent que partiellement sur la fraction bioaccumulable et biodisponible en contaminants, qui correspond à la fraction potentiellement toxique, et par conséquent sont difficilement extrapolables en termes d'impacts biologiques. De plus, l'échantillonnage ponctuel, tel que recommandé, ne permet pas d'intégrer la variabilité temporelle de la contamination dans les milieux et les teneurs mesurées sont trop souvent inférieures aux limites de quantification disponibles et proposées par les laboratoires d'analyses prestataires. D'autre part, l'évaluation de l'état écologique via l'étude des structures des communautés aquatiques (Norris & Thomas 1999) est pertinente pour une évaluation écologique globale, mais reste insuffisante pour établir avec précision les composés chimiques responsables des perturbations écologiques observées. Cependant, identifier les sources de dégradations est un point crucial pour la gestion et la restauration des milieux aquatiques. L'évaluation des effets liés à la contamination environnementale impose d'améliorer et/ou de revoir les approches actuellement utilisées et interroge sur la nécessité éventuelle de revisiter les directives environnementales (Luoma & Rainbow, 2011; Bervoets *et al.*, 2016). Plus particulièrement, il est aujourd'hui nécessaire de proposer des outils permettant d'établir des liens entre la contamination chimique et les effets écologiques.

Pour identifier le niveau de contamination susceptible d'avoir une incidence sur les niveaux d'organisation biologiques élevés, et donc définir les contaminants les plus préoccupants, il est souvent proposé de s'intéresser à la mesure de la contamination dans le biote, afin d'aborder la fraction biodisponible (David, 2003; Solà *et al.*, 2004). Ainsi, plusieurs études ont décrit une relation entre le niveau de contamination en métaux dans le biote et l'abondance de macroinvertébrés reconnus comme sensibles aux métaux (De Jonge *et al.*, 2013; Luoma *et al.*, 2009; Rainbow *et al.*, 2012; Solà & Prat, 2006). À l'exception du travail de Bervoets *et al.* (2016), les travaux réalisés ont été menés à l'échelle d'un même bassin hydrographique, garantissant des paramètres physico-chimiques similaires entre les sites d'étude. Les études de Luoma *et al.* (2009) et Rainbow *et al.* (2012) se sont intéressées à des bassins hydrographiques particuliers, caractérisés par un rejet minier ponctuel et local, permettant d'expérimenter facilement le long d'un gradient de contamination dans le milieu. Ces travaux ont mis clairement en évidence un rôle structurant de la contamination biodisponible, évaluée par la teneur en métaux chez une espèce tolérante à ces composés, et la diversité / l'abondance d'espèces sensibles entre les stations étudiées. Toutefois, l'extrapolation spatiale de ces liens à une échelle régionale et nationale, se confronte à des limites scientifiques et techniques et reste un enjeu fort aujourd'hui pour les gestionnaires. L'interprétation des teneurs en contaminants par monitoring passif est limitée par la présence et l'influence de nombreux facteurs de confusion, liés à la biologie de l'organisme (âge, genre, statut reproductif, déplacement, adaptation etc.), à l'historique de la contamination et / ou de l'exposition et à l'habitat (compétition, source de nourriture) (Besse *et al.*, 2012). Ces facteurs varient fortement d'un système hydrique à un autre et rend ainsi difficile la comparaison des niveaux de contamination observés sur des organismes collectés en diverses stations et leur interprétation, classement, en termes de niveaux d'exposition à une contamination biodisponible des milieux étudiés (Rainbow, 2002, 2007; Van Hattum *et al.*, 1991). Enfin, les espèces d'intérêt ne sont pas toujours disponibles sur les sites suivis. Plus récemment, des approches de monitoring actif, par encagement d'organismes standardisés, ont été développées et proposées pour limiter l'impact de facteurs de confusion sur les niveaux de contamination des organismes. Cette approche offre l'opportunité d'évaluer la contamination biodisponible sur n'importe quelle station, à large échelle et de comparer directement ces teneurs en termes de niveaux de contamination. Ce type

d'approche a été développé par Irstea Lyon chez *Gammarus fossarum* et s'est montrée pertinente pour la caractérisation de la contamination biodisponible des eaux continentales (Besse *et al.*, 2013; Urien *et al.*, 2016). Elle a été mise en place avec succès au niveau régional (Rhône-Alpes) et du territoire français, pour laquelle des valeurs seuils ont été proposées pour plusieurs composés inorganiques et organiques, au-delà de laquelle une contamination biodisponible est significativement plus élevée que le niveau bas national (BBAC – bioavailable background assessment concentration) (Besse *et al.*, 2013 ; Geffard *et al.*, 2014 ; Recourra-Massaquant *et al.*, 2014).

Ainsi la surveillance de la contamination par l'encagement d'organismes standardisés offre un cadre idéal pour évaluer la possibilité d'établir des liens entre la contamination des milieux (teneurs en contaminants chez les individus encagés) et des altérations au niveau des communautés biologiques, ceci à une large échelle, celui du territoire français. Pour établir de telles relations, une base de données concernant le niveau de contamination ainsi que la diversité et l'abondance des espèces, doit être disponible pour un nombre de stations conséquent. L'objectif de ce travail avait pour but d'étudier les liens entre la contamination métallique et un impact écologique à l'échelle du territoire français, en utilisant une base de données de contamination obtenue à l'aide de gammares encagés sur des sites pour lesquels l'abondance en gammares pouvait également être évaluées à l'aide des données de suivi de l'état écologique réalisé dans le cadre du programme de surveillance des agences de l'eau en réponse à la directive cadre sur l'eau. Ces données de bio-indication sont obtenues de façon régulière, à l'aide d'un protocole normalisé (XP T 90-333 in AFNOR, 2009), lors de la surveillance réglementaire pour l'indice biotique macroinvertébrés (Mondy *et al.*, 2012). Dans une étude précédente (Botta & Dulio, 2014), une centaine de sites ont été sélectionnés par des experts nationaux et des gestionnaires (agences de l'eau) pour couvrir la diversité (en termes de types de rivières, de profile de contamination, de pression anthropique) des sites rencontrés dans le réseau de surveillance national. Pour notre étude, les sites utilisés sont ceux de cette précédente étude pour lesquels nous disposions de données de bioaccumulation sur gammares encagés et de données de bio-indication. La première étape de ce travail a été de décrire les 94 sites retenus, avec l'hypothèse qu'ils couvrent la diversité des sites suivis au niveau national. La seconde étape a consisté à évaluer si une relation significative pouvait être établie entre les teneurs en chaque métal accumulées chez les gammaridés encagés et la densité des populations de gammares présentes sur les sites et utilisées comme premier proxy d'une perturbation écologique. Nous avons notamment cherché à définir des valeurs seuils de contamination biodisponible pour chaque métal (teneur dans les gammares encagés), au-delà de laquelle un impact significatif sur la densité des populations est observé.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Sites d'étude et données de bio-indication

Cent deux sites ont été étudiés entre mai 2012 et juillet 2013 sur lesquels des gammares ont été encagés pour évaluer le niveau de contamination biodisponible (*Figure 1*). Beaucoup de ces sites font partie des sites sélectionnés par Botta & Dulio (2014) pour la campagne exceptionnelle d'identification des micropolluants présents dans les masses d'eaux nationales. Quinze sites supplémentaires, étudiés en septembre 2009, ont également été considérés. Les abondances des populations de gammares ont été déterminées à l'aide des données de bio-indication obtenues lors de la surveillance réglementaire imposée par la DCE pour les années allant de 2009 et 2013. Les suivis de bio-indications ont été réalisés la même année que le déploiement des gammares encagés pour 66 % des sites.

