HAL
open science

# Réponses des communautés périphytiques aux contaminations toxiques

Soizic Morin

## To cite this version:

Soizic Morin. Réponses des communautés périphytiques aux contaminations toxiques. Sciences de l'environnement. HDR Géochimie et écotoxicologie, 2015. tel-02601296

**HAL Id: tel-02601296**

**https://hal.inrae.fr/tel-02601296v1**

Submitted on 16 May 2020

**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.

# HABILITATION A DIRIGER LES RECHERCHES

École Doctorale Sciences et Environnements (EDSE)

de l'Université Bordeaux (ED N°304)

## Réponses des communautés périphytiques aux contaminations toxiques

**Soizic Morin**

- 28 janvier 2015 -

Devant la commission d'examen composée de :

| | | |
|---|---|---|
| Renata BEHRA, chercheure | EAWAG, Dübendorf | Rapporteure |
| Arturo ELOSEGI, professeur | Universidad del País Vasco, Bilbao | Rapporteur |
| Frédéric GARABETIAN, professeur | Université de Bordeaux | Examinateur |
| Christian MOUGIN, directeur de recherche | INRA, Versailles | Rapporteur |
| Juliette TISON-ROSEBERY, chercheure | Irstea, Bordeaux | Examinatrice |

**Irstea – Groupement de Bordeaux**

**UR Ecosystèmes Aquatiques, Changements Globaux (EABX)**

Equipe Contaminants Anthropiques et Réponses des Milieux Aquatiques

50 avenue de Verdun

33612 Cestas cedex

Merci !

# Sommaire


I. Introduction – Eléments de contexte ..... 1

I.1. Ecotoxicologie des communautés : intérêt du modèle biologique "biofilm" et de sa composante diatomique ... 1

I.1.1. Ecotoxicologie : définition, objectifs et enjeux actuels ..... 1

I.1.2. Le modèle "biofilm" en écotoxicologie : toute la complexité d'une communauté structurée, avec des réponses à pas de temps court ..... 2

I.1.3. Intérêt de la composante diatomique pour l'évaluation du risque écotoxique en rivière. ..... 3

I.2. Positionnement scientifique et contexte de la candidature à l'HDR ..... 3

I.2.1. Quels apports de l'écotoxicologie des communautés pour la compréhension du risque écotoxique ? ..... 4

I.2.2. Réseau de recherche actuel sur le biofilm ..... 4

I.2.3. Thématique de recherche et résumé des activités antérieures. ..... 5

II. Caractérisation du stress toxique à différentes échelles d'organisation du biofilm ; développement d'une batterie d'indicateurs. ..... 10

II.1. Vers la circonscription des domaines d'applicabilité des indicateurs périphytiques existants, et le développement de nouveaux descripteurs d'impact. ..... 10

II.1.1. Fondements scientifiques et élaboration d'une "boite à outils" écotoxicologique ..... 10

II.1.2. Construction d'une "boite à outils" adaptée aux communautés périphytiques : définition des "attributs" des indicateurs et développement de descripteurs innovants ..... 12

II.1.3. Impacts (sub)individuels et répercussions au niveau populationnel. ..... 13

II.2. Complémentarité des indicateurs fonctionnels et structurels, intérêt des approches "communauté" ..... 15

II.2.1. Utilisation de descripteurs "génériques" : traits écologiques et biologiques ..... 15

II.2.2. L'information structurelle comme élément de compréhension des réponses fonctionnelles ..... 16

II.2.3. La combinaison de métriques pour un diagnostic de contamination avérée, par différentes catégories de polluants . 18

III. Modulation des impacts en conditions de stress multiple : vers une compréhension des facteurs modifiant la biodisponibilité et/ou la toxicité des contaminants. ..... 19

III.1. De l'observation de terrain à la formulation d'hypothèses ..... 19

III.1.1. Génération de larges bases de données et exploration des patrons de réponse communs ..... 19

III.1.2. Caractérisation du danger des mixtures de contaminants : un couplage nécessaire entre chimie et écotoxicologie pour la mesure du "potentiel toxique" des milieux ..... 21

III.2. Développement d'approches expérimentales réalistes permettant la mise en relation explicite entre exposition et réponse biologique. ..... 22

III.2.1. Risque associé aux mélanges de substances en faibles concentrations et identification des composés dangereux . 22

III.2.2. Comprendre la biodisponibilité des contaminants, dans un contexte de changement global ..... 24

III.3. Augmentation du réalisme environnemental et de la maitrise des conditions: intérêt des expérimentations en milieu naturel. ..... 26

IV. Rôle de l'histoire de vie des communautés étudiées, et des interactions biotiques en conditions de milieu complexes. ..... 27

IV.1. "Histoire de vie" des communautés biologiques. ..... 27

IV.2. Interactions biotiques et réponses indirectes à la pression toxique. ..... 28

IV.2.1. Architecture tridimensionnelle des communautés diatomiques et relations entre espèces ..... 28

IV.2.2. Interdépendance des compartiments biologiques constituant le biofilm ..... 29

IV.3. Insertion dans le réseau trophique : impacts additionnels des prédateurs. ..... 30

IV.3.1. Impact de la macrofaune herbivore sur les biofilms, conséquences en termes d'impact toxique à l'échelle trophique supérieure. ..... 31

IV.3.2. Broutage au sein du biofilm : vers la prise en compte de la micro-méiofaune ..... 32

V. Perspectives de recherche. ..... 33

VI. Références bibliographiques. ..... 37

VII. Curriculum vitae détaillé. ..... 42

VII.1. Formation initiale diplômante ..... 42

VII.2. Formation par la recherche et expérience professionnelle ..... 42

VII.3. Domaines de compétence ..... 42

VII.4. Activité scientifique et participation à des programmes de recherche ..... 43

VII.5. Activités d'étude et d'expertise, nationales et internationales, en direction du monde socio-économique et des pouvoirs publics ..... 44

VII.6. Encadrement et animation ..... 45

VII.7. Participation à la formation initiale ..... 46

VII.8. Participation à des instances ..... 46

VII.9. Collaborations et partenariats ..... 47

VII.10. Liste des publications ..... 48

# I. Introduction – Eléments de contexte

## I.1. Ecotoxicologie des communautés : intérêt du modèle biologique "biofilm" et de sa composante diatomique

### I.1.1. Ecotoxicologie : définition, objectifs et enjeux actuels

Depuis la première définition de l'écotoxicologie proposée dans les années 70 (Truhaut 1977) comme "branche de la toxicologie consacrée à l'étude des effets toxiques des substances naturelles ou synthétiques sur les constituants des écosystèmes (de l'homme aux microorganismes)", la prise en considération du risque croissant des substances chimiques pour l'homme et l'environnement est devenue une préoccupation sociétale majeure. La communauté scientifique, scindée en deux (les (éco)toxicologues, aux approches mécanistiques d'une part, et les éco(toxico)logues considérant la substance chimique comme une contrainte additionnelle exercée sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes), se ré-unit progressivement autour d'approches d'évaluation du risque environnemental. Les premiers étendent leur champ d'action privilégié (le laboratoire) à des conditions maitrisées de terrain (expérimentations *in situ* par exemple), alors que les seconds se tournent vers des approches de laboratoire pour expliquer ou confirmer certains phénomènes observés dans la nature.

Ces approches convergent, alors, vers un objectif de discrimination de la variabilité environnementale et des effets des pressions chimiques sur le biote, avec l'enjeu fort de spécifier les effets individuels et conjoints de nombreux stresseurs généralement co-occurrents. La difficulté inhérente à cette démarche est l'interdisciplinarité obligatoire (chimie environnementale, toxicologie, écotoxicologie, écologie…) et le challenge de la transposition d'observations réalisées au laboratoire (microcosme, mésocosme) à la réalité constatée *in situ*. Le changement d'échelle entre ces approches complémentaires est aisément envisageable pour la plupart des communautés aquatiques, avec un haut degré de pertinence écologique (Guasch et al. 2012).

Aujourd'hui, et avec la mise en place progressive d'une réglementation abondante en faveur de la protection de l'environnement, en particulier aquatique (citons notamment la Directive Cadre Européenne sur l'Eau -DCE, 2000/60/EC), les attentes sociétales en termes de diagnostic et de gestion des masses d'eau pour la mise en œuvre éventuelle de mesures de protection et de restauration des milieux aquatiques se font plus prégnantes. La question est recentrée sur le biote, et les enjeux liés à la prise en compte de l'écosystème dans son ensemble imposent particulièrement de considérer un nombre croissant d'interactions, telles qu'elles adviennent effectivement dans le milieu naturel, et la diversité des organismes, de leurs réponses, et de leurs interactions. Segner et al. (2014) remettent par exemple en cause les concepts réductionnistes de l'évaluation du risque écotoxique centré substance. Ils proposent un cadre séduisant où l'évaluation du risque en conditions de stress multiples repose sur les propriétés du milieu récepteur (cibles biologiques), au contraire de la prédiction des impacts individuels de substances données, découlant des propriétés intrinsèques des contaminants.

Récemment, le réseau PEER[1] a par ailleurs identifié une liste d'enjeux prioritaires pour la recherche en écotoxicologie [A21][2]. Ils concernent :

- l'amélioration de la caractérisation de l'exposition : compréhension des facteurs abiotiques et biologiques modulant la biodisponibilité et la biotransformation des toxiques, amélioration de l'évaluation du risque à différentes échelles spatiales (notamment dans le cas de pollutions diffuses) ;
- le développement d'une évaluation du risque plus réaliste environnementalement : mise en œuvre de tests écotoxicologiques (organismes modèles, descripteurs d'impact) et d'approches de modélisation adaptés aux problématiques de faible(s) dose(s), de fluctuation temporelle de l'exposition, et de situations de multistress, et aux cibles biologiques (adaptation, vulnérabilité, résilience…) ;
- la construction d'un cadre d'évaluation du risque commun aux sciences environnementales et humaines, et transférable aux gestionnaires et à la société.

[1] Le réseau PEER (Partnership for European Environmental Research) est composé de 7 centres de recherche environnementale en Europe (dont Irstea). Il vise à concevoir une stratégie scientifique commune en poursuivant l'objectif d'une durabilité écologique.

[2] Les références entre crochets renvoient à la liste des publications et travaux disponible dans la section "Liste des publications" (VI.10).

### I.1.2. Le modèle "biofilm" en écotoxicologie : toute la complexité d'une communauté structurée, avec des réponses à pas de temps court

En 2012, une revue bibliographique (non exhaustive) réalisée par Guasch et al. reportait plus d'une soixantaine de publications majeures entre 1996 et 2011 en écotoxicologie des communautés périphytiques. Equitablement distribuées entre approches de terrain et de laboratoire, ces études sont majoritairement, et depuis plus longtemps, consacrées à l'évaluation des impacts de pollutions métalliques ou phytosanitaires, alors que récemment se sont multipliés les travaux (expérimentaux principalement) focalisés sur les contaminants émergents.

***Figure 1.*** *Coupe schématique d'un biofilm. L'architecture tridimensionnelle s'acquiert au fil de la colonisation du support, avec les successions d'espèces aux formes diverses. Cette structuration peut varier selon les conditions environnementales (dont toxiques).*

Le modèle biologique "biofilm" offre de nombreux atouts en faveur de son utilisation en écotoxicologie, comparé par exemple aux communautés de macroinvertébrés pour lesquelles les publications, sur la même période, sont moitié moins abondantes (Guasch et al. 2012).
En effet, l'organisation en biofilm de microorganismes diversifiés, occupant des positions-clé à la base du fonctionnement des écosystèmes aquatiques (en particulier, les processus de photosynthèse et de recyclage de la matière), lui confère un intérêt particulier pour les études environnementales. La structuration en "forêt miniature" (Fig. 1) est le lieu idéal pour de nombreuses interactions entre espèces de différents règnes. Les temps de génération des organismes composant le biofilm sont extrêmement courts, et les préférences écologiques variées des différents compartiments biologiques (et des espèces) assurent à ce "super-organisme" un ubiquisme et une capacité de réponse rapide et sensible à de nombreuses altérations chimiques, physiques et biologiques. Les propriétés individuelles des organismes périphytiques (croissance rapide et sensibilités écologiques diversifiées) permettent d'observer, sur une échelle de temps relativement courte, des phénomènes complexes qui sont également susceptibles de se produire à des niveaux d'organisation biologique plus évolués (plantes supérieures par exemple), sur le long terme.

Au-delà de ces caractéristiques de réactivité, les biofilms offrent des possibilités d'étude à différentes échelles de complexité. L'extrapolation des résultats de la cellule à l'organisme, et à la population, est souvent limitée en écotoxicologie traditionnelle, et ne permet pas de prédire des effets au niveau communautaire ou écosystémique. Dans le cas du biofilm composé principalement de populations d'unicellulaires, la transposition à la communauté est souvent abordable. En effet, une large gamme de réponses peut facilement être étudiée, à différentes échelles d'organisation, depuis des cultures cellulaires monoclonales jusqu'à des communautés extrêmement complexes (au laboratoire ou sur le terrain). On dispose, alors, d'informations concernant la variabilité interne de réponses aux échelles emboitées constituant *in fine* les niveaux d'agrégation.
Par ailleurs, ces communautés microscopiques permettent aisément de concevoir un large éventail d'approches expérimentales plus ou moins contrôlées. De nombreux développements récents ont permis d'envisager le passage des expérimentations aux conditions environnementales parfaitement maitrisées utilisant des cultures mono- ou plurispécifiques à des expositions *in situ* d'organismes "encagés". Il est alors possible d'étudier uniquement l'impact des conditions abiotiques du milieu (encagement de populations ou de communautés complexes, Fig. 2), ou de prendre également en compte l'impact des interactions (migrations d'espèces, broutage, etc.) via l'utilisation de substrats artificiels (Fig. 2), ou la collecte sur substrats naturels. La complémentarité de ces différentes échelles d'analyse permet de prendre en compte la part d'incertitude croissante liée à l'augmentation de complexité des interactions possibles et à la variabilité des conditions.

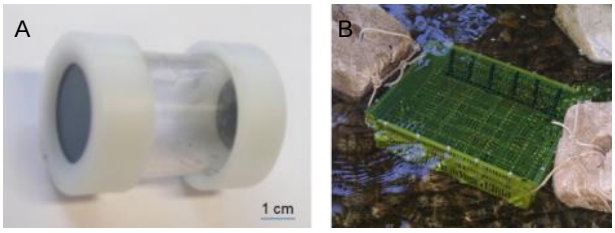



***Figure 2.*** *Dispositifs permettant l'exposition* in situ *de cultures de laboratoire ou naturels.*
*A) système d'encagement sans renouvellement d'organismes, proposé par V. Roubeix (tube plastique obturé par des membranes dont la porosité permet le transfert de substances dissoutes uniquement).*
*B) cagette équipée de lames de verre servant de substrat au biofilm, autorisant l'immigration ou l'émigration d'organismes et leurs interactions locales.*

### I.1.3. Intérêt de la composante diatomique pour l'évaluation du risque écotoxique en rivière.

Bien que rarement définie comme telle dans la littérature (Ghiglione et al. 2014), l'écotoxicologie des communautés périphytiques présente un réel potentiel pour satisfaire la demande sociétale et les exigences réglementaires en termes de diagnostic de la qualité écologique des eaux. A l'heure actuelle, les diatomées notamment sont l'un des cinq compartiments biologiques clés intégrés dans les programmes de surveillance (notamment dans le cadre de l'application de la DCE), motivant *de facto* le choix de ce modèle pour l'évaluation globale de la qualité des masses d'eau. L'enjeu réside dans l'amélioration de la compréhension de leurs réponses à la contamination toxique et de l'évaluation des incertitudes associées à leur mesure, afin de produire des indicateurs diatomiques capables d'évaluer un écart à la référence de l'état écologique des masses d'eau, couvrant une large variété de pressions chimiques.

Les diatomées représentent incontestablement d'excellents bioindicateurs de la qualité physicochimique "classique" des eaux, largement utilisées en routine pour la biosurveillance des milieux aquatiques. Le développement des indices diatomiques remonte aux années 1950 (Prygiel et al. 1999) et leurs performances pour l'évaluation de la qualité générale des cours d'eau se sont considérablement améliorées avec l'utilisation de bases de données plus larges, issues des réseaux de suivi sur le territoire national (cf. versions consécutives de l'IBD – Indice Biologique Diatomées, Coste et al. 2009). Cependant, les indices diatomiques classiques ne permettent pas de diagnostiquer correctement la présence de contaminants toxiques. Les exigences actuelles en matière d'évaluation de la qualité des écosystèmes aquatiques imposent, en conséquence, une meilleure définition des relations entre contamination toxique et structure des communautés diatomiques.

L'amélioration de ces méthodes nécessite donc le développement d'études visant à caractériser plus finement la biologie des diatomées ainsi que leur comportement en conditions de stress toxique. Les travaux présentés dans ce mémoire visent à mieux prendre en compte les effets des pollutions toxiques (métaux, pesticides, substances émergentes…) sur le compartiment diatomées, et le biofilm dans son entier, afin d'améliorer la pertinence et la précision de cet indicateur biologique. Il s'agit, à terme, de pouvoir proposer des descripteurs utilisables en bioindication, compatibles avec le mode Européen actuel d'évaluation de la qualité écologique des masses d'eau (adaptation des indices biologiques existants, proposition d'approches multimétriques).

## I.2. Positionnement scientifique et contexte de la candidature à l'HDR

L'écotoxicologie des communautés microbiennes est un champ de recherche peu étudié à l'heure actuelle (Ghiglione et al. 2014). En conséquence, l'avancement de ces travaux est moindre que celui de l'écotoxicologie s'appliquant à des espèces modèles, mais la sélection de l'échelle de la communauté répond au besoin de plus en plus exprimé de réalisme environnemental. Notamment, parce que les sorties de ces études permettent l'explication et/ou la prédiction des impacts réels pour l'écosystème, bien mieux que l'extrapolation de résultats déconnectés de la complexité des conditions de milieu (diversité des organismes, et de leurs relations).

De nombreux verrous scientifiques et techniques restent à lever pour envisager de proposer une évaluation solide du risque pour les écosystèmes, cités en I.1.1. Ceux relatifs aux biofilms d'eau douce comprennent :
- un certain manque de descripteurs adaptés, ou suffisamment sensibles/spécifiques, lié directement au moindre effort historique de recherche sur le sujet, et dans une moindre mesure à la complexité liée aux approches basées sur des communautés très diversifiées ;
- la difficulté de discrimination entre part d'adaptation et de sélection spécifique dans la réponse de la communauté globale à l'exposition toxique ;
- la circonscription des effets de facteurs confondant la réponse aux toxiques liés à l'exposition (paramètres environnementaux, biodisponibilité des contaminants).

Cependant, la mise en œuvre de démarches écotoxicologiques à l'échelle du microécosystème "biofilm" revêt un haut degré de pertinence environnementale (I.1.2). La reconnaissance académique d'Irstea comme institut pionnier dans le domaine est favorable, et a contribué à permettre de nombreux développements novateurs sur le sujet, dont les travaux de recherche développés ci-après.

### I.2.1. Quels apports de l'écotoxicologie des communautés pour la compréhension du risque écotoxique ?

Pont et Garric (2010) affirment que le danger toxique ne peut s'évaluer qu'à des échelles d'organisation biologiques subindividuelles ou individuelles voire, à la limite, populationnelles (Fig. 3). Contrairement à leur assertion, je suis convaincue que l'échelle de la communauté (concernant les microorganismes) est appropriée, et environnementalement bien plus pertinente que la seule population pour l'évaluation du risque écotoxique.

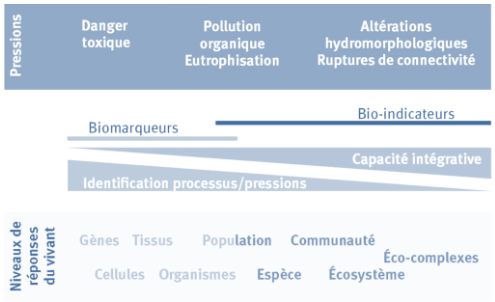



***Figure 3.*** *Spécificités et domaines d'application des biomarqueurs et bioindicateurs en termes de types de pression diagnostiquée, d'échelle de réponse du biote selon Pont et Garric (2010).*

Le passage des outils sub-individuels (biomarqueurs) aux approches communautaires (souvent associées aux bioindicateurs *sensu* DCE) correspond à un emboitement d'échelles de réponse, qui parait souvent préjudiciable à la compréhension des processus en jeu, du fait de l'agrégation d'informations biologiques scalairement hétérogènes. Or, ces mêmes processus conditionnent en grande partie les impacts observés à l'échelle communautaire, et une complémentarité d'approches doit permettre d'intégrer ce continuum de réponses depuis le sub-individu jusqu'à la communauté (et non générer une opposition entre les échelles de travail). La nature des relations, leur intensité et leur sens, pourront certes varier selon l'échelle à laquelle on se place, mais le choix d'organismes unicellulaires autorise l'observation directe d'une "transmission" de l'effet toxique individuel à l'échelle populationnelle. On peut ainsi non seulement dégager les réponses spécifiques à chaque échelle, mais également mettre en évidence les transformations de ces réponses d'une échelle à l'autre, et la perte d'information en résultant dans la réponse finale, le cas échéant. Ce système d'échelles exempte en partie le modèle "biofilm" des critiques faites aux approches communautaires (voir I.1.2.). Cette singularité lui confère par ailleurs une réactivité de réponse à des échelles composites et une diversité de propriétés exploitables pour décrire et identifier les pressions majoritaires, extrêmement profitables pour l'écotoxicologie, tout en offrant le réalisme écologique de structuration en communauté complexe.

### I.2.2. Réseau de recherche actuel sur le biofilm

D'un corpus thématique de plus de 8000 publications (issues du Web of Science) relatives à l'écotoxicologie et la bioindication; couvrant la période 2008-2012, l'analyse scientométrique du thème de recherche BELCA[3] (juillet 2013) recense 694 publications relatives au biofilm.
La communauté scientifique s'intéressant à cette thématique, en général, est limitée à quelques instituts (Fig. 4), les plus prolifiques entretenant par ailleurs volontiers de nombreuses collaborations. La ségrégation géographique mise à part (Europe, Amérique du Nord, Asie), on peut souligner au niveau Européen une littérature abondante cosignée par les trois organismes "leaders" au niveau mondial : Irstea (anciennement Cemagref), INRA (France) et l'Université de Girona (Espagne).

La position dominante d'Irstea s'explique aisément par la sélection thématique du corpus, et par la contribution historique de l'institut aux recherches réalisées sur le biofilm, et sur sa composante diatomique en particulier. Les travaux d'Irstea couvrent une large étendue de recherches écologiques (taxonomie, biogéographie, bioindication) et écotoxicologiques. L'équipe CARMA (Contaminants Anthropiques et Réponses des Milieux Aquatiques) de l'Unité de Recherches Ecosystèmes Aquatiques et Changements Globaux (UR EABX) d'Irstea Bordeaux, plus spécifiquement, est spécialisée dans la caractérisation des communautés végétales aquatiques, et possède les compétences taxonomiques qui se raréfient par ailleurs, en dépit d'un renouveau fort de demande d'information structurelle.

[3] Le thème de recherche BELCA d'Irstea a pour objectif d'identifier, de comprendre et de prédire les perturbations biologiques et écologiques provoquées par la contamination chimique d'origine anthropique en milieu aquatique.

***Figure 4.*** *Réseau mondial des collaborations scientifiques des organismes les plus publiants sur la thématique "biofilm" (nombre d'articles supérieur à 7 pour la période 2008-2012). Les valeurs en exposant indiquent le nombre de publications de chaque établissement sur la thématique, les connecteurs figurent l'importance quantitative des copublications. D'après les résultats de l'analyse scientométrique du TR BELCA.*

Sans être strictement taxonomiste, mes expériences passées (voir I.2.3.) m'ont permis d'acquérir des connaissances en systématique pour l'identification des espèces de diatomées, qui a légitimé une insertion progressive dans un réseau de chercheurs en demande de ce type d'information, et notamment dans le réseau Européen des scientifiques spécialistes du biofilm.

### I.2.3. Thématique de recherche et résumé des activités antérieures.

L'activité "écotoxicologie" est un volet de recherche récent au sein de l'équipe CARMA, bien que quelques thèses sur la thématique aient par le passé été codirigées dans l'UR (Pérès 1996, Gold 2002, Duong 2006, Debenest 2007, Arini 2011, Kim Tiam 2013, et moi-même [M2]). La pérennisation de cet axe de recherche, avec mon recrutement en 2010, a permis d'assurer une continuité de mes travaux initiés en 2003. Complémentaire de l'activité "bioindication" de l'équipe, et générateur d'interactions fortes avec l'activité "chimie environnementale", ce domaine de recherche est structurant tant au niveau d'Irstea (thème de recherche BELCA), qu'au niveau académique local (parmi les thématiques prioritaires du LabEx COTE[4]) et international (acteurs de l'évaluation du risque environnemental).

L'ensemble de mes travaux s'inscrit dans un contexte interdisciplinaire et porte sur la compréhension des effets sur les communautés benthiques (notamment diatomées) de l'altération des milieux aquatiques continentaux, autour de problématiques liées à des enjeux environnementaux (tels que l'impact des pollutions toxiques). Ils s'inscrivent en complément des recherches menées par Juliette Rosebery (équipe CARMA) sur l'évaluation des effets des déterminants environnementaux (non toxiques) sur la structuration des communautés naturelles de diatomées. Les relations entre structure des communautés et pollution toxique sont moins univoques qu'avec les nutriments, d'une part parce qu'à moins d'une pollution extrême, les réponses sont moins manifestes, d'autre part par manque de descripteurs adaptés et/ou de données suffisamment nombreuses. La diversité de toxiques (et de modes d'action) potentiellement dans le milieu complexifie également le diagnostic. Dans ce contexte,

[4] Le LabEx COTE (Cluster d'excellence "COntinental To coastal Ecosystems: evolution, adaptability and governance") associe sciences biologiques, écologiques et socio-économiques pour comprendre et prédire la réponse des écosystèmes aux changements environnementaux.

il s'agit d'identifier les indicateurs pouvant s'avérer spécifiques de ces contaminations afin de mieux caractériser les impacts toxiques sur les milieux aquatiques. Par ailleurs, il est nécessaire de discriminer les réponses des facteurs environnementaux dits "confondants" (déterminants biotiques et abiotiques naturels et anthropiques, non toxiques), c'est-à-dire pouvant nuancer ces réponses et par conséquent brouiller l'information recueillie.

D'approches réductionnistes (expérimentations en laboratoire) à une prise en compte croissante de la complexité du fonctionnement des cours d'eau (études de terrain), mes recherches s'appuient sur l'analyse de caractéristiques qualitatives et quantitatives, structurelles et fonctionnelles, des biofilms de cours d'eau à des fins de compréhension des impacts toxiques et de bioindication de l'état des milieux. Mes expériences de recherche antérieures, déclinées ci-après, m'ont permis d'acquérir les connaissances nécessaires à la caractérisation des biofilms, et ce aux différents niveaux d'organisation, de la communauté à l'individu. La diversité des terrains d'étude (France, Australie, Espagne, Allemagne) et des conditions de milieux (cours d'eaux, lacs, estuaires) que j'ai étudiés au sein des différents laboratoires dans lesquels j'ai eu l'opportunité de travailler, m'ont permis d'approfondir ma connaissance des flores diatomiques et de me former à l'utilisation de divers outils existants aux différentes échelles étudiées. Ces activités m'ont amenée à aborder les effets d'altérations anthropiques variées sur les diatomées, et sont déclinées ici chronologiquement (voir également Fig. 5).

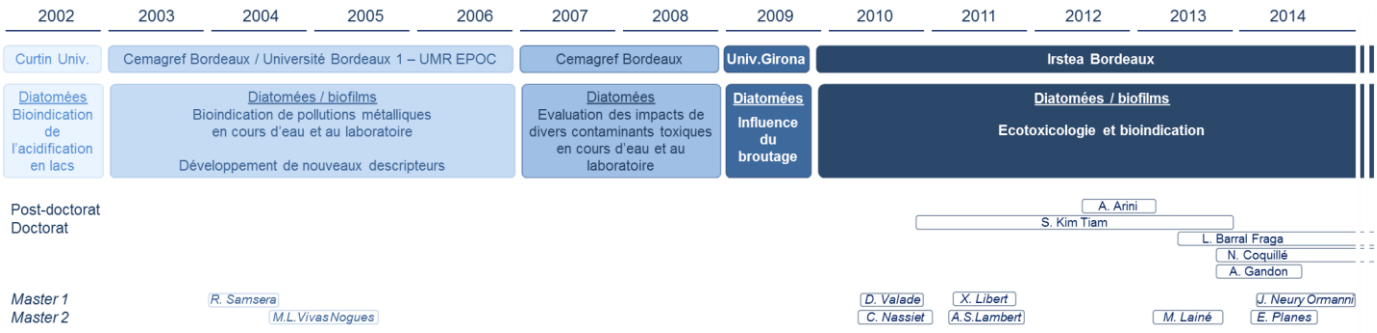



***Figure 5.*** *Parcours scientifique et principales responsabilités d'encadrement.*

***2002 Formation initiale à l'utilisation des diatomées comme bioindicateurs.***
Mes travaux de recherche ont débuté par l'évaluation de l'état écologique de plans d'eau soumis à des pH extrêmement faibles, suite à la réhabilitation pour des activités de loisirs de sites d'extraction minière (Capel Wetlands, Australie Occidentale, 2002). Ils m'ont permis de me former aux techniques de prélèvement du périphyton et de l'épipsammon, de préparation des diatomées pour l'observation microscopique, et d'identification des espèces de cette région auprès du Prof. Jacob John (Curtin University, Perth WA). La sensibilité des diatomées à ces conditions particulièrement acides se manifeste par une réduction de richesse et de diversité, accompagnée par des modifications marquées de la structure spécifique des communautés [R1].

