

# Guide des gestionnaires

Méthodologie d'évaluation de la qualité des masses d'eau à l'aide de modèles mathématiques de changement d'échelle

Avec le soutien du Fonds Européen pour le Développement Régional (FEDER) et de la Wallonie via la Direction générale de l'Agriculture, des Ressources naturelles et de l'Environnement (DGO3)



## Avant-propos

Le développement de ce guide méthodologique visant l'évaluation de la qualité des masses d'eau à l'aide de modèles mathématiques de changement d'échelle a été réalisé dans le cadre du projet INTERREG FWVL DIADeM. Le guide présente les méthodologies développées permettant, à l'aide de modèles mathématiques, d'intégrer les réponses biologiques mesurées à différentes échelles d'organisation (biomarqueurs *in situ* en particulier) pour fournir une évaluation considérant le niveau populationnel des impacts, et se plaçant ainsi au niveau des conséquences écologiques de la pollution chimique toxique. Dans le cadre de ce projet INTERREG FWVL DIADeM, nous avons développé trois modèles prédictifs pour trois des espèces cibles du projet : gammare, dreissène, épinoche. Nous avons aussi utilisé pour le développement de ces modèles mathématiques des données sur les effets au niveau des populations et de l'écosystème d'un effluent de STEP reconstitué (mélange de résidus médicamenteux) obtenues lors d'une expérience en rivières artificielles (mésocosmes).

L'organisation et la rédaction principale de ce guide ont été réalisées par Arnaud Chaumot, Sandrine Joachim, Frederik Delaender et Rémy Beaudouin. Ce guide a également bénéficié de la contribution de plusieurs membres de l'UMR-I 02 SEBIO vis-à-vis de leur expertise respective sur les différentes réponses biologiques étudiées : Jean Marc Porcher et Alain Geffard.

## Table des matières

1	Introduction : intérêts de la modélisation lien biomarqueur – population .....	4
2	Expérience en mésocosmes - synthèse sur le déroulement et la production des données .....	6
3	Prédiction des impacts toxicologique sur la viabilité des populations d'un poisson : l'épinoche à trois épines .....	8
3.1	Cadre de développement et d'application du modèle .....	8
3.2	Description du modèle .....	9
3.3	Exemples d'application : effluent de STEP reconstitué (DIADeM) .....	19
4	Modélisation populationnelle chez le crustacé <i>Gammarus fossarum</i> : développement et utilisation en biosurveillance.....	25
4.1	Contexte et objectif d'application du modèle de population développé chez <i>G. fossarum</i> . .....	25
4.2	Description du modèle matriciel de population développé (Leslie Lefkovitch).....	26
4.3	Application en biosurveillance : cas d'étude du bassin de la Meuse .....	29
5	Description et application du modèle dreissène.....	32
5.1	Contexte .....	32
5.2	Modèle 1 : Modèle du poids individuel.....	32
5.3	Modèle 2 : Modèle de la longueur individuelle .....	33
5.4	Modèle 3 : Modèle de population.....	33
5.5	Appliquer les modèles .....	34
6	Attentes et améliorations attendues par les gestionnaires .....	35
6.1	Rappel des objectifs de l'atelier .....	35
6.2	Compte rendu.....	35
7	Bibliographie.....	37
8	Annexe.....	44
8.1	Données expérimentales utilisées par les modèles .....	44
8.2	Physico-chemistry in mesocosms.....	45
8.3	Modèle épinoche.....	46

# 1 Introduction : intérêts de la modélisation lien biomarqueur – population

Les activités anthropiques sont à l'origine d'une pollution diffuse de substances chimiques (pesticides, molécules pharmaceutiques, métaux lourds, etc...) transférées entre les différents compartiments de l'environnement (sol, atmosphère, eau continentale et océan). De plus, du fait des phénomènes biogéochimiques naturels comme le dépôt des particules, le lessivage et l'érosion des sols, le milieu aquatique est souvent le récepteur final de ces contaminants. En effet, de nombreux polluants aux caractéristiques très hétérogènes (persistance, hydrophobicité, bioaccumulation) y sont retrouvés. Or, les effets de telles substances sur les écosystèmes aquatiques restent encore mal connus. L'évaluation des risques environnementaux (ERE) de ces substances pour les organismes aquatiques est ainsi d'un enjeu considérable et concerne aussi bien les substances « existantes » que « nouvelles » (règlement REACH).

La capacité d'un écosystème à absorber une perturbation d'origine naturelle ou anthropique dépend des interactions au sein et entre les populations le composant (Scheffer et al. 2001, Folke et al. 2004). Ces interactions peuvent avoir un rôle tampon, comme cela a été démontré lors d'apports excessifs de nutriments (Cottingham and Schindler 2000), ou induire une restructuration des réseaux trophiques pouvant à terme rendre une population ou une communauté plus vulnérable aux perturbations futures (O'Gorman et al. 2012).