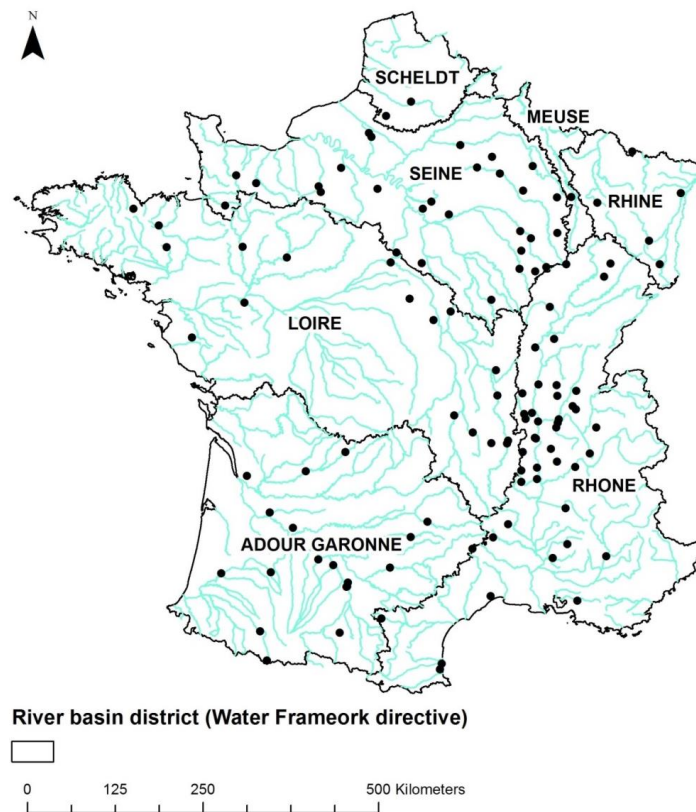


Figure 1 : Localisation des 102 sites sur lesquels le niveau de contamination a été évalué à l'aide de gammarens encagés entre les mois de mai 2012 et juillet 2013 et pour lesquels les abondances des populations de gammarens présentes sont disponibles.

## 2.2. Bio-monitoring actif avec *G. fossarum*.

La contamination métallique biodisponible a été caractérisée à l'aide du protocole décrit par Besse *et al.* (2013). Il consiste à transplanter des gammarens mâles, calibrés en taille et provenant d'une population contrôle. Les gammarens ont été prélevés en aval de la commune de Bourgoin-Jallieu, un site situé sur la Bourbre, Isère (38); les coordonnées GPS de ce site sont E : 5°15'29" et N : 45°36'15". La Bourbre est un affluent du Rhône en amont de Lyon. La station présente une forte densité de gammarens. Les gammarens présentent des niveaux de contamination inférieurs aux valeurs BBACs définies par Geffard *et al.* (2014) avec des valeurs comprises entre 0.08 et 0.28, entre 0.03 et 0.08, inférieur à la LQ et entre 0.1 et 0.4 pour le Cd, Hg, Ni et Pb respectivement.

La méthode de prélèvement et de stabulation des gammarens est la même que celle utilisée lors de la campagne régionale (Besse *et al.*, 2012a). Les gammarens ont été prélevés à l'aide d'un filet de type troubleau puis tamisés (mailles de 2,0 et de 2,5 mm) afin de séparer les individus adultes des juvéniles. Ils ont ensuite été rapidement transportés dans des glacières au laboratoire. Les organismes de la taille requise (entre 2,0 et 2,5 mm) ont été maintenus en stabulation au laboratoire pendant 14 jours dans des aquariums de 30 L, sous aération constante, dans une eau maintenue à une température de  $12,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$  et à une photopériode de 16 h de jour / 8 h de nuit. Les organismes ont été acclimatés à deux conductivités (300 et 600  $\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$  soit des duretés respectives de 112 et 223  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{CaCO}_3$ ). Le choix de la conductivité dépend de la conductivité des sites d'étude. En pratique, pour les sites dont la conductivité est inférieure ou égale à 400  $\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ , des gammarens acclimatés à 300  $\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$  ont été utilisés ; pour les sites dont la conductivité est supérieure à 400  $\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ , des gammarens acclimatés à 600  $\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$  ont été utilisés. Les gammarens ont été nourris à l'aide de feuilles d'aulne (*Alnus glutinosa*) récoltées sur un site peu anthropisé dans le Beaujolais. Deux fois par semaine, les organismes ont reçu comme supplément protéique des vers lyophilisés de *Tubifex sp.*



Le protocole d'exposition est le même que celui décrit dans le rapport méthodologique (Besse *et al.*, 2012a). L'exposition des gammares est réalisée dans des chambres de 180 mL en polypropylène (longueur 10 cm, diamètre 5,5 cm) dont le bouchon a été percé et le fond remplacé par un tamis (maille : 1 mm). Le système est fermé à l'aide d'un autre tamis (maille : 500 µm) fixé par le bouchon percé. Grâce aux tamis, les organismes sont en contact permanent avec l'eau ; ceci permet également de maintenir un taux d'oxygène optimal dans le système.

Les systèmes sont fixés à l'intérieur de cages ou de seaux en plastique rigide grâce à des colliers en polychlorure de vinyle. Les gammares ont été nourris *ad libitum* : en plaçant dans chaque système des morceaux de feuilles d'aulne (*A. glutinosa*, les mêmes que celles utilisées en laboratoire). Six chambres de 20 individus ont été exposées sur une période de 7 jours. A la fin du temps d'exposition, les gammares ont été récoltés et comptés pour la détermination du taux de survie puis *poolés*. Sur chaque site, un échantillon (pool) de 5 gammares pour les métaux et un échantillon (pool) de 5 gammares pour le mercure ont été préparés. Les échantillons ont été congelés dans l'azote liquide et/ou de la glace carbonique sur le terrain puis stockés et conservés dans des congélateurs à -80°C après retour au laboratoire. Les gammares n'ayant pas servis pour les mesures métalliques, ont été regroupés en un pool pour la mesure de substances organiques.