***2003-2006 Thèse consacrée à évaluation des impacts métalliques sur les biofilms diatomiques.***
Dans la continuité de mon mémoire de fin d'études d'ingénieur [M1], mes travaux de doctorat [M2] s'inscrivaient dans le cadre d'un programme d'étude pluridisciplinaire des mécanismes de contamination des hydrosystèmes continentaux et des zones rivulaires par le cadmium et le zinc (projet ECODYN, programme ECCO ACI/FNS). Ils s'attachaient à décrire les communautés périphytiques du "site atelier Lot amont", au travers d'un suivi mensuel réalisé sur deux années. Les indicateurs utilisés en routine (tels que l'Indice Biologique Diatomées ou l'Indice de Polluo-Sensibilité), non conçus pour diagnostiquer les altérations toxiques du milieu, se sont révélés insuffisamment sensibles aux pollutions métalliques.
Cette étude a permis l'identification des caractéristiques de sensibilité/tolérance des taxons aux métaux [A5, C3], ainsi que l'utilisation novatrice de traits morphologiques spécifiques (déformations, réduction de la taille cellulaire suite à une exposition aux toxiques) [C1, T1]. Les niveaux de contamination métallique et de disponibilité nutritive contrastés rencontrés sur le site atelier nous ont permis d'illustrer une modulation de toxicité vis-à-vis des biofilms en conditions eutrophes, et d'interpréter plus finement les relations entre réponses des descripteurs périphytiques et

contamination toxique. Les nutriments favorisent un développement accru de la biomasse périphytique, alors que les métaux provoquent une réduction de la production de cette biomasse ; la combinaison de concentrations élevées en nitrates et de cadmium se traduit par une réduction moindre de poids sec ou du biovolume moyen des cellules [A4], par rapport aux métaux seuls. Ces tendances retranscrivent de façon grossière des impacts nuancés également au niveau de la structure spécifique des assemblages diatomiques : la disponibilité élevée en éléments nutritifs favorise un développement d'espèces de grande taille, très efficaces pour l'utilisation de cette ressource [stratégies *C* : C2, A5], impliquant la mise en place d'un biofilm épais, protecteur, au sein duquel une grande partie de ces taxons se maintient, moins exposée à la contamination. En revanche, des conditions nutritives plus limitantes défavorisent ces grosses espèces et sélectionnent principalement des espèces de petite taille et adhérentes au substrat [stratégies *R* : C2, A5] dont la surface relative exposée au contaminant est moindre (facteur pouvant également expliquer des impacts moins marqués).
Des travaux complémentaires de suivi des cinétiques de colonisation le long d'un gradient de pollution organique et métallique, en conditions estivales et hivernales, ont révélé des modifications des caractéristiques du biofilm (réduction d'épaisseur due notamment à un développement moindre d'espèces pédonculées et filamenteuses) et de la composition taxonomique d'amont en aval [A1-2].
Des expérimentations en conditions contrôlées ont confirmé la sensibilité ou la tolérance d'un certain nombre d'espèces de diatomées, ainsi que de la pertinence des traits morphologiques comme indicateurs du niveau de contamination métallique [A6, A9, C2]. Elles ont enfin donné lieu à une collaboration avec le Prof. Paul B. Hamilton (Canadian Museum of Nature, Ottawa CA), visant à décrire en microscopie électronique les anomalies morphologiques de petites espèces de diatomées (Fig. 6), lesquelles sont rarement observables au moyen de la microscopie photonique [A7].

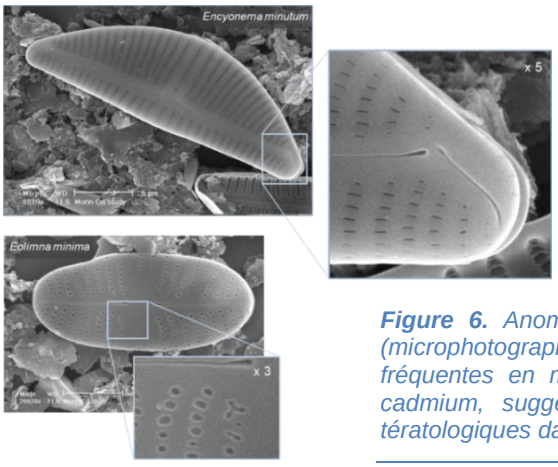



***Figure 6.*** *Anomalies morphologiques non visibles au microscope optique (microphotographies : P.B. Hamilton). Ces observations, relativement fréquentes en microscopie électronique dans les échantillons exposés au cadmium, suggèrent une sous-estimation du pourcentage de diatomées tératologiques dans les comptages de routine (en microscopie optique).*

***2006-2009 Applicabilité des descripteurs d'impact toxique à d'autres types de contaminations.***
Lors de ma thèse puis au cours de contrats postérieurs pour le Cemagref, j'ai eu l'opportunité de participer à divers projets visant à appréhender plus largement les effets de diverses pollutions toxiques. Le Groupement de Recherche de Lacq[5] avait mené des essais en canaux artificiels sur la toxicité de produits chimiques (métaux, pesticides et surfactants, seuls ou en mélange) vis-à-vis des communautés aquatiques, notamment les diatomées. Malgré des biais expérimentaux importants, ces essais nous ont permis de mettre à l'épreuve différents indicateurs de pollution toxique (chute de densité cellulaire, apparition de déformations, réduction de taille des individus…) [M1, R2, R5, R7]. L'équipe était également impliquée dans divers programmes visant à qualifier l'impact des pesticides sur les diatomées (programme ACI/ECCO-IMAQUE ; CCRRDT Insolevie ; Life Concert'Eau ; projets internes Pest-Expo et Tox-Indic). Les résultats obtenus dans ce cadre confirmant les limites des prélèvements ponctuels pour la qualification de l'ambiance toxique liée aux pesticides [A9, A28], je me suis intéressée à l'indicateur de risque Phytopixal, développé par les agronomes de l'UR ADBX[6] [A8, A31, A38], comme proxy du niveau de contamination. Son utilisation, combinée à un traitement statistique innovant (Self Organizing Maps -SOM, Kohonen 1995) adapté aux larges jeux de données biologiques, a amélioré l'analyse des changements de structure de communautés exposées à

[5] Le Groupement de Recherche de Lacq (Pyrénées-Atlantiques) du groupe Arkema (anciennement TotalFinaElf) a construit en 1999 des rivières pilotes de grandes dimensions (d'une longueur de 40m de long environ, pour une largeur de 0,50m et une profondeur de 50cm), pour la mise en œuvre d'essais écotoxicologiques.
[6] Aménités et Dynamiques des Espaces Ruraux, Irstea de Bordeaux.

différents herbicides ; la classification de la sensibilité/tolérance des taxons à ce type de polluants s'est appuyée sur la distribution des espèces inféodées à des niveaux variables de pesticides et nutriments [A8, Fig. 7].

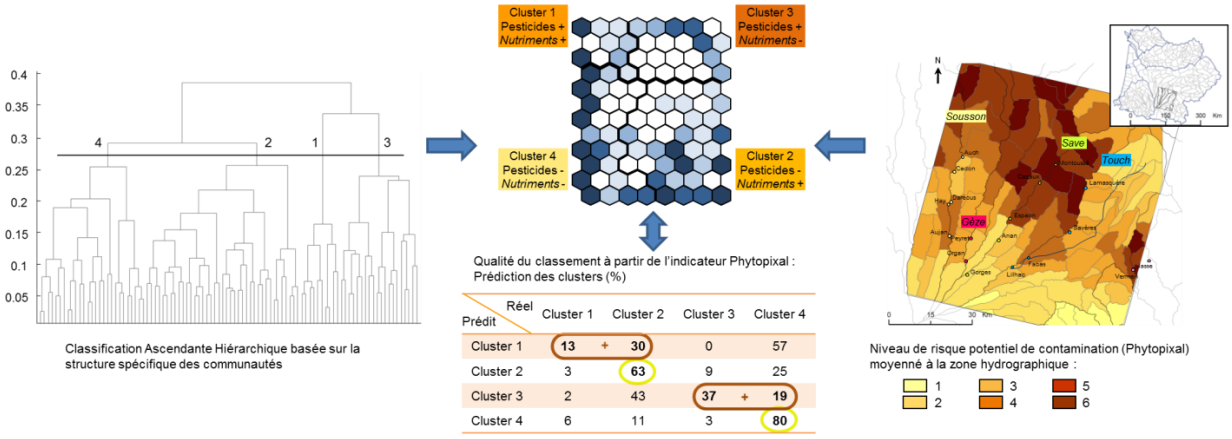



*Figure 7. La confrontation de la biotypologie (à gauche) et de la cartographie des risques de contamination des hydrosystèmes (à droite) met en évidence quatre groupes homogènes de communautés de diatomées, correspondant à différents profils de pollution combinant des niveaux d'exposition faibles ou élevés en nutriments ou en pesticides. L'intensité de la couleur de remplissage des cellules de la SOM (au centre) est proportionnelle au nombre d'échantillons qu'elle contient. La concordance entre clusters réels et prédits est meilleure pour les sites à pression phytosanitaire moindre, et diminue pour les sites plus impactés qui se confondent parfois avec leurs "homologues de référence" (sites avec une disponibilité nutritive comparable), soulignant le pouvoir structurant des éléments non toxiques.*

***2009 Séjour post-doctoral à l'Institut d'Ecologia Aquàtica (Universitat de Girona, Espagne).***
Cet échange scientifique était dédié à l'évaluation des impacts du diuron (herbicide) et du triclosan (bactéricide/antifongique entrant dans la composition de nombreux cosmétiques) sur les communautés périphytiques, en présence ou non d'invertébrés brouteurs (projet RNT Marie Curie KeyBioEffects). En complément des approches "classiques" de caractérisation des communautés algales (fluorescence *in vivo*, structure spécifique), j'ai développé une approche utilisant la mortalité des diatomées pour la détection d'effets toxiques [A11-12, A17]. Similaire aux indicateurs bactériologiques, elle se base sur l'observation des diatomées (*in vivo* ou fraichement fixées) et la caractérisation de leur viabilité *via* la présence, ou l'absence, de contenu cellulaire. La réalisation d'inventaires de diatomées pour différents chercheurs de l'équipe [A19, A22, A24, A32] m'a également permis de progresser dans l'acquisition de connaissances taxonomiques (communautés du bassin méditerranéen notamment). Enfin, ce séjour m'a fourni l'opportunité de me former aux techniques d'analyse développées par l'IEA pour la mesure des activités enzymatiques métaboliques et antioxydantes du biofilm.
Une ambition supplémentaire de cet échange était d'initier une recherche partenariale durable entre les chercheurs en écotoxicologie de Girona (IEA et ICRA[7]) et Irstea Bordeaux, concrétisée depuis par de nombreux échanges scientifiques (codirection de thèse, participation à des jurys et comités de pilotage de thèse, accord-cadre avec l'ICRA, etc).

Ce parcours professionnel a favorisé une intégration progressive et durable dans la communauté des diatomistes tant au niveau national (membre élue du bureau de l'Association des Diatomistes de Langue Française) qu'international (membre de l'International Society for Diatom Research), et plus largement dans la communauté scientifique des chercheurs de la thématique "biofilm" (e.g. workshops européens "Biofilms") et de l'écotoxicologie (membre de la SETAC et du réseau français d'écotoxicologie microbienne[8]). Les contacts établis au travers de ces réseaux, ainsi que mon séjour post doctoral dans une équipe mondialement reconnue pour sa recherche en écologie et écotoxicologie sur les biofilms, m'ont amenée à développer un réseau solide de collaborations. Cette insertion dans la communauté scientifique, puis mon recrutement en tant que chargée de recherches en 2010, ont contribué à une implication rapide dans la rédaction de projets et à la réalisation de plusieurs programmes scientifiques nationaux et internationaux, et l'encadrement de doctorantes et d'une post doctorante, tout en maintenant une activité régulière de publication et de diffusion scientifique.

[7] Institut Català de Recerca de l'Aigua, Girona (Espagne).
[8] http://ecotoxicomic.irstea.fr/

Ces activités de recherche étaient principalement basées sur une analyse structurelle (composition spécifique, architecture) et morphologique (biométrie, tératologies) des communautés de diatomées. L'analyse de la structure spécifique des communautés a contribué à la caractérisation de la sensibilité/tolérance de diverses espèces aux contaminations métalliques (bassin versant du Riou-Mort) ou phytosanitaires (zone atelier des Coteaux de Gascogne). L'architecture tridimensionnelle du biofilm, basée sur les formes de croissance des espèces diatomiques, a également fourni des éléments d'explication des impacts des toxiques liés à une exposition directe variable selon la position des espèces dans la matrice périphytique.
La mise en relation des impacts observés avec le niveau de contamination des cours d'eau était basée sur l'utilisation de données support de chimie mesurées *in situ*. Ces mesures, réalisées à des fins de caractérisation du milieu (détermination des concentrations en contaminants), n'étaient pas nécessairement destinées spécifiquement à des applications écotoxicologiques. Bien que permettant l'établissement de relations cause/effet, ces analyses souffraient parfois d'un manque de compatibilité avec des objectifs d'évaluation du risque écotoxique (pas d'évaluation spécifique de la fraction potentiellement biodisponible, par exemple).

Mes recherches actuelles (sections II à IV) prolongent les travaux exposés précédemment et visent à approfondir divers aspects impliqués dans l'expression de la toxicité de contaminants variés vis-à-vis des communautés de diatomées, dans des conditions d'exposition les plus réalistes possibles (en termes de concentration et de diversité des contaminants, de conditions environnementales). La présence de ces contaminants dans le milieu est abordée selon l'angle d'un facteur de forçage supplémentaire pour les organismes aquatiques, afin de dépeindre la réponse globale des biofilms à des situations de multistress, exerçant conjointement diverses pressions de sélection (éventuellement contradictoires). *In fine*, il s'agit de pouvoir appréhender les réponses, spécifiques et combinées, de ce compartiment bioindicateur, pour une amélioration du diagnostic de l'état de santé des masses d'eau basé sur la biologie.
Ces travaux poursuivent trois grands objectifs complémentaires, qui visent à terme à améliorer l'évaluation de la toxicité des contaminants vis-à-vis des biofilms dans l'environnement aquatique.
Ainsi, depuis mon recrutement, une inflexion a été apportée, vers la combinaison de descripteurs structurels et fonctionnels de natures diverses, et à différentes échelles de complexité du biofilm, de manière à affiner le diagnostic d'impact toxique (section II). Cette "batterie" d'indicateurs permet la mise en évidence d'effets toxiques (avec des caractéristiques de spécificité, sensibilité et précocité variables).
Les avancées présentées ensuite visent à définir dans quelle mesure l'environnement (fluctuation et complexité des conditions abiotiques) module ces impacts. L'amélioration du diagnostic du risque écotoxique a notamment bénéficié des développements récents en matière de descripteurs d'impact et de caractérisation appropriée de l'exposition des organismes (section III). Notamment, la co-construction récente des questions de recherche avec des spécialistes de la chimie environnementale (dont l'échantillonnage passif des contaminants) a permis d'initier une démarche écologiquement pertinente pour l'évaluation du risque toxique en milieu aquatique (doses réalistes, effets de mélanges).
Enfin, au-delà des impacts stricts des facteurs environnementaux abiotiques, l'atteinte de ces objectifs d'évaluation et de prédiction du risque nécessite d'appréhender la multiplicité des facteurs biotiques intervenant dans l'expression de toxicité, qu'il s'agisse de facteurs intrinsèques aux organismes périphytiques (adaptation, interactions biotiques) ou de pressions externes (telles que le broutage). Ces déterminants biologiques, qui affectent directement ou indirectement la structure et le fonctionnement des communautés, peuvent biaiser notre estimation de l'impact toxique (section IV).

Les approches déclinées par la suite s'inscrivent dans un cadre intégrant écologie, écotoxicologie et écophysiologie, à différentes échelles. Elles ne résultent évidemment pas le fait de mon unique activité, mais de la mise en œuvre de collaborations pluridisciplinaires des spécialistes des différents domaines,
-au niveau local : Nicolas Mazzella, Juliette Rosebery, Jacky Vedrenne (équipe CARMA), UMR EPOC,
-nationales : spécialement Irstea Lyon : Stéphane Pesce (laboratoire d'écologie microbienne, EMHA) et laboratoire de chimie (LAMA),
-internationales : Helena Guasch, Sergi Sabater (Universitat de Girona et ICRA, Espagne), Isabelle Lavoie (INRS-ETE, Québec).

# II. Caractérisation du stress toxique à différentes échelles d'organisation du biofilm ; développement d'une batterie d'indicateurs.

## II.1. Vers la circonscription des domaines d'applicabilité des indicateurs périphytiques existants, et le développement de nouveaux descripteurs d'impact.

### II.1.1. Fondements scientifiques et élaboration d'une "boite à outils" écotoxicologique

La question du changement d'échelle abordée en I.2.1 requiert la construction d'un système de descripteurs définis pour chaque niveau d'analyse, de nature de la réponse étudiée, et de relation entre ces niveaux. Chaque composante, de l'échelle d'observation la plus fine (sub-individu) aux niveaux d'intégration les plus élevés, fournit un système d'étude potentiel pour lequel l'observation d'impacts toxiques est possible. En outre, la relation entre degré de perturbation du milieu et impacts observables est rarement linéaire ; les réponses biologiques traduisent inégalement les modifications des conditions environnementales, selon les échelles d'observation (ou les récepteurs, tels que définis par Segner et al. 2014). Ces modifications (à plus forte raison en conditions de multistress) induisent des effets directement mesurables, mais également indirects liés à des déséquilibres dans les interactions biologiques (au sein de la communauté microbienne, et/ou aux niveaux trophiques supérieurs). La complémentarité des échelles d'étude et des attributs des descripteurs sélectionnés, ainsi que la circonscription de leurs domaines d'applicabilité, est donc un prérequis pour une évaluation appropriée du risque écotoxique.

Les impacts cellulaires potentiels d'un toxique sur les diatomées sont résumés dans la Fig. 8. Schématiquement, une contamination peut avoir deux grandes catégories de conséquences mesurables, quelle que soit l'échelle considérée : des manifestations de toxicité, ou une adaptation accrue. Ces réponses découlent plus ou moins directement des effets du parcours du toxique dans la cellule, l'intoxication pouvant être liée à l'exposition et/ou à la bioaccumulation des contaminants dans la cellule [C5]. Dans le cas de composés bioaccumulables, l'absorption d'un toxique peut être d'autant plus élevée que la biomasse périphytique est importante (Hill et al. 2000b), et ainsi exacerber sa biodisponibilité pour les organismes. Cependant, le lien est loin d'être aussi direct et nécessite, *a minima*, de savoir distinguer la fraction internalisée de la fraction extracellulaire fixée, par exemple, à des particules contaminées piégées par la matrice périphytique [e.g. A5], laquelle est vraisemblablement moins aisément disponible (voir par exemple Behra et al. 2002).

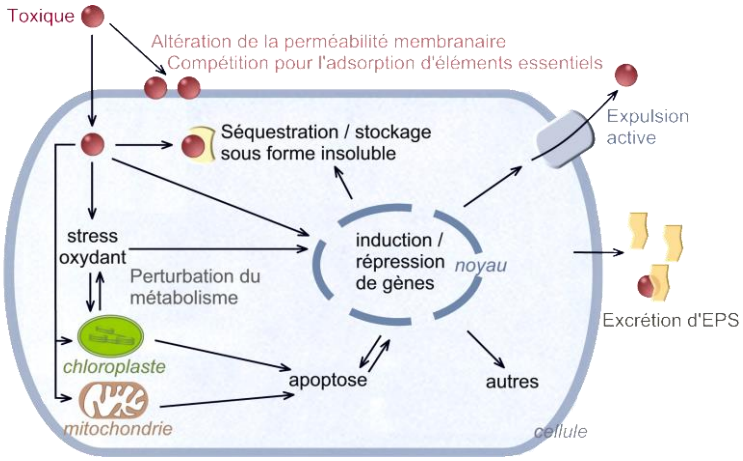



***Figure 8.*** *Déterminants intracellulaires de la réponse à une exposition toxique [C3].*

Le contaminant peut produire des effets nocifs lors de son entrée dans la cellule, qu'elle se fasse par diffusion passive (pouvant altérer la perméabilité membranaire) ou par transport actif occasionnel, le contaminant se substituant alors à certains éléments essentiels (Ernst et al. 1992), dont la silice. Une assimilation réduite de la silice est suspectée d'occasionner, par exemple, l'apparition d'anomalies morphologiques (voir la revue de Falasco et al. 2009). La présence de substances toxiques dans la cellule génère la production de radicaux libres (espèces réactives de l'oxygène). Ce stress oxydant modifie l'homéostasie, perturbe le métabolisme cellulaire et peut occasionner des séquelles génétiques (altération de l'expression de gènes, par exemple). Il peut en résulter, au niveau populationnel (ou au-delà), un dérèglement de la multiplication, de la photosynthèse, de la respiration, de l'assimilation de nutriments et de la synthèse de molécules, jusqu'à provoquer l'apoptose en cas

d'extrême toxicité. Au niveau de la communauté, on peut observer par exemple une réduction de la biomasse algale (Paulsson et al. 2000) : chute de la densité cellulaire, diminution du poids sec ou de l'épaisseur du biofilm, etc.

Les niveaux de tolérance individuels aux toxiques, pouvant différer selon la nature des contaminants, varient selon les phénotypes et les génotypes. La sélection exercée par une contamination implique une modification de la structure et éventuellement de l'architecture des communautés. Les stratégies de colonisation des différentes espèces et leurs interactions sont en effet conditionnées par le niveau de pollution toxique ; c'est ainsi que la diatomée cosmopolite *Achnanthidium minutissimum*, fréquemment dominante dans les cours d'eau soumis à des épisodes de contamination toxique, est occasionnellement utilisée comme indicateur de pollution toxique [T7]. Sélection d'espèces et adaptation/acclimatation des individus contribuent à la tolérance globale qu'acquiert une communauté soumise à une pression toxique. Le principe du PICT (Pollution Induced Community Tolerance, Blanck et al. 1988) se fonde sur ces concepts écologiques de base et postule, assez intuitivement, qu'une communauté pré-exposée à un contaminant aura d'ores et déjà subi des évolutions intrinsèques (adaptations physiologiques et/ou modifications structurelles) qui lui confèrent une tolérance à cette contamination supérieure à celle d'une communauté ne l'ayant jamais vécue. Alors, sur la base de tests dose/réponse, il est possible de déterminer le niveau de préexposition à ce toxique. Les bioessais sont généralement réalisés à partir de réponses physiologiques simples, fréquemment basés sur l'activité photosynthétique (Tlili et Montuelle 2011). Il est généralement nécessaire de coupler ces mesures à une analyse taxonomique, même grossière, de façon à déterminer la part physiologique de la réponse, de la sélection spécifique. En effet, dans les cas de contamination sublétale, on observe fréquemment une stimulation de la capacité photosynthétique du biofilm ("greening effect"). Ce phénomène d'hormèse (Calabrese 2005) est généralement attribué à une allocation accrue d'énergie à l'activité de photosynthèse à doses faibles pour contrecarrer l'augmentation de stress oxydant et être en condition de supporter le stress subi, suggérant une possible utilisation compétitive du pool énergétique au détriment d'autres fonctions métaboliques. L'adaptation peut également se manifester par la mise en place de nombreux mécanismes de protection ou de détoxification, tels que la séquestration dans le cytosol par des ligands intracellulaires (Figueira et al. 2014) ou dans les vacuoles (Nassiri et al. 1997), la production d'enzymes antioxydantes permettant de lutter contre les espèces réactives de l'oxygène (Pinto et al. 2003), ainsi que l'expulsion active des contaminants, éventuellement sous leur forme "inactivée" par liaison à des exopolymères essentiellement polysaccharidiques (Lee et al. 1996, Pistocchi et al. 1997, Rosen 1996).

Tous les "écarts à la normale" ainsi décrits sont susceptibles de constituer des descripteurs d'exposition (ou d'impact) toxique[9], selon l'échelle biologique considérée (cf. Fig. 9).

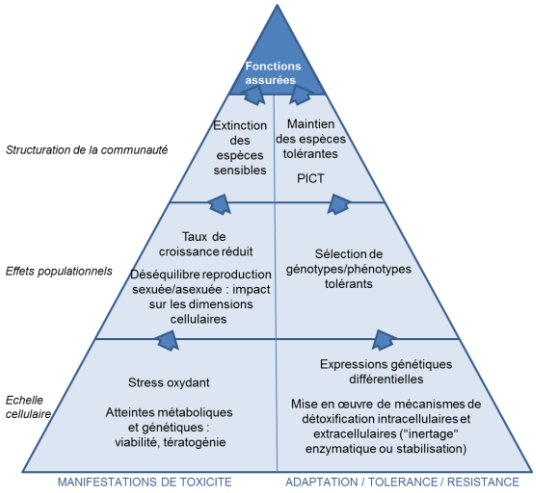



***Figure 9.*** *Mécanismes cellulaires de base et transmission possible des effets consécutifs à une exposition toxique aux différentes échelles d'organisation du biofilm.*

[9] Dans tous les cas, ces manifestations indiquent que, d'une certaine manière, des atteintes toxiques et, éventuellement des dommages irréparables, ont déjà eu lieu.

### II.1.2. Construction d'une "boite à outils" adaptée aux communautés périphytiques : définition des "attributs" des indicateurs et développement de descripteurs innovants

Les connaissances relatives aux effets des toxiques sur les diatomées, décrites précédemment, sont de plus en plus nombreuses. Cependant, elles ne permettent à ce jour pas de préjuger de l'échelle d'étude la plus pertinente pour révéler ce type de contamination, ni du type de descripteur le plus approprié, lequel dépend largement de l'échelle d'étude choisie, mais également du contaminant d'intérêt (basiquement, de son "mode d'action toxique"). Les travaux menés dans cet axe de recherche visent à identifier leurs réponses à différents niveaux de complexité biologique (Tableau 1) : du niveau sub-individuel, individuel, à la densité de diatomées vivantes et à la structure des assemblages. A une échelle plus large, des impacts peuvent également être étudiés sur la composante phototrophe des biofilms (composition pigmentaire), ou plus globalement sur la biomasse périphytique. La variété des modes d'action toxiques rencontrés parmi les contaminants impacte inégalement la structure des biofilms, mais également leur fonctionnement. Nous travaillons donc à l'identification d'indicateurs plus ou moins spécifiques de certains types de contaminants (par exemple : inhibiteurs des photosystèmes et descripteurs d'activité photosynthétique). En général, plus le niveau d'analyse est intégratif, plus la réponse observée traduit une exposition globale (moins spécifique). En collaboration avec d'autres équipes, ou en complément, nos études visent à composer une "boite à outil" de descripteurs structurels et fonctionnels, à différentes échelles d'observation.

***Tableau 1.*** *Attributs des descripteurs d'impacts toxiques aux différentes échelles d'étude. Les descripteurs en développement sont signalés par un astérisque. Les descripteurs envisagés à court et moyen termes sont figurés en italique.*

| Echelle d'observation | Descripteur | Attributs | Références |
|---|---|---|---|
| Sub-individu | Inductions génétiques | Précocité/sensibilité | [A25, A46] |
| Individu | Anomalies morphologiques | Spécificité (métaux) | [C3, A5, A7] |
| | Réductions de taille cellulaire | Spécificité | [C3, R2] |
| Population ou assemblage | Densités de cellules vivantes | Intégratif | [A11, A12, A17, A24] |
| | Mortalité | Intégratif | [A11, A12, A17, A24] |
| | Taux de croissance | Intégratif | [C2, A17, A27] |
| | Mobilité cellulaire (évitement) * | | [A40] |
| | Allocation de l'énergie * | | [A40] |
| | *Composition lipidique (collaboration J.J. Bessoule / M. Le Guédard, LBM)* | | |
| | Acquisition de tolérance | Spécificité | [A16, A28, A44] |
| | *Réversibilité des impacts toxiques / stress recovery experiments (collaboration M. Laviale, LOV)* | | |
| Assemblage | Structure spécifique des communautés | | [A8, A10, A16, A19, A27] |
| | Biovolume moyen | Spécificité | [C3, A4, A24] |
| | Distribution de traits de vie (formes de croissance) | | [C3, A17] |
| Biofilm | Quantité de chlorophylle, activité photosynthétique | Composante algale | [A14, A16, A24, A26, A28] |
| | Biomasse totale (poids sec) et fraction organique | Intégratif | [A6, A9, A10, A28] |
| | Activités enzymatiques antioxydantes | Précocité/spécificité | [A19, A37] |
| | *Elasticité (collaboration S. Boulêtreau, ECOLAB / F. Garabetian, EPOC)* | | |
| | PICT (acquisition de tolérance de la communauté) | Spécificité | [A16, A19, A26, A28, A42] |

Le tableau 1 résume les descripteurs à l'étude dans nos travaux, et leurs attributs identifiés à ce jour en relation avec un stress toxique. Ces recherches sont encore à un stade exploratoire, et la validité des indicateurs décrits, ainsi que leur potentiel de généralisation pour un diagnostic "de routine", restent à confirmer, notamment sur des jeux de données de plus grande ampleur. Leur confrontation à des conditions environnementales plus variées sera également nécessaire, afin de spécifier leur gamme de variabilité naturelle et leur domaine d'application. Ces descripteurs d'effets s'avèrent aujourd'hui plus ou moins intégratifs, propres à certains stress, et précoces, soulignant la nécessité de disposer d'une combinaison de ces indicateurs pour diagnostiquer plus finement les différentes natures de contaminants susceptibles d'être présents dans le milieu.