Les tests de toxicité en laboratoire sont généralement basés sur la réponse d'une espèce à une substance chimique au niveau individuel ou sub-individuel (Forbes et Calow 2002, Lin et al. 2005). En écotoxicologie aquatique, ils sont effectués sur trois niveaux trophiques (algues, crustacés, poissons) à partir desquels sont déduits des valeurs seuils réglementaires. Néanmoins, ces tests sont peu représentatifs d'un écosystème complexe où la pollution est variable et d'origine multiple (Forbes et al. 2017).

Ainsi, de plus en plus d'observations des impacts des substances chimiques sur l'endocrinologie, la physiologie, le comportement et les performances des individus sont rapportées, que ce soit en laboratoire ou sur le terrain (Tyler et al. 1998). Les conséquences négatives de ces impacts sur la viabilité des populations ont même pu être démontrées sur le terrain, par exemple, une population de vairons tête de boule (*Pimephales promelas*) exposée chroniquement au 17 $\alpha$ -éthinyloestradiol a quasiment disparu (Kidd et al. 2007, Kidd et al. 2014). D'autres auteurs ont rapporté des impacts significatifs sur les populations de poissons dus à des perturbations du système endocrinien en aval d'une usine pharmaceutique (Sanchez et al. 2011). De même, des effets ont été observés sur la diversité génétique de populations d'épinoches à trois épines exposées de façon chronique à différentes substances chimiques (Santos et al. 2013). En particulier, les auteurs ont observé l'apparition de goulots d'étranglement génétiques qui peuvent être problématiques pour la viabilité des populations à long terme.

Une des difficultés de l'évaluation des risques écologiques des substances chimiques est qu'il existe un fossé entre l'échelle de mesure et de compréhension des effets toxiques, l'organisme, et l'échelle d'intérêt pour les gestionnaires de l'environnement, les populations et les communautés présentes dans nos écosystèmes. Ainsi, un enjeu majeur pour l'évaluation de ce risque écotoxicologique est la traduction des déficits fonctionnels des individus en termes d'impacts quantifiables au niveau des populations.

Ainsi, il est nécessaire d'extrapoler les conséquences sur la viabilité des populations à partir de mesures réalisées sur les organismes lors de test d'exposition au laboratoire ou sur le terrain notamment par encagements (i.e., tests in situ). Malheureusement, ce changement d'échelle n'est pas simple en raison des interactions et rétroactions des différents facteurs abiotiques et biotiques (Adams 2002), et donc la traduction des déficits fonctionnels chez les individus en effets au niveau des populations est un

grand défi pour l'évaluation des risques écologiques des substances chimiques (Calow and Forbes 2003, Forbes et al. 2008).

Une alternative prometteuse pour combler cette lacune entre les observations expérimentales et l'unité biologique à protéger (la population à minima) est l'utilisation de modèles mathématiques mécanistiques dédiés au changement d'échelle (Caswell 1996, Forbes et al. 2008, Beaudouin et al. 2012a, Coulaud et al. 2014, Beaudouin et al. 2015).

Le projet européen « Développement d'une approche intégrée pour le diagnostic de la qualité des eaux de la Meuse » (projet DIADeM) proposait une approche pluridisciplinaire ayant pour objectif d'améliorer le diagnostic et le suivi de la qualité chimique des masses d'eau transfrontalières, la Meuse, la Semois et la Haute-Sambre. La finalité du projet est de développer, tester et appliquer des méthodes permettant le diagnostic de l'état écologique des rivières, en particulier, pour les conséquences des rejets des eaux traitées de stations d'épuration.

Lors de ce projet, en se basant sur les données originales obtenues lors d'une expérience en mésocosmes et les réponses des biomarqueurs développés dans le module 4 du projet (étude in situ de la toxicité des rejets de 5 stations d'épuration sur le bassin de la Meuse par encagements d'organismes), trois modèles prédictifs au niveau de la population de trois espèces cibles (épinouche gammare, dreissène) ont été développés et ont permis d'estimer les changements de densité attendues lorsque ces populations sont exposées à une perturbation causée par un effluent provenant d'une STEP.

Ce guide méthodologique décrit les trois modèles développés afin de les rendre le plus accessibles et transparent possible pour les gestionnaires des milieux aquatiques.

## 2 Expérience en mésocosmes - synthèse sur le déroulement et la production des données

Pour répondre aux objectifs du projet DIADeM, une expérience dans les rivières artificielles de l'Ineris testant les effets d'un mélange de cinq pharmaceutiques sur les épinoches à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*), les gammars (*Gammarus fossarum*) et les dreissènes (*Dreissena polymorpha*) a été réalisée. Les substances pharmaceutiques sont omniprésentes dans l'environnement et leurs concentrations varient généralement du ng/L à plusieurs µg/L. De plus, comme ces molécules sont conçues pour être biologiquement actives, il est indispensable d'évaluer leurs effets sur les organismes non ciblés.