Toutes les analyses chimiques sur les métaux ont été menées au LAMA (Laboratoire de chimie des milieux aquatiques), Irstea de Lyon, comme cela avait été le cas pour l'étude régionale. Les échantillons d'une masse moyenne de 150 mg de poids frais (environ 30 mg de poids sec) ont été soumis à analyse après lyophilisation. Le Cd, Pb et Ni ont été analysés par plasma à couplage inductif couplé à la spectrométrie de masse (ICP-MS, Thermo série X7 II) après minéralisation des échantillons par micro-ondes avec de l'acide nitrique (Cf. fiche méthode MA3 Aquaref<sup>2</sup>). Le mercure total a été analysé par spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide. L'analyse automatique des concentrations en Hg est réalisée après incinération de l'échantillon sous flux d'O<sub>2</sub> directement dans l'appareil (MILESTONE, Direct Mercury Analyser 80) (Cf. fiche méthode MA2 Aquaref<sup>1</sup>). Pour le contrôle qualité, des essais à blanc (« blancs méthode ») ont systématiquement été effectués lors de l'analyse des échantillons afin de contrôler la contamination possible le long de la chaîne d'analyse. De plus, des matériaux de référence certifiés ont été inclus dans chaque série d'analyse (CRM, TORT-2, hépatopancréas de homard et IAEA-407, poisson pour les métaux ; (NIST) SRM-2976 et CRM278R moule, pour le Hg).

### 2.3. Abondance de gammares.

Pour évaluer les abondances des populations de gammares présents sur chacun des 94 sites, nous avons étudié les abondances des organismes appartenant à la famille des gammaridés à l'aide des bases de données de bioindication sur le suivi des macro-invertébrés. Les communautés de macro-invertébrés ont été échantillonnées à l'aide du protocole normalisé (XP T 90-333 AFNOR, 2009), recommandé pour l'utilisation de l'indice biotique macroinvertébrés (Mondy *et al.*, 2012). Brièvement, en conditions de faibles débits, 12 prélèvements sont réalisés sur des mésohabitats prédéfinis à l'aide d'un Surber normalisé (surface de 0.05 m<sup>2</sup>; ouverture de maille de 500 µm). Ces échantillons sont regroupés en trois groupes selon leur l'habitat associé. Le groupe A regroupe les 4 échantillons réalisés sur les «habitats marginaux» ayant une capacité d'accueil élevée. Les 8 autres prélèvements sont réalisés sur les habitats majeurs. Quatre de ces 8 prélèvements, les plus biogènes sont regroupés pour constituer le groupe B. Les 4 derniers échantillons constituent le groupe C. Au laboratoire, les invertébrés ont été classés, comptés et identifiés au niveau taxonomique (c'est-à-dire le niveau de genre pour Gammaridae, norme XP T 90-388 dans AFNOR, 2010, voir l'annexe B, Mondy *et al.*, 2012). Ainsi, les valeurs d'abondance de la famille des gammaridés ont été totalisées ici à partir de l'abondance des groupes B et C afin d'assurer un échantillon représentatif adéquat du site.

Evaluer une dégradation possible des populations de gammares locales est basée sur la définition de niveaux de référence, correspondant aux niveaux d'abondances observées sur divers bassins versants non impactés. Pour établir ces valeurs de référence, nous avons utilisé les données du réseau de référence et la classification des cours d'eau au regard de leur typologie physico-chimique,

---

<sup>1</sup> [www.aquaref.fr](http://www.aquaref.fr)

telles que leur dureté, l'altitude et les teneurs en nutriments, qui sont des paramètres influençant fortement la structure des communautés biotiques en conditions de référence (Wallin et al., 2003). Pour cela, nous avons utilisé des données de bioindication et de physico-chimie obtenues par le suivi des sites de référence et mené entre 2005 et 2007 sur 393 sites. Les observations physico-chimiques montrent clairement une dichotomie des rivières selon leur niveau de dureté (fort H ou faible S), mais également selon un gradient longitudinal (de l'amont 1 à l'aval 3), conduisant à une classification en six classes, les eaux à forte dureté (H1, H2 et H3) et à faible dureté (S1, S2 et S3). La structure des communautés de macroinvertébrés et par conséquent l'abondance individuelle de certains taxons dont les gammaridés sont naturellement dépendantes de cette typologie. Basé sur une banque de données de 1915 mesures d'abondance de gammaridés relevés entre 2005 et 2007 sur 365 sites du réseau de référence, les résultats montrent un lien fort et significatif ( $p < 10^{-15}$ , Kruskal-Wallis non-parametric test) avec les typologies de rivières présentées précédemment (Figure 2). Sur la base de l'ensemble des données obtenues sur ces sites de référence, le 95<sup>ème</sup> percentile des abondances de gammaridés a été calculé pour chacun des six types physico-chimiques. Ces six valeurs ont été proposées comme proxy d'une capacité d'accueil, d'une abondance optimale de gammarees pour les six typologies de rivières et a été par la suite utilisée pour normaliser et pouvoir comparer les abondances observées sur les 94 sites de cette étude. Les abondances observées sur les 94 sites de cette étude sont exprimées en % de la capacité optimale.

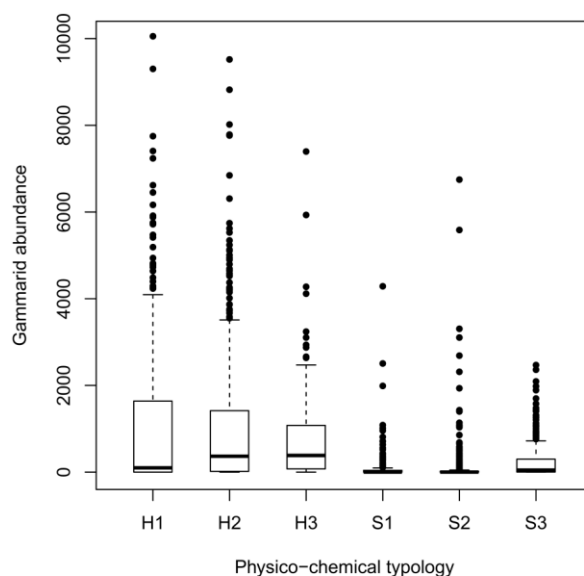


Figure 2 : Abondance de gammaridés natifs sur 365 sites de référence (1915 mesures, réseau de référence national français) en fonction de la typologie physico-chimique associée: H1 (eau dure, haute altitude), H2 (eau dure, altitude intermédiaire), H3 ( eau dure, basse altitude), S1 (eau douce, haute altitude), S2 (eau douce, altitude intermédiaire), S3 (eau douce, basse altitude).