### II.1.3. Impacts (sub)individuels et répercussions au niveau populationnel.

***Niveaux d'expression génétique et manifestations physiologiques en conditions toxiques***

Certains de ces indicateurs peuvent être utilisés comme biomarqueurs de stress toxique, et/ou comme éléments explicatifs permettant une meilleure interprétation de la réponse physiologique observée. Par exemple, la collaboration avec l'UMR EPOC (masters de Sandra Kim Tiam et Sophie Moisset) pour les approches de biologie moléculaire [A25, A46] a permis de confronter les réponses physiologiques de différentes souches de diatomées à des niveaux d'expression génétique associée à différentes fonctions métaboliques. La variabilité interspécifique des impacts du diuron (inhibiteur du photosystème II) sur la photosynthèse, notamment, était directement liée à des expressions différentielles des gènes associés (*psaA*, *d1*). Ainsi, la répression extrêmement précoce (dès 6h) des gènes liés au métabolisme photosynthétique chez les espèces *Eolimna minima* et *Nitzschia palea*, traduit la mise en place de mécanismes adaptatifs permettant de maintenir, à la concentration la plus faible testée, une activité photosynthétique normale, ou d'en assurer une récupération progressive pour la concentration la plus élevée. *A contrario*, les tests réalisés sur *Planothidium lanceolatum* ont souligné, à la dose la plus forte, une incapacité de cette espèce à contenir les effets du toxique : l'induction, rapide et intense, de l'expression des gènes d'intérêt, ne se maintenant pas dans le temps, l'espèce subit des dommages irrémédiables (voir Fig. 10).

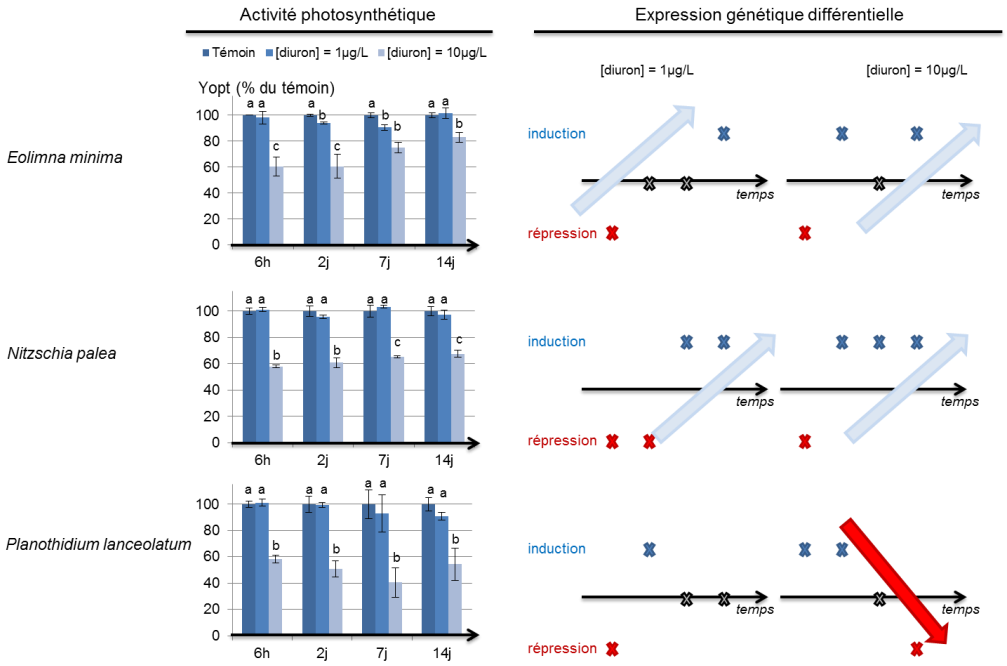



***Figure 10.*** *Inhibition du rendement photosynthétique optimal (Yopt) de 3 cultures de diatomées exposées au diuron, et représentation schématique de l'expression différentielle du gène psaA (induction ou répression par rapport aux témoins), d'après Moisset et al. [A46].*

Ces biomarqueurs ont prouvé leur précocité et leur sensibilité, et fournissent des éléments d'analyse de la réponse biologique observée à une échelle plus intégratrice. En effet les résultats de la dynamique de croissance des espèces concordent avec ces observations. Les cinétiques d'*E. minima* et de *N. palea* étaient peu affectées par les concentrations en diuron testées, mais remarquablement inhibées chez *P. lanceolatum* à la dose la plus forte (~10µg/L). Cependant, l'application de ces biomarqueurs génétiques à des échantillons environnementaux plus complexes (multispécifiques) requiert un lourd développement d'amorces "consensuelles" et une validation sur le terrain envisageables uniquement sur le long terme.

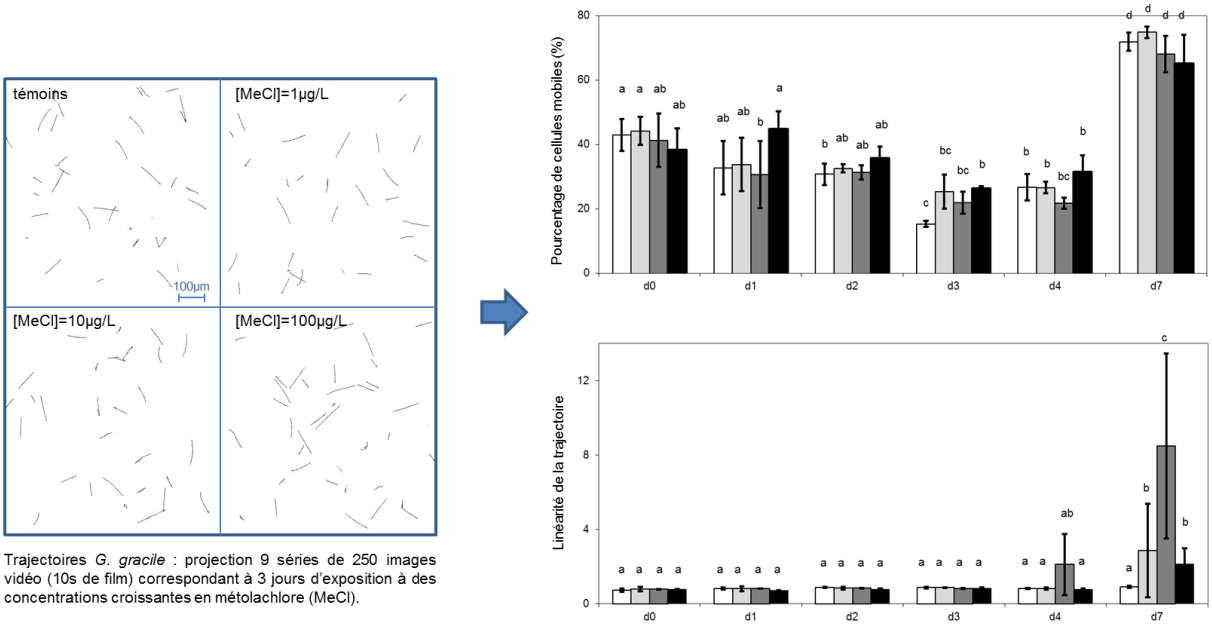
***Développement de descripteurs comportementaux***

L'orientation récente vers l'utilisation d'indicateurs comportementaux (et la mise au point des méthodologies permettant de les déterminer) a alimenté la construction de cette batterie de descripteurs pour la mise en évidence d'impacts toxiques. Le rôle de la mobilité des diatomées n'est pas complètement élucidé, cependant une littérature abondante est consacrée à son implication dans la régulation de l'accès à la lumière (phototactisme) dans les environnements intertidaux. En

revanche, et même si l'existence du déplacement a été décrite pour de nombreuses diatomées benthiques auparavant (Bertrand 1999, Cohn 2001, Cohn et al. 2004), la capacité de mouvement en eau douce n'est utilisée qu'au travers du trait "motilité" (aptitude potentielle au déplacement). En pratique, cet indicateur découle directement des inventaires taxonomiques et traduit la proportion de diatomées raphidées, la présence de raphé déterminant la possibilité de mouvement rapide (par opposition aux déplacements très lents décrits chez certaines araphidées, permis par l'exsudation de mucus par les processus labiés). Quelques études écotoxicologiques ont exploité cette propriété, et mis en évidence que la proportion de diatomées motiles augmente avec la contamination toxique (Paule et al. 2013, Roubeix et al. 2011). Ce résultat est mis en relation avec la capacité des espèces supposées mobiles à gérer leur exposition en se réfugiant dans les couches internes du biofilm (Larras et al. 2012), voire à leur possibilité d'optimiser leur accès à la ressource (lumineuse, nutritive) selon l'intensité de la contamination (Fore et Grafe 2002), mais n'est pas démontré expérimentalement.

L'hypothèse a récemment été émise (toujours en milieu marin) que la migration phototactique pourraient dépendre d'une médiation cellulaire par les espèces réactives de l'oxygène (Laviale et al. 2011). La génération d'un stress oxydant par un contaminant toxique pourrait donc modifier le comportement (la mobilité) des diatomées d'eau douce. Pour tester cette possible modification du comportement induite par une exposition toxique, nous avons cherché à évaluer la réponse comportementale d'une diatomée, *Gomphonema gracile*, à des niveaux de contamination croissante au pesticide métolachlore [A40]. La toxicité éventuelle de ce pesticide sur les diatomées est mal appréhendée avec les descripteurs actuels, et une augmentation de la mobilité avec le niveau de pollution pourrait être considérée comme un indicateur de potentiel de fuite en conditions défavorables [A40]. L'adaptation des protocoles d'analyse de déplacement de cellules mobiles (plugin CASA, développé pour caractériser le déplacement de spermatozoïdes, Tomlinson et al. 2010) nécessite des réglages spécifiques à chaque organisme (conditions préalables à la mesure, nombre d'images et durée d'acquisition du film, etc). Si, pour différentes espèces de diatomées ces réglages s'avèrent peu variables, une application à terme aux assemblages périphytiques pourra s'envisager, avec le choix de paramètres de réglage génériques.

Nous avons ainsi montré chez *Gomphonema gracile* que l'allocation d'énergie suivait des patrons dose- et temps-dépendants. A faible dose, des mécanismes permettant d'assurer le maintien de la photosynthèse (hormèse) sont rapidement mis en œuvre, suggérant une affectation préférentielle de la ressource énergétique à la résistance *in situ*. Quelle que soit la dose de contaminant, une modification de la mobilité est observée en quelques jours, avec une augmentation du pourcentage de cellules mobiles et de la rectitude de la trajectoire (vitesse linéaire accrue), évoquant un comportement de fuite (Fig. 11).




Trajectoires *G. gracile* : projection 9 séries de 250 images vidéo (10s de film) correspondant à 3 jours d'exposition à des concentrations croissantes en métolachlore (MeCl).

***Figure 11.*** *Acquisition d'images permettant la caractérisation de la mobilité dans différentes conditions d'exposition au métolachlore (à droite). A gauche : le pourcentage de cellules mobiles est supérieur aux témoins le 3ème jour, pouvant traduire une agitation plus élevée en lien avec l'exposition. La linéarité du mouvement augmente aux derniers temps d'exposition, indiquant une trajectoire plus rectiligne (parcours plus direct).*

Ces développements ont bénéficié de l'avancée des travaux dans les environnements marins, et s'inspirent largement d'autres disciplines (écophysiologie notamment). La transposition d'approches d'autres domaines de recherche peut ainsi favoriser une meilleure compréhension de certains phénomènes non élucidés. Ces résultats demandent néanmoins à être validés avec d'autres espèces de diatomées, d'autres toxiques… et les mécanismes en jeu devront être décrits plus finement, et l'interdépendance de réponses opposées prise en compte :

- Quel rôle "indirect" la structuration des espèces en petites associations joue-t-elle dans la réduction de la mobilité des témoins ? Les populations non exposées, en effet, tendaient à former dans les premiers jours post-repiquage plus d'associations bien structurées (étoilées, rubanées), tandis que les formes rencontrées dans les conditions contaminées présentaient principalement des individus solitaires. On peut soupçonner qu'une partie de la différence de nombre de cellules mobiles découle directement de cet agencement, modérant probablement la capacité individuelle de mouvement.
- La variabilité temporelle des indicateurs calculés (pourcentage de cellules mobiles, vitesses, linéarité du mouvement ; cf. Fig. 11) révèle-t-elle différentes étapes de la gestion comportementale du stress provoquée par l'exposition ?
- Comment est allouée l'énergie ? Bien que n'ayant ici pas mis en évidence de différence inter-traitement marquée dans la quantité d'ATP (soit les contaminations testées ne modifiaient pas le pool énergétique, soit la précision de la mesure réalisée était insuffisante), nous n'avons pas réalisé de bilan énergétique afin de démontrer une affectation différentielle de l'énergie. La "compétition" entre les voies d'attribution de l'énergie à la résistance sur place et à la fuite reste donc à examiner plus formellement.

Si la capacité accrue de certains taxons au mouvement en conditions défavorables se confirme, ce critère constituera un élément complémentaire de compréhension des processus de sélection *in situ* des espèces, et des déterminants biologiques contribuant à expliquer la structure observée des communautés. Dans le cas où la capacité d'évitement existe effectivement chez toutes les espèces mobiles, l'utilisation du trait "motilité" en écotoxicologie se basera, par ailleurs, sur une réalité empirique.

## II.2. Complémentarité des indicateurs fonctionnels et structurels, intérêt des approches "communauté"

On conçoit bien que l'impact médiatique de l'extinction d'espèces, ou de la perte de biodiversité dans un biofilm, soit de loin inférieur à celui d'organismes macroscopiques. L'étude structurelle des communautés de microorganismes pourrait donc paraitre superflue, ou réservée aux systématiciens, et être aisément remplacée par l'unique suivi de descripteurs fonctionnels, par exemple liés à des grands services pour l'écosystème aquatique (production primaire, recyclage des nutriments…).

Cependant, il me semble fondamental de conserver ces informations complémentaires. D'une part, parce que la structure taxonomique traduit une sélection d'espèces, et fournit des informations susceptibles de satisfaire un besoin de construction d'indicateurs plus génériques (II.2.1). D'autre part, parce que l'approche purement fonctionnelle peut certes permettre un diagnostic global de contamination avérée (l'écosystème est-il impacté ou non), mais permettra difficilement d'évaluer un impact potentiel (prédiction de la capacité à maintenir les fonctions dans le cas d'une modification, même minime, des conditions environnementales de quelque nature qu'elles soient). Enfin, parce qu'à l'instar d'autres éléments biologiques comme les macroinvertébrés (Mondy et al. 2012), les préférences écologiques variées des diatomées permettent d'envisager des développements indiciels complexes, capables de répondre à différentes catégories de pressions (II.2.3).

### II.2.1. Utilisation de descripteurs "génériques" : traits écologiques et biologiques

De même que les analyses de diversité, l'approche "traits", bien que "non taxonomique", repose sur une identification préalable de la structure de la communauté. Chaque trait présente plusieurs modalités (deux au minimum) pour lesquelles chaque taxon possède une note d'affinité répertoriée dans la bibliographie. La conversion des relevés d'abondance d'espèces en distribution de traits se fait par simple pondération des matrices de traits par les tableaux d'espèces et leurs affinités pour chaque modalité. Les communautés peuvent ensuite être décrites par leur abondance et leur distribution en termes de traits. L'argument le plus en faveur de ce type d'approche est, naturellement,

son indépendance de la variabilité biogéographique des communautés naturelles, et potentiellement la comparaison de réponses à large échelle. On postule en effet que l'environnement, quelle que soit la zone considérée, sélectionne le même type de traits pour un même type de perturbation (incluant la pollution). Pour une composition spécifique éventuellement très variable d'une écorégion à l'autre, d'un continent à l'autre, la distribution des traits est alors susceptible de traduire des sélections (voire des extinctions) de grandes catégories d'espèces partageant les mêmes préférences écologiques ou caractéristiques biologiques, lorsqu'elles sont soumises à un stress. Ces approches peuvent renseigner de manière relativement fiable sur la nature, et/ou l'intensité, de l'altération du milieu, et sont génératrices d'interactions fortes avec les approches plus centrées "écologie", développées par Juliette Rosebery [A34, T3, T7, R15-16].

L'intérêt de ces descripteurs non taxonomiques en écotoxicologie a été démontré, par exemple, par Lainé et al. [A34]. L'utilisation des traits indiquait un impact toxique très intense à l'aval d'une usine dont les rejets dans le milieu s'avéraient peu préoccupants au regard des analyses multirésidus réalisées. Dans cette étude, non seulement les distributions des traits biologiques et écologiques des diatomées portaient à suspecter une pollution toxique, mais ces résultats convergeaient avec les traits d'autres compartiments floristiques (macrophytes) et faunistiques (macroinvertébrés). Ainsi, les taxons à reproduction rapide (petites espèces périphytiques à fort taux de croissance, macrophytes à nombreux organes reproducteurs, invertébrés avec plusieurs cycles reproductifs annuels) proliféraient en aval de la contamination, y assurant un maintien relatif de la biomasse. Ces éléments conduisaient ainsi à suspecter une pollution industrielle dont la cyclicité des rejets était non synchrone avec les prélèvements ponctuels effectués, ou dont la composition comportait des substances non recherchées dans les analyses. Par ailleurs, et à l'instar de nombreuses publications sur l'impact de toxiques sur les biofilms, la contamination était associée ici à une réduction de la biomasse algale. Cette diminution peut traduire une épaisseur moindre du biofilm, qui s'expliquerait par la sélection de certaines formes de croissance (formes plus adhérentes moins défavorisées que les espèces se développant dans les couches superficielles du biofilm, plus exposées à l'influence des conditions extérieures). L'exploration envisagée des modifications d'élasticité du biofilm (au moyen des électrodes rotatives développées par Boulêtreau et al. 2011, par exemple) apportera des éléments d'interprétation sur la structure et la "densité" interne du biofilm (ratio entre cellules et canaux de pores), précieux pour l'analyse et la compréhension des impacts structurels des contaminants.

### II.2.2. L'information structurelle comme élément de compréhension des réponses fonctionnelles

Certains de ces traits de vie peuvent être directement reliés à une fonction assurée (recyclage de l'azote par exemple, au travers du trait de N-trophie : van Dam et al. 1994), ou avec le potentiel de la communauté à occuper une large niche. Dans les communautés de diatomées où la richesse spécifique est importante, une distribution équitable des espèces dans différentes modalités de traits sous-tend une capacité plus élevée de la communauté à tolérer l'apparition d'un nouveau stress (Clements et Rohr 2009). Ainsi, la composition taxonomique des communautés nous renseigne, indirectement, sur sa capacité à maintenir certaines fonctions à plus long terme (Hooper et al. 2005, Vogt et al. 2010). La mise en évidence d'un déséquilibre lié, par exemple, à une diminution du nombre d'espèces soutenant une fonction-clé (alors que le niveau de cette fonction se maintient) traduit une vulnérabilité potentielle à certaines modifications ultérieures de l'environnement [A47]. L'analyse de données acquises sur plusieurs années dans le bassin versant du Riou-Mort (Decazeville), le long d'un gradient de contamination trophique et métallique, a permis de mettre en relation structure des communautés et vulnérabilité à des stress additionnels. Le turnover au sein des communautés amont (Firmi) était principalement lié à la variabilité interannuelle des conditions environnementales, tandis que la stabilité structurelle à l'aval suggère une sélection spécifique forte, par les différentes pressions subies (également observable par une diminution des diversités α et β). La présence d'un stress additionnel, comme la canicule de 2003, avait conduit à une réduction encore plus drastique des espèces à l'aval, cette sélection spécifique étant associée à un déséquilibre dans la distribution des traits liés à l'oxygénation des eaux. Les perturbations chimiques et climatiques exacerbant les impacts structurels sur les communautés de diatomées ont vraisemblablement eu des conséquences fonctionnelles. Leur capacité à soutenir certaines fonctions-clés à la base du fonctionnement de l'écosystème aquatique a pu être réduite en conséquence de la restriction de la gamme des conditions environnementales tolérables par les organismes.

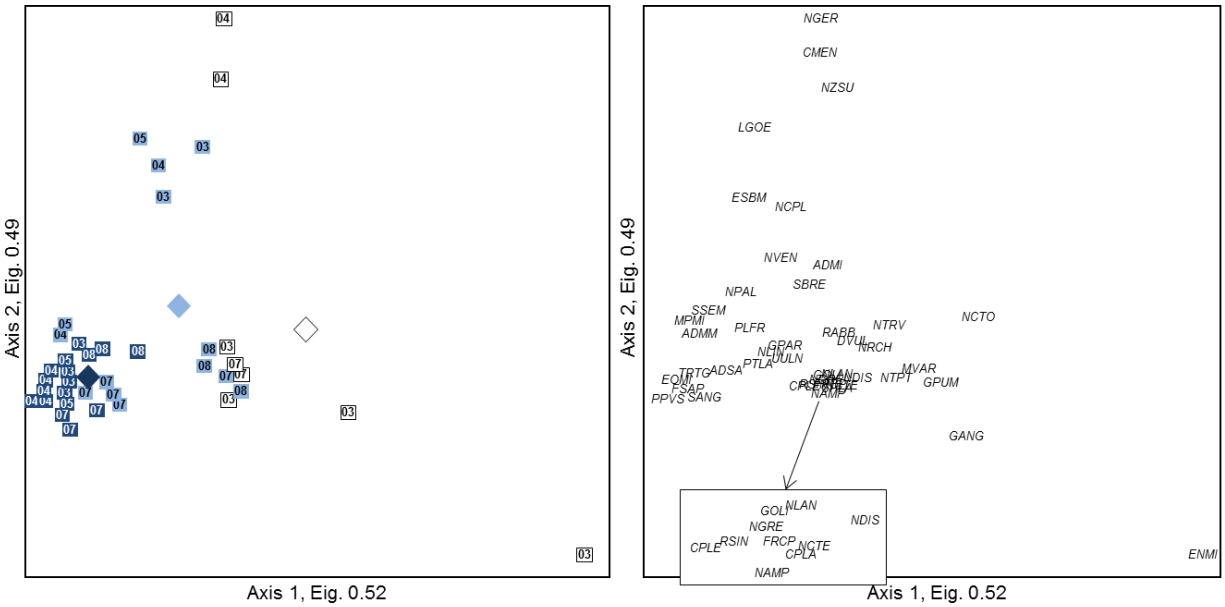



***Figure 12.*** *Ordination (Reciprocal Averaging) des échantillons basée sur les compositions spécifiques. A gauche : Distribution des échantillons, libellés par année ; les sites amont (Firmi) sont figurés en blanc, intermédiaires (Decazeville) en bleu clair et aval (Joanis) en bleu sombre. Les cadres représentent les échantillons réels, et les losanges leur position moyenne. A droite : Codes Omindia (Lecointe et al., 1993) des espèces de diatomées. Le cumul des pressions réduit la variabilité intra- et inter-annuelle de composition et conduit à une banalisation de la communauté [A47].*

L'interprétation des réponses PICT (détermination d'une pré-exposition du biofilm à un contaminant via une acquisition de tolérance) peut justement tirer profit de la caractérisation structurelle des communautés. L'objectif est de pouvoir attribuer le maintien (ou la perte relative) d'une fonction (généralement liée à la photosynthèse) à une sélection d'espèces due à l'exposition antérieure, et/ou à une adaptation physiologique. La description complémentaire de la structure spécifique et des fonctions assurées par la communauté permet souvent de mettre en évidence une sélection d'espèces associée à la contamination. En effet, des changements dans la distribution des classes algales (par exemple : Schmitt-Jansen et Altenburger 2008, Rotter et al. 2013) ou dans la structure spécifique des communautés de diatomées [A16, A19, A37] s'observent simultanément à une acquisition de tolérance, traduisant la sélection induite par les toxiques (Toxic-Induced Succession) ayant permis la survie globale de la communauté pré-exposée.

Les travaux récents menés en collaboration entre les équipes EMHA (Irstea Lyon) et CARMA [A16, A37, A42] ont démontré la possibilité de mettre en évidence une acquisition de tolérance à des mélanges toxiques complexes, en utilisant des extraits d'échantillonneurs passifs dans les tests PICT. Cependant, la capacité à faire le lien direct entre contamination et réponse PICT souffre encore de certaines limites dans la prise en compte des multiples facteurs externes interférant dans la réponse mesurée, à surmonter pour définir un référentiel d'utilisation de l'outil : influence de la disponibilité en nutriments (Tlili et al. 2010), des relations interspécifiques et trophiques (Tlili et Montuelle 2011), mais également adaptations physiologiques des organismes aux pressions de sélection environnementales (notamment histoire d'exposition à la lumière, aux toxiques ; voir aussi IV) [A37, A48]. En complément des améliorations en cours des approches PICT conduites par l'équipe EMHA (Lambert et al. 2014, par exemple), le développement d'expérimentations visant à évaluer le potentiel de récupération post stress des communautés est envisagé au travers de la collaboration avec Martin Laviale (Laboratoire d'Océanographie de Villefranche-sur-Mer). Il s'agit d'exposer, comme pour les tests PICT, les organismes à des concentrations croissantes en toxique pendant une durée de quelques heures pour réaliser des courbes dose/réponse, puis de retirer la pression de contamination et de suivre, à pas de temps fin, les cinétiques de récupération des différents niveaux d'exposition. L'objectif est, *in fine*, d'établir si les dommages liés à l'exposition sont irrémédiables, ou au contraire réversibles, et à quelle échéance.

### II.2.3. La combinaison de métriques pour un diagnostic de contamination avérée, par différentes catégories de polluants

Les conditions environnementales influencent la sélection des organismes constitutifs des biofilms par les toxiques. *In situ*, la prise en compte des déterminants environnementaux complexifie énormément l'évaluation des effets des toxiques, qui affectent généralement en second lieu ces communautés de producteurs primaires largement tributaires des nutriments (notamment dans les zones agricoles où s'observe un gradient simultané de nutriments et de pesticides) et de la lumière, excepté dans le cas de contaminations extrêmes, qui heureusement sont de plus en plus rares. Il est primordial de pouvoir distinguer les effets de ces facteurs "confondants" (stressants ou non) des réponses au stress toxique, à des fins de développement de méthodes de bio-évaluation des pollutions toxiques. Cette interférence peut être positive, dès lors que les facteurs du milieu composent un environnement privilégié pour les organismes, diminuant ainsi les effets toxiques observés (modulation des impacts par une disponibilité nutritive élevée, par exemple : Guasch et al. 1998, 2004). Les facteurs environnementaux peuvent, *a contrario*, exacerber l'expression des effets toxiques, notamment dans le cas de stress cumulés, impliquant des facteurs non toxiques pouvant agir sur les mêmes cibles cellulaires. Certains de ces facteurs environnementaux peuvent également être stressants (excès de lumière, manque de nutriments ou de silice, hydrologie extrême, pH très acide). Le cumul de stress variés, dans le temps et dans l'espace, peut modifier la réponse biologique de manière variable selon leur ordre d'apparition [A47], imposant par conséquent de prendre en compte également cette facette de l'historique d'exposition dans le diagnostic d'impact (tel que décrit en II.2.2). Les combinaisons de substances potentiellement toxiques à faibles doses se rencontrent particulièrement dans les cours d'eau contaminés par les pesticides, en effet dans ces situations les molécules se retrouvent rarement seules, mais plutôt en mélange. Ces mixtures de substances à modes d'action toxique similaires, ou différents, sont susceptibles de provoquer des effets imprévisibles, pour lesquelles ont été développés des modèles de cumul des effets (voir aussi III.2.1).

Les sélections successives d'espèces (et/ou de traits), variables selon les pressions, peuvent apporter des éléments d'information nécessaires à l'élaboration du diagnostic de l'altération des milieux, traduisant les effets spécifiques et conjoints de stresseurs localement associés, à effet synergique ou antagoniste. En effet, la combinaison de descripteurs variés spécifiques aux différentes natures de pression, taxonomiques et non taxonomiques (parmi ceux identifiés dans le Tableau 1, pour ce qui relève des toxiques), sera nécessaire à la définition de gammes de réponses variées observables en milieux complexes. Sur cette base, l'élaboration d'indices multimétriques permettra, idéalement, le diagnostic de perturbation globale et l'identification de stresseurs spécifiques (Karr et Chu 1997). Un indice multimétrique doit être composé de différentes métriques simples, bien corrélées avec différentes altérations. Sa construction doit répondre à des exigences de robustesse et de précision supérieure aux métriques déjà existantes Quelques indices multimétriques basés sur les communautés périphytiques ont été proposés en Europe (réponse aux pollutions organiques et trophiques : MDIAT, Delgado et al. 2010) et aux Etats-Unis (traduisant différentes perturbations environnementales et la contamination métallique : PIBI, Griffith et al. 2002, Hill et al. 2000a). Ils se basent, pour le premier (MDIAT), sur une combinaison d'indices Européens préexistants et les abondances de taxons de référence locaux. L'indice PIBI (Periphytic Index of Biotic Integrity) inclut une diversité plus élevée de métriques (diatomiques et non diatomiques) : abondances de certains genres, d'espèces acidophiles, eutrophes, mobiles, de taxons-clés (pourcentage d'*Achnanthidium minutissimum* par exemple)… Ces différents indicateurs sont ainsi susceptibles de répondre à une gamme plus large de stresseurs (qualité chimique de l'eau, éléments d'hydromorphologie, pollution métallique).

A l'heure actuelle, où la demande d'outils pour le diagnostic de contaminations complexes est croissante, l'orientation vers une approche multimétrique nécessitera vraisemblablement de combiner des espèces-clés (i.e. dont la sensibilité -ou la tolérance- est formellement identifiée) et des indicateurs spécifiquement corrélés à la présence de certains toxiques (voir III). Les résultats de ces expériences antérieures de construction d'indice complexe fournissent des perspectives encourageantes pour le développement d'indices évaluant globalement la diversité des altérations du milieu.

# III. Modulation des impacts en conditions de stress multiple : vers une compréhension des facteurs modifiant la biodisponibilité et/ou la toxicité des contaminants.