Pour augmenter le réalisme de l'expérience, il a été proposé de se focaliser sur les substances pharmaceutiques les plus présentes dans les cours d'eau transfrontaliers, en mélange et en testant des concentrations environnementales. Ainsi, sur la base de l'occurrence des molécules dans les eaux de surface de la Meuse, la Semois et la Sambre (données Société Wallone des Eaux) ainsi que des données sur les effets toxiques et écotoxiques issues de la littérature, un mélange de cinq substances a été choisi collectivement par l'ensemble des partenaires du projet : Diclofénac, Carbamazépine, Naproxène, Paracétamol, Irbesartan. Trois conditions ont été testées en triplicat. Une première condition nommée 1X correspond, pour chaque substance, à la concentration médiane rencontrée dans les eaux de surface de plusieurs rivières du bassin versant de la Meuse. Ces concentrations sont 25 ng/L pour la carbamazépine, le diclofenac et le naproxène, 50 ng/L pour l'irbesartan et 10 ng/L pour le paracétamol. Les deux autres conditions, 10X et 100X, correspondent à 10 et 100 fois les concentrations de la condition 1X. Trois témoins ont également été mis en place.

L'expérimentation a été réalisée en utilisant la plateforme mésocosmes de l'Ineris qui est constituée de 12 canaux rectilignes de 10 m<sup>3</sup> dont les dimensions sont de 20 m de longueur, 1 m de largeur et 30 à 70 cm de profondeur d'eau. Chaque canal possède ainsi une zone amont peu profonde, dans lequel l'écoulement de l'eau est plus rapide que dans la zone aval plus profonde. Les deux parties sont composées de sédiment artificiel. Entre ces deux parties se situe une pente dont le fond est tapissé de pierres. Afin de reconstituer des écosystèmes aquatiques stables et autosuffisants, l'aménagement de chaque canal a été réalisé fin 2016 en suivant un protocole standardisé mis en place précédemment (de Kermoyan *et al.*, 2013). De surcroît, des populations initiales de gammars identiques et composées de deux classes de tailles (adultes et juvéniles) ont été introduites en novembre 2016 dans chaque canal. De plus, en janvier 2017, des individus engagés ont été placés afin de suivre différents biomarqueurs pendant l'exposition. Pour les dreissènes, des individus ont été engagés dans chaque canal, au mois de mars 2017 afin, d'une part, de suivre différents biomarqueurs et, d'autre part, de suivre certains traits d'histoire de vie et la croissance individuelle. Enfin, en ce qui concerne l'épinoche à trois épines, 25 individus (10 mâles, 15 femelles) ont été introduits dans chaque canal début mars 2017.

La phase d'exposition de 6 mois (Avril à Octobre 2017) a été réalisée en continu en utilisant un système de contamination totalement automatisé. Des suivis réguliers des concentrations de chaque substance dans l'eau, de la dynamique de population de poisson, du développement des macrophytes, de la biomasse du périphyton, de l'abondance et la diversité des invertébrés ont été réalisés tout au long de la phase d'exposition. Des suivis réguliers au niveau de la survie, la croissance et la mesures de certains biomarqueurs ont été effectués sur les organismes engagés (gammars et dreissènes).

Les concentrations en CBZ, IRB, DIC et NPX dans toutes les conditions étaient proches des valeurs nominales durant toute la phase expérimentale. Les concentrations retrouvées pour l'ACE étaient largement inférieures aux concentrations nominales (Tableau 1). L'hydrolyse rapide de cette substance dans l'eau est suspectée.

Tableau 1 : Concentrations nominales et mesurées des différentes substances dans l'eau durant toute la phase expérimentale

Substances	Mx1			Mx10			Mx100		
	[Nominale] (ng.L <sup>-1</sup> )	[Mesurée] (ng.L <sup>-1</sup> )	%	[Nominale] (ng.L <sup>-1</sup> )	[Mesurée] (ng.L <sup>-1</sup> )	%	[Nominale] (µg.L <sup>-1</sup> )	[Mesurée] (µg.L <sup>-1</sup> )	%
<b>CBZ</b>	25	26.5	105.9	250	229.5	91.8	2.5	2.2	88.1
<b>IRB</b>	50	50.4	100.7	500	470.5	94.1	5	4.3	85.1
<b>DIC</b>	25	20.6	82.3	250	179.1	71.6	2.5	1.7	69.2
<b>NPX</b>	25	21.1	84.4	250	191.9	76.8	2.5	1.9	78.0
<b>ACE</b>	100	51.6	51.6	1000	497.5	49.7	10	4.9	49.2

CBZ : carbamazépine, IRB : Irbesartan, DIC : Diclofénac, NPX : Naproxène, ACE : acétaminophène

À la fin de l'expérimentation en octobre 2017, tous les canaux ont été vidés afin de récupérer l'ensemble des populations de poissons. Ces derniers ont été euthanasiés puis analysés au laboratoire (chaque individu a été pesé, mesuré et sexé). A la condition M100, un effet sur le nombre de femelle fondatrices ont été observé. Un effet sur l'indice de condition des juvéniles a également été observé pour toutes les conditions (Figure 1).