## 2.4. Analyses statistiques.

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (équipe R core, 2015). Pour établir les relations entre les teneurs en contaminants dans les organismes encagés et l'abondance de gammarees sur les sites d'étude, nous avons effectué une analyse de probabilité conditionnelle pour chaque élément (Paul et McDonald, 2005), pour identifier les seuils au-dessus desquels l'abondance relative (abondance observée normalisée par l'abondance maximale en conditions non impactés) est anormalement faible. Cette approche est généralement utilisée pour déterminer les seuils d'effets biologiques en réponse à un stress, c'est-à-dire le point au-delà duquel ce facteur de stress représente un facteur limitant significatif. Ces seuils sont calculés à partir de la probabilité de dépasser (ou de retard) une valeur prédéterminée, lorsque le stress augmente. Dans cette étude, nous avons déterminé les concentrations biodisponibles d'effet écologique (BEAC : Biological Effects Assessment

Concentration), c'est-à-dire ou l'abondance relative est anormalement faible, exprimées en teneurs en métaux accumulées dans les *G. fossarum* encagés. Au-dessus de ces valeurs, la probabilité que les abondances relatives (corrigées) en gammars soient inférieures à 50% de la capacité optimale observée dans le réseau de référence, est augmentée. La robustesse des BEAC calculées par rapport à l'ensemble de données a été évaluée à l'aide d'une procédure de bootstrap (1000 itérations), représentées par un intervalle de 95% de la distribution simulée.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Sites d'étude et données de bio-indication

Sur les 117 sites sur lesquels des organismes ont été encagés, 97 ont été caractérisés par leur typologie physico-chimique (H1: n = 13, H2: n = 35, H3: n = 17, S1: n = 5, S2: n = 15, S3: N = 12). Par conséquent les 20 sites, pour lesquels la caractérisation n'est pas possible, n'ont pas été utilisés pour cette étude. De plus, pour trois autres sites supplémentaires, nous n'avons pas obtenu de données de bioindication. La *Figure 3* montre que les sites étudiés présentent une très grande diversité de contextes et que toutes les classes des variables descriptives retenues dans le cadre du développement de l'I2M2 sont représentées, c'est-à-dire avec une occurrence supérieure à 5%, excepté le groupe mixte pour la classe géologique qui ne représente que 4.1% des sites et la classe taille pour le groupe grand cours d'eau. En fait, l'exclusion des 20 sites pour lesquels nous n'avons pas de typologie physico-chimique a conduit à l'élimination des stations localisées sur les plus gros cours d'eau. Les proportions des sites dans les divers classes du groupe « occupation des sols » et du groupe « état écologique » sont similaires à celles observées sur le réseau de surveillance national (tests  $\chi^2$ ,  $p > 0,05$ ). Pour le groupe « taille des cours d'eau », la distribution observée pour cette étude est significativement différente ( $p < 0,0002$ ) de celle rencontrée pour le réseau de surveillance national, mais qui s'est révélée moins marquée lorsque l'on ne tient pas compte du groupe grand cours d'eau ( $p = 0,008$ ). Le type « grand cours d'eau » a été sous représenté dans cette étude (5% contre 15 % pour le réseau de surveillance national), alors que le type « petit » cours d'eau est surreprésenté (41% contre 29% dans le réseau de surveillance national). C'est pour le type géologie que l'on a observé la plus grande disparité entre la distribution des sites observée dans cette étude et celle dans le réseau de surveillance, avec des différences allant jusqu'à 33% pour le groupe « sédimentaire ». La proportion de sites dans les groupes « rocheux » ou « mixte » est plus faible dans notre étude que pour le réseau de surveillance (27% et 4%, contre 39% et 25% dans le réseau de surveillance, respectivement), alors que le groupe « sédimentaire » est plus représenté (69% contre 36% pour le réseau de surveillance). Enfin, concernant le groupe « pression urbaine », les classes faible et élevée sont surreprésentées dans cette étude (27% et 35%, contre 11% et 27% pour le réseau de surveillance).

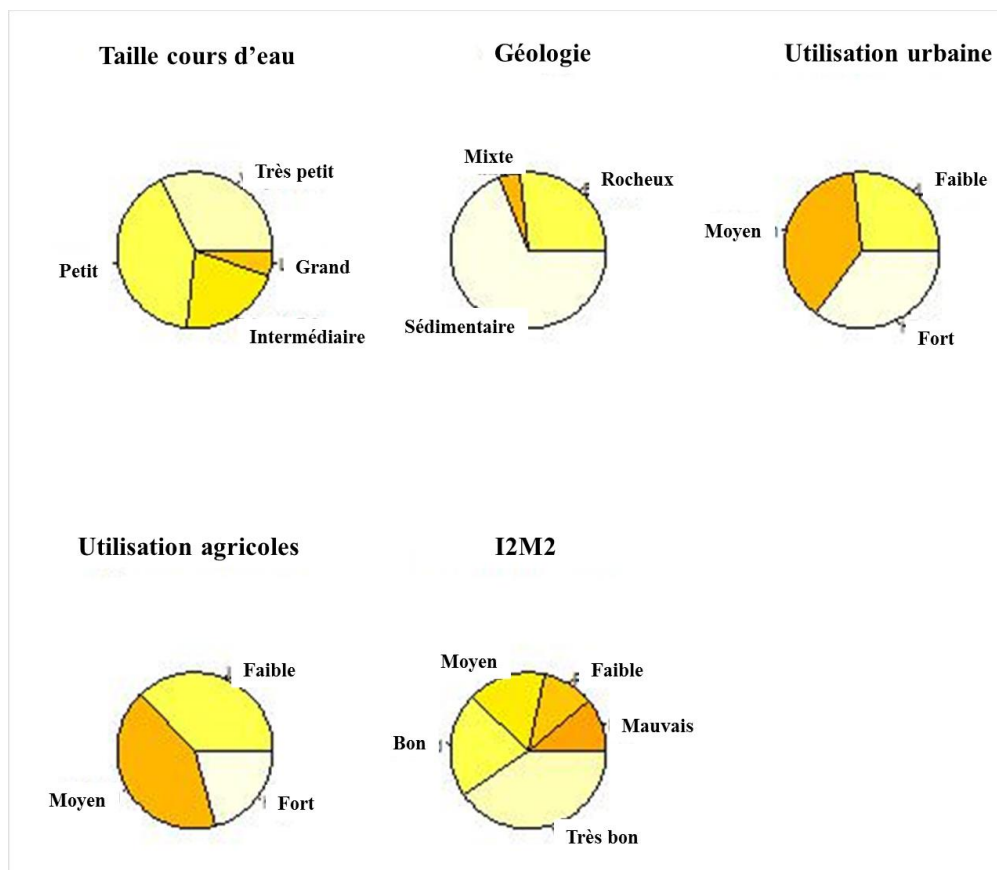


Figure 3 : Distribution des 97 sites étudiés dans les différentes classes des 5 variables descriptives retenues. I2M2: Indice Invertébrés MultiMétrique.

### 3.2. Niveaux de contamination dans les organismes encagés.

Une faible mortalité a été observée pour les sites étudiés dans cette étude, avec un taux de survie inférieur à 75% sur seulement 17 sites et pour 10 d'entre eux, des problèmes méthodologiques ont été rencontrés et ont pu jouer un rôle sur la mortalité observée.