Deux voies d'exploration du risque existent classiquement en écotoxicologie ou, en d'autres termes, deux façons fondamentales de procéder. Ces approches visent à estimer des impacts, ou à déterminer le risque toxique de contaminants. Ainsi, ou bien on se base sur le constat d'un état (en termes de structure ou de fonction) altéré des communautés établies dans leur milieu, et il s'agit de répondre à la question : "Y'a t'il toxicité ?" et d'identifier, le cas échéant, les causes potentielles de cette toxicité, en partant d'état modifié de la communauté -l'impact en soi- pour remonter au(x) responsable(s) de la toxicité -le(s) composé(s) toxique(s) (III.1). Ou bien on part de la substance, d'un composé (ou d'un mélange de composés) que l'on soupçonne par exemple de toxicité pour l'environnement (et pour les organismes biologiques modèles étudiés en particulier) et on étudie la réponse biologique à l'exposition à cette substance. La démarche consiste alors à démontrer si oui ou non, ce contaminant suspect provoque effectivement des impacts toxiques, et à les mettre en relation (selon leur nature, et leur intensité) avec les conditions d'exposition (III.2). La grande majorité des travaux en écotoxicologie suivent l'une ou l'autre de ces approches (la seconde ayant récemment été mise en cause par Segner et al. 2014), et correspondent concrètement aux études réalisées *in situ*, d'une part, et au laboratoire, d'autre part. Or, la relation de cause à effet entre mesure de l'exposition (type et dose de toxique) et la mesure d'impact (dépendante des moyens d'évaluation de cet impact) peut clairement dépendre des autres conditions physicochimiques de milieu pouvant parasiter le diagnostic de risque. En particulier, les travaux de Lozano et Pratt (1994) ou Guasch et al. (1998, 2004) démontrent une modulation de l'impact toxique de contaminants par une augmentation de la disponibilité nutritive dans le milieu, alors que d'autres travaux constatent une exacerbation des impacts liés à certains facteurs physiques : quantité de lumière incidente (Guasch et Sabater 1998) et cycle nycthéméral (Laviale et al. 2010), ou débit (Villeneuve et al. 2011).

Les recherches présentées ici utilisent ces deux approches, ou se situent, dans une certaine mesure, à l'interface entre les deux méthodes : évaluation de relations entre exposition et impact, ou détermination de courbes dose/réponse. C'est ainsi que, dans des sites où une contamination est avérée, des expérimentations de "biomonitoring actif" peuvent être mises en œuvre (III.3). La caractéristique de ces approches de translocation d'organismes permet, selon le sens du transfert, de mesurer soit l'ampleur de l'impact seul[10] de la source de contamination suspectée (transfert d'un site de référence à un site contaminé) sur les communautés plus ou moins matures, soit la réversibilité de l'impact (transfert d'un site contaminé à un site de référence).

Les travaux concernant les impacts de toxiques sur les communautés de diatomées en sont à des stades de développement variables selon le type de contaminant considéré. Les recherches concernant les effets des métaux sont les plus avancées ; ils peuvent généralement être étudiés *in situ* avec un bon niveau de maitrise concernant leur analyse. Le cas des contaminations pesticides, beaucoup moins bien appréhendé, nécessite néanmoins des études de laboratoires parfaitement contrôlées pour l'identification des descripteurs les plus appropriés.

## III.1. De l'observation de terrain à la formulation d'hypothèses

### III.1.1. Génération de larges bases de données et exploration des patrons de réponse communs

L'identification de patrons de réponse communs à certains toxiques requiert de pouvoir s'affranchir de conditions environnementales locales. L'analyse de jeux de données de terrain de large échelle peut satisfaire le besoin de données abondantes, dans des conditions variées, pour la détermination de réponses invariables à des conditions environnementales données. Ce type d'approche, développé pour l'évaluation du risque pesticide à l'échelle d'une région agricole [A8, voir I.2.3], montre de nombreux biais liés à la qualité des données (fréquence d'acquisition, précision) limitant la robustesse statistique. Cependant les bases de données vastes, de même qu'elles ont permis le développement des indices biologiques diatomées dont l'efficacité est aujourd'hui reconnue, constituent un atout majeur pour l'analyse de tendances solides.

[10] Mais voir cependant l'influence potentielle de l'immigration d'espèces, section IV.2.1.

L'exploitation d'un jeu d'environ 200 échantillons provenant de différentes zones du globe -Europe, Canada, Vietnam- présentant différents profils de contamination métallique (composition et concentrations) a permis l'identification d'effets spécifiques aux métaux à échelle plus large [C3, Figure 13]. Bien que préalables car nécessitant une assise géographique toujours plus étendue, ces travaux ont fourni des résultats encourageants pour l'identification des modifications de structure spécifique à ces deux types de contaminants majeurs des cours d'eau (métaux [C3] et pesticides [A8]), indépendamment de la disponibilité nutritive. Ce type de résultat a vocation à alimenter la construction d'un indice multimétrique, dans la mesure où les préférences écologiques (sensibilité ou tolérance aux métaux) ont pu être déterminées pour un certain nombre d'espèces relativement cosmopolites, dont les profils étaient communs aux différentes régions étudiées.

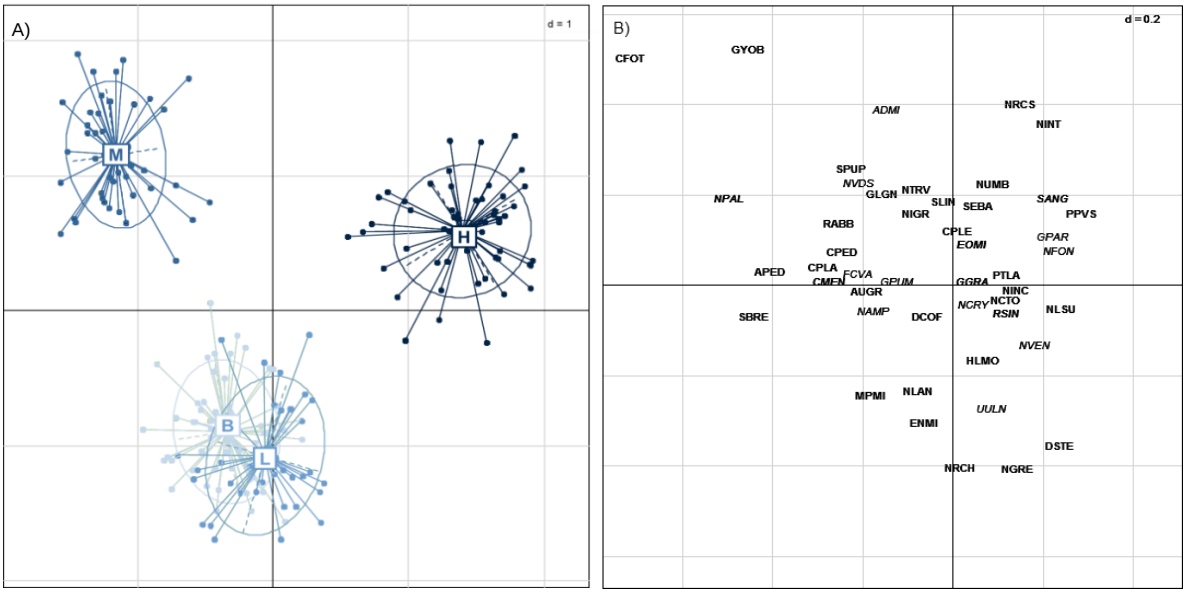



***Figure 13.*** *A) Distribution de 202 échantillons de diatomées provenant de 6 pays par Analyse Linéaire Discriminante, en fonction des catégories de contamination métallique définies par Clements et al. (2000) : B-Background, L-Low, M-Medium, H-High. B) Projection des espèces de diatomées (codes Omnidia) les plus indicatrices (en gras) ; les espèces communes aux 6 pays d'origine sont figurées en italiques.*
*Le calcul des IndVals a ensuite permis de proposer une classification, pour une soixantaine d'espèces relativement cosmopolites, suivant leurs caractéristiques de sensibilité/tolérance aux métaux [C3].*

La poursuite de ces recherches est nécessaire pour établir sans équivoque les effets des toxiques sur les communautés de diatomées, avant d'envisager la mise en œuvre d'indices pour une bioindication de routine. Les profils d'espèces (sensibilité, tolérance, indifférences) vis-à-vis de nombreux toxiques doivent continuer d'être affinés (ou, le cas échéant, être déterminés). L'identification d'autres métriques intégratives peut découler, en plus de l'analyse de ces bases de données, d'expérimentations mises en place *in situ* pour la mise en évidence de réponses explicitement liées à un type de contamination (voir III.3).

Les perspectives d'améliorations complémentaires à ce type d'analyse (au-delà de l'alimentation massive des bases de données) sont, d'une part, l'optimisation de la qualité de l'information relative à l'exposition et, d'autre part, l'acquisition de connaissances relatives à l'influence d'autres déterminants (contaminants ou non) sur les manifestations toxiques observées.

### III.1.2. Caractérisation du danger des mixtures de contaminants : un couplage nécessaire entre chimie et écotoxicologie pour la mesure du "potentiel toxique" des milieux

La mesure la plus réaliste possible de l'exposition est un élément crucial à prendre en compte. Concernant les pollutions métalliques, nos études nous ont permis de décrire au mieux l'exposition par la mesure de la phase particulaire [sur le bassin versant du Riou-Mort, A5], ou de la fraction bioaccumulée [A2, A6, A9]. L'évaluation de l'exposition aux pesticides est plus difficilement appréhendée du fait d'un stade d'avancement moindre des recherches. Par exemple, il est actuellement impossible de dissocier la fraction internalisable (considérée comme biodisponible) de ces substances. La présence de la plupart des contaminants en mélange complique également l'extrapolation de résultats obtenus par les tests écotoxicologiques à partir de substances pures ou de mélanges simples. La collaboration étroite avec les spécialistes en chimie environnementale nous a permis d'amorcer récemment des approches originales de couplage entre écotoxicologie et utilisation de mixtures de contaminants extraites d'échantillonneurs passifs.

Le "potentiel toxique" de mixtures complexes présentes dans les eaux naturelles a été caractérisé *via* le couplage de tests écotoxicologiques à l'échelle de la communauté (approches PICT) avec des mélanges de contaminants extraits d'échantillonneurs passifs (POCIS[11]), en élaborant des courbes dose/réponse pour ces contaminants complexes [A16]. Cette approche non *a priori* permet de s'affranchir de la lourdeur expérimentale qui découlerait d'une étude exhaustive de toutes les multiples combinaisons possibles de substances, en revanche elle ne revêt aucun pouvoir prédictif, en raison de sa dépendance aux conditions propres à chaque prélèvement (composition et concentration du mélange). Des biofilms ont été collectés dans un cours d'eau situé en zone agricole (Ruiné, Charente), après un mois de colonisation. Simultanément, les mélanges de contaminants (pré-concentrés dans le milieu sur la même période) ont été extraits pour évaluer leurs effets aigus sur la fluorescence chlorophyllienne et le rendement photosynthétique. La mixture de pesticides était dominée par des triazines : produits de dégradation et substances-mères (déséthylatrazine, déisopropylatrazine, simazine, déséthylterbuthylazine, atrazine). Les effets sur la photosynthèse (Tableau 2) indiquent clairement un impact croissant avec la concentration en mélange, dont l'ampleur varie suivant l'origine (amont/aval du cours d'eau) et la composition algale du biofilm.

***Tableau 2.*** *Réponses à 48h des paramètres de fluorescence à des concentrations croissantes en mixture (la plus faible correspondant à la concentration environnementale) pour des biofilms d'origine, et donc de composition, différentes (amont/aval de la rivière Ruiné). N=3, significativité de l'ANOVA : * p<0.05, *** p<0.001.*
*La communauté périphytique prélevée à l'aval, logiquement, s'avère plus tolérante au mélange de pesticides de son site d'origine que la communauté de l'amont. D'après [A16].*

| | | **Concentration de la mixture (µg/L)** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Paramètre** | **Origine du biofilm** | **1** | **3.2** | **10.1** | **31.9** | **101** |
| Fluorescence de la chlorophylle (% du témoin) | Amont | 102±8 | 105±7 | 114±1*** | 123±6*** | 132±2*** |
| | Aval | 99±9 | 102±11 | 102±3 | 114±6* | 135±5*** |
| Rendement photosynthétique efficace (% du témoin) | Amont | 102±1 | 103±1 | 102±1 | 100±1 | 91±0*** |
| | Aval | 106±7 | 106±8 | 103±4 | 104±7 | 98±8 |

La cohérence de ces observations avec les résultats attendus confirme la faisabilité de l'évaluation du potentiel toxique des milieux à partir de mixtures extraites des échantillonneurs passifs. Ces premiers travaux ont ouvert la voie à diverses applications, au laboratoire par exemple, de l'extrait d'échantillonneur passif comme contaminant complexe (III.2.1) environnementalement plus pertinent qu'une liste finie de substances (généralement réduite).

[11] Les POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Samplers) sont des échantillonneurs passifs utilisés pour mesurer les concentrations chroniques moyennes dans les milieux aquatiques de substances organiques, notamment les pesticides les plus hydrophiles (voir par exemple Harman et al. 2012).

## III.2. Développement d'approches expérimentales réalistes permettant la mise en relation explicite entre exposition et réponse biologique.

Les recherches menées au laboratoire sont, en pratique, conçues pour tester l'impact de facteurs précis, et complémentent des études réalisées sur des sites particuliers aux conditions environnementales, physiques et chimiques, toxiques ou non toxiques, bien caractérisées. Les tests de toxicité au laboratoire, abondamment pratiqués, présentent l'intérêt d'établir une relation claire entre la concentration en contaminant et une réponse biologique (avec des tests biologiques plus ou moins standardisés, utilisant des espèces modèles) et sont parfois un préalable obligatoire au développement de nouveaux descripteurs [A25, A40, A46]. Ces approches, si elles permettent d'établir sans équivoque une dose d'un contaminant spécifique produisant un effet notable, ne permettent cependant ni de prédire un effet sur une communauté plus complexe (et *a fortiori* sur une communauté naturelle, dans son environnement), ni de présumer des effets de contaminants en mélange, ou d'un polluant à différents types de conditions environnementales. Ces tests standardisés sont, à plus forte raison, peu pertinents pour l'évaluation des impacts de contaminants à concentrations faibles à modérées. La nécessité de produire un diagnostic crédible écologiquement motive la mise en place d'expérimentations allant au-delà de ces approches écotoxicologiques "basiques", permettant une intégration des fluctuations réelles des caractéristiques environnementales (paramètres chimiques et biologiques). L'élucidation de la complexité des interactions pouvant produire la toxicité en conditions environnementales peut s'aborder au laboratoire sous divers angles. Parmi ceux-ci, nos travaux s'orientent vers les problématiques de faible(s) dose(s), de contaminants en mixtures, avec le challenge de dissocier les effets du(des) toxique(s) en présence de facteurs confondants.

Le développement au laboratoire d'approches réalistes environnementalement implique une complexification des conditions expérimentales visant à se rapprocher des réalités d'exposition chimique du milieu et des conditions de vie des organismes. Concrètement il s'agit, d'une part, d'évaluer des impacts toxiques non sur des espèces modèles, déconnectées du milieu, mais sur les organismes réellement présents et donc susceptibles d'être exposés aux contaminants, et d'autre part, de considérer des niveaux de contamination proches de ceux qui sont observés *in situ.* La problématique des "faibles doses" de substances potentiellement toxiques coexistant fréquemment dans le milieu (mélanges de pesticides et/ou de métaux, voire d'autres contaminants d'origine anthropiques : médicaments, cosmétiques…), en particulier du cumul de leur toxicité (Ricart 2010), demeure un champ de recherches large et peu appréhendé [A21]. Des études préalables au laboratoire, parfaitement contrôlées, sont par conséquent nécessaires pour l'identification des descripteurs les plus appropriés et de leurs réponses, dans des conditions adéquates de pression chimique (III.2.1) éventuellement associée à des facteurs confondants (III.2.2).

### III.2.1. Risque associé aux mélanges de substances en faibles concentrations et identification des composés dangereux

L'identification des composés les plus toxiques au sein de mélanges de contaminants aux concentrations individuelles relativement faibles est actuellement un enjeu majeur de l'écotoxicologie, qui doit mener ultérieurement à une meilleure gestion du risque. Différentes approches complémentaires sont ainsi en cours, qui visent d'une part à comparer les effets d'un cocktail environnemental de substances à ceux de mélanges reconstitués à partir des contaminants majoritaires mesurés [A36, A44], et d'autre part à déterminer le (les) composés responsable(s) de la toxicité du mélange.

Les travaux de thèse de Sandra Kim Tiam (2013) ont permis d'appréhender la problématique des effets de pesticides sur les biofilms de rivière à différentes échelles de représentativité, allant de mélanges complexes en utilisant des extraits d'échantillonneur passif POCIS à des molécules testées seules, en passant par des mélanges simples. Ils ont permis d'approfondir notre compréhension des effets de mixtures à faible dose, telles qu'on les rencontre dans l'environnement, expliqués dans les cours d'eau étudiés par les composés majoritaires du mélange en termes de concentrations (Fig. 14).

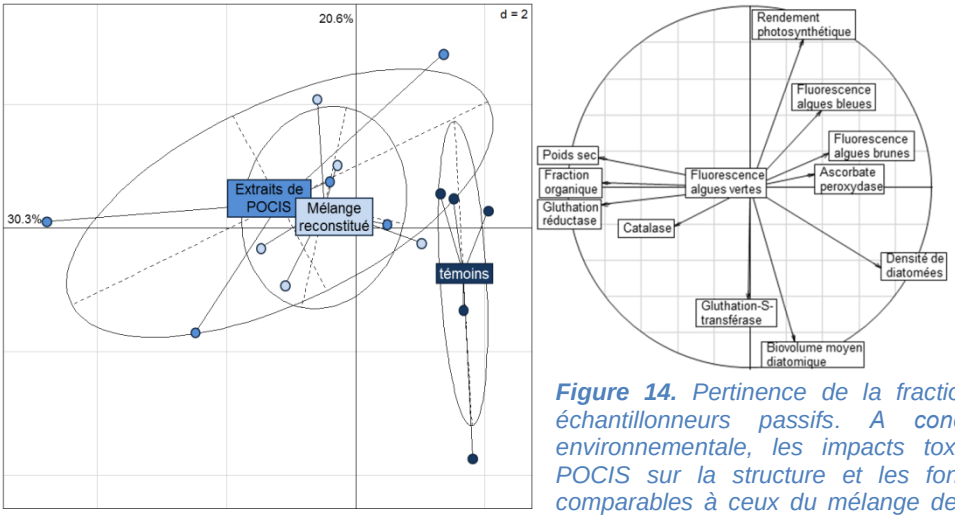



***Figure 14.*** *Pertinence de la fraction toxique extraite des échantillonneurs passifs. A concentration d'exposition environnementale, les impacts toxiques des extraits de POCIS sur la structure et les fonctions du biofilm sont comparables à ceux du mélange de composés majoritaires reconstitué [Analyse en Composantes Principales ; A44].*

Ces mixtures, comme observé fréquemment *in situ*, contenaient des quantités non négligeables de produits de la dégradation des pesticides. La présence généralisée de ces métabolites dans l'environnement, et leur toxicité potentiellement supérieure à leurs composés parents (Sinclair et Boxall 2003), a conduit à la mise en œuvre de tests simplifiés, spécifiquement conçus pour déterminer le risque d'un produit de dégradation couramment retrouvé dans la rivière Morcille [A37, A42]. Les impacts (seuls et en mélange) sur la photosynthèse des trois pesticides majoritaires de ce cours d'eau (les composés parent norflurazon et déméthylé norflurazon-desmethyl, et le tébuconazole) ont permis d'identifier, pour une gamme de concentration respectant leurs proportions *in situ*, que les réponses du biofilm à cette combinaison de pesticides étaient majoritairement expliquées par l'exposition au norflurazon-desmethyl (Fig. 15). Les concentrations de nombreux produits de dégradation étant aujourd'hui largement supérieures à celles des substances mères dans le milieu, l'évaluation du risque lié à ces substances devient prioritaire.

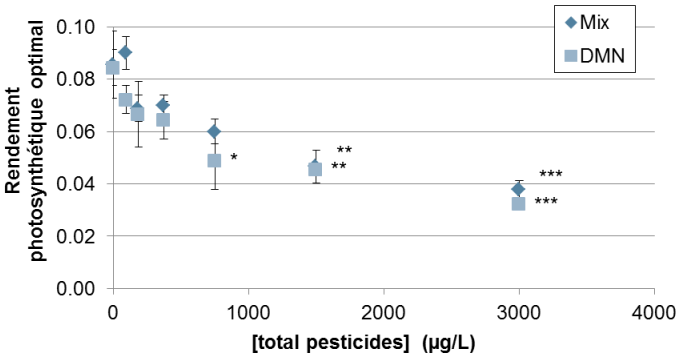



***Figure 15.*** *La courbe dose/réponse obtenue pour le norflurazon-desmethyl (DMN) est similaire à celle de la mixture ternaire de norflurazon, norflurazon-desmethyl et tébuconazole (Mix), indiquant la contribution majoritaire du composé de dégradation à la toxicité du mélange [A36].*

La miniaturisation des tests de fluorimétrie (recours aux microplaques), leur optimisation et leur utilisation avec succès [A36] a permis d'envisager la mise en œuvre des approches de type Effect-Directed Analysis (EDA, Brack 2003) sur des cultures de diatomées (thèse de Caroline Gardia-Parege, UMR EPOC). L'EDA a pour objectif d'identifier, au sein d'un cocktail complexe (mélange de composés toxiques et non toxiques), la ou les substances responsables de l'impact observé. L'approche EDA consiste, à partir d'une mixture complexe de contaminants provoquant une toxicité, à fractionner de plus en plus finement ce mélange jusqu'à identifier la fraction provoquant un effet similaire au mélange. Finalement, il est possible de réaliser la caractérisation précise de cette fraction. La possibilité d'identifier les substances toxiques pour les diatomées a été réalisée à partir d'extraits d'échantillonneurs passifs, déployés sur un ruisseau contaminé par une mixture composée notamment de phénylurées (herbicides inhibiteurs de la photosynthèse). L'extrait d'échantillonneur passif affectant significativement l'efficacité photosynthétique des cultures utilisées de *Nitzschia palea*, des tests complémentaires ont été réalisés à partir du fractionnement du mélange (en HPLC, selon un gradient d'acétonitrile) en 3 fractions, de chacune 20 hyperfractions. La toxicité mesurée après reconstitution du mélange initial (à partir des 60 hyperfractions) n'était pas aussi importante que celle de l'extrait de POCIS, suggérant une dégradation éventuelle de composés à l'endroit des

fractionnements, ou une reconstitution imparfaite du mélange. Aucune de ces fractions (ou sous-fraction) ne provoquait seule l'effet toxique escompté, en revanche leurs combinaisons binaires s'avéraient toxiques (Fig. 16). Dans ce cas, et contrairement au cas exposé précédemment, l'impact toxique est du non seulement à la dose de contaminants, mais surtout à leur combinaison, indiquant une probable additivité ou synergie des effets individuels des fractions.

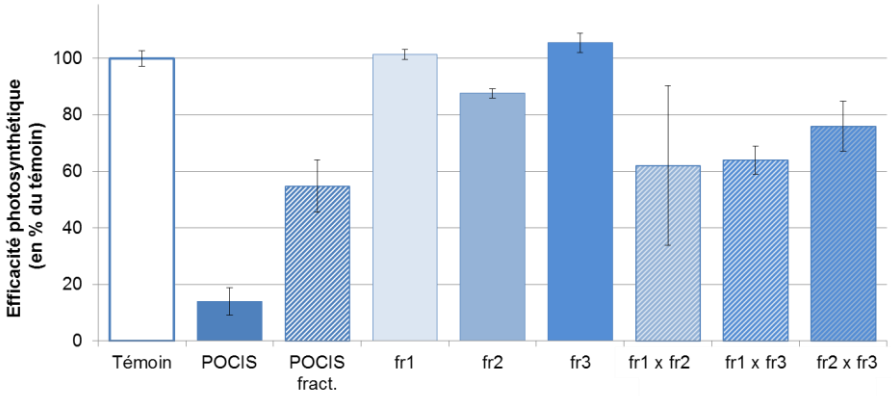



***Figure 16.*** *Inhibition de l'efficacité photosynthétique mesurée à la concentration maximale pour l'extrait de POCIS, l'extrait reconstitué (POCIS fract.), les fractions primaires et leurs combinaisons binaires. Si le fractionnement a causé une perte d'impact du mélange, l'individualisation des fractions induit également une diminution de l'effet toxique. Ainsi, on note un impact croissant depuis les fractions (fr1 à 3), leurs mélanges binaires et leur combinaison ternaire (POCIS fract.)*

S'il existe une demande croissante d'outils prédictifs permettant de qualifier le risque toxique de mélanges, la multiplicité des mixtures possibles (en termes de composition et de concentrations) rend impossible d'envisager tester toutes les combinaisons susceptibles d'être rencontrées *in situ*. De manière générale, la caractérisation du risque lié aux mixtures complexes reste encore restreinte à des cas d'étude. De plus en plus d'approches de modélisation sont ainsi proposées, de manière à établir des relations génériques cause/effet, et basées entre autres sur les hypothèses d'indépendance d'action ou d'additivité des concentrations (selon les modes d'action des substances). L'évaluation du risque pesticide proposé par Larras (2013) est une adaptation des approches SSD (Species Sensitivity Distributions). A partir des impacts mesurés au laboratoire sur différentes espèces ayant des caractéristiques écologiques diversifiées, les courbes de distribution de sensibilité obtenues sont utilisées pour déterminer des concentrations à risque pour la communauté, conférant aux valeurs de risque ainsi déterminées plus de réalisme environnemental. Ces approches prennent en compte, dans une certaine mesure, la variabilité interspécifique, mais sont encore peu compatibles avec une application généralisée aux problématiques de mélanges pour les biofilms. Cependant, les courbes SSD permettent d'extraire des concentrations seuils comme la HC5 (Hazardous Concentration), pour laquelle 5% des espèces considérées sont impactées. Par analogie, le pourcentage d'espèces affectées (PAF, Potentially Affected Species) pour chaque contaminant déduit de ces courbes peut être utilisé pour prédire le risque combiné de mixtures (Gregorio et al. 2013). En inférant le comportement des substances en mixtures (modèles d'addition des concentrations –dose addition– ou des réponses –independent action) de leur mode d'action toxique, il est possible de modéliser le risque global au travers des msPAF (multisubstance PAF, de Zwart et Posthuma 2005). Les msPAF ont été appliquées avec succès aux communautés d'invertébrés et de poissons (von der Ohe et Liess 2004, Faggiano et al. 2010). Leur calcul suppose, néanmoins, une connaissance des substances présentes dans le milieu et de leur mode d'action.

### III.2.2. Comprendre la biodisponibilité des contaminants, dans un contexte de changement global

L'importance de déterminants environnementaux tels que la disponibilité en nutriments est désormais établie, bien que leurs effets masquent parfois un impact toxique. Néanmoins, la mise en évidence des impacts toxiques peut être envisagée au travers d'indicateurs multimétriques. D'autres facteurs environnementaux interagissent vraisemblablement avec les toxiques, et l'analyse de déterminants susceptibles d'évoluer fortement dans un contexte de changement global, notamment, nécessite d'être approfondie.

Les recherches en cours visent à démontrer les effets adverses de combinaisons de polluants avec des déterminants environnementaux non toxiques *a priori*, dans des situations impliquant des facteurs agissant sur les mêmes cibles cellulaires (par exemple une génération de stress oxydant par la lumière et les contaminants) ou modifiant la biodisponibilité des contaminants (matière organique dissoute, température). La thèse de Nathalie Coquillé (en cours, Fig. 17) devrait nous permettre de mieux comprendre les interactions entre facteurs environnementaux, influençant directement ou indirectement la toxicité des contaminants, et de contribuer à une meilleure caractérisation de la biodisponibilité des pesticides, en lien avec la qualité saisonnière de la matière organique dissoute (MOD), le long d'un gradient de salinité. En effet, les substances chimiques (ici pesticides et MOD) véhiculées par les eaux depuis les rivières vers le littoral, sont soumises à une variabilité d'environnement susceptible de modifier leur structure et leurs propriétés, et par conséquent leurs effets potentiels sur le vivant. La caractérisation des propriétés et du devenir de la MOD et des contaminants, ainsi que de leur combinaison, devrait permettre de mieux appréhender leur écotoxicité (Mowat et Bundy 2001) : le piégeage du contaminant sur la MOD modifie-t'il la biodisponibilité de certains pesticides pour les cibles cellulaires ?

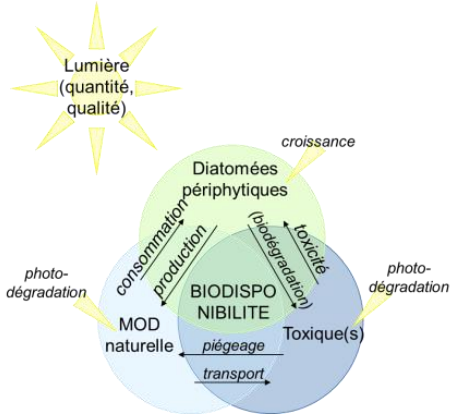



***Figure 17.*** *Interactions complexes (directes et indirectes) de facteurs biotiques et abiotiques contrôlant la réponse des organismes exposés à une contamination. Exemple simplifié des interrelations entre diatomées, MOD naturelle, toxiques et lumière (projet IMPACT).*

Il est également question dans cette thèse de déterminer l'influence de la lumière sur les microalgues et leur relation complexe avec la MOD et les contaminants. En effet, la MOD joue un rôle important sur l'absorption de la lumière ultraviolette et de la lumière visible au niveau des océans. La MOD chromophorique est photochimiquement active (agissant comme photosensibilisateur pour la dégradation de polluants : Chen et al. 2009, Chin et al. 2004) et affecte la production primaire (Lehmann et al. 2004, Pienitz et Vincent 2000). Le changement climatique peut entrainer non seulement des changements des concentrations et des caractéristiques physicochimiques de la MOD (polarité, hydrophobicité…, Cory et al. 2010, Porcal et al. 2009), mais aussi une augmentation des radiations solaires et donc de la photo-oxydation de la MOD, et du comportement photochimique des organismes photosynthétiques. L'évaluation des effets de ces radiations sur les interactions MOD/contaminants/microalgues constitue donc un enjeu important pour la prédiction future du risque écotoxique.