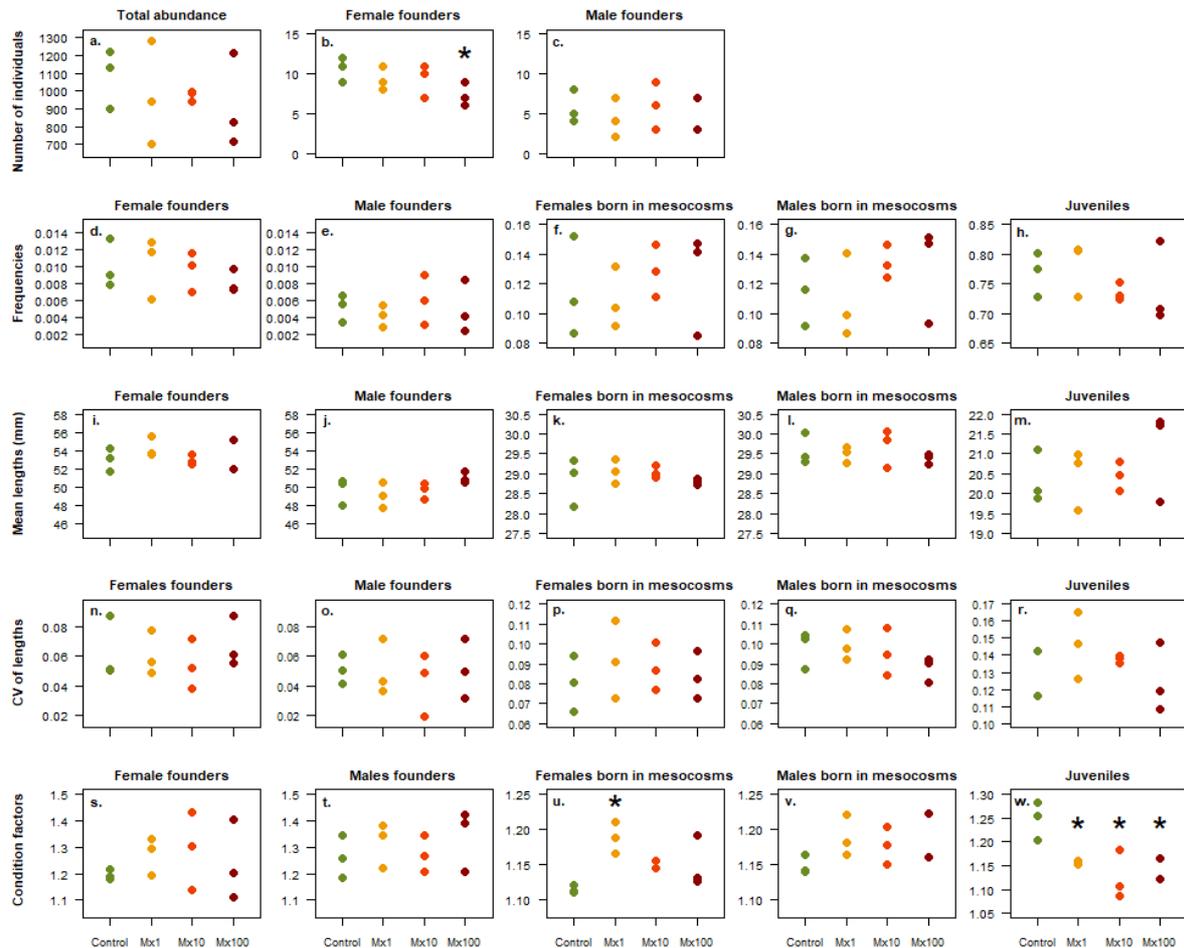


Figure 1 : Variables descriptives des populations en fonction des conditions (témoin, Mx1, Mx10 and Mx100). Les différences significatives entre les conditions et le témoin sont représentés par une asterisk (p-value < 0.05).

Des analyses dans le biote pour évaluer le facteur de bioconcentration et/ou bioaccumulation des substances ont été réalisées durant l'expérience sur les organismes encagés et en fin d'expérience sur les organismes récupérés. Chez l'épinoche à trois épines, quel que soit la condition, des faibles potentiels de bioaccumulation ont été retrouvés pour l'ensemble des substances.

### 3 Prédiction des impacts toxicologique sur la viabilité des populations d'un poisson : l'épinoche à trois épines

#### 3.1 Cadre de développement et d'application du modèle

Les tests de toxicité en laboratoire sont généralement basés sur la réponse d'une espèce à une substance chimique au niveau individuel ou sub-individuel (Forbes and Calow 2002, Lin et al. 2005). En écotoxicologie aquatique, ils sont effectués sur trois niveaux trophiques (algues, crustacés, poissons) à partir desquels sont déduits des valeurs seuils réglementaires. Néanmoins, ces tests sont peu représentatifs d'un écosystème complexe où la pollution est variable et d'origine multiple (Forbes et al. 2017). Ainsi, l'utilisation d'écosystèmes aquatiques artificiels à vocation expérimentale tels que les mésocosmes sont pertinents pour l'évaluation du risque puisqu'ils permettent d'étudier les effets directs et indirects des polluants à différents niveaux d'organisation biologique (individu, communauté, population) dans un contexte écologique réaliste (Caquet et al. 2000a).