Le *Tableau 1* présente les données sur les niveaux de concentrations en métaux dans les organismes encagés, pour les 94 sites utilisés dans cette étude et pour évaluer le lien avec l'abondance des gammaridés. Ce tableau présente la médiane, les valeurs minimales et maximales observées, ainsi que la fréquence de quantification pour chacun des métaux. Les valeurs observées pour chacun des sites sont présentées dans Geffard *et al.* (2014). Les résultats montrent une large gamme de concentrations pour le Cd, Ni et le Pb si l'on oppose les valeurs minimales et maximales. En revanche pour le Hg, les données sont distribuées sur une très faible gamme de concentrations. Ces résultats traduisent un très faible niveau de contamination des sites étudiés plutôt qu'une faible capacité de l'organisme à accumuler ce composé.

Si les paramètres physico-chimiques (en termes de concentrations d'oxygène, de température, de pH, etc.) sont correctes et assurent la viabilité de *G. fossarum*, l'utilisation du biomonitoring actif chez cette espèce permet de diagnostiquer et de quantifier la contamination biodisponible sur n'importe quel cours d'eau et de façon standardisée, même si l'espèce n'est pas présente. Cette approche permet une comparaison fiable des niveaux de contamination biodisponible, fraction de la contamination au potentiel toxique. Cette approche permet un meilleur diagnostic de la contamination des milieux en comparaison à l'utilisation de prélèvements d'eau ponctuels. Ces résultats montrent que l'utilisation du gammare encagé permet un taux de quantification élevé avec 100, 98, 97 et 80% des sites ayant des

valeurs supérieures à la LQ pour le Cd, Hg, Pb et Ni, respectivement. Les taux de quantification observés chez les gammarens engagés dans cette étude nationale sont en parfait accord avec ceux observés par Besse et al. (2013) qui étaient de 100%, 100%, 93% et 85% pour le Cd, Hg, Pb et Ni, respectivement. Ces taux de quantification, fournis par la biosurveillance avec *G. fossarum*, sont très satisfaisants car les contaminations biodisponibles Cd, Hg et Pb sont mesurés sur la quasi-totalité des sites étudiés. Malgré une limite de quantification plus élevée pour le Ni, la possibilité de mesurer la concentration biodisponible sur 80% des sites est également très pertinente. A titre de comparaison, sur les mêmes stations et en même temps, les pourcentages de quantification observés dans les colonnes d'eau sont de 37 % pour le Pb, 41% pour le Ni et 45% pour le Cd (Urien et al., 2016). Considérant que la DCE est basée sur la mesure des teneurs en métaux dissous dans la colonne d'eau, nos observations conduisent à s'interroger sur la capacité de la surveillance chimique actuelle à détecter plusieurs situations de contamination. De la même façon, l'identification des risques biologiques liés à une contamination métallique apparaît difficile lorsqu'elle est basée sur les teneurs en métaux dissous, notamment pour évaluer l'exposition des communautés biologiques. A titre d'exemple, Van Ael et al. (2015) ont récemment tenté d'établir une relation entre les teneurs en métaux dissous et les effets écologiques exprimés sous la forme de l'indice biotique basée sur le suivi des macro-invertébrés. Bien que leur étude se soit basée sur une très grosse base de données (1189 sites en Belgique), ils n'ont pas pu démontrer de relations claires et évidentes entre les concentrations en métaux dans l'eau et les impacts écologiques. L'hypothèse de tenir compte de la fraction biodisponible et/ou bioaccumulée des contaminants devrait clairement aider à la description et la compréhension des liens existants entre la contamination et son impact sur les communautés.

*Tableau 1* : Concentration en métaux ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec) et fréquence de quantification (% de données > à la LQ) observées chez les organismes mâles de *Gamma rus fossarum* après 7 jours d'exposition in situ sur les 94 sites d'étude. Les limites de Quantification (LQ) sont présentées. Les concentrations et les LQ sont exprimées en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec. Med, Min et Max sont respectivement les valeurs médiane, maximale et minimale pour chaque élément.

Métal	Concentration ( $\mu\text{g/g}$ poids sec)					Fréquence (%)
	Med.	Min.	Max.	Max./Min.	LQ	
Cd	0.19	0.07	1.27	18	0.04	100
Hg	0.062	0.021	0.112	5	0.010	98
Ni	0.81	0.27	13.8	52	0.19	80
Pb	0.43	0.11	7.43	65	0.07	97

### 3.3. Calibration des niveaux de contamination chez les gammarens engagés.

Sur la base des données obtenues sur les 365 sites du réseau de référence et sur 3 années de suivi, nous avons pu montrer qu'il existait un lien entre l'abondance dans les populations de gammarens natives en fonction de la typologie des cours d'eaux, en lien avec leur physico-chimie et altitude (*Figure 2*). Le 95<sup>ème</sup> percentile défini pour chaque typologie correspond à une abondance de 5441, 4649, 2345, 491, 505 et 1187 individus pour les classes H1, H2, H3, S1, S2 et S3 respectivement. Ces résultats montrent un contraste fort entre les eaux dures et douces, relevant l'importance d'intégrer ce facteur de confusion dans l'interprétation des abondances observées sur les 94 sites investigués. Ainsi les abondances relatives de gammarens observées pour chaque type de cours d'eau sont exprimées en pourcentage de la valeur d'accueil maximale (95<sup>ème</sup> percentile), afin d'obtenir un indice nous permettant 1 – de comparer les abondances observées sur les 94 sites et 2 – et de les mettre en regard aux données de contamination. La *Figure 4* montre les relations observées, pour chaque métal, entre les niveaux de contamination et les abondances observées sur les 94 sites investigués. Excepté pour le Hg, on peut observer un lien entre ces deux indicateurs, permettant de définir une valeur de contamination seuil (BEAC : bioavailable ecological assessment concentrations) au-dessus de laquelle les abondances observées sont anormalement faibles. Il a été possible de définir ces valeurs de BEAC, en leur associant un intervalle de confiance de 95% (*Tableau 2*). Malgré la taille restreinte de notre jeu de données, il a été possible d'établir des valeurs BEAC et des intervalles de confiance associés. Toutefois, pour le Hg, la faible gamme de concentrations observée chez les gammarens

encagés conduit à la définition d'une BEAC peu pertinente, avec un intervalle d'estimation couvrant presque toute la gamme de concentrations du jeu de données. Pour le Cd, l'incertitude autour de l'estimation de la BEAC est plus forte que celles observées le Ni et le Pb, toutefois pour ces trois métaux nous avons pu valider notre hypothèse, c'est-à-dire que lorsque le niveau de contamination dans les gammars encagés est inférieur à la BEAC, les abondances des populations de gammars natives vont de 0 à plus de 100% du 95<sup>ème</sup> percentile des abondances observées sur le réseau de référence, alors que celles-ci ne sont jamais importantes sur les stations ou les niveaux de contamination dépassent la valeur de BEAC.