D'autres projets en cours soutiennent par ailleurs des expérimentations visant à caractériser l'effet de la température sur la réponse des communautés de diatomées aux métaux (thèse d'Anne-Sophie Lambert, Irstea Lyon). Une première approche de l'interaction entre la température et le cuivre a été réalisée, dans des conditions extrêmes de températures. Ainsi, des biofilms naturels collectés en hiver sur la rivière Morcille (température du milieu : 8°C) ont été placés pendant 6 semaines dans différentes conditions : témoin (correspondant à la température moyenne du milieu en hiver de 8°C) et échauffement de +5°C, +10°C et +15°C, en testant deux niveaux d'exposition au cuivre (<1µg/L et 15µg/L). L'impact chronique du cuivre est confirmé à la température du milieu, tant au niveau structurel (biomasse, répartition des groupes algaux, composition diatomique) que fonctionnel (potentiel photosynthétique), durant toute la durée du suivi. Aux températures plus élevées (13, 18 et 23°C), les effets sont transitoires et variables suivant les paramètres mesurés. L'analyse statistique des inventaires diatomiques met notamment en évidence une interaction marquée entre la température et exposition au cuivre (Fig.18). Ces résultats montrent donc la nécessité d'appréhender ces interactions afin de mieux comprendre l'impact écotoxicologique des toxiques métalliques dans un environnement changeant.

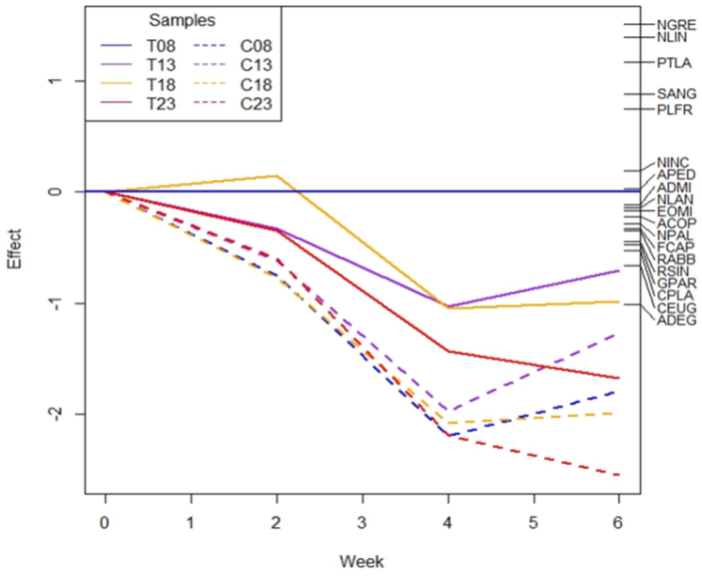



***Figure 18.*** *Analyse des trajectoires temporelles de modification de structure de la communauté diatomique (Principal Response Curves) en lien avec la température seule (lignes pleines) ou en interaction avec l'exposition au cuivre (lignes pointillées). L'augmentation de température modifie la structure des assemblages, avec une dominance marquée de* Planothidium lanceolatum *(PTLA) aux températures les plus élevées, et le développement d'*Achnanthidium exiguum *(ADEG). Ces modifications sont exacerbées par la contamination au cuivre, avec en particulier une croissance massive d'*A. exiguum *dont l'abondance relative excède 60% à 18 et 23°C.*

## III.3. Augmentation du réalisme environnemental et de la maitrise des conditions: intérêt des expérimentations en milieu naturel.

Pour atteindre ces objectifs, en plus d'expérimentations en laboratoire au design spécifique à l'étude de facteurs identifiés *a priori*, il est également possible de mettre en place des "expérimentations *in situ*", ou expérimentations de biomonitoring actif. Ce type d'étude alternatif, basé sur l'utilisation de substrats artificiels (dans notre cas, des lames de verre servant de support neutre à la colonisation par le biofilm, insérés dans des cagettes immergées dans les cours d'eau), est utilisé notamment pour de la comparaison inter-sites de biofilms de maturité comparable (dans des conditions différentes) [A12, A16, A20, A29] ou pour des translocations (transfert de biofilms d'un site non contaminé vers un site impacté, et vice-versa) [A10, A19, A24].

Les expériences de translocation permettent, par exemple, d'identifier des descripteurs (parmi ceux décrits en II.1) directement témoins de la présence de certains toxiques, et fournissent ainsi des métriques candidates à l'inclusion dans un indice multimétrique. Des translocations réalisées le long de cours d'eau contaminés par les métaux ont validé certains indicateurs prometteurs, dont la réponse est propre à ce type de substances (voir par exemple Fig. 19). Citons notamment i- la présence significative d'anomalies morphologiques, ii- les abondances d'espèces de petite taille, en particulier les petites formes pionnières très adhérentes au substrat, iii- des indicateurs de richesse/diversité spécifique [A47], etc. Ces métriques particulières ont ainsi pu être spécifiquement reliées à la contamination métallique grâce à la mise en œuvre d'approches, légitimant leur choix pour la construction d'indicateurs multimétriques. Dans ce mode d'évaluation, les composantes pré-citées de l'indicateur permettraient d'orienter, ou non, le diagnostic vers une pollution de nature métallique.

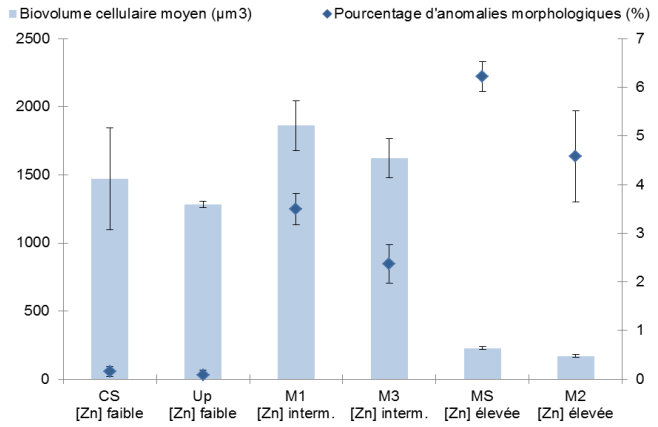



***Figure 19.*** *Evolution d'indicateurs non taxonomiques le long d'un gradient de pollution métallique (zinc).*
*Le biovolume moyen des espèces de diatomées de la Riera d'Osor, Espagne [A19, A24, A32] est fortement réduit dans les sites fortement contaminés.*
*En revanche, le pourcentage de diatomées déformées augmente dès un niveau de contamination intermédiaire.*

Les approches de translocation offrent par ailleurs de nombreuses possibilités pour étudier le potentiel de récupération des communautés à une levée de pression toxique (transplantation de l'aval vers l'amont de la contamination). Selon les contaminants et le type de descripteur étudié, les quelques études de translocation permettent d'estimer un délai probable de retour à la normale de deux semaines (Tolcach et Gómez 2002) à plusieurs mois (Dorigo et al. 2010), voire beaucoup plus [A26-27] après la disparition de la contamination. Cependant, l'une des principales limites à ces approches est liée à la difficulté d'identifier les éléments conduisant à la récupération des communautés : retour à un état physiologique non altéré, recolonisation différentielle par les espèces en place, ou bien établissement d'espèces nouvellement introduites par l'immigration (voir IV.2.1). Même si tous ces processus concourent probablement simultanément au rétablissement de l'écosystème, déterminer leur importance relative n'est pas neutre en termes de perspectives de réussite d'éventuels travaux de restauration mis en œuvre sur les milieux.

*In situ* comme au laboratoire, un intérêt croissant est ainsi porté à la complexité des interactions environnementales. Les améliorations visent notamment à l'explication d'effets de toxiques majorés par leur cooccurrence (effet cocktail), exacerbés par certains autres facteurs environnementaux (générateurs de stress oxydant ou augmentant la biodisponibilité des contaminants), ou minorés par d'autres paramètres du milieu (disponibilité nutritive). La dépendance chronologique entre exposition et apparition des effets (selon le type de descripteur) est également un élément dont la compréhension requiert un suivi à pas de temps fin (délai temporel d'apparition de la réponse, et de récupération éventuelle), périodique (variations saisonnières de la contamination et des réponses, voir par exemple Bonet et al. 2013), et adapté à la fréquence de l'exposition (contamination chronique ou sous forme de pulses, Tlili et al. 2008).

# IV. Rôle de l'histoire de vie des communautés étudiées, et des interactions biotiques en conditions de milieu complexes.

Une meilleure évaluation du risque impose, enfin, de considérer la dimension écologique, c'est-à-dire la part de variabilité découlant de facteurs liés à la biologie des organismes (notamment les stades de développement), et à leur appartenance à un environnement vivant, également en interaction avec les perturbations éventuelles du milieu. Il s'agit donc de discriminer les réponses adaptatives "naturelles", qui découlent de la physiologie des organismes et de leurs relations avec leur "environnement biologique", et les réponses au stress chimique.

Les relations entre les espèces contribuent à la détermination des patrons d'assemblages observés dans les communautés, avec une importance variable selon l'échelle spatiale et temporelle, et les conditions écologiques du milieu. Concernant les communautés périphytiques, ces relations sont principalement de trois types : compétition, facilitation, et prédation.

## IV.1. "Histoire de vie" des communautés biologiques.

L'un des premiers facteurs à considérer est l'aspect historique [A37, A47], c'est-à-dire les conditions de milieu dans lesquelles les communautés biologiques se sont développées et, dans le cas d'une préexposition, qui ont pu les conduire à une adaptation, physiologique, génétique, structurelle…

Ces processus historiques couvrent une large gamme de déterminants intrinsèques des communautés, et environnementaux. D'une part, la maturité du biofilm (son "stade de développement") conditionne pour partie sa sensibilité à une exposition toxique. Par la mise en place progressive, au fil de son développement, d'une structure épaisse, cohésive, le biofilm peut atteindre une épaisseur suffisante (éventuellement variable selon les conditions nutritives, hydrologiques…), au sein de laquelle s'établissent des gradients physicochimiques. Teitzel et Parsek (2003) ont par ailleurs rapporté l'existence, en conditions de pollution, de couches superficielles de cellules mortes pouvant créer une barrière supplémentaire à l'entrée des contaminants (Fig. 20). D'une manière générale, les biofilms "matures" sont considérés comme moins sensibles à la pollution toxique [A4, A9 par exemple].

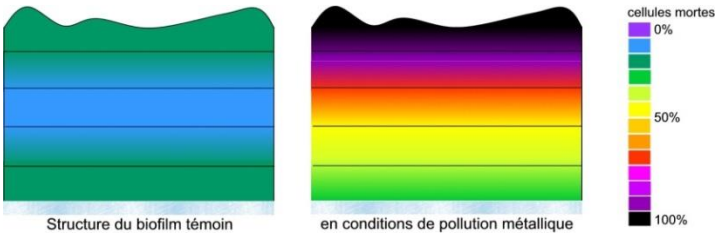



***Figure 20.*** *En condition d'exposition aux métaux, les couches superficielles du biofilm mature sont préférentiellement constituées de cellules mortes, formant une barrière protectrice pour les organismes des strates inférieures (Teitzel & Parsek 2003).*

Néanmoins, la matrice périphytique ne constitue pas un ensemble homogène : cette structure tridimensionnelle est traversée de "canaux de pores" longitudinaux qui alimentent, depuis les couches superficielles du biofilm (en contact direct avec les eaux) jusqu'aux niveaux inférieurs (proches du substrat), les cellules en solutés. L'existence de tels canaux dans le biofilm suggère qu'une partie des contaminants est encore susceptible d'atteindre les organismes des couches inférieures du biofilm le long de ces canaux de pores, avec un appauvrissement des concentrations, par ab/adsorption progressive (par la matrice exopolysaccharidique et les cellules), au fil du "linéaire" de canaux.

L'historique d'exposition au sens large, aux toxiques en particulier, joue également un rôle majeur dans la sensibilité des organismes qui composent le biofilm à la pollution. La fréquence d'exposition et les caractéristiques des événements toxiques (chronique vs. sous forme de pulses) peuvent déterminer la stabilité, ou au contraire la saisonnalité des impacts, via une sélection contrastée des organismes, qui se maintient ou se résorbe dans le temps. L'échelle temporelle à laquelle commencent à s'observer les impacts est variable selon les descripteurs. Selon le type de contamination, on peut s'attendre à l'expression d'impacts au niveau physiologique principalement pour les contaminations événementielles, auxquels s'ajoutent des processus adaptatifs et de sélection spécifique dans le cas des épisodes de contamination plus durable. Par ailleurs, la préexposition à une substance, et la sélection d'organismes qui en résulte, conditionnera les réponses ultérieures du biofilm à l'arrivée d'une nouvelle contamination (Tlili et al. 2008, Tlili et al. 2011a), cas susceptible de se produire, notamment, en zones agricoles où différents traitements phytosanitaires sont appliqués au cours de l'année. La sélection d'espèces, ou l'adaptation de ces dernières résultant de cette préexposition, pourra résulter en diverses capacités à, soit supporter de manière plus efficace une nouvelle contamination (tolérance ou cotolérance), soit à être plus vulnérable à celle-ci (cosensibilité) (Tlili et al. 2011b).

## IV.2. Interactions biotiques et réponses indirectes à la pression toxique.

### IV.2.1. Architecture tridimensionnelle des communautés diatomiques et relations entre espèces

En raison du gradient d'exposition existant dans les différentes couches de l'épaisseur du biofilm, la position des espèces de diatomées (leur forme de croissance, leur posture) dans l'architecture spatiale de la communauté est un élément majeur de l'interprétation de la réponse spécifique aux toxiques. Les arguments permettant la discussion de leur niveau d'exposition direct au sein de l'épaisseur du biofilm ont été développés en IV.1. Certains éléments, cependant, sont à souligner : le cas des espèces non fixées, mobiles, susceptibles de s'affranchir des contraintes dues à une exposition passive. Leur capacité à se déplacer au sein du biofilm leur fournit une possibilité d'accès préférentiel à certaines ressources (lumière, nutriments) en superficie du biofilms en conditions favorables, ressources auxquelles parviennent généralement plus facilement les espèces érigées (Burkholder et al. 1990, Passy 2007). Quand l'environnement se fait plus hostile, ces espèces ont alors une possibilité d'évitement de l'exposition toxique, et peuvent se réfugier dans les strates inférieures du biofilm [hypothèse partiellement testée dans A40]. Les espèces motiles sont ainsi souvent bien représentées dans les communautés soumises à une pression toxique (Paule et al. 2013, Roubeix et al. 2011), de même que les espèces prostrées, fortement adhérentes au substrat [A34, T7], lesquelles tirent profit de leur position éloignée du maximum de contamination.

D'autre part, la prépondérance des déterminants biotiques dans la réponse biologique suite à une exposition toxique ressort également au travers de la contribution de l'immigration d'espèces dans le potentiel de récupération des communautés [A26-27]. Nous avons pu, en conditions contrôlées de laboratoire, démontrer un retour à la structure et à un fonctionnement comparables aux témoins, pour des communautés pré-exposées au cuivre, puis placées en conditions non contaminées, avec une

connexion à des communautés non impactées ("pool amont" d'espèces). En revanche, les mêmes communautés pré-exposées, sans apport "de l'amont" et bien que dans les mêmes conditions chimiques, ne récupéraient pas totalement (Fig. 21).

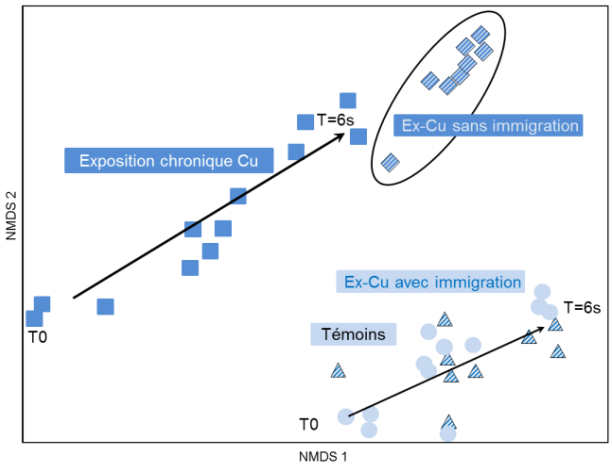



***Figure 21.*** *NMDS basée sur les abondances relatives des différentes espèces de diatomées (distance de Bray Curtis) : trajectoires d'évolution en conditions témoin, d'exposition continue au cuivre, et en conditions de "récupération post exposition" avec ou sans immigration d'espèces provenant des conditions non contaminées. En cas de connexion avec un pool d'espèces "amont" (Ex-Cu avec immigration), la trajectoire de la communauté rejoint dès deux semaines celle des témoins, contrairement aux communautés pré-exposées sans apports exogènes d'espèces (Ex-Cu sans immigration) [A26].*

Ces travaux de laboratoire témoignent du rôle bénéfique (pour une récupération aval post-restauration) que joue le maintien de la connectivité avec des zones amont "non impactées". Cependant, la contribution relative dans la récupération de la recolonisation par les nouveaux "immigrants" d'une part, et des taux de remplacement spécifiques (species turnover) des espèces déjà en place (préalablement sélectionnées par le cuivre) d'autre part, n'a pu être quantifiée précisément et nécessiterait de plus amples recherches. Ces premiers résultats démontrent néanmoins la contribution significative à la récupération des nouveaux immigrants plus favorisés par les nouvelles conditions environnementales, et leur capacité à modifier la trajectoire d'évolution "post levée de pression" des communautés. Les interactions entre espèces, voire individus (ici compétition certainement, mais probablement aussi facilitation entre immigrants et "résistants"), jouent donc un rôle dans la réponse des communautés à une pression toxique, dont l'ampleur reste à établir. Il est vraisemblable qu'en conditions de contamination, là où l'on observe des sélections d'espèces liées à la pression de contamination, le même type de relations interspécifiques (compétition, facilitation) se mette en place. Dans ces conditions, on peut s'attendre à une compétition accrue entre espèces partageant les mêmes traits, et une facilitation entre espèces dont les caractéristiques diffèrent (Vanelslander et al. 2009).

### IV.2.2. Interdépendance des compartiments biologiques constituant le biofilm

Dans les biofilms, la proximité spatiale des organismes périphytiques, présentant des stratégies de vie diversifiées, engendre de nombreuses possibilités d'interactions autres que celles déclinées ci-dessus (compétition pour la ressource : IV.2.1, protection : IV.1). Notamment, les populations microbiennes entretiennent constamment des relations de syntrophisme, qui se manifestent, entre autres, par l'utilisation bactérienne d'exsudats algaux libérés au cours de la photosynthèse, et en retour, par la consommation algale des nutriments inorganiques produits par la minéralisation hétérotrophe. Des relations de prédation ont également lieu, et seront décrites en IV.3.2.

Dans le micro-écosystème périphytique, les réponses aux stress environnementaux dépendent initialement des impacts sur les organismes-cibles, mais les effets observés dans l'ensemble retranscrivent globalement une chaine complexe d'effets directs et indirects. Proia et al. (2012) décrivent, pour les compartiments périphytiques autotrophes et hétérotrophes, des effets directs (attendus) sur les espèces cibles, mais également sur les espèces non cibles (dus à des modes d'action non connus), dans des proportions moindres cependant. Les impacts attendus sont variables selon la durée d'exposition avec, schématiquement, des réponses fonctionnelles principalement, et une récupération rapide, dans le cas d'une exposition aiguë. Les effets indirects sont donc d'ordre fonctionnel, et supposés transitoires. Au contraire, la pollution chronique provoque des impacts directs structurels, plus tardifs. Alors, les conséquences prévues sur les relations entre compartiments s'opèrent aux niveaux structurel et fonctionnel, vraisemblablement plus durables.

Pour illustrer ces impacts indirects, nous avons étudié au cours de ma mobilité à l'Universitat de Girona la toxicité du triclosan, substance bactéricide entrant dans la composition de nombreux produits cosmétiques et pharmaceutiques. L'application de ce bactéricide sur des biofilms naturels a confirmé sa toxicité indirecte sur les diatomées, liée aux interactions biotiques entre diatomées et bactéries, la mortalité bactérienne accrue s'ensuivant d'une augmentation de la mortalité de la communauté diatomique [A11, A17]. Quoiqu'un effet direct, plus tardif, du triclosan sur les diatomées soit possible, l'explication la plus probable réside dans le rôle fondamental que jouent les bactéries dans le développement des diatomées ; il est illustré par la difficulté de culture axénique de ces dernières (Bruckner et Kroth 2009). On peut citer, entre autres, les travaux de Croft et al. (2005) qui décrivent une consommation par les algues de vitamines produites par les bactéries. Le suivi de la récupération des communautés post exposition, cependant, révélait un retour à la normale des caractéristiques structurelles et fonctionnelles de ces deux composantes relativement rapide (de quelques jours à quelques semaines), démontrant la capacité de ces biofilms à supporter des contaminations fugaces périodiques au triclosan.

Toutefois, des contaminations toxiques sporadiques peuvent, dans certains cas particulièrement défavorables, conduire à un déséquilibre complet de la communauté périphytique. Lainé et al. [A34], par exemple, ont mis en évidence en aval d'une usine aux rejets chimiques ponctuels une hétérotrophisation du biofilm, avec un développement bactérien (*Sphaerotilus* sp.) intense, au détriment de la biomasse algale. Ce cas extrême peut révéler une contamination ciblant principalement le compartiment autotrophe (non confirmée par les analyses réalisées sur d'autres maillons biologiques également touchés), ou plus vraisemblablement traduire la tolérance élevée de *Sphaerotilus* aux toxiques présents et sa capacité compétitive accrue dans ces conditions de milieu.

L'amplitude de la dégradation des relations entre compartiments autotrophe et hétérotrophe, ainsi que la réversibilité éventuelle du déséquilibre, constituent des éléments dont la prise en compte doit permettre une meilleure compréhension, et à terme un meilleur diagnostic, de l'impact de toxiques. A ces interactions entre organismes (qui seront modulées par le contexte nutritif), s'ajoutent un facteur de forçage biologique complémentaire : la prédation des microorganismes par divers consommateurs, qui peut également moduler les réponses aux toxiques observées dans les communautés périphytiques, notamment les assemblages diatomiques (IV.3).

## IV.3. Insertion dans le réseau trophique : impacts additionnels des prédateurs.

La biomasse algale périphytique (voire la structure spécifique), est sous contrôle permanent des réseaux trophiques supérieurs. Le broutage intervient donc potentiellement, au même titre que les autres facteurs biologiques agissant indirectement, dans la modulation de la réponse observée des communautés de diatomées aux contaminants. Les conséquences spécifiques d'une exposition toxique et du broutage, et le résultat attendu de leur combinaison, sont schématisés dans la Fig. 22.

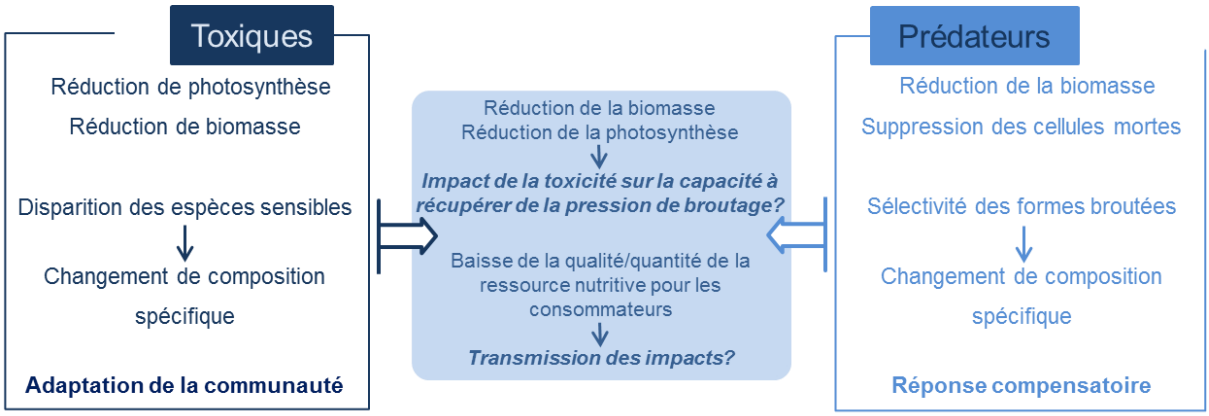



***Figure 22.*** *Impacts potentiels, individuels et combinés, des toxiques et de la prédation sur les biofilms périphytiques (la composante diatomique en particulier). D'après Guasch et al. [A43]*

Nos études de l'impact des relations entre biofilm et prédateurs en conditions toxiques s'intéressent à différents brouteurs potentiels : la macrofaune (IV.3.1) et, plus récemment, la micro-méiofaune des biofilms (IV.3.2).

### IV.3.1. Impact de la macrofaune herbivore sur les biofilms, conséquences en termes d'impact toxique à l'échelle trophique supérieure.

Différents compartiments de la macrofaune aquatique sont des brouteurs potentiels de biofilm. La pression d'herbivorie exercée par les macroinvertébrés, en conditions toxiques, est généralement étudiée à des fins de caractérisation du transfert trophique des contaminants (Guasch et al. 2012) et de la transmission potentielle des impacts. Cependant, des travaux récents (López-Doval et al. 2010) se sont également attachés à caractériser les éventuelles interactions entre pression toxique (diuron) et de broutage (*Physella acuta*) sur la réponse du biofilm. Dans cette chaine alimentaire simplifiée, aucun impact du diuron n'était avéré, à la dose testée, sur les macroinvertébrés, en revanche l'activité photosynthétique du biofilm était significativement réduite par l'exposition au pesticide. Aucune interaction entre toxique et brouteurs dans la réponse périphytique n'avait pu être révélée, conséquence probable du choix du contaminant étudié, à mode d'action inhibiteur du photosystème II (ciblant spécifiquement les organismes photosynthétiques) et particulièrement toxique pour le biofilm, avec ou sans pression d'herbivorie.

La mise en place d'un protocole comparable nous a permis d'évaluer l'influence combinée de macroinvertébrés brouteurs (*Radix ovata*) et du triclosan (cf. IV.2.2) sur la biomasse périphytique, et sur les communautés de diatomées en particulier. La consommation de diatomées par les limnées était marquée dès 3h (-25%) d'insertion de la macrofaune dans les systèmes expérimentaux (Fig. 23), et conduisait à une réduction du nombre de diatomées de 80% en seulement 48h. Cet impact quantitatif sur les densités de diatomées, et plus généralement sur la biomasse algale, s'accompagnait néanmoins d'une baisse de la quantité de cellules mortes dans les conditions "+ Brouteurs" et d'une augmentation de la capacité photosynthétique, s'apparentant à un maintien de la communauté dans un état de développement perpétuel ["rejuvenating effet", A43]. Dans ce cas, la présence du bactéricide affectait et les biofilms (bactéries, diatomées) et les macroinvertébrés (mortalité). La combinaison de ces deux paramètres résultait, pour les communautés périphytiques, d'une part en des dommages membranaires provoqués par l'appareil buccal des gastéropodes, et d'autre part en l'évitement de la mise en place d'un biofilm épais, mature.

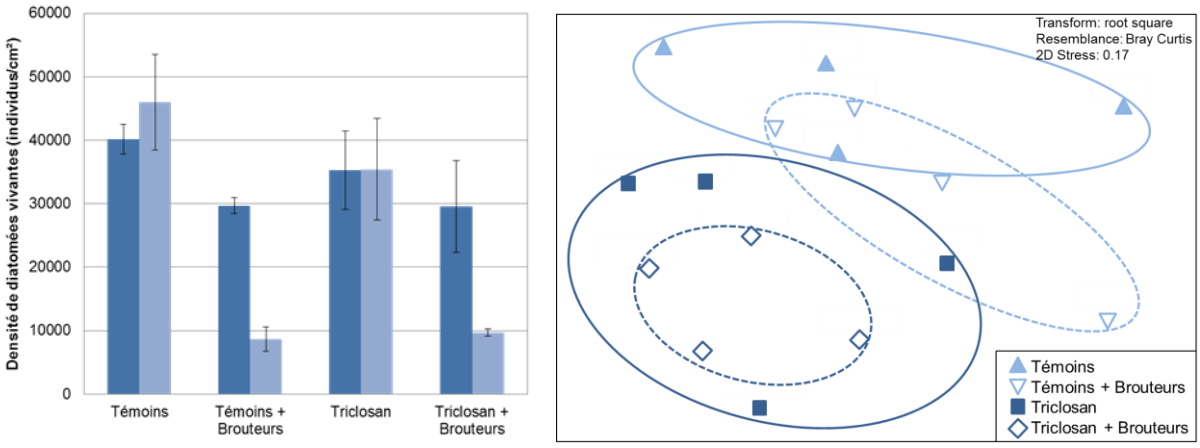



***Figure 23.*** *A droite : Impacts quantitatifs du triclosan et des brouteurs sur la densité de diatomées, 3h (bleu sombre) et 48h (bleu clair) après inoculation des limnées. A gauche : Impacts qualitatifs liés à une modification de la composition spécifique des diatomées (NMDS) après 48 heures [A43].*

Dans le cadre de la thèse de Laura Barral Fraga (en cours), l'objectif est de caractériser les impacts toxiques de l'arsenic dans une chaine trophique simple (biofilms et poissons brouteurs). L'intérêt de cette approche multimaillons réside dans les caractéristiques toxiques du métalloide, dont la spéciation conditionne les cibles biologiques. Plus spécifiquement, l'$As^{V}$, dont les voies sont compétitives avec les orthophosphates, est toxique pour les microalgues. Cependant, ces dernières peuvent le réduire ($As^{III}$) ou le méthyler, et excréter ensuite ces formes qui sont plus toxiques pour les

niveaux trophiques supérieurs. Ainsi, Magellan et al. (2014) ont montré des impacts comportementaux de l'arsenic chez la gambusie (*Gambusia holbrooki*) d'autant plus graves que les eaux alimentant leurs aquariums avaient été en présence de biofilm. Il s'agit désormais de caractériser un impact plus direct, via une transmission liée au broutage, mais également de déterminer dans quelle mesure ces poissons sélectionnent leur nourriture. Certains attributs morphologiques des proies, tels que leur biovolume par exemple, sont en effet directement liés à leur capacité à accumuler (et vraisemblablement à biotransformer) l'arsenic. L'existence d'une sélection, ou non, des espèces broutées, donnera ainsi des éléments de compréhension des risques environnementaux liés à l'arsenic et de la transmission d'effets aux niveaux supérieurs.