Les poissons font partie des éléments clés utilisés comme indicateurs biologiques d'un bon état de santé des cours d'eau (Directive Cadre sur l'Eau). En effet, ils jouent un rôle écologique majeur, par exemple dans la structuration des réseaux alimentaires aquatiques (van der Oost et al. 2003). D'après les directives OCDE (2006), l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) fait partie des quelques espèces recommandées pour l'étude des contaminants en mésocosme. La biologie et le comportement de cette espèce ont de plus été très largement étudiés (Wootton 1984, Bell and Foster 1994) et des études en mésocosme ont déjà été réalisées sur cette espèce afin d'étudier les effets directs et indirects de différentes substances chimiques à plusieurs niveaux d'organisation biologique (individu, population) (Roussel et al. 2007, de Kermoyan et al. 2013).

Néanmoins, pour mettre en évidence les effets des substances chimiques sur les organismes et populations, les mésocosmes doivent être répliquables tout en restant réalistes (Caquet et al. 2000b). Cependant, lors de la comparaison entre traitements (rivières contrôles vs. traitées) en fin d'expérience des variables descriptives des populations, la puissance des tests statistiques est faible et le risque de ne pas détecter de différence entre les traitements est important (Shaw et al. 1994, Kennedy et al. 1999). Dans un cadre d'évaluation des risques écotoxicologiques des substances chimiques, ce risque ne peut être accepté. Une solution pour pallier ce problème est le développement de modèles mathématiques décrivant la dynamique de population pour permettre une meilleure analyse des résultats des expériences en mésocosme (Beaudouin et al. 2012c).

Parmi les modèles mécanistiques existants, le modèle DEB pour « Dynamic Energy Budget » (Kooijman 2010) permet de décrire mathématiquement le cycle de vie d'un organisme (croissance, maturité et reproduction). Ce modèle, inclus dans lignes directrices de l'OECD (2006), a récemment été développé pour l'épinoche à trois épines (Leloutre et al. 2018) et permet de prédire ses processus physiologiques en fonction des conditions environnementales (température, nourriture). De plus, imbriquer des modèles DEB à des modèles individus-centrés (IBM) est une solution prometteuse pour l'étude des contaminants à l'échelle de la population (Beaudouin et al. 2012a, Martin et al. 2012).

Ainsi, le modèle DEB-IBM de dynamique de population de l'épinoche à trois épines a initialement été développé afin de prédire la dynamique de population en mésocosme en condition normale, avant d'intégrer de potentiels effets toxiques. Pour cela, plusieurs jeux de données d'expériences en mésocosme ont servi au développement, à la calibration et l'évaluation du modèle (David et al. 2019b).

Dans le cadre du projet Interreg « Développement d'une approche intégrée pour le diagnostic de la qualité des eaux de la Meuse » (projet DIADeM), une expérience dans les rivières artificielles de l'Ineris testant les effets d'un mélange de cinq pharmaceutiques sur les épinoches à trois épines a été réalisée. De plus, une étude en laboratoire a été également réalisée avec le même mélange pour analyser les effets de celui-ci sur les traits d'histoire de vie des épinoches. Les effets du mélange ont donc, d'une part, été étudiés au niveau individuel à l'aide d'analyses de biomarqueurs (en laboratoire et mésocosme) pour évaluer les effets du mélange sur les grandes fonctions vitales des organismes (reproduction, croissance). D'autre part, les effets du mélange ont également été étudiés à l'échelle populationnelle en comparant les variables descriptives des populations exposées et non exposées en mésocosme après six mois d'exposition.

Cet ensemble de données nous a permis d'analyser les résultats de l'expérience en mésocosme en s'appuyant sur des simulations du modèle DEB-IBM pour améliorer la compréhension des effets observés à l'échelle de la population et de faire le lien entre les réponses des biomarqueurs et les effets observés à l'échelle populationnelle, et ceci dans le but de permettre un meilleur diagnostic de l'état écologique des rivières. Ces différents résultats ont été valorisés dans un article intitulé « Effects of chronic exposure to a pharmaceutical mixture on the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) population dynamics in lotic mesocosms » (David et al. 2020).

La première partie de cette section du guide détaille le modèle DEB-IBM utilisé et décrit comment ce modèle a été adapté pour intégrer les effets toxiques des substances chimiques testées en mésocosme afin d'améliorer la compréhension et la prédiction des mécanismes de toxicité. Dans la seconde partie, les résultats de l'application du modèle au mélange de cinq pharmaceutiques sont présentés.

## 3.2 Description du modèle

Le modèle DEB-IBM a tout d'abord été développé pour prédire la dynamique de population en condition normale. En effet, le modèle doit pouvoir prédire correctement les dynamiques des populations en intégrant les régulations par les processus écologiques en condition contrôle. Ainsi, nous allons tout d'abord présenter dans une première sous partie le modèle prédisant la dynamique de population des épinoches à trois épines « écologique ». Puis, dans une seconde sous partie, l'intégration des réponses des biomarqueurs et plus généralement la modélisation des effets des substances toxiques sera présentée.