Ces résultats confirment et sont en parfaite en cohérence avec les travaux de Luoma et al. (2009), ainsi que de Rainbow et al. (2012), qui ont montré sur des petits bassins hydrographiques que les effets écologiques observés à un niveau d'organisation biologique élevé (abondance, diversité etc.) peuvent être évalués, prédits à partir des niveaux de contaminations dans le biote. Les auteurs ont mesuré les niveaux de contamination biodisponibles chez les trichoptères et ont calibré ces niveaux de contamination au regard d'abondances d'éphémères. Une relation significative et directe a été observée pour le Cu, en revanche pour les autres éléments (As, Cd et Pb) les relations étaient beaucoup moins claires. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que la bio-accessibilité des contaminants peut varier entre organismes appartenant à des ordres différents. Dans cette étude, la fraction biodisponible a été mesurée chez *G. fossarum*, un gammare et une réponse écologique correspondant à l'abondance des espèces de la famille des *Gammaridés*. Comme les modalités de biodisponibilité étaient beaucoup plus proches dans ce dernier cas, l'obtention de meilleures relations significatives n'est pas surprenante. Toutefois, la calibration de la contamination biodisponible mesurée chez *G. fossarum* contre une réponse écologique chez les gammaridés est seulement un exemple de ce qui peut être fait avec cette approche. Dans ce contexte la possibilité de calibrer la contamination biodisponible chez *G. fossarum* en cage, contre la réponse observée chez d'autres taxons est possible.

La comparaison des BBAC (bioavailable background assessment concentrations), définis lors d'une étude précédente (Geffard et al., 2014) et correspondant aux niveaux de contamination dans les gammars encagés, au-dessus desquelles une contamination biodisponible est déterminée comme significativement supérieure au niveau bas national, avec les BEAC, offre la possibilité d'évaluer globalement à l'échelle nationale le risque environnemental pour chaque composé. Pour le Cd, la BBAC et BEAC sont très proches montrant que ce métal constitue un élément problématique dans cours d'eaux français. Pour le Ni et le Pb, les résultats montrent que ces éléments sont moins critiques. Une telle approche permettrait de prioriser les éléments dont les effets sont les plus à risque pour les milieux aquatiques, toutefois, dans cette étude, il faut garder en mémoire la variabilité autour de la détermination des BEAC, dont l'injection d'un plus grand jeu de données serait important, et que la prise en compte d'autres taxons dans la réponse écologique doit être envisagée.