### IV.3.2. Broutage au sein du biofilm : vers la prise en compte de la micro-méiofaune

A l'échelle du biofilm des interrelations comparables s'opèrent entre microalgues et microfaune phytophage (protozoaires, métazoaires), avec des relations potentiellement d'autant plus serrées que le biofilm constitue déjà un microécosystème complexe à lui seul. Contrairement aux microalgues etaux bactéries (et aux champignons dans une moindre mesure), la composante micro-méiofaune a été délaissée dans les études récentes consacrées au biofilm (hormis les travaux sur la méiofaune d'Ainhoa Gaudes Saez 2011). La collaboration initiée avec Jacky Vedrenne (spécialiste des hétérotrophes des boues d'épuration) nous a permis de montrer, dans quelques cours d'eau du Sud-Ouest de la France, une importance quantitative majeure (en termes d'effectifs) et une grande biodiversité de ce compartiment (stage de Julie Neury-Ormanni 2014, Fig. 24), que nous avons circonscrit ici aux organismes de 2µm à 2mm.

La variabilité quantitative de la biomasse globale, et de la distribution des compartiments, selon les sites, traduit probablement différents contextes écorégionaux, structurant fortement les communautés. La rivière Luzou apparait en effet beaucoup moins biogène que les trois affluents du bassin d'Arcachon (Leyre, Bourg et Ponteils). La comparaison amont/aval des communautés inventoriées dans ces différents biofilms indique, de plus, une relation intéressante à approfondir entre variation de composition spécifique et contamination toxique. Ainsi, le long de la rivière Leyre considérée comme une référence, la densité en micro-méiofaune augmente sensiblement, alors que les quantités de microalgues diminuent, traduisant probablement un broutage supérieur. A l'aval du Ponteils contaminé par un mélange d'inhibiteurs de la photosynthèse, la biomasse périphytique est exclusivement composée d'hétérotrophes. A l'inverse, dans le ruisseau du Bourg qui draine des terres de production carottières (et où l'on recense des pollutions diffuses en insecticides et fongicides), la proportion de la micro-méiofaune tend à diminuer vers l'aval.

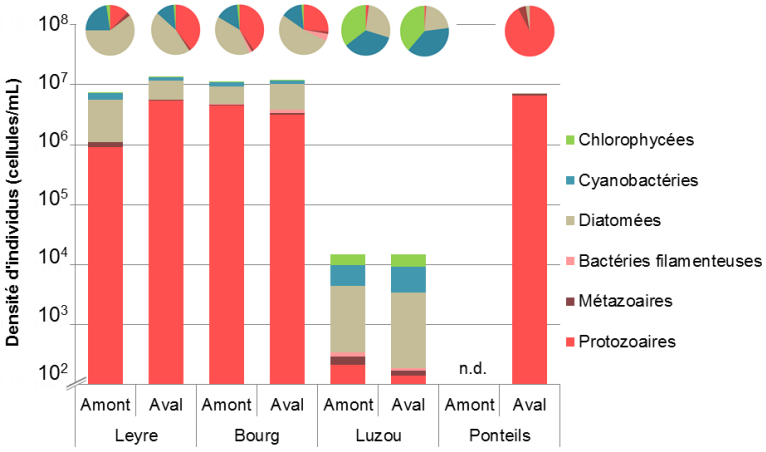



***Figure 24.*** *Effectifs énumérés des différents compartiments périphytiques (histogrammes, échelle logarithmique), et leur distribution relative (secteurs), pour des biofilms matures (1 mois) collectés dans 7 sites du Sud-Ouest de la France (n.d. non déterminés en raison de la perte de substrats).*

Nous envisageons donc de poursuivre ces travaux afin d'approfondir notre connaissance des relations prédateurs/proies au sein du biofilm, notamment au travers de la caractérisation des équilibres entre compartiments biologiques, et du comportement alimentaire des espèces dominant la micro-méiofaune (voir section V). L'amélioration de notre évaluation du risque dépendra de l'importance structurante des interrelations entre chacun de ces compartiments, et du degré de contrôle de ces relations par la contamination toxique.

## V. Perspectives de recherche.

Après avoir exploré les pistes de recherche variées exposées dans les sections précédentes, les orientations qui seront privilégiées à court et moyen terme viseront i) à consolider l'effort de recherche permettant d'affiner continument la caractérisation de la biodisponibilité réelle des toxiques pour organismes, en allant au-delà de l'exposition via la mesure de la contamination dans l'eau ou globalement dans la matrice périphytique et ii) à approfondir l'étude des relations trophiques au sein du biofilm, en prenant en compte les interactions jusqu'ici négligées s'opérant entre microflore et microméiofaune (IV.3.2). Ces évolutions iront évidemment de pair avec le développement de nouveaux indicateurs biologiques d'effet toxique, en collaboration avec divers spécialistes de disciplines scientifiques complémentaires (dont –*omics*).

**Elucidation des cinétiques complexes d'accumulation des pesticides dans les biofilms de cours d'eau : vers une meilleure compréhension de leur biodisponibilité.** Récemment, les recherches s'intéressant aux potentialités du biofilm pour le diagnostic du risque de pollutions phytosanitaires (Kim Tiam 2013) ont souligné la nécessité de mieux caractériser l'exposition réelle des organismes pour mieux interpréter la réponse biologique. Les propriétés de cette matrice complexe en font, en effet, un compartiment capable de piéger de manière différentielle les contaminants, en lien avec les propriétés des substances (hydrophobicité, structure, familles et modes d'action connus) et les caractéristiques du biofilm (maturité). Si les travaux relatifs à la bioaccumulation de métaux dans le biofilm sont nombreux, en revanche il n'existe que très peu d'études s'intéressant aux capacités d'accumulation des contaminants organiques. Les rares connaissances sur le sujet sont restreintes à des études cinétiques de très court terme, et décrivent une accumulation rapide des pesticides (avec la considération unique de la fraction dissoute des contaminants) dans les biofilms, et l'atteinte d'un équilibre en 6 heures seulement (Headley et al. 1998). Cependant, des suivis à plus long terme réalisés récemment par l'équipe (Byers 2012) suggèrent des mécanismes de transfert plus complexes et une cinétique d'accumulation *a priori* biphasique : atteinte d'un premier équilibre après 10 jours d'exposition, puis le démarrage d'une seconde phase d'accumulation par la suite (Fig. 25).

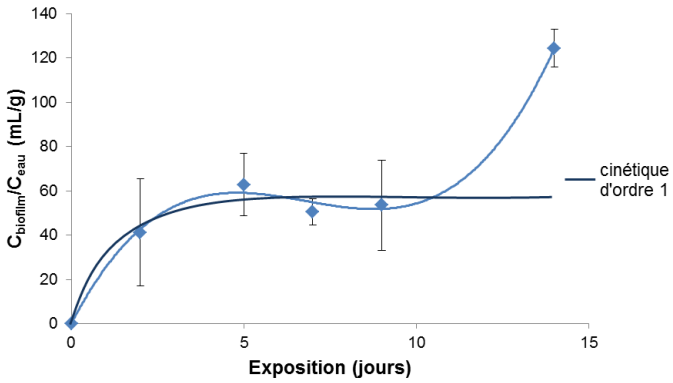



***Figure 25.*** *Variation du facteur de concentration (BCF) en déséthyatrazine (DEA) dans le biofilm et dans l'eau (Byers, 2012) et ajustement d'une cinétique d'ordre 1 durant les 10 premiers jours d'exposition. La bioaccumulation de la DEA semble suivre une cinétique biphasique, dont l'explication peut résider dans les interactions complexes entre propriétés de la substance et caractéristiques biologiques du biofilm (composition, métabolisme).*

Par ailleurs, Lahjiouj et al. (2011) avaient observé des taux d'adsorption sélectifs et variables en fonction des pesticides. En effet, alors que le diuron était massivement accumulé par les biofilms, d'autres herbicides tels que le norflurazon, pourtant de polarité comparable, n'étaient pas quantifiés après 24 h d'exposition. Les résultats obtenus par Harry Byers (2012) confirmaient ce manque de corrélation entre les cinétiques de bioaccumulation et la polarité des substances. Dans la gamme de polarité étudiée (log $K_{ow}$=1,1-4), les constantes cinétiques et d'équilibre semblaient davantage composé/structure-dépendantes.

Or, le développement d'indicateurs écologiquement pertinents du risque lié aux pesticides requiert une meilleure caractérisation de l'exposition des organismes [A21]. Les impacts sur les biofilms ne sont en effet pas toujours directement corrélés à la présence des pesticides dans le milieu. L'exposition toxique réelle des organismes varie spatialement et temporellement, et la mesure ponctuelle de la contamination des eaux (concentration dissoute ou totale) peut s'avérer très éloignée de l'exposition réelle des organismes. La biodisponibilité des contaminants (Gourlay-Francé et al. 2010) est supposée dépendante de la mesure, chimique, du contaminant accumulé par les organismes (bioaccumulation) combinée à la mesure, biologique, de la réponse des organismes à l'exposition

(mesure de la toxicité). Elle dépend donc du devenir des contaminants dans l'environnement (incluant leur transformation éventuelle par des processus abiotiques ou biotiques).

En l'état des connaissances, on peut émettre l'hypothèse d'une accumulation des pesticides en deux temps : une phase initiale d'adsorption rapide à la surface des cellules et/ou dans la matrice exopolysaccharidique, suivie d'une absorption plus tardive à l'intérieur des cellules et/ou de cette même matrice (par diffusion passive, voire également transfert actif). L'éventualité de mécanismes de biodégradation et/ou de modifications structurelles consécutives à la croissance du biofilm (qui influerait probablement sur le type d'interactions) intervenant durant les 2 semaines d'exposition pourrait expliquer ces résultats divergeant des résultats d'Headley et al. (1998) obtenus en 6 h. L'établissement des relations précises entre toxicocinétique et apparition des impacts toxiques sur les biofilms impose de quantifier les contaminants dans les différents compartiments mis en jeu (eau, matrice exopolysaccharidique, biofilm global), puis de suivre le devenir de ces composés (biotransformation), et de caractériser précisément les cinétiques d'échange au sein de ces différents compartiments. L'ensemble de ces éléments donnera lieu à des propositions de modèles toxicocinétiques adaptés au biofilm, en fonction des propriétés variées des pesticides étudiés. Il conviendra, lors de la modélisation toxicocinétique des substances, de prendre en compte divers descripteurs biologiques (dont la croissance, la mortalité, et divers marqueurs d'impacts) qui n'ont pas été évalués lors des études antérieures. L'étude des effets toxiques (sur la mortalité, la croissance, le métabolisme) au cours de la cinétique d'accumulation menée en parallèle permettra d'évaluer les stades où les contaminants sont potentiellement "biodisponibles". Il s'agira également de relier les modes d'actions connus et les effets mesurables par ailleurs (croissance, rendement photosynthétique, activités enzymatiques, etc.) avec les mécanismes et les cinétiques d'échange.

Mieux évaluer la biodisponibilité des pesticides suppose de comprendre, d'un point de vue plus mécanistique que les approches exposées en III.2, la toxicocinétique des contaminants dans la matrice complexe que représente le biofilm. Divers objectifs sont ainsi poursuivis : améliorer la description et la compréhension des cinétiques d'accumulation des pesticides dans le biofilm permettra de caractériser plus finement la représentativité de la mesure de l'exposition et des effets toxiques associés (travaux engagés dans la thèse d'Aude Gandon, 2013-2014). L'approche proposée pour identifier les compartiments par lesquels transite le contaminant organique dissous avant d'atteindre (ou non) les cellules et provoquer un impact toxique s'apparente à une application simplifiée d'un modèle de type ADME[12] au "super-organisme" biofilm : bioaccumulation dans la matrice exopolysaccharidique (EPS) et/ou directement les cellules, accès à la cellule cible et impact éventuel, mécanismes de détoxification (Fig. 26).

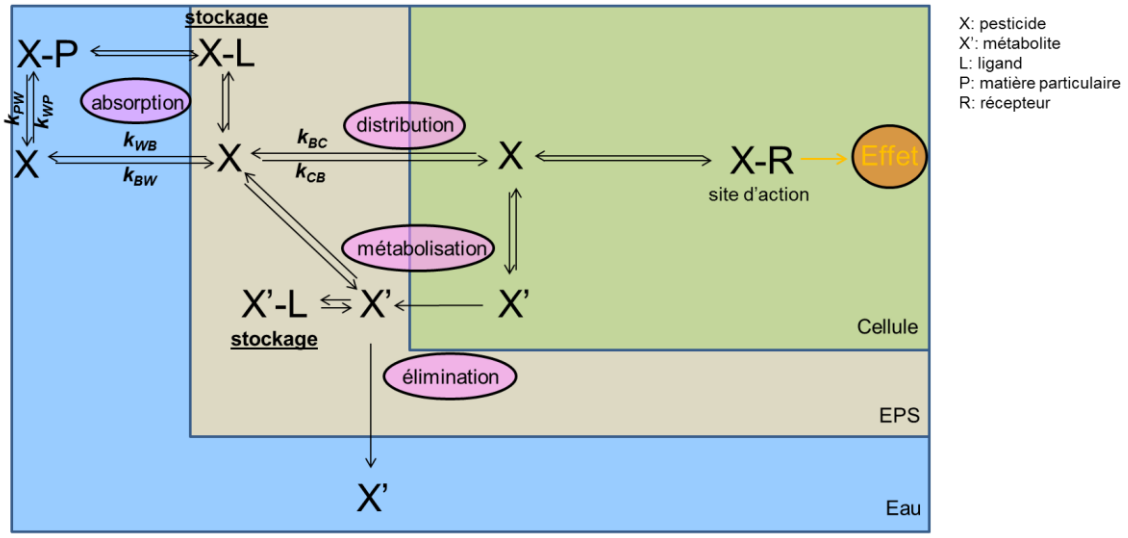



*Figure 26. Représentation simplifiée des différents compartiments et constantes cinétiques associées, pour les mécanismes de transfert (adsorption, diffusion, distribution, etc.) et impacts des pesticides au sein du biofilm.*

Ces travaux sont envisagés dans le cadre d'une nouvelle thèse à démarrer prochainement, et devraient concourir à renforcer les échanges avec l'ICRA (collaboration envisagée avec Sara Rodriguez Mozaz).

[12] ADME : administration – distribution – métabolisation – excrétion

**Prédation à l'échelle du biofilm : Dans quelle mesure les relations internes au biofilm conditionnent-elles la réponse toxique observée ?** Les premiers travaux présentés en IV.3.2. nous ont permis de chiffrer l'importance quantitative de la micro-méiofaune dans la communauté périphytique de différentes rivières du sud-ouest de la France. Les taux horaires de broutage issus de la revue bibliographique sont estimés à 3-6 diatomées/cilié (McCormick 1991), et jusqu'à 13,5 diatomées/rotifère (Borchardt et Bott 1995). Ces valeurs suggèrent des quantités potentiellement broutées, sur la durée d'immersion des supports dont la biomasse a été caractérisée en Fig. 24, supérieures de plusieurs ordres aux nombres de diatomées comptabilisées réellement.

Les microbrouteurs peuvent donc jouer un rôle majeur dans le contrôle de la biomasse algale dans les biofilms ; la compréhension des liens trophiques (alimentation, principaux prédateurs) peut donc permettre d'améliorer notre évaluation des impacts toxiques des contaminants.

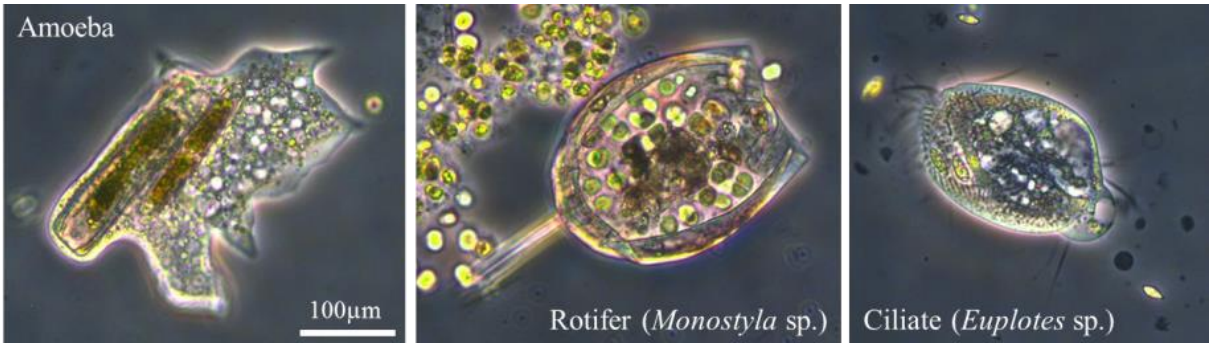



***Figure 26.*** *Microphotographies de divers prédateurs composant la micro-méiofaune périphytique. Bott (1996) reporte de nombreux cas d'ingestion par certains microbrouteurs de microalgues de taille supérieure, par distension. Il mentionne également une capacité d'assimilation simultanée de grands nombres d'individus (plus de 100 diatomées à la fois).*

Nous envisageons de poursuivre les travaux exposés en IV.3.2 dans le cadre d'un projet soumis à l'ANR (projet JCJC BioMMAN). Concrètement, il s'agira dans un premier temps de mieux caractériser la biodiversité de la micro-méiofaune dans les environnements lotiques, et de modéliser les relations fondamentales qu'entretiennent les prédateurs avec leurs proies. L'influence de la disponibilité nutritive (densité de diatomées), et de la pollution toxique, sera prise en compte pour la construction de modèles trophiques à l'échelle du biofilm.

Compte tenu du fait que les mêmes facteurs environnementaux (lumière, température, substances dissoutes dont les polluants toxiques) structurent les communautés de microalgues et la micro-méiofaune (de Puytorac et al. 1987), leurs dynamiques conjointes sont susceptibles d'être affectées. Nous faisons ici l'hypothèse que les relations proie-prédateur dans les rivières atteignent rapidement (1 mois) un état stable, mais que cet équilibre est impacté par diverses perturbations (pollution toxique notamment), pour aboutir finalement soit à un nouvel état stable avec maintien des fonctions, ou un dysfonctionnement de l'écosystème. Il s'agit, par conséquent, de répondre aux questions suivantes :

- Les organismes de la micro-méiofaune ont-ils des préférences de broutage, sélectionnant ainsi pour certaines espèces (notamment diatomées)? Le cas échéant, le choix des proies dépend-il des attributs morphologiques des diatomées, et/ou des modes d'alimentation des prédateurs (moyens de capture et caractéristiques de digestion, notamment) ? Cette sélection augmente-t'elle la vulnérabilité de ce micro-écosystème aux perturbations?

- Comment les facteurs de stress environnementaux (naturels ou anthropiques) structurent-ils, directement et indirectement, les deux communautés en termes de biodiversité et de traits (caractéristiques écologiques non taxonomiques)? La stabilité de leurs relations est-elle menacée?

- Les relations proies-prédateurs au sein des biofilms peuvent-elles être modifiées par les conditions environnementales?

Les interactions complexes qui s'opèrent dans l'environnement naturel, dans les relations entre organismes, et des organismes à leur environnement, dont j'espère avoir souligné l'importance dans ce manuscrit, requièrent encore un effort de recherche fondamentale et appliquée pour une évaluation plus convaincante du risque écotoxique. La compréhension de la complexité des interactions majeures en jeu, et des rétro-influences qu'exercent les uns sur les autres ces différents facteurs, est un objectif stimulant, propice à l'interdisciplinarité, qui fournit un excellent socle à la formation par la recherche des étudiants : investigations attrayantes, avec une dimension environnementale évidente, connectées à des enjeux tant fondamentaux que sociétaux.

L'initiation et l'encadrement de jeunes scientifiques (notamment doctorants et post doctorants) sont des aspects extrêmement motivants de ces recherches, au niveau de l'accompagnement professionnel et humain : préparation des futurs chercheurs et leur insertion dans un réseau collaboratif durable, mais également en termes de promotion d'une recherche de qualité et approfondie sur une thématique spécifique, qui s'accompagne d'une ouverture scientifique liée à la nouveauté/l'originalité du regard du nouvel arrivant sur sa thématique. L'approche parfois naïve de ces jeunes chercheurs permet de promouvoir une recherche "décomplexée", où même les pistes les plus saugrenues sont susceptibles d'être examinées, et conduisent parfois à de véritables innovations.

En conclusion de ce mémoire, qui synthétise onze ans de recherche doctorale et post doctorale, je crois qu'il est important de souligner, dans le contexte compétitif actuel de la recherche, la place importante de la discussion interdisciplinaire, de la réflexion conjointe et de la confrontation d'idées. Les différents champs de recherche peuvent, et doivent, s'alimenter les uns les autres, ou s'allier pour contribuer à résoudre des problèmes communs à tous. Ces échanges peuvent être perçus, à court terme, comme une "perte de temps", et sont effectivement souvent chronophages. C'est pourtant du manque de communication entre spécialistes, du déficit de ponts entre disciplines, que la réponse aux attentes sociétales souffre aujourd'hui. Il me semble donc primordial de tendre vers une ouverture large aux différents champs scientifiques, et la structuration actuelle d'Irstea (et en particulier de l'équipe CARMA), constitue un environnement privilégié qu'il s'agit de préserver, pour proposer une recherche originale et résolument pluridisciplinaire.

# VI. Références bibliographiques.


**Arini A**. 2011. Décontamination métallique et capacités de récupération de deux composantes biologiques d'un hydrosystème naturel - biofilms diatomiques et bivalves filtreurs - après remédiation d'un site industriel. PhD thesis - Univ. Bordeaux 1, Ecole Doctorale Sciences et Environnements.

**Barral Fraga L**. en cours. Estudio de la biodisponibilidad y toxicidad del arsénico en sistemas fluviales a través del análisis del biofilm fluvial y especies piscícolas. PhD thesis - Univ. Girona.

**Behra R, Landwehrjohann R, Vogel K, Wagner B, Sigg L**. 2002. Copper and zinc content of periphyton from two rivers as a function of dissolved metal concentration. *Aquatic Sciences* 64: 300-306.

**Bertrand J**. 1999. Mouvements des diatomées VI. Les efforts pendant le déplacement apical. Mesures, analyses, relations : longueur, vitesse, force. *Cryptogamie Algologie* 20: 43-57.

**Blanck H, Wängberg SA, Molander S**. 1988. Pollution-Induced Community Tolerance - A new ecotoxicological tool. Functional Testing of Aquatic Biota for estimating Hazards of Chemicals. Philadelphia: Cairns J. Jr, Pratt J.R. (Eds), 219-230.

**Bonet B, Corcoll N, Acuňa V, Sigg L, Behra R, Guasch H**. 2013. Seasonal changes in antioxidant enzyme activities of freshwater biofilms in a metal polluted Mediterranean stream. *Science of the Total Environment* 444: 60-72.

**Borchardt MA, Bott TL**. 1995. Meiofaunal grazing of bacteria and algae in a Piedmont stream. *Journal of the North American Benthological Society* 14: 278-298.

**Bott TL**. 1996. Algae in microscopic food webs. *In* Stevenson RJ, Bothwell ML, Lowe RL, eds. Algal ecology: freshwater benthic ecosystems, Academic Press, San Diego,

**Boulêtreau S, Charcosset J-Y, Gamby J, Lyautey E, Mastrorillo S, Azémar F, Moulin F, Tribollet B, Garabetian F**. 2011. Rotating disk electrodes to assess river biofilm thickness and elasticity. *Water Research* 45: 1347-1357.

**Brack W**. 2003. Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures? *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 377: 397-407.

**Bruckner CG, Kroth PG**. 2009. Protocols for the removal of bacteria from freshwater benthic diatom cultures. *Journal of Phycology* 45: 981-986.

**Burkholder JM, Wetzel RG, Klomparens KL**. 1990. Direct comparison of phosphate uptake by adnate and loosely attached microalgae within an intact biofilm matrix. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 2882-2890.

**Byers H**. 2012. Etude de la bioaccumulation des pesticides dans les biofilms de rivière et comparaison avec les cinétiques d'échange dans l'échantillonneur passif POCIS. M2 Recherche QUALENC. Univ. Bordeaux I.

**Calabrese EJ**. 2005. Paradigm lost, paradigm found: The re-emergence of hormesis as a fundamental dose response model in the toxicological sciences. *Environmental Pollution* 138: 378-411.

**Chen Y, Hu C, Hu X, Qu J**. 2009. Indirect photodegradation of amine drugs in aqueous solution under simulated sunlight. *Environmental Science & Technology* 43: 2760-2765.

**Chin Y-P, Miller PL, Zeng L, Cawley K, Weavers LK**. 2004. Photosensitized degradation of bisphenol A by Dissolved Organic Matter. *Environmental Science & Technology* 38: 5888-5894.

**Clements WH, Rohr JR**. 2009. Community responses to contaminants: Using basic ecological principles to predict ecotoxicological effects. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28: 1789-1800.

**Cohn SA**. 2001. Photo-stimulated effects on diatom motility. Photomovement, Häder, D.-P. & M. Lebert, Elsevier Science B.V., 375-401.

**Cohn SA, Bahena M, Davis J, Ragland RL, Rauschenberg C, Smith B**. 2004. Characterisation of the diatom photophobic response to high irradiance. *Diatom Research* 19: 167-179.

**Coquillé N**. en cours. Influence de la qualité de la matière organique dissoute sur la toxicité des pesticides vis-à-vis des microalgues le long d'un continuum eau douce-eau marine PhD thesis - Univ. Bordeaux, Ecole Doctorale Sciences Chimiques.

**Cory RM, McNeill K, Cotner JP, Amado A, Purcell JM, Marshall AG**. 2010. Singlet oxygen in the coupled photochemical and biochemical oxidation of Dissolved Organic Matter. *Environmental Science & Technology* 44: 3683-3689.

**Coste M, Boutry S, Tison-Rosebery J, Delmas F**. 2009. Improvements of the Biological Diatom Index (BDI): Description and efficiency of the new version (BDI-2006). *Ecological Indicators* 9: 621-650.

**Croft MT, Lawrence AD, Raux-Deery E, Warren MJ, Smith AG**. 2005. Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature* 438: 90-93.

**de Puytorac P, Grain J, Mignot JP**. 1987. Précis de protistologie: Société Nouvelle des Editions Boubée.

**de Zwart D, Posthuma L**. 2005. Complex mixture toxicity for single and multiple species: Proposed methodologies. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24: 2665-2676.
**Debenest T**. 2007. Caractérisation de l'impact des pollutions agricoles sur les diatomées benthiques. PhD thesis - Univ. Bordeaux 1, Ecole Doctorale Sciences du Vivant, Géosciences et Sciences de l'Environnement.
**Delgado C, Pardo I, García L**. 2010. A multimetric diatom index to assess the ecological status of coastal Galician rivers (NW Spain). *Hydrobiologia* 644: 371-384.
**Dorigo U, Berard A, Rimet F, Bouchez A, Montuelle B**. 2010. *In situ* assessment of periphyton recovery in a river contaminated by pesticides. *Aquatic Toxicology* 98: 396-406.
**Duong TT**. 2006. Réponses des Diatomées fixées aux pollutions organiques et métalliques dans l'hydrosystème Nhue-Tolich (Hanoï, Vietnam) et dans l'hydrosystème Lot-Riou Mort (France). PhD thesis - Univ. Bordeaux 1, Ecole Doctorale Sciences du Vivant, Géosciences et Sciences de l'Environnement.
**Ernst WHO, Verkleij JAC, Schat H**. 1992. Metal tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica* 41: 229-248.
**Faggiano L, de Zwart D, García-Berthou E, Lek S, Gevrey M**. 2010. Patterning ecological risk of pesticide contamination at the river basin scale. *Science of the Total Environment* 408: 2319-2326.
**Falasco E, Bona F, Badino G, Hoffmann L, Ector L**. 2009. Diatom teratological forms and environmental alterations: a review. *Hydrobiologia* 623: 1-35.
**Figueira E, Freitas R, Guasch H, Almeida SP**. 2014. Efficiency of cadmium chelation by phytochelatins in Nitzschia palea (Kützing) W. Smith. *Ecotoxicology* 23: 285-292.
**Fore LS, Grafe C**. 2002. Using diatoms to assess the biological condition of large rivers in Idaho (U.S.A.). *Freshwater Biology* 47: 2015-2037.
**Gardia-Parege C**. en cours. Développement d'une approche dirigée par des bioessais (Effect Directed Analysis, EDA). PhD thesis - Univ. Bordeaux, Ecole Doctorale Sciences Chimiques.
**Gaudes Saez A**. 2011. Freshwater meiofauna in Mediterranean lotic systems: community structure, adaptations and contribution to functional processes. PhD thesis - Universitat de Barcelona.
**Ghiglione J-F, Martin-Laurent F, Stachowski-Haberkorn S, Pesce S, Vuilleumier S**. 2014. The coming of age of microbial ecotoxicology: report on the first two meetings in France. *Environmental Science and Pollution Research*: 1-5.
**Gold C**. 2002. Etude des effets de la pollution métallique(Cd/Zn) sur la structure des communautés de diatomées périphytiques des cours d'eau. Approches expérimentales in situ et en laboratoire: PhD thesis - Univ. Bordeaux 1, Ecole Doctorale Sciences du Vivant, Géosciences et Sciences de l'Environnement.
**Gourlay-Francé C, Delmas F, Mazzella N, Tusseau-Vuillemin M-H**. 2010. Que sait-on de la biodisponibilité des contaminants dissous dans le milieu aquatique ? *Sciences Eaux & Territoires* 1: 6-11.
**Gregorio V, Chèvre N, Junghans M**. 2013. Critical issues in using the common mixture toxicity models concentration addition or response addition on species sensitivity distributions: A theoretical approach. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32: 2387-2395.
**Griffith MB, Hill BH, Herlihy AT, Kaufmann PR**. 2002. Multivariate analysis of periphyton assemblages in relation to environmental gradients in Colorado rocky mountain streams. *Journal of Phycology* 38: 83-95.
**Guasch H, Sabater S**. 1998. Light history influences the sensitivity to atrazine in periphytic algae. *Journal of Phycology* 34: 233-241.
**Guasch H, Navarro E, Serra A, Sabater S**. 2004. Phosphate limitation influences the sensitivity to copper in periphytic algae. *Freshwater Biology* 49: 463-473.
**Guasch H, Ivorra N, Lehmann V, Paulsson M, Real M, Sabater S**. 1998. Community composition and sensitivity of periphyton to atrazine in flowing waters: the role of environmental factors. *Journal of Applied Phycology* 10: 203-213.
**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.
**Harman C, Allan IJ, Vermeirssen ELM**. 2012. Calibration and use of the polar organic chemical integrative sampler—a critical review. *Environmental Toxicology and Chemistry*: 2724-2738.
**Headley JV, Gandrass J, Kuballa J, Peru KM, Gong Y**. 1998. Rates of sorption and partitioning of contaminants in river biofilm. *Environmental Science & Technology* 32: 3968-3973.
**Hill BH, Herlihy AT, Kaufmann PR, Stevenson RJ, McCormick FH, Johnson CB**. 2000a. Use of periphyton assemblage data as an index of biotic integrity. *Journal of the North American Benthological Society* 19: 50-67.