### 3.2.1 Modèle de la dynamique de population des épinoches à trois épines.

#### 3.2.1.1 *Sous modèle prédisant l'allocation de l'énergie au sein d'une épinoche*

Le modèle DEB développé par Leloutre et al. (2018) prédisant l'allocation de l'énergie au sein d'un organisme pour réaliser les grandes fonctions des individus (croissance, reproduction et maintenance) en fonction des conditions environnementales (température, nourriture) a servi de base à notre modèle global (DEB-IBM). Afin de faciliter le développement du modèle global, nous avons cherché à évaluer la pertinence de ce sous modèle DEB pour des épinoches à trois épines vivant en mésocosme ou dans des rivières naturelles. En effet, la question de sa transposition au milieu semi-naturel que constitue un mésocosme est légitime puisque ce modèle a été calibré avec des données de laboratoire où les épinoches étaient élevées en condition standardisée.

Pour évaluer sa pertinence pour prédire les processus physiologiques de l'épinoche à trois épines soumis à des variations naturelles de facteurs écologiques (température et nourriture), des données de l'INERIS provenant de cinq expériences en mésocosmes ont été utilisées. En particulier, nous avons utilisé les données de croissance et survie des fondateurs des populations d'épinoches à trois épines en mésocosme. En effet, négliger les phénomènes de compétition alimentaire pour les fondateurs est une hypothèse acceptable puisque ceux-ci sont largement dominants dans les mésocosmes.

Cette étude nous a permis d'optimiser les scénarios de température et de nourriture nécessaires pour le modèle DEB et qui constitueront des entrées du modèle global DEB-IBM. De plus, nous avons montré

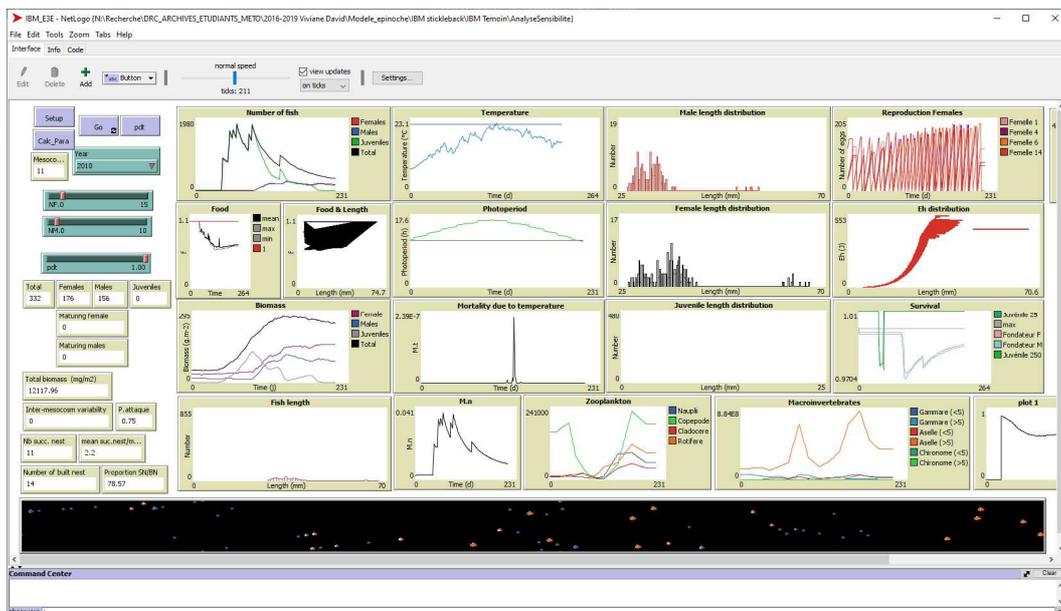
l'importance de prendre en compte le comportement reproducteur du mâle puisque, pour optimiser sa stratégie de reproduction, la répartition de l'énergie entre les grandes fonctions vitales (croissance, reproduction, maintenance) va être modifiée. Enfin, les données de tailles des fondateurs en début et fin d'expérience en mésocosme nous ont permis de calibrer la variabilité inter-individuelle afin de prédire l'étendue des tailles observables en mésocosme.

Par conséquent, nous avons montré que les modèles basés sur la théorie DEB constituent des bases pertinentes pour décrire les processus physiologiques des organismes en prenant en compte les effets de la température et de la nourriture en milieu naturel. L'ensemble de ses travaux sont présentés en détails dans un article publié dans *Ecology of Freshwater Fish* (David et al. 2018). Pour prendre en compte les interactions entre les épinoches à trois épines en mésocosme, nous avons ensuite imbriqué notre modèle DEB à un IBM (Beaudouin et al. 2012b, Martin et al. 2013, Beaudouin et al. 2015).