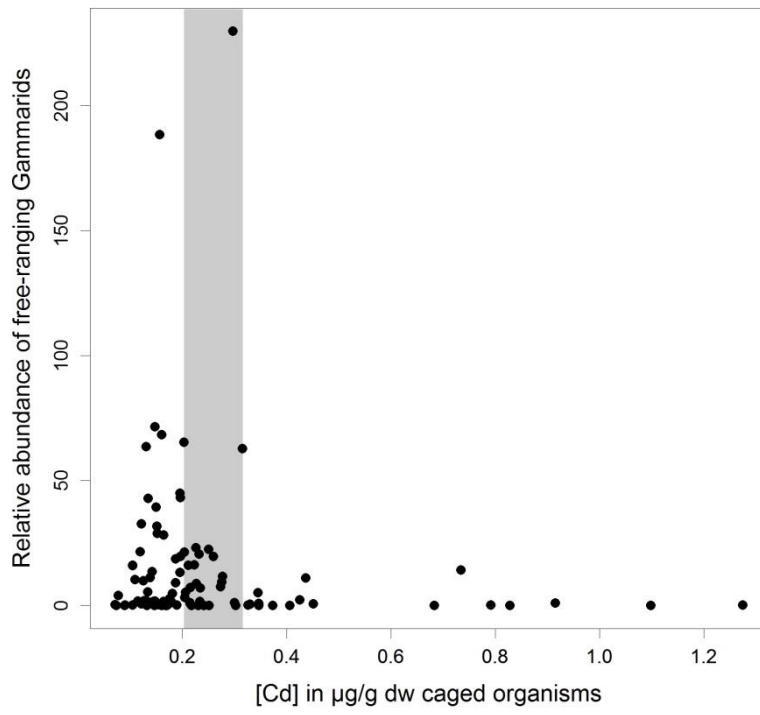


Fig 4A

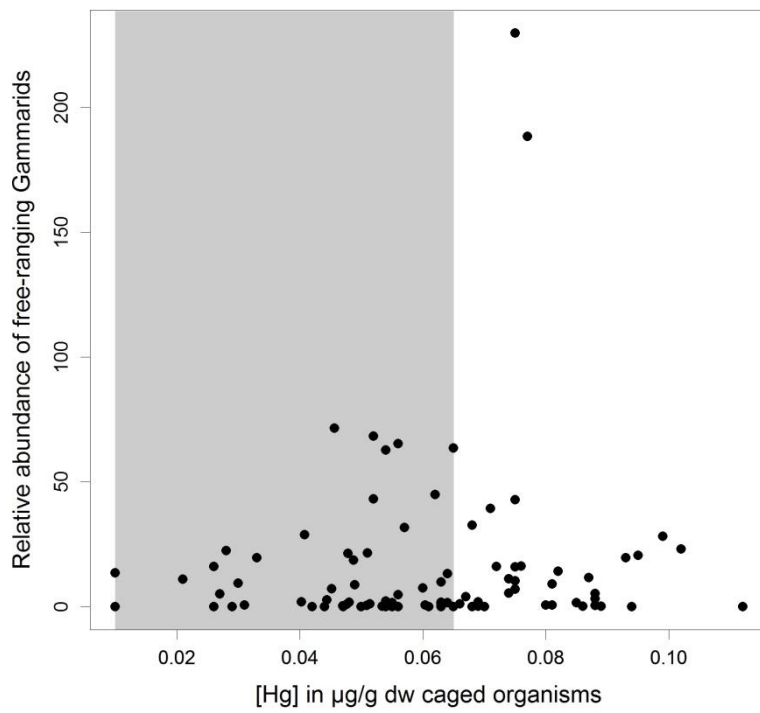


Fig 4B

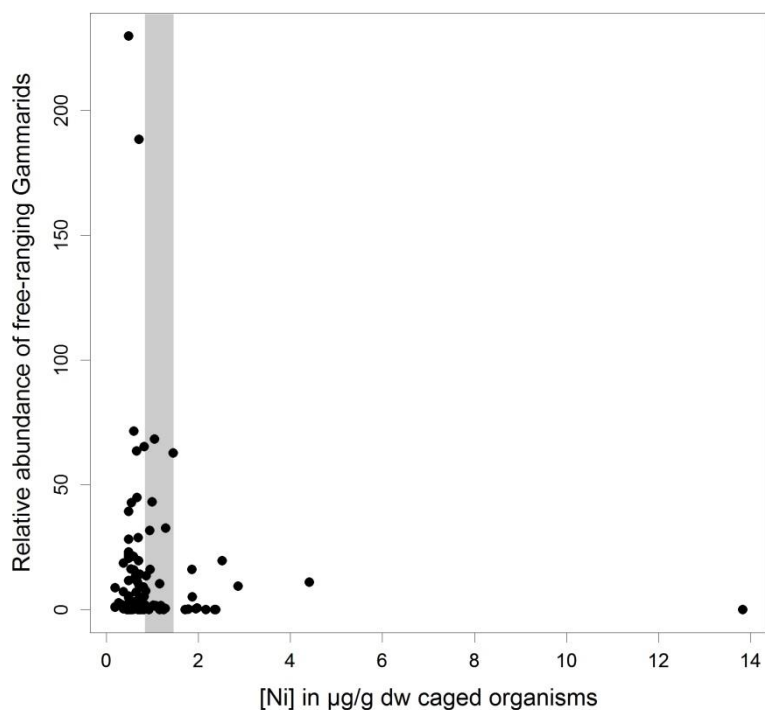


Fig 4C

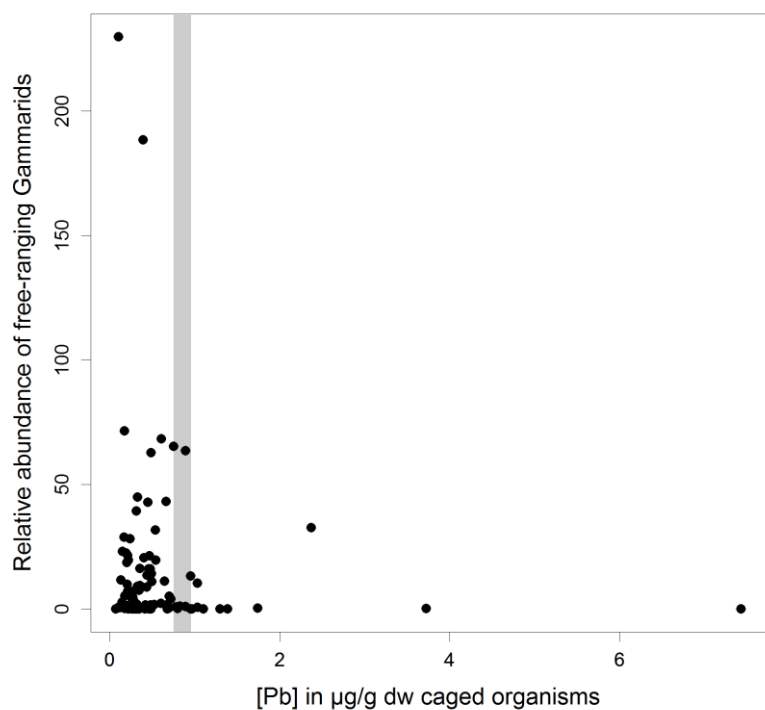


Fig 4D

Figure 4 : Abondance relative de gammaridés natifs (exprimées en pourcentage du 95ième percentile des abondances observées sur des sites de référence et de typologie physico-chimique similaire) en fonction de la contamination biodisponible en Cd (4A), Hg (4B), Ni (4C) et Pb (4D), correspondant à la teneur mesurée dans des *Gammarus fossarum* encagés sur les sites d'étude. Les concentrations sont exprimées en µg/g de poids sec. La zone grise correspond à la gamme des interquartiles de la distribution des BEAC par bootstrap.



*Tableau 2* : Concentrations biodisponibles d'effet écologique (BEACs) déterminées à l'échelle nationale et distributions par bootstrap associées (1000 itérations). Toutes les valeurs sont exprimées en µg/g de poids sec de *G. fossarum*.

	Cd	Hg	Ni	Pb
BBAC	0.30	0.09	1.1	0.6
BEAC	0.33	0.08	1.71	0.95
Interquartile range	[0.20 ; 0.33]	[0.010 ; 0.075]	[0.83 ; 1.45]	[0.75 ; 0.95]
95% interval	[0.15 ; 0.35]	[0.010 ; 0.081]	[0.59 ; 1.86]	[0.41 ; 0.97]

## 4. Glossaire

**Bioaccumulation** : accumulation nette d'un contaminant dans les tissus ou le corps entier d'un organisme, à partir de l'ensemble des voies d'exposition incluant l'eau, les phases solides (sédiment), ainsi que la nourriture, et qui est la résultante des processus de prise en charge et d'élimination du contaminant.

**Biosurveillance (*biomonitoring*)** : le terme de biosurveillance recouvre l'ensemble des méthodes utilisées pour détecter et mesurer la concentration des contaminants dans des organismes biologiques, afin de renseigner sur l'état de contamination dans les eaux continentales.

**Biosurveillance active (*caging*)** : méthode de biosurveillance reposant sur la transplantation (ou encagement) sur le site d'étude d'organismes provenant d'un site de référence ou d'un élevage.

**Valeur seuil de contamination biodisponible** (ou Bioavailable Background Assessment Concentration, **BBAC**) : concentration en contaminant en dessous de laquelle il n'est pas possible de conclure à une différence significative avec la concentration de fond définie pour ce même contaminant. Une concentration dans les gammes supérieure à cette valeur seuil signe la présence d'une contamination biodisponible significative pour le site étudié

**Valeur seuil de contamination biodisponible d'impact écologique** (ou Bioavailable Ecological Assessment Concentration, **BEAC**) : concentration en contaminant en dessous de laquelle les abondances en gammaridés sont similaires à celle observées sur les sites du réseau de référence. Une concentration dans les gammes encagés supérieure à cette valeur seuil indique des abondances en gammaridés anormalement faibles.

## 5. Sigles & Abréviations

*[Sigles ou abréviations de termes utilisés dans le document. Chaque sigle ou abréviation est décrit sur une ligne, avec son libellé et la déclinaison complète de sa signification. Les sigles et abréviations sont mélangés, mais sont tous classés par ordre alphabétique.]*