**Hill WR, Bednarek AT, Larsen IL**. 2000b. Cadmium sorption and toxicity in autotrophic biofilms. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57: 530-537.
**Hooper DU, Chapin FS, Ewel JJ, Hector A, Inchausti P, Lavorel S, Lawton JH, Lodge DM, Loreau M, Naeem S, Schmid B, Setälä H, Symstad AJ, Vandermeer J, Wardle DA**. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* 75: 3-35.
**Karr JR, Chu EW**. 1997. Biological monitoring and assessment: using multimetric indexes effectively. University of Washington, EPA 235-R97-001, p.
**Kim Tiam S**. 2013. Effets de mélanges de pesticides sur les biofilms périphytiques d'eau douce. PhD thesis - Univ. Bordeaux 1, Ecole Doctorale Sciences et Environnements.
**Kohonen T**. 1995. Self organizing maps: Heidelberg.
**Lahjiouj F, Margoum C, Tlili A, Montuelle B, Coquery M**. 2011. Développement d'une méthode de dosage des pesticides dans le biofilm et étude des cinétiques d'adsorption. XXXXIème Congrès du Groupe Français des Pesticides, Orléans.
**Lambert A-S**. en cours. Réponse de biofilms microbiens aux pollutions métalliques dans un contexte de changement global : Influence d'une hausse de température. PhD thesis - Univ. Lyon, Ecole Doctorale E2M2.
**Lambert A-S, Pesce S, Foulquier A, Gahou J, Coquery M, Dabrin A**. 2014. Improved short-term toxicity test protocol to assess metal tolerance in phototrophic biofilms: Toward standardization of PICT approaches. *Environmental Science and Pollution Research*.
**Larras F**. 2013. L'approche de modélisation SSD (Species Sensitivity Distributions) appliquée à l'évaluation du risque des herbicides pour les diatomées benthiques : éléments d'amélioration et pertinence écologique. PhD thesis - Univ. Grenoble, Ecole Doctorale SISEO.
**Larras F, Bouchez A, Rimet F, Montuelle B**. 2012. Using bioassays and Species Sensitivity Distributions to assess herbicide toxicity towards benthic diatoms. *PLoS ONE* 7: e44458.
**Laviale M, Prygiel J, Créach A**. 2010. Light modulated toxicity of isoproturon toward natural stream periphyton photosynthesis: A comparison between constant and dynamic light conditions. *Aquatic Toxicology* 97: 334-342.
**Laviale M, Ezequiel J, Serôdio J**. 2011. Réponse comportementale du microphytobenthos à une variation de l'éclairement: mise en évidence expériementale de la migration. *In* Lesniak C, Ector L, Artigas LF, Courcot L, Michel M, Prygiel J, eds. 30ème Colloque de l'ADLaF, Boulogne-sur-Mer, p39.
**Lee JG, Ahner BA, Morel FMM**. 1996. Export of cadmium and phytochelatin by the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Environmental Science & Technology* 30: 1814-1821.
**Lehmann MK, Davis RF, Huot Y, Cullen JJ**. 2004. Spectrally weighted transparency in models of water-column photosynthesis and photoinhibition by ultraviolet radiation. *Marine Ecology Progress Series* 269: 101-110.
**López-Doval J, Ricart M, Guasch H, Romaní A, Sabater S, Muñoz I**. 2010. Does grazing pressure modify diuron toxicity in a biofilm community? *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 58: 955-962.
**Lozano RB, Pratt JR**. 1994. Interaction of toxicants and communities - the role of nutrients. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13: 361-368.
**Magellan K, Barral-Fraga L, Rovira M, Srean P, Urrea G, García-Berthou E, Guasch H**. 2014. Behavioural and physical effects of arsenic exposure in fish are aggravated by aquatic algae. *Aquatic Toxicology* 156: 116-124.
**McCormick PV**. 1991. Lotic protistan herbivore selectivity and its potential impact on benthic algal assemblages. *Journal of the North American Benthological Society* 10: 238-250.
**Mondy CP, Villeneuve B, Archaimbault 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. *Ecological Indicators* 18: 452-467.
**Mowat FS, Bundy KJ**. 2001. Correlation of field-measured toxicity with chemical concentration and pollutant availability. *Environment International* 27: 479-489.
**Nassiri Y, Mansot JL, Wery J, GinsburgerVogel T, Amiard JC**. 1997. Ultrastructural and electron energy loss spectroscopy studies of sequestration mechanisms of Cd and Cu in the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 33: 147-155.
**Neury-Ormanni J**. 2014. Les interactions micro-méiofaune/microalgues des biofilms d'eau douce lors de tests écotoxicologiques en milieu aquatique sur supports immergés. M1 SPE-Ecologie. Univ. La Rochelle.
**Passy SI**. 2007. Diatom ecological guilds display distinct and predictable behavior along nutrient and disturbance gradients in running waters. *Aquatic Botany* 86: 171-178.
**Paule A, Roubeix V, Lauga B, Duran R, Delmas F, Paul E, Rols JL**. 2013. Changes in tolerance to herbicide toxicity throughout development stages of phototrophic biofilms. *Aquatic Toxicology* 144–145: 310-321.

**Paulsson M, Nystrom B, Blanck H**. 2000. Long-term toxicity of zinc to bacteria and algae in periphyton communities from the river Göta Älv, based on a microcosm study. *Aquatic Toxicology* 47: 243-257.
**Pérès F**. 1996. Etude des effets de quatre contaminants: - herbicide (Isoproturon), dérivés du mercure (mercure inorganique, méthylmercure), cadmium - sur les communautés au sein de microcosmes d'eau douce. PhD thesis - Univ. Paul Sabatier, Toulouse.
**Pienitz R, Vincent WF**. 2000. Effect of climate change relative to ozone depletion on UV exposure in subarctic lakes. *Nature* 404: 484-487.
**Pinto E, Sigaud-Kutner TCS, Leitao MAS, Okamoto OK, Morse D, Colepicolo P**. 2003. Heavy metal-induced oxidative stress in algae. *Journal of Phycology* 39: 1008-1018.
**Pistocchi R, Guerrini F, Balboni V, Boni L**. 1997. Copper toxicity and carbohydrate production in the microalgae *Cylindrotheca fusiformis* and *Gymnodinium* sp. *European Journal of Phycology* 32: 125-132.
**Pont D, Garric J**. 2010. Quelles nouvelles perspectives pour évaluer la qualité des milieux aquatiques ? *Sciences Eaux & Territoires* 1: 52-53.
**Porcal P, Koprivnjak J-F, Molot L, Dillon P**. 2009. Humic substances—part 7: the biogeochemistry of dissolved organic carbon and its interactions with climate change. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 714-726.
**Proia L, Cassió F, Pascoal C, Tlili A, Romaní AM**. 2012. The Use of Attached Microbial Communities to Assess Ecological Risks of Pollutants in River Ecosystems: The Role of Heterotrophs. *In* Guasch H, Ginebreda A, Geiszinger A, eds. Handbook of Environmental Chemistry, vol. 19 Springer, Heidelberg, 55-83.
**Prygiel J, Coste M, Bukowska J**. 1999. Review of the major diatom-based techniques for the quality assessment of rivers - State of the art in Europe. *In* Prygiel J, Whitton BA, Bukowska J, eds. Use of algae for monitoring rivers III. Douai: Agence de l'Eau Artois Picardie, 224-238.
**Ricart M**. 2010. Effects of priority and emerging pollutants on river biofilms. . PhD thesis - Universitat de Girona.
**Rosen BP**. 1996. Bacterial resistance to heavy metals and metalloids. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* 1: 273-277.
**Rotter S, Heilmeier H, Altenburger R, Schmitt-Jansen M**. 2013. Multiple stressors in periphyton – comparison of observed and predicted tolerance responses to high ionic loads and herbicide exposure. *Journal of Applied Ecology*: n/a-n/a.
**Roubeix 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.
**Schmitt-Jansen M, Altenburger R**. 2008. Community-level microalgal toxicity assessment by multiwavelength-excitation PAM fluorometry. *Aquatic Toxicology* 86: 49-58.
**Segner H, Schmitt-Jansen M, Sabater S**. 2014. Assessing the impact of multiple stressors on aquatic biota: the receptor's side matters. *Environmental Science & Technology*.
**Sinclair CJ, Boxall ABA**. 2003. Assessing the ecotoxicity of pesticide transformation products. *Environmental Science & Technology* 37: 4617-4625.
**Teitzel GM, Parsek MR**. 2003. Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2313-2320.
**Tlili A, Montuelle B**. 2011. Microbial Pollution-Induced Community Tolerance. *In* Amiard-Triquet C, Rainbow PS, Roméo M, eds. Tolerance to Environmental Contaminants, CRC Press, 85-108.
**Tlili A, Montuelle B, Bérard A, Bouchez A**. 2011a. Impact of chronic and acute pesticide exposures on periphyton communities. *Science of the Total Environment* 409: 2102-2113.
**Tlili A, Bérard A, Roulier J-L, Volat B, Montuelle B**. 2010. $PO_4^{3-}$ dependence of the tolerance of autotrophic and heterotrophic biofilm communities to copper and diuron. *Aquatic Toxicology* 98: 165-177.
**Tlili A, Maréchal M, Bérard A, Volat B, Montuelle B**. 2011b. Enhanced co-tolerance and co-sensitivity from long-term metal exposures of heterotrophic and autotrophic components of fluvial biofilms. *Science of the Total Environment* 409: 4335-4343.
**Tlili A, Dorigo U, Montuelle B, Margoum C, Carluer N, Gouy V, Bouchez A, Berard A**. 2008. Responses of chronically contaminated biofilms to short pulses of diuron. An experimental study simulating flooding events in a small river. *Aquatic Toxicology* 87: 252-263.
**Tolcach ER, Gómez N**. 2002. The effect of translocation of microbenthic communities in a polluted lowland stream. *Verhandlungen Internationale Vereinigung Limnologie* 28: 254-258.
**Tomlinson MJ, Pooley K, Simpson T, Newton T, Hopkisson J, Jayaprakasan K, Jayaprakasan R, Naeem A, Pridmore T**. 2010. Validation of a novel computer-assisted sperm analysis (CASA) system using multitarget-tracking algorithms. *Fertility and Sterility* 93: 1911-1920.

**Truhaut R**. 1977. Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1: 151-173.
**van Dam H, Mertens A, Sinkeldam J**. 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 28: 117-133.
**Vanelslander B, De Wever A, Van Oostende N, Kaewnuratchadasorn P, Vanormelingen P, Hendrickx F, Sabbe K, Vyverman W**. 2009. Complementarity effects drive positive diversity effects on biomass production in experimental benthic diatom biofilms. *Journal of Ecology* 97: 1075-1082.
**Villeneuve A, Bouchez A, Montuelle B**. 2011. *In situ* interactions between the effects of season, current velocity and pollution on a river biofilm. *Freshwater Biology* 56: 2245-2259.
**Vogt RJ, Beisner BE, Prairie YT**. 2010. Functional diversity is positively associated with biomass for lake diatoms. *Freshwater Biology* 55: 1636-1646.
**von der Ohe PC, Liess M**. 2004. Relative sensitivity distribution of aquatic invertebrates to organic and metal compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23: 150-156.

# VII. Curriculum vitae détaillé.

**Soizic Morin**

Chargée de Recherches 2ème classe
Groupement Irstea de Bordeaux
Unité de Recherche EABX, Equipe CARMA
50 Avenue de Verdun
33 612 CESTAS Cedex
Tél : + 335 57 89 27 126
soizic.morin@irstea.fr
34 ans

## VII.1. Formation initiale diplômante

2003 Diplôme d'ingénieur de l'ENITA de Bordeaux (Bordeaux Sciences Agro), Gradignan.

2006 Doctorat en Sciences de la Vie, Géosciences et Sciences de l'Environnement, spécialité écotoxicologie. Mention très honorable avec les félicitations du jury. Université Bordeaux 1.

## VII.2. Formation par la recherche et expérience professionnelle

2002 Stage de formation à la bioindication diatomique, Curtin University of Technology, Perth, Australie – *Etude de l'influence du pH sur la structure des cortèges diatomiques des lacs du Capel Wetlands Centre* (direction Jacob John).

2003 Stage de fin d'études d'ingénieur dans l'Unité de recherches QEBX, Cemagref de Bordeaux – *Amélioration des techniques de révélation des pollutions à toxiques sur les communautés diatomiques : investigations méthodologiques et statistiques* (direction Michel Coste).

2003-2006 Thèse de doctorat en sciences du vivant, géosciences et sciences de l'environnement, spécialité écotoxicologie, réalisée en codirection au sein de l'UR REBX (Cemagref de Bordeaux) et du Laboratoire d'Ecotoxicologie et Ecophysiologie des Systèmes Aquatiques (Université Bordeaux 1, UMR CNRS 5805 EPOC) – *Bioindication des effets des pollutions métalliques sur les communautés de diatomées benthiques* (direction Alain Boudou et Michel Coste).

2007-2010 Ingénieur de recherche contractuel, Cemagref de Bordeaux – *Effets des pollutions toxiques (pesticides / métaux) sur les communautés de diatomées périphytiques.*

2009 Mobilité de 7 mois à l'Institut d'Ecologia Aquàtica, Universitat de Girona, Espagne – *Effets à court et long terme du triclosan sur les communautés périphytiques, en interaction ou non avec la présence d'invertébrés brouteurs.*

2010-… Recrutement au Cemagref (Irstea) de Bordeaux, en tant que chargée de recherche (CR2) – *Aspects écotoxicologiques - biofilms / diatomées.*

## VII.3. Domaines de compétence

**Modèles biologiques** : Périphyton d'eaux douces (en cours d'eau et plans d'eau)

**Approches** :
- Suivis en milieu lotique et lentique
- Expérimentations en microcosmes (aquariums et canaux artificiels)

**Analyse des communautés périphytiques :**

- Structurale : mesures de biomasse, dosage des pigments chlorophylliens (spectrophotométrie, fluorimétrie), dénombrements de diatomées, mortalité et identification taxonomique, biovolumes, tératologies (microscopie),
- Fonctionnelle : activité photosynthétique, activités enzymatiques antioxydantes.

**Analyses de données :**

- Mise en relation des données biologiques et environnementales (mesurées ou prédites) : détermination des sensibilités / tolérances d'espèces
- Applications pour le biomonitoring

## VII.4. Activité scientifique et participation à des programmes de recherche

Auteur ou coauteur de 48 articles publiés dans des revues de rang A, de 6 chapitres d'ouvrage, de 61 communications et 20 posters dans des congrès nationaux et internationaux, de 7 articles techniques ou de vulgarisation, et de 26 mémoires ou rapports scientifiques.

Editeur associé, avec Christelle Margoum et Nicolas Mazzella, pour le numéro spécial "Potential toxicity of pesticides in freshwater environments: Passive sampling, exposure and impacts on biofilms: the PoToMAC project" d'*Environnemental Science and Pollution Research* (2015).

Participation à différents programmes de recherche pluridisciplinaires (voir tableau ; l.c. : projet sur liste complémentaire).

| Financement | Intitulé | Années | Responsabilité |
|---|---|---|---|
| ECCO ECODYN | Etude pluridisciplinaire des mécanismes de contamination des hydrosystèmes continentaux et des zones rivulaires par les métaux | 2003-2006 | Participant |
| TOTAL | Diatomées des Rivières Pilotes de Lacq | 2003-2007 | Participant |
| LIFE-Environment | Plateforme collaborative pour la mise en œuvre de la Directive Cadre européenne sur l'Eau, dans un contexte agricole (Concert'Eau) | 2006-2009 | Participant |
| Inter-région Aquitaine – MP | Utilisation du biofilm comme indicateur fonctionnel pour la caractérisation et la surveillance des cours d'eau (SURF) | 2007-2010 | Participant |
| EC2CO CYTRIX | Etude pluridisciplinaire de l'impact de la remédiation d'un site industriel pollué par les métaux (Cd, Zn) sur la dynamique de restauration d'état écologique | 2008-2009 | Participation |
| AO interne pesticides | Evaluation de la qualité chimique et biologique des cours d'eau : pertinence, atouts, limites et domaine de validité d'un panel de méthodes d'échantillonnage in situ (Pest Expo) | 2008-2011 | Participant |
| ANR CES | Récupération d'un système fluvial pollué par les métaux (Cd, Zn) après remédiation d'un site industriel (RE-SYST) | 2008-2011 | Participant |
| AO interne maitrises | Ecotoxicologie-Bioindication (TOX INDIC) | 2008-2009 | Participant |
| AE Adour-Garonne | Bilan hydrobiologique du Luzou - Etude des diatomées, macrophytes, macro-invertébrés, faune piscicole et analyses physico-chimiques | 2009-2010 | Co-responsable du projet |
| Région Aquitaine | Ostréiculture et qualité du milieu, Approche dynamique du bassin d'Arcachon (OSQUAR) | 2010-2012 | Participation |
| ANR CES | Recherche Interdisciplinaire sur la Problématique Ostréicole du Bassin d'Arcachon : approches in situ et expérimentales (RIPOST) | 2010-2013 | Participation |
| AE Adour-Garonne | Suivi hydrobiologique du Luzou – Amélioration de la compréhension des relations pression-impact | 2012-2014 | Co-responsable du projet |
| ANR CESA | Potentiel Toxique dans les Milieux Aquatiques Continentaux (PoToMAC) | 2012-2015 | Co-responsable de tache |
| ANR Blanc International | Pour une gestion intégrée et durable des ressources en eau de bassins soumis à des pollutions industrielles et urbaines : étude comparative du Lot (France) et du Danshuei (Taiwan) (TWIN RIVERS) | 2012-2015 | Participation |

| Financement | Intitulé | Années | Responsabilité |
|---|---|---|---|
| AO interne indicateurs | Indicateurs Environnementaux Pesticides et Action Publique (IEPAP) | 2013-2015 | Responsable de tache |
| LabEx COTE | Influence de la qualité de la matière organique dissoute sur la toxicité des pesticides vis-à-vis des micro-algues le long d'un Continuum eau douce – eau marine (IMPACT) | 2013-2016 | Coordination |
| FRQNT (QC) | De l'échelle du mésocosme à celle du Nunavik : Développement d'un bioindicateur pour le suivi de la contamination métallique en région minière | 2014-2016 | Responsable pour la France |
| EC2CO ECODYN | COmmunautés micro-algales : effets de la Matière organique dissoute et des Pesticides sur l'Activité photosynthétique et la Composition Taxonomique (COMPACT) | 2014-2015 | Responsable pour Irstea |
| EC2CO ECODYN | COmmunautés micro-algales : effets de la Matière organique dissoute et des Pesticides sur l'Activité photosynthétique et la Composition Taxonomique (COMPACT2) | Soumis 2014 | Responsable pour Irstea |
| EC2CO ECODYN | Les lipides des diatomées comme biomarqueur intégratif et précoce de l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques ? Mise au point ex situ et essais en milieux naturels. | Soumis 2014 | Participation |
| ANR JCJC | Biodiversity of Micro-meiofauna and its interactions with Microalgae: stability of trophic relationships at the microscale and potential impacts of Anthropic and Natural stressors (BioMMAN) | Soumis 2014 | Coordination |
| ANR JCJC | Aquatic communities' assemblages in lake ecosystems: a multi-group approach (ACUASKOP) | Soumis 2014 | Participation |
| ANR | Dissolved Organic Matter INteraction with Organic contaminants: action of light and impacts on micro-algae along the freshwater-seawater continuum (DOMINO) | Soumis 2014 | Participation |
| ANR | IMpacts of major Pollutants and climate changes on two emblematic species from the ARcAchon Bay ; the Pacific oyster and the dwarf eeLgrassEs (IMPARABLE) | Soumis 2014 | Participation |
| ANR | IN Cultures and RIvers: DIatomic Biomarkers and Lipids (INCRIDIBL) | Soumis 2014 | Participation |
| LabEx COTE | Les phytosanitaires dans le LabEx COTE : utilisation dans les agrosystèmes, transferts et impacts sur les écosystèmes (PhytoCOTE) | Soumis 2014 | Participation |

## VII.5. Activités d'étude et d'expertise, nationales et internationales, en direction du monde socio-économique et des pouvoirs publics

**Etudes pour les gestionnaires de l'eau**

Convention Agence de l'Eau Adour Garonne pour le suivi d'impacts industriels : 2009-2010 (Bilan hydrobiologique du Luzou, Etude des diatomées, macrophytes, macro-invertébrés, faune piscicole et analyses physico-chimiques) puis 2012-2014.

Participation à des actions financées par l'ONEMA (convention ONEMA – Irstea) :

- Action 26 "Evaluation et remédiation des effets des pesticides", puis Action Ecophyto (2009-…),
- Action 15 "Développement de connaissances et proposition d'outils et de méthodes pour améliorer la gestion des milieux aquatiques : Bioindication Plans d'eau" (2009-…),
- Action 38 : Développement et optimisation des méthodes de bioindication pour les cours d'eau : Effets des métaux sur les communautés de diatomées d'eau douce – Etat de l'art et test de métriques sur un jeu de données français" (programmation 2011).

**Expertise scientifique**

Evaluations pour EC2CO (ECODYN, 2012), ASTEE (2014), NSF (2014).

Expert national diatomées dans le cadre de la mise en œuvre de la Directive cadre sur l'eau, intercalibration des méthodes d'évaluation "phytobenthos en plans d'eau" (X-GIG Lake phytobenthos).

## VII.6. Encadrement et animation

2004 **Rija Samsera**, Master 1 Sciences et Technologies, Université Bordeaux 1. *Etude des effets de la pollution métallique (Cd/Zn) sur la densité des communautés de diatomées périphytiques des cours d'eau* (co-encadrante)

2004-2005 **Maria Luisa Vivas Nogues**, M2 Ecologie, Université Bordeaux 1 (Erasmus). *Suivi cinétique de la dynamique de colonisation des peuplements de diatomées épilithiques soumises à un gradient de pollutions métalliques sur un site naturel pollué (Riou Mort, Aveyron)* (encadrante)

2010 **Cécile Nassiet**, M2 Eau, Santé, Environnement, Université Bordeaux 2. *Effets des pesticides seuls et en mélange sur les biofilms périphytiques* (encadrante)

2010 **Damien Valade**, M1 Sciences, Terre et Environnement, Ecologie, Université Bordeaux 1. *Proposition d'une méthode d'échantillonnage du phytobenthos en plan d'eau* (co-encadrante)

2011 **Thomas Cuizinaud**, Bac Pro GMNF, MFR La Ferté-Bernard. *Stage mobilité Gestion des Milieux Naturels et Faunistiques* (encadrante)

2011 **Anne-Sophie Lambert**, M2 Microbiologie Appliquée, Environnement, Santé, Université Pierre et Marie Curie Paris 6. *Dynamique de récupération de biofilms microbiens suite à une diminution du niveau d'exposition au cuivre : Influence des migrations d'espèces* (co-encadrante)

2011 **Xavier Libert**, M2 Biologie des Organismes et Ecologie, FUNDP Namur/UCL (Belgique). *Effets de mélanges simplifiés de pesticides sur les biofilms périphytiques espèces* (encadrante)

2012-2013 **Adeline Arini**, Post doctorat, Irstea. *Analyse des effets des pollutions métalliques sur les biofilms diatomiques* (co-encadrante, financement ANR Blanc International Twin Rivers)

2013 **Manon Lainé**, Master 2 Biodiversité et suivis environnementaux, Université Bordeaux 1. Indicateurs biologiques de toxicité dans un petit cours d'eau landais (co-encadrante)

2010-2013 **Sandra Kim Tiam**, Doctorat en géochimie et écotoxicologie, Université Bordeaux 1 (ED SE). *Effets de mélanges de pesticides sur les biofilms périphytiques d'eau douce* (co-directrice, financement Irstea)

2013-2014 **Aude Gandon**, Doctorat en chimie environnementale, Université Bordeaux (ED SC). *Bioaccumulation des pesticides dans le biofilm* (co-directrice, financement Irstea)

2013-… **Laura Barral Fraga**, Doctorat en Sciences environnementales, Universitat de Girona (Espagne). *Estudio de la biodisponibilidad y toxicidad del arsénico en sistemas fluviales a través del análisis del biofilm fluvial y especies piscícolas* (co-directrice, financement Universitat de Girona).

2013-… **Nathalie Coquillé**, Doctorat en chimie environnementale, Université Bordeaux (ED SC). *Influence de la qualité de la matière organique dissoute sur la toxicité des pesticides vis-à-vis des microalgues le long d'un continuum eau douce-eau marine* (co-directrice, financement LabEx COTE)

2014 **Elena Planes Rodriguez**, Diplôme universitaire en Sciences Environnementales, Universidad Pablo d'Olavide, Sevilla (Espagne). *Indicateurs de toxicité des pesticides vis-à-vis des biofilms périphytiques en cours d'eau* (encadrante, financement INDECO IEPAP)

2014 **Julie Neury-Ormanni**, M1 Sciences pour l'environnement, Université de La Rochelle. *Inventaire bibliographique des interactions entre la microfaune (protozoaires, métazoaires) et les algues des biofilms lors des tests d'écotoxicologie en milieu aquatique sur supports immergés* (co-encadrante)

2015 **Evane Thorel**, M2 Diagnostic Biologique des Pollutions et Bioremédiation, Université des Sciences et Technologies de Lille. *Evaluation de la réversibilité des impacts toxiques de pesticides* (co-encadrante).

Ces encadrements ont été valorisés sous la forme de 10 publications acceptées, et deux rapports scientifiques, plus deux articles soumis et en préparation (ainsi qu'une vingtaine de communications et posters). Leur détail est fourni dans la liste des publications.

Animation de l'Axe 2 "Réponses des écosystèmes" du LabEx COTE : Mise en place des échanges entre unités du LabEx et de séminaires scientifiques (6 / an) : interventions d'experts locaux et étrangers, en français ou en anglais ; animation du Groupe de travail "pesticides" du LabEx, accompagnement du montage du projet PhytoCOTE.

Animations pour la Fête de la Science "Analyse et impacts des pesticides sur les biofilms de rivière" sur le site d'Irstea Bordeaux : 2011, 2012.

Organisation du 34ème colloque de l'ADLaF (Association des Diatomistes de Langue Française) en 2015.

## VII.7. Participation à la formation initiale

Conférences dans le cadre de l'Ecole Doctorale Sciences et Environnements, UE Pollution chimique et impact sur le vivant (séminaires à destination des doctorants de l'ED, ½ journée / an : 2008 à 2011).

Interventions aux journées métiers de l'ENITAB (2008, 2010, 2012).

## VII.8. Participation à des instances

**Sociétés savantes :**

Secrétaire de l'ADLaF (Association des Diatomistes de Langue Française depuis 2011, membre depuis 2004), membre de l'ISDR (International Society for Diatom Research depuis 2008) et de la SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry depuis 2010).

**Relecture d'articles pour les revues** (nombre de relectures) :

*Archives of Environmental Chemistry and Toxicology* (3), *Central European Journal of Biology* (1), *Chemosphere* (2), *Desalination* (2), *Ecological Indicators* (2), *Ecotoxicology & Environmental Safety* (1), *Environmental Monitoring and Assessment* (1), *Environmental Pollution* (1), *Fundamental and Applied Limnology* (1), *Hydrobiologia* (4), *International Biodeterioration & Biodegradation* (1), *Journal of Environmental Management* (1), *Phycological Research* (2), *Revue des Sciences de l'Eau* (1), *Science of the Total Environment* (8).