### 3.2.1.2 Le modèle de la dynamique normale de population

La modélisation individu-centrée simule la dynamique des populations en décrivant le cycle de vie des individus et les interactions entre les individus ainsi qu'avec leur environnement (Grimm and Railsback 2005). La description ci-dessous du DEB-IBM suit le standard ODD (Overview, Design concepts, Details) préconisé pour décrire ce type de modèle (Grimm et al. 2010). Le développement du DEB-IBM, la calibration, l'évaluation et un cas théorique d'application du modèle sont présentés en détails dans un article intitulé « Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model » (David et al. 2019b). De même, La description détaillée des parties «Design concepts», «initialization», «Input data», et «submodels» du protocole ODD sont publiées dans les annexes de cet article.

Le modèle a été développé sous le logiciel NetLogo (Railsback and Grimm 2011), gratuit et libre d'accès. Ce logiciel est notamment composé d'une interface graphique permettant de visualiser le système modélisé (Figure 2). De plus, pour faciliter le développement, l'estimation des paramètres et la réalisation d'analyses de sensibilité du modèle, un *package* appelé « RNetlogo » disponible dans le logiciel R, également en libre d'accès, a été utilisé pour réaliser des simulations d'un modèle développé sous Netlogo à partir du logiciel R (Thiele et al. 2012, 2014).



**Figure 2.** Visualisation de l'interface du logiciel NetLogo (Version 6.0.4) pour le modèle implémenté pour l'épinoche à trois épines. L'utilisateur peut choisir certains critères et valeurs de certains paramètres (boîtes vertes), les prédictions peuvent être montrées sur des graphiques ou données directement (boîtes

jaunes). Les individus et l'environnement modélisés peuvent être visualisés sur l'interface graphique (panel du bas).

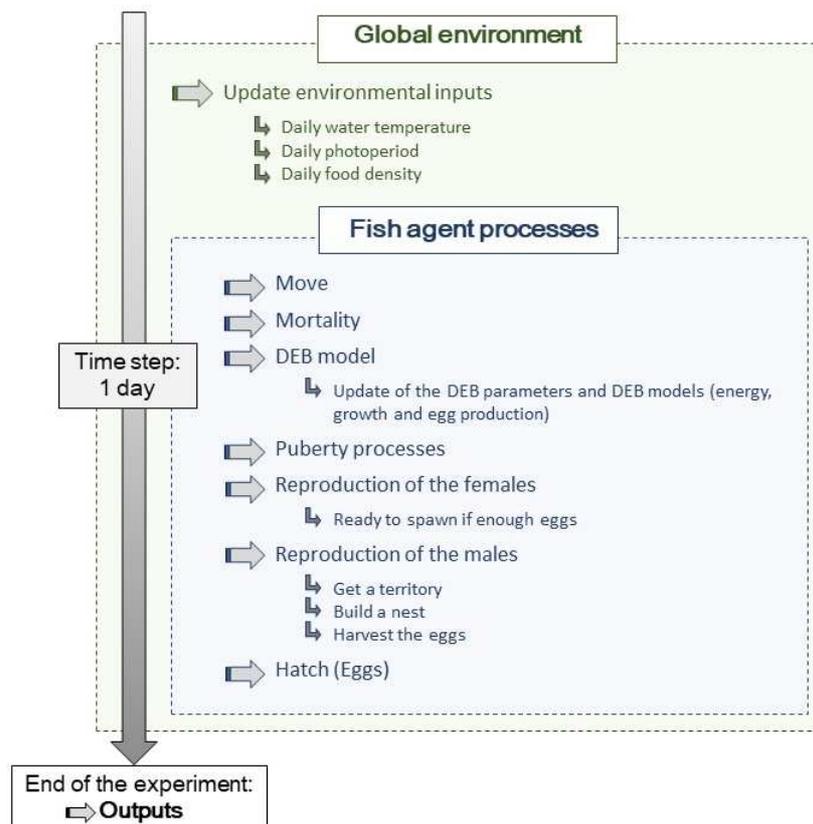
### Objectif.

Le DEB-IBM a été développé pour prédire la dynamique des populations d'épinoches à trois épines dans les expériences en mésocosme. À cette fin, le modèle intègre des informations pertinentes sur l'environnement (température, photopériode et dynamique des proies). L'objectif du modèle est d'aider à améliorer l'évaluation actuelle des risques des produits chimiques, en améliorant les analyses des expériences sur le mésocosme et en prédisant les conséquences de ces substances à long terme.

### Entités, variables d'état et échelles.

Le modèle est basé sur un pas de temps d'un jour (Figure 3). Les mésocosmes simulés sont des canaux de 20 m<sup>2</sup> (surfaces des mésocosmes à l'INERIS) et la profondeur n'est pas prise en compte.

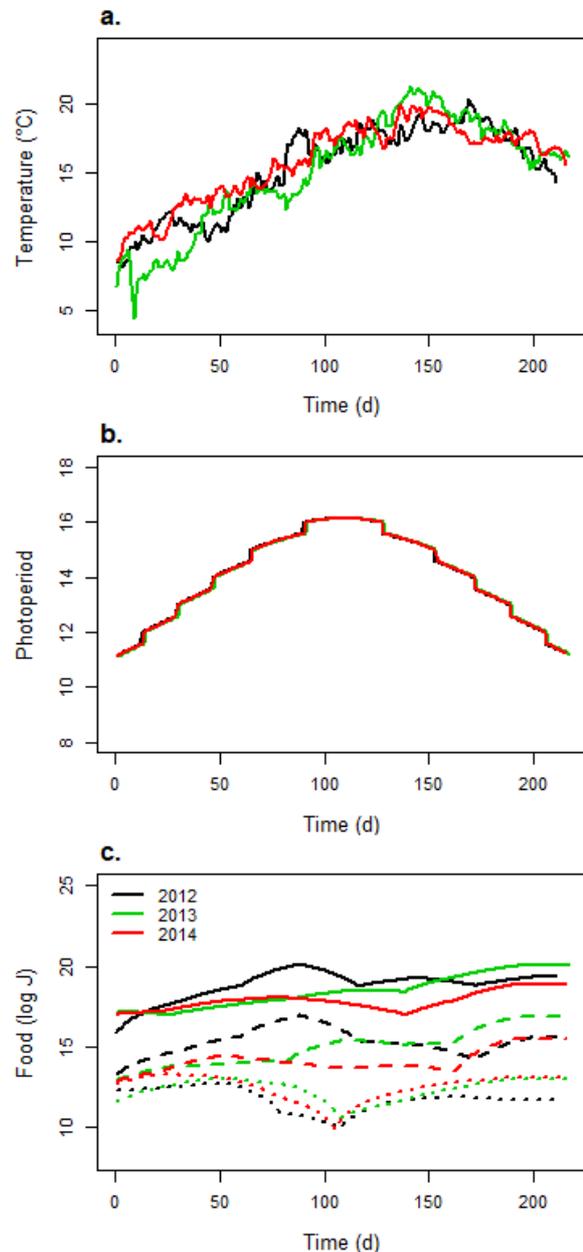
Le modèle comprend deux entités, les individus et l'environnement. Les individus sont divisés en trois catégories, les juvéniles, les adultes femelles et mâles. Les individus sont caractérisés par des variables décrivant leur physiologie, comme par exemple leur sexe, longueur, masse, maturité et états reproductifs. Les œufs et les larves ne sont pas explicitement modélisés en tant qu'individus car ils utilisent l'énergie de leur sac vitellin et n'assimilent donc pas la nourriture. Cependant, ils sont pris en compte dans les processus de reproduction : les œufs, les larves et les nids sont modélisés comme une entité entière et sont représentés comme un attribut des mâles.



**Figure 3.** Diagramme conceptuel du déroulement des événements lors d'un pas de temps dans le DEB-IBM. Le pas de temps du modèle représente un jour.

La deuxième entité du modèle, l'environnement, est définie par trois variables principales, la température, la photopériode et la densité de nourriture du mésocosme. Ces variables sont mises à jour quotidiennement à partir des données enregistrées lors des expériences (Figure 4). En bref, les scénarios de température ont été définis à partir des mesures de température de l'eau (moyennes par

jour et par emplacement des capteurs). Les scénarios de nourriture ont été définis à partir des prélèvements de proies (données d'abondance converties en énergie) réalisés en mésocosmes selon le protocole défini par David et al. (2018). Les données de photopériode proviennent du Département des applications astronomiques de l'Observatoire naval des États-Unis ([http://aa.usno.navy.mil/data/docs/Dur\\_OneYear.php](http://aa.usno.navy.mil/data/docs/Dur_OneYear.php)).



**Figure 4.** Scénarios de température de l'eau (a), photopériode (b) et nourriture (c) pour les expériences en mésocosme 2012, 2013 et 2014. Pour le graphique c, les lignes pointillées représentent l'énergie contenue dans le zooplancton, les lignes discontinues représentent l'énergie contenue dans les

macroinvertébrés de taille inférieure à 5 mm et les lignes continues représentent l'énergie contenue dans les macroinvertébrés de taille supérieure à 5 mm.

#### Vue globale des processus et de l'enchaînement des actions.

La figure 2 présente l'enchaînement des événements sur un pas de temps. Tous les détails des processus et les équations associées peuvent être trouvés dans le protocole ODD fourni en Annexe de l'article de David et al. (2019b).

À chaque pas de temps, les variables globales de l'environnement sont mises à jour (température, photopériode et densité de la nourriture) à partir des scénarios issus des données expérimentales. Ensuite, les variables globales des poissons (par exemple, la biomasse totale) sont aussi mises à jour. En début de pas de temps, les individus peuvent se déplacer dans leur environnement (figure 1, action «Move») et des individus peuvent mourir en raison du sous-modèle de mortalité stochastique dépendant de la température et de la densité (figure 1, «Mortality»).

Leur croissance, l'évolution de leur énergie de maturité et leur dynamique de reproduction sont décrites par les modèles DEB individuels (figure 1, « modèle DEB»). Pour introduire la variabilité interindividuelle, les paramètres DEB  $\{\dot{p}Am\