**BBAC** : Bioavailable Background Assessment Concentration

**BEAC** : Bioavailable Ecological Assessment Concentration

**DCE** : Directive cadre sur l'eau (Directive 2000/60/CE)

**ICP-MS** : Plasma à couplage inductif couplé à la spectrométrie de masse

**LQ** : Limite de quantification

**NQE** : Norme de Qualité Environnementale

## 6. Bibliographie

- AFNOR, 2009. Qualité de l'eau - Prélèvement des macro-invertébrés aquatiques en rivières peu profondes. XP T90e333
- Bervoets, L., De Jonge, M., Blust, R., 2016. Identification of threshold body burdens of metals for the protection of the aquatic ecological status using two benthic invertebrates. *Environ. Pollut.* 201, 76e84.
- Besse, J.-P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Geffard, O. (2012a). Développement d'une méthodologie pour l'amélioration du suivi chimique des eaux continentales – Approche de biosurveillance active sur *Gammarus fossarum*. Irstea, 65 p.
- Besse, J.P., 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 Res.* 47, 650e660.
- Botta, F., Dulio, V., 2014. Résultats de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des DOM. Rapport Final ; DRC-13-136939-12927A. INERIS. [http://www.onema.fr/IMG/pdf/19\\_DRC-13-Rap-etude-prospectiveESC.pdf](http://www.onema.fr/IMG/pdf/19_DRC-13-Rap-etude-prospectiveESC.pdf).
- David, C.P.C., 2003. Establishing the impact of acid mine drainage through metal bioaccumulation and taxa richness of benthic insects in a tropical Asian stream (The Philippines). *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 2952e2959.
- De Jonge, M., Tipping, E., Lofts, S., Bervoets, L., Blust, R., 2013. The use of invertebrate body burdens to predict ecological effects of metal mixtures in mining impacted waters. *Aquat. Toxicol.* 142, 294e302.
- European Commission, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Off. J. Eur. Communities* L327, 1e73.
- Geffard, O., Besse, J.P., A. Chaumot, A. François, R. Recoura-Massaquant, C. Lopes, J. Gahou, G. Grisot, M. Coquery (2014). Rapport de synthèse de l'étude pilote : déploiement de l'outil gammare engagé au niveau national, résultats pour les métaux ciblés. Rapport IRSTEA-ONEMA, 60p.
- Luoma, S.N., Cain, D.J., Rainbow, P.S., 2009. Calibrating biomonitors to ecological disturbance: a new technique for explaining metal effects in natural waters. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 6, 199e209.
- Mondy, C.P., Villeneuve, B., Archambault, V., Usseglio-Polatera, P., 2012. A new macroinvertebrate-based multimetric index (I2M2) to evaluate ecological quality of French wadeable streams fulfilling the WFD demands: a taxonomical and trait approach. *Ecol. Indic.* 18, 452e467.
- Norris, R.H., Thoms, M.C., 1999. What is river health? *Freshw. Biol.* 41, 197e209.
- Paul, J.F., McDonald, M.E., 2005. Development of empirical, geographically specific water quality criteria: a conditional probability analysis approach. *J. Am. Water Resour. Assoc.* 41, 1211e1223.
- Rainbow, P.S., 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environ. Pollut.* 120, 497e507.
- Rainbow, P.S., 2007. Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. *Environ. Int.* 33, 576e582.
- Rainbow, P.S., Hildrew, A.G., Smith, B.D., Geatches, T., Luoma, S.N., 2012. Caddisflies as biomonitors identifying thresholds of toxic metal bioavailability that affect the stream benthos. *Environ. Pollut.* 166, 196e207.
- Recour-Massaquant, R., Geffard, O., Besse, J.P., Chaumot, A., François, A., Lopes, C., Miegue, C., Roussel-Galle, A., Serveto, F., Coquery, M. 2014. Développement d'une méthodologie pour l'amélioration du suivi chimique des eaux continentales. Rapport de synthèse de l'étude pilote : déploiement de l'outil gammare engagé au niveau national, résultats pour les substances organiques ciblées. 66 p.
- Solà, C., Prat, N., 2006. Monitoring metal and metalloid bioaccumulation in Hydropsyche (Trichoptera, Hydropsychidae) to evaluate metal pollution in a mining river. Whole body versus tissue content. *Sci. Total Environ.* 359, 221e231.
- Solà, C., Burgos, M., Plazuelo, A., Toja, J., Plans, M., Prat, N., 2004. Heavy metal bioaccumulation and macroinvertebrate community changes in a Mediterranean stream affected by acid mine drainage and an accidental spill (Guadiamar River, SW Spain). *Sci. Total Environ.* 333, 109e126.
- Urien, N., Lebrun, J.D., Fechner, L.C., Uher, E., François, A., Qu\_eau, H., Coquery, M., Chaumot, A., Geffard, O., 2016. Environmental relevance of laboratory-derived kinetic models to predict trace metal bioaccumulation in gammarids: field experimentation at a large spatial scale (France). *Water Res.* 95, 330e339.
- Van Ael, E., De Cooman, W., Blust, R., Bervoets, L., 2015. Use of a macroinvertebrate based biotic index to estimate critical metal concentrations for good ecological water quality. *Chemosphere* 119, 138e144.
- Van Hattum, B., Timmermans, K.R., Govers, H.A., 1991. Abiotic and biotic factors influencing in situ trace metal levels in macroinvertebrates in freshwater ecosystems. *Environ. Toxicol. Chem.* 10, 275e292.
- Wallin, M., Wiederholm, T., Johnson, R.K., 2003. Guidance on Establishing Reference Conditions and Ecological Status Class Boundaries for Inland Surface Waters. CIS Working Group 2.3 e REFCOND 7th Version.



## 7. Table des illustrations

Figure 1 : Localisation des 102 sites sur lesquels le niveau de contamination a été évalué à l'aide de gammars encagés entre les mois de mai 2012 et juillet 2013 et pour lesquels les abondances des populations de gammars présentes sont disponibles. ....	15
Figure 2 : Abondance de gammaridés natifs sur 365 sites de référence (1915 mesures, réseau de référence national français) en fonction de la typologie physico-chimique associée: H1 (eau dure, haute altitude), H2 (eau dure, altitude intermédiaire), H3 ( eau dure, basse altitude), S1 (eau douce, haute altitude), S2 (eau douce, altitude intermédiaire), S3 (eau douce, basse altitude). ....	17
Figure 3 : Distribution des 97 sites étudiés dans les différentes classes des 5 variables descriptives retenues. I2M2: Indice Invertébrés MultiMétrique. ....	19
Figure 4 : Abondance relative de gammaridés natifs (exprimées en pourcentage du 95ième percentile des abondances observées sur des sites de référence et de typologie physico-chimique similaire) en fonction de la contamination biodisponible en Cd (4A), Hg (4B), Ni (4C) et Pb (4D), correspondant à la teneur mesurée dans des Gammarus fossarum encagés sur les sites d'étude. Les concentrations sont exprimées en µg/g de poids sec. La zone grise correspond à la gamme des interquartiles de la distribution des BEAC par bootstrap. ....	23
Tableau 1 : Concentration en métaux (µg/g de poids sec) et fréquence de quantification (% de données > à la LQ) observées chez les organismes mâles de Gamma rus fossarum après 7 jours d'exposition in situ sur les 94 sites d'étude. Les limites de Quantification (LQ) sont présentées. Les concentrations et les LQ sont exprimées en µg/g de poids sec. Med, Min et Max sont respectivement les valeurs médiane, maximale et minimale pour chaque élément.....	20
Tableau 2 : Concentrations biodisponibles d'effet écologique (BEACs) déterminées à l'échelle nationale et distributions par bootstrap associées (1000 itérations). Toutes les valeurs sont exprimées en µg/g de poids sec de G. fossarum.....	24

**Irstea**

1, rue Pierre-Gilles de Gennes  
CS 10030  
92761 Antony Cedex

**01 40 96 61 21**

[www.irstea.fr](http://www.irstea.fr)

**Onema**

Hall C – Le Nadar  
5, square Félix Nadar  
94300 Vincennes

**01 45 14 36 00**

[www.onema.fr](http://www.onema.fr)