**Participation aux jurys de thèse de :**

2009 **Alexandra Serra Gasa,** Universitat de Girona, SP. *Fate and effects of copper in fluvial ecosystems: the role of periphyton* (examinatrice)

2010 **Gemma Urrea Clos**, Universitat de Girona, SP. *Distribution of diatom communities in agricultural and mining watersheds of Southwest Spain* (membre suppléant)

2012 **Frédéric Rimet,** Université de Grenoble, FR. *Diatoms: an ecoregional indicator of nutrients, organic matter and micropollutants pollution* (examinatrice)

2012 **Natàlia Corcoll i Cornet,** Universitat de Girona, SP. *The use of Pulse Amplitude Modulated Fluorescence techniques for metal toxicity assessment in fluvial biofilms* (rapporteure externe)

2013 **Ana Teresa Lopes Ferreira Luís**, Universidade de Aveiro, PT. *Integration of geochemical and biological modifications in mining areas* (rapporteure)

2013 **Sandra Kim Tiam**, Université de Bordeaux 1, FR. *Effets de mélanges de pesticides sur les biofilms périphytiques d'eau douce* (co-directrice)

**Participation aux jurys de master 2 / ingénieur de :**

2011 **Juliette Poidatz,** ENITA de Bordeaux. *La noctuelle Abrostola asclepiadis (Lep. Noctuidae) pourrait-elle être un agent de biocontrôle contre les dompte-venins invasifs (Apocynaceae) en Amérique du Nord ?* (rapporteure)

2011 **Anna Pollier**, ENITA de Bordeaux. *Impact de la végétation en bordures de parcelles agricoles sur les ravageurs et auxiliaires des Brassicacées* (rapporteure)

2011 **Christophe Servant,** ENITA de Bordeaux. *Pérennité et adaptation au stress hydrique des prairies temporaires multispécifiques* (examinatrice)

2011 **Vincent Rivals,** ENITA de Bordeaux*. Influence de jeunes aménagements agroforestiers sur deux familles d'auxiliaires entomophages : les Carabiques (Coleptera : Carabidae) et les Syrphides (Diptera : Syrphidae)* (examinatrice)

2011 **Bryce Bouvard,** ENITA de Bordeaux*. Etude de la biodiversité effective de haies de différentes potentialités à l'aide d'un indicateur : les araignées de la frondaison* (examinatrice)

2013 **Aurore Chongaud,** M2 EXCE Univ. Bordeaux1*. Interactions de différentes nanoparticules avec du biofilm diatomique et transfert potentiel vers un poisson-modèle en conditions expérimentales* (rapporteure)

2014 **Amélie Autourde,** M2 EXCE Université de Bordeaux*. Mise en compatibilité des industries avec le bon état des eaux de la DCE* (rapporteure)

**Autres activités d'intérêt collectif.**

Membre titulaire élue de la Commission Administrative Paritaire des Chargés de Recherche d'Irstea (depuis 2011).

Participation aux groupes de travail internes "Détachement inter-corps (IR/CR)" et "Evaluation par les instances" (depuis 2014).

## VII.9. Collaborations et partenariats

**Collaborations professionnelles internes à Irstea**

- **au niveau local :**

◆ **UR REBX** (équipe CARMA), principalement avec Laboratoire de Chimie : 5 copublications, coencadrement scientifique de la thèse de Sandra Kim Tiam (2010-2013), d'Aude Gandon (2013-2014), projets Pest-Expo et PoToMAC ; coencadrement des stages de Damien Valade (2010) et Manon Lainé (2013) avec Juliette Rosebery, et de Julie Neury-Ormanni (2014) avec Jacky Vedrenne

◆ **UR ADBX** (axe Performance environnementale des activités productives) : 3 copublications, projets Concert'Eau et IEPAP

- **avec le groupement de Lyon** (UR MALY) :

◆ **Equipe d'écologie microbienne** notamment : 9 copublications, coencadrement des stages de Cécile Nassiet (2010) et Anne-Sophie Lambert (2011), projets Pest-Expo, IEPAP et PoToMAC

◆ **Laboratoire de chimie des Milieux Aquatique**s : 4 copublications, projets Pest-Expo et PoToMAC

◆ **Equipe Pollutions agricoles diffuses** : projets Pest-Expo et IEPAP, Action Ecophyto

**Collaborations professionnelles nationales et internationales externes à Irstea**

- **implantation locale** : Collaborations récurrentes avec l'UMR CNRS 5805 EPOC

◆ **Equipe Ecotoxicologie Aquatique** (EA) : 8 copublications, projets OSQUAR, CYTRIX, RE-SYST, RIPOST, TWIN RIVERS

◆ **Laboratoire de physico-toxicochimie des systèmes naturels** (LPTC) : projets PoToMAC, DOMINO, COMPACT et IMPACT, coencadrement de la thèse de N. Coquillé (2013-2016, avec Ifremer)

- Collaboration en développement avec le **Laboratoire de Biogenèse Membranaire** (LBM, UMR CNRS 5200) : biomarqueurs lipidiques (dépôts de projets à EC2CO et à l'ANR en 2014)

- **nationale** :

◆ **Ifremer (**Nantes) : coencadrement de la thèse de N. Coquillé (2013-2016, avec le LPTC), projet LabEx IMPACT

◆ **Université Paul Sabatier** (Toulouse) : 7 copublications, projets Life Concert'Eau et SURF

- **internationale :** Collaborations mises en place lors de ma mobilité en Espagne en 2009, avec :

◆ l'**Universitat de Girona** (Institut d'Ecologia Aquàtica) : 9 copublications, rapporteure d'une thèse et membre du jury de 2 thèses soutenues à l'UdG, coencadrement de la thèse de Laura Barral Fraga (2013-2016, avec l'Universidade de Santiago de Compostela)

◆ l'**ICRA** (Institut Català de Recerca de l'Aigua) : 5 copublications, mise en place d'un accord-cadre entre Irstea et l'ICRA en février 2012)

D'autres collaborations, moins formalisées, existent avec la Vietnamese Academy of Science & Technology (Vietnam, 4 copublications), l'INRS-ETE (Québec, 2 copublications, dépôt d'un projet au FRQNT), l'Universidade de Aveiro (Portugal, 2 copublications plus une en préparation et rapporteure d'une thèse), ainsi qu'au sein du groupe d'intercalibration européenne "phytobenthos en plans d'eau" (1 publication).

## VII.10. Liste des publications

La sélection des revues pour la publication des résultats se fait principalement en fonction du public cible et de l'historique des publications du même domaine. Le cas échéant, l'étudiant est premier auteur si l'article résulte directement de son travail, et dans la liste d'auteurs pour les travaux auxquels il a participé, à hauteur de son implication. Le nom des étudiants apparaît en caractères gras.

**Articles dans des revues à comité de lecture**

[A1] Morin S., **Vivas-Nogues M.**, Duong T.T., Boudou A., Coste M., Delmas F. 2007. Dynamics of benthic diatom colonization in a cadmium/zinc-polluted river (Riou-Mort, France). *Fundamental and Applied Limnology* 168, 179-187.

[A2] Duong T.T., 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.

[A3] Morin S., Coste M., Delmas F. 2008. A comparison of specific growth rates of periphytic diatoms of varying cell size under laboratory and field conditions. *Hydrobiologia* 614, 285-297.

[A4] Morin S., Duong T.T., Boutry S., Coste M. 2008. Modulation de la toxicité des métaux vis-à-vis du développement des biofilms de cours d'eau (bassin versant de Decazeville, France). *Cryptogamie Algologie* 29, 201-216.

[A5] Morin S., Duong T.T., Dabrin A., Coynel A., Herlory O., Baudrimont M., Delmas F., Durrieu G., Schäfer J., Winterton P., Blanc G., Boudou A., Coste M. 2008. Long term survey of heavy metal pollution, biofilm contamination and diatom community structure in the Riou-Mort watershed, South West France. *Environmental Pollution* 151, 532-542.

[A6] Morin S., Duong T.T., Herlory O., Feurtet-Mazel A., Coste M. 2008. Cadmium toxicity and bioaccumulation in freshwater biofilms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54, 173-186.

[A7] Morin S., Hamilton P.B., Coste M. 2008. Scanning electron microscopy (SEM) observations of deformities in small pennate diatoms exposed to high cadmium concentrations. *Journal of Phycology* 44, 1512-1518.

[A8] Morin S., Bottin M., Mazzella N., Macary F. Delmas F., Winterton P., Coste M. 2009. Linking diatom community structure to pesticide input as evaluated through a spatial contamination potential (Phytopixal): A case study in the Neste river system (South West France). *Aquatic Toxicology* 94, 28-39.

[A9] Duong T.T., Morin S., Coste M., Herlory O., Feurtet-Mazel A., Boudou A. 2010. Experimental toxicity and bioaccumulation of cadmium in freshwater periphytic diatoms in relation with biofilm maturity. *Science of the Total Environment* 408, 552-562.

[A10] Morin S., Pesce S., Tlili A., Coste M., Montuelle B. 2010. Recovery potential of periphytic communities in a river impacted by a vineyard watershed. *Ecological Indicators* 10, 419-426.

[A11] Morin S., Proia L., Ricart M., Bonnineau C., Geiszinger A., Ricciardi F., Guasch H., Romani A.M., Sabater S. 2010. Effects of a bactericide on the structure and survival of benthic diatom communities. *Vie et Milieu* 60, 109-116.

[A12] Ricart M., Guasch H., Alberch M., Barceló D., Bonnineau C., Geiszinger A., Farré M., Ferrer J., Ricciardi F., Romaní A.M., Morin S., Proia L., Sala L., Sureda D., Sabater S. 2010. Triclosan persistence through wastewater treatment plants and its potential toxic effects on river biofilms. *Aquatic Toxicology* 100, 346-353.

[A13] Pokrovsky O.S., Feurtet-Mazel A., Martinez R.E., Morin S., Baudrimont M., Duong T., Coste M. 2010. Experimental study of cadmium interaction with periphytic biofilms. *Applied Geochemistry* 25, 418-427.

[A14] Laviale M., Morin S., Créach A. 2011. Short term recovery of periphyton photosynthesis after pulse exposition to the photosystem II inhibitors atrazine and isoproturon. *Chemosphere* 84, 731-734.

[A15] Lyautey E., Cournet A., Morin S., Boulêtreau S., Etcheverry L., Charcosset J.-Y., Delmas F., Bergel A., Garabetian F. 2011. Electroactivity of phototrophic river biofilms and constitutive cultivable bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 5394-5401.

[A16] Pesce S., Morin S., Lissalde S., Montuelle B., Mazzella N. 2011. Combining polar organic chemical integrative samplers (POCIS) with toxicity testing to evaluate pesticide mixture effects on natural phototrophic biofilms. *Environmental Pollution* 159, 735-741.

[A17] Proia L., Morin S., Peipoch M., Romaní A.M., Sabater S. 2011. Resistance and recovery of river biofilms receiving short pulses of Triclosan and Diuron. *Science of the Total Environment* 409, 3129-3137.

[A18] Roubeix 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.

[A19] Tlili A., Corcoll N., Bonet B., Morin S., Montuelle B., Bérard A., Guasch H. 2011. In situ spatio-temporal changes in pollution-induced community tolerance to zinc in autotrophic and heterotrophic biofilm communities. *Ecotoxicology* 20, 1823-1839.

[A20] Arini A., Feurtet-Mazel A., Morin S., Maury-Brachet R., Coste M., Delmas F. 2012. Remediation of a watershed contaminated by heavy metals: A 2-year field biomonitoring of periphytic biofilms. *Science of the Total Environment* 425, 242-253.

[A21] Artigas J., Arts G., Babut M., Caracciolo A.B., Charles S., Chaumot A., Combourieu B., Dahllöf I., Despréaux D., Ferrari B., Friberg N., Garric J., Geffard O., Gourlay-Francé C., Hein M., Hjorth M., Krauss M., De Lange H.J., Lahr J., Lehtonen K.K., Lettieri T., Liess M., Lofts S., Mayer P., Morin S., Paschke A., Svendsen C., Usseglio-Polatera P., Van Den Brink N., Vindimian E., Williams R. 2012. Towards a renewed research agenda in ecotoxicology. *Environmental Pollution* 160, 201-206.

[A22] Artigas J., Fund K., Kirchen S., Morin S., Obst U., Romaní A.M., Sabater S., Schwartz T. 2012. Patterns of biofilm formation in two streams from different bioclimatic regions: analysis of microbial community structure and metabolism. *Hydrobiologia* 695, 83-96.

[A23] Cellamare M., Morin S., Coste M., Haury J. 2012. Ecological assessment of French Atlantic lakes based on phytoplankton, phytobenthos and macrophytes. *Environmental Monitoring and Assessment* 184, 4685-4708.

[A24] Corcoll N., Bonet B., Morin S., Tlili A., Leira M., Guasch H. 2012. The effect of metals on photosynthesis processes and diatom metrics of biofilm from a metal-contaminated river: A translocation experiment. *Ecological Indicators* 18, 620-631.

[A25] **Kim Tiam S.**, Feurtet-Mazel A., Delmas F., Mazzella N., Morin S., Daffe G., Gonzalez P. 2012. Development of q-PCR approaches to assess water quality: Effects of cadmium on gene expression of the diatom *Eolimna minima*. *Water Research* 46, 934-942.

[A26] **Lambert A.-S.**, Morin S., Artigas J., Volat B., Coquery M., Neyra M., Pesce S. 2012. Structural and functional recovery of microbial biofilms after a decrease in copper exposure: Influence of the presence of pristine communities. *Aquatic Toxicology* 109, 118-126.

[A27] Morin S., **Lambert A.-S.**, Artigas J., Coquery M., Pesce S. 2012. Diatom immigration drives biofilm recovery after chronic copper exposure. *Freshwater Biology* 57, 1658-1666.

[A28] Morin S., Pesce S., **Kim-Tiam S.**, **Libert X.**, Coquery M., Mazzella N. 2012. Use of polar organic chemical integrative samplers to assess the effects of chronic pesticide exposure on biofilms. *Ecotoxicology* 25, 1570-1580.

[A29] Morin S., Roubeix V., Batisson I., Winterton P., Pesce S. 2012. Characterisation of freshwater diatom communities: comparing taxonomic and genetic-fingerprinting approaches. *Journal of Phycology* 48, 1458-1464.

[A30] Pignata C., Morin S., Scharl A., Traversi D., Schilirò T., Degan R., Bartley P., Tu M., Liu H., Peres F., Coste M., Liu W., Gilli G. 2013. Application of European biomonitoring techniques in China: Are they a useful tool? *Ecological Indicators* 29, 489-500.

[A31] Macary F., Leccia O., Almeida Dias J., Morin S., Sanchez-Pérez J. 2013. Agro-environmental risk evaluation by a spatialised multi-criteria modelling combined with the PIXAL method. *Revue Internationale de Géomatique* 23, 39-70.

[A32] Bonet B., Corcoll N., Tlili A., Morin S., Guasch H. 2014 Antioxidant enzyme activities in biofilms as biomarker of Zn pollution in a natural system: an active bio-monitoring study. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 103, 82-90.

[A33] Cantonati M., Angeli N., Virtanen L., Wojtal A.Z., Gabrieli J., Falasco E., Lavoie I., Morin S., Marchetto A., Fortin C., Smirnova S. 2014. *Achnanthidium minutissimum* (Bacillariophyta) valve deformities as indicators of metal enrichment in diverse widely-distributed freshwater habitats. *Science of the Total Environment* 475, 201-215.

[A34] **Lainé M.**, Morin S., Tison-Rosebery J. 2014. A multi-compartment approach – diatoms, macrophytes, benthic macroinvertebrates and fish – to assess the impact of toxic industrial releases on a small French river. *PLOS One* 9, e102358.

[A35] Kelly M., Urbanic G., Acs E., Bennion H., Bertrin V., Burgess A., Denys L., Gottschalk S., Kahlert M., Karjalainen S.M., Kennedy B., Kosi G., Marchetto A., Morin S., Picinska-Fałtynowicz J., Poikane S., Rosebery J., Schoenfelder I., Schoenfelder J., Varbiro G. 2014. Comparing aspirations: intercalibration of ecological status concepts across European lakes for littoral diatoms. *Hydrobiologia* 734, 125-141.

[A36] **Kim Tiam S.**, **Libert X**., Morin S., Gonzalez P., Feurtet-Mazel A., Mazzella N. 2014. Single and mixture effects of pesticides and a degradation product on fluvial biofilms. *Environmental Monitoring and Assessment* 186, 3931-3939.

[A37] **Kim Tiam S.**, Morin S., Pesce S., Feurtet-Mazel A., Moreira A., Gonzalez P., Mazzella N. 2014. Environmental effects of realistic pesticide mixtures on natural biofilm communities with different exposure histories. *Science of the Total Environment* 473-474, 496-506.

[A38] Macary F., Morin S., Probst J.-L., Saudubray F. 2014. A multi-scale method to assess pesticide contamination risks in agricultural watersheds. *Ecological Indicators* 36, 624-639.

[A39] Morin S., Corcoll N., Bonet B., Tlili, A., Guasch H. 2014. Diatom responses to zinc contamination along a Mediterranean river. *Plant Ecology and Evolution* 147, 325-332.

[A40] **Coquillé N.**, Jan G., Moreira, A., Morin S. 2015. Use of diatom motility features as endpoints of metolachlor toxicity.*Aquatic Toxicology* 158, 202-210.

[A41] Fauvelle V., Mazzella N., Morin S., Moreira S., Delest B., Budzinski H. 2015. Hydrophilic interaction liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry for acidic herbicides and metabolites analysis in fresh water. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 3988-3996.

[A42] Foulquier A., Morin S., Dabrin A., Mazzella N., Margoum C., Pesce S. 2015. Effects of mixtures of dissolved and particulate contaminants on phototrophic biofilms: new insights from a PICT approach combining toxicity tests with passive samplers and model substances. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 4025-4036.

[A43] Guasch H., Ricart M., López-Doval J., Bonnineau C, Proia L., Morin S., Muñoz I., Romaní A.M., Sabater S. 2015. Direct and indirect effects of toxicants on aquatic communities: the influence of grazing on triclosan toxicity. *Freshwater Biology*, sous presse.

[A44] **Kim Tiam S.**, Morin S., Bonet B., Guasch H., Feurtet-Mazel A., Eon M., Gonzalez P., Mazzella N. 2015. Is the toxicity of pesticide mixtures on river biofilms accounted for solely by the major compounds identified? *Environmental Science and Pollution Research* 22, 4009-4024.

[A45] Margoum C., Morin S., Mazzella N. 2015. Potential toxicity of pesticides in freshwater environments: passive sampling, exposure and impacts on biofilms: the PoToMAC project. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 3985-3987.

[A46] 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.

[A47] Morin S., Bottin M., Bonet B., Corcoll N., Guasch H., Coste M. 2015. Cumulative impacts of multiple stressors on diatom communities trigger increased vulnerability to additional disturbances. *Microbial Ecology*, sous presse.

[A48] Tlili A., Bérard A., Blanck H., Bouchez A., Cássio F., Eriksson M., Morin S., Montuelle B., Navarro E., Pascoal C., Pesce S., Schmitt-Jansen M., Behra R. 2015. Pollution Induced Community Tolerance (PICT): Towards an ecologically relevant risk asessment of chemicals in aquatic systems. *Freshwater Biology*, sous presse.

**Chapitres d'ouvrages**

[C1] Morin S., Coste M. 2006. Metal-induced shifts in the morphology of diatoms from the Riou-Mort and Riou-Viou streams (South West France). In: É. Ács et al. (Eds.), *Use of algae for monitoring rivers VI.* Hungarian Algological Society, Göd, Hungary, pp. 91-106.

[C2] Morin S., Coste M., Delmas F. 2008. From field studies to laboratory experiments for assessing the influence of metal contamination on relative specific growth rates of periphytic diatoms. In: S.E. Brown & W.C. Welton (Eds.), *Heavy Metal Pollution.* Nova Science, New York, pp. 137-155.

[C3] Morin, S., Cordonier, A., Lavoie, I., Arini, A. Blanco, S., Duong, T.T., Tornés, E., Bonet, B., Corcoll, N., Faggiano, L., Laviale, M., Pérès, F., Becares, E., Coste, M., Feurtet-Mazel, A., Fortin, C., Guasch, H., Sabater, S. 2012. Consistency in diatom response to metal-contaminated environments. In: H. Guasch et al. (Eds.), *Handbook of Environmental Chemistry v19: Emerging and Priority Pollutants in Rivers*. Springer, Heidelberg, pp. 117-146.

[C4] Baudrimont, M., Blanc, G., Budzinski, H., Mazzella, N., Mazellier, P., Morin, S., Schäfer, J. 2013. Qualité de l'eau. In: H. Le Treut (Coord.), *Dynamiques Environnementales: Les impacts du changement climatique en Aquitaine*. Presses Universitaires de Bordeaux, pp. 249-264.

[C5] Guasch H., Artigas J., Bonet B., Bonnineau C., Corcoll N., **Kim Tiam S.**, López-Doval J., Morin S., Navarro E., Pesce S., Proia L., Serra A. 2016. Biofilms and pollution - Use of biofilms in ecotoxicology. *Aquatic Biofilms: Ecology, Water Quality and Wastewater Treatment* (Eds A.M. Romaní et al.), Horizon Scientific Press - Caister Academic Press, à paraître.

[C6] Morin S., Gomez N., Tornés E., Licursi M., Tison-Rosebery J. 2016. Biofilms and pollution - Benthic diatoms as biomonitors of water quality: standard methods and future challenges. *Aquatic Biofilms: Ecology, Water Quality and Wastewater Treatment* (Eds A.M. Romaní et al.), Horizon Scientific Press - Caister Academic Press, à paraître.

**Articles et chapitres soumis pour évaluation ou en préparation**

[A49] Bonet B., Corcoll N., Tlili A., Morin S., Leira M., Guasch H. Antioxidant enzyme activities responses in two Zn polluted streams: an active bio-monitoring. En préparation.

[A50] **Kim Tiam S.**, Laviale M., Morin S., Feurtet-Mazel A., Jan G., Gonzalez P., Mazzella N. Herbicide toxicity in river biofilms assessed by Rapid Light Curves. Accepté avec révisions par *Aquatic Toxicology*.

[A51] Serra A., Merbt S.N., Proia L., Bonet B., Corcoll N., Morin S., Guasch H., Martí, E. Effects of zinc pollution on stream metabolism and nutrient uptake. From community to whole reach scale. En préparation.

**Articles techniques ou de vulgarisation**

[T1] Morin S., Duong T., Coste M. 2006. Anomalies morphologiques en conditions de stress métallique. *Diatomania* 10, 39-43.

[T2] Morin S., Coste M., Delmas F. 2007. Substrats artificiels : dans quelle limite permettent-ils de décrire les peuplements diatomiques des cours d'eau? *Ingénieries EAT* 52, 3-12.

[T3] Archaimbault V., Rosebery J., Morin S. 2010. Traits biologiques et écologiques, intérêt et perspectives pour la bio-indication des pollutions toxiques. *Sciences Eaux & Territoires* 1, 46-51.

[T4] Chaumot A., Garric J., Morin S. 2010. Comprendre la sensibilité des espèces face à la contamination des milieux : un jeu complexe entre toxicologie, biologie et écologie des espèces. *Sciences Eaux & Territoires* 1, 26-29.

[T5] Chaumot A., Morin S., Vincent-Hubert F., Montuelle B. 2010. Focus : Adaptation des espèces et contamination des milieux ? *Sciences Eaux & Territoires* 1, 30-33.

[T6] Garric J., Morin S., Vincent-Hubert, F. 2010. Les biomarqueurs en écotoxicologie : définition, intérêt, limite, usage. *Sciences Eaux & Territoires* 1, 12-17.

[T7] Morin S., Arini A. 2010. Focus - Exemple de biomarqueurs : le cas du périphyton. *Sciences Eaux & Territoires* 1, 18-19.

[T7] Rosebery J., Morin S. 2011. L'indice biologique diatomées et la bio-indication des pollutions toxiques. *Adour Garonne* 114, 14.

**Rapports scientifiques et d'expertise**

[R1] John J., Morin S. 2002. Diatoms as a tool for the bio-assessment of wetlands health. The influence of pH on diatom assemblages. Department of Environmental Biology, Curtin University of Technology, Perth, Western Australia, 33 p.

[R2] Morin S., Delmas F., Coste M., Giraudel J.L. 2004. Impact de différents produits toxiques sur les communautés de diatomées épilithiques des rivières pilotes de Lacq : rapport final - tranche 2003. 67 p.

[R3] Morin S., Coste M. 2006. Atlas des diatomées du bassin versant du Riou-Mort. 109 p.

[R4] Coste M., Morin S. 2006. Diatomées des plans d'eau et cours d'eau de l'A89 (ASF). Cemagref REBX Bordeaux, 87 p.

[R5] Coste M., Morin S. 2007. Diatomées des Rivières Pilotes de Lacq - Campagne 2006-2007. Cemagref REBX Bordeaux, 77 p.

[R6] Morin S., Bonnet M., Boudigues M., Coste M., Delmas F., Duong T.T. 2007. Estimation de la qualité biologique des cours d'eau Riou-Mort et Riou-Viou par l'examen des communautés de diatomées benthiques. Cemagref REBX Bordeaux, 105 p.

[R7] Coste M., Morin S. 2008. Diatomées des Rivières Pilotes de Lacq - Evaluation des risques Xylène et Cadmium - Campagne 2007. Cemagref REBX Bordeaux, 26 p.

[R8] Archaimbault V., Babut M., Chaumot A., Delmas F., Dumont B., Ferrari B., Garric J., Geffard O., Gourlay C., Le Pichon C., Mazzella N., Montuelle B., Morin S., Pont D., Rosebery J., Vincent-Hubert F. 2008. Rapport AO Maîtrises "Tox-Indic" 1ère année. Cemagref, 177p.

[R9] Coste M., Pérès F., Le Cohu R., Sellier E., Morin S. 2009. Biodiversité des diatomées benthiques des rivières de la Réunion et de Mayotte : floristique et biogéographique : rapport final 2008. Ministère de l'Outre-mer, 250 p.

[R10] Delmas F., Garabétian F., Morin S., Roubeix V., Martins Azevedo A.C., Bernardet S., Boulêtreau S., Charcosset J.Y., Lyautey E., Mastrorillo S., Pineau C. 2010. Utilisation du biofilm comme indicateur fonctionnel pour la caractérisation et la surveillance des cours d'eau : développement et validation de dispositifs de détection et de mesure de la croissance de biofilms *in situ* (capteurs biofilms). 180 p.

[R11] Morin S. 2009. Surveillance de la qualité des eaux des rivières par les biofilms (SurF), Programme Interrégional Aquitaine / Midi-Pyrénées - Rapport 2009. Cemagref, 22 p.

[R12] Macary F., Probst J.L., Delmas F., Lek S., Debenest T., Laplana R., Mazzella N., Morin S., Roubeix V., Uny D. 2010. Risques environnementaux liés aux pollutions agricoles et qualité physico-chimique et biologique des cours d'eau : modélisation de l'impact de ces pollutions. Performance environnementale des activités agricoles : rapport scientifique final du programme Insolevie 2006-2009. 61p.

[R13] Morin S., **Valade D.**, Tison Rosebery J., Bertrin V., Cellamare M., Dutartre A. 2010. Utilisation du phytobenthos pour la bioindication en plans d'eau : état de l'art des méthodes disponibles et test de métriques sur les plans d'eau aquitains. 56 p.

[R14] Tison Rosebery J., Morin S., Chauvin C., Liebig H., Hupin C., Renard V., Bertrin V., Bonnet M., Boudigues M., Jan G., Moreira M., Rebillard J.P. 2010. Impact des rejets de l'établissement manufacture landaise de produits chimiques (MLPC) sur le Luzou. 188 p.

[R15] Tison Rosebery J., Morin S., Coste M. 2010. Traits biologiques et écologiques comme descripteurs synthétiques des communautés diatomiques : état de l'art et premiers tests de métriques. 25 p.

[R16] Morin S., Tison Rosebery J., Delmas F., Coste M. 2011. Effet des métaux sur les communautés de diatomées d'eau douce. Etat de l'art et test de métriques sur un jeu de données français. 46 p.

[R17] Archaimbault V., Chauvin C., Dumont B., Dutartre A., Montuelle B., Morin S., Trichet E. 2011. Évaluation de la qualité du Vistre sur le tronçon aval de Caissargues. 96 p.

[R18] Archaimbault V., Chauvin C., Dumont B., Dutartre A., Montuelle B., Trichet E., Morin S. 2011. Évaluation des effets écologiques d'une restauration physique sur le Vistre - secteur de Bouillargues. 86 p.

[R19] Morin S., Tison Rosebery J. 2012. Suivi hydrobiologique du Luzou, année 2012 : communautés de diatomées benthiques. 13 p.

[R20] Morin S., Tison Rosebery J. 2013. Suivi hydrobiologique du Luzou, année 2013 : communautés de diatomées benthiques. 17 p.

[R21] Reyjol Y., Spyratos V., Basilico L, Archaimbault V., Argillier C., Bertrin V., Boutry S., Chauvin C., Delaigue O., Delmas F., Dutartre A., Gevrey M., Laplace-Treyture C., Menay M., Morin S., Pont D., Rosebery J., Usseglio-Poletera P., Mondy C., Bouchez A., Caquet T., Rimet F., Roucaute M., Monnier O., Stroffek S., Genin B. 2013. Bioindication : des outils pour évaluer l'état écologique des milieux aquatiques - Perspectives en vue du 2e cycle DCE - Eaux de surface continentales. Coord: Y. Reyjol, Onema, France, 56 p.

[R22] Kelly M., Ács É, Bertrin V., Bennion H., Borics G., Burgess A., Denys L., Ecke F., Kahlert M., Karjalainen S.M., Kennedy B., Marchetto A., Morin S., Picinska-Fałtynowicz J., Phillips G., Schönfelder I., Schönfelder J., Urbanič G., van Dam H., Zalewski T., Poikane S. 2014. Water Framework Directive Intercalibration Technical Report: Phytobenthos ecological assessment methods. Ed: S. Poikane, European Union, Luxembourg, 140 p.

[R23] Morin S., Vedrenne J., **Neury-Ormanni J.**, Rosebery J. 2014. Suivi hydrobiologique du Luzou, année 2014 : communautés de diatomées benthiques. 18 p.

[R24] Bertrin V., Dutartre A., Delest B., Eon M., Fournier A., Jan G., Laplace-Treyture C., Madarassou K., Moreira S., Morin S., Tison-Rosebery J. 2014. Evaluation de l'impact de la moisson de *Lagarosiphon major* dans l'Etang Blanc (Landes) : rapport 2011-2013. 54 p.

**Mémoires diplômants**

[M1] Morin, S. 2003. *Amélioration des techniques de bioindication diatomique et d'analyse des données, appliquées à la révélation des effets des pollutions à toxiques*. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du titre d'ingénieur, ENITA de Bordeaux. 105 p.

[M2] Morin, S. 2006. *Bioindication des effets des pollutions métalliques sur les communautés de diatomées benthiques - Approches in situ et expérimentales*. Doctorat d'Ecotoxicologie, Université Bordeaux 1. 302 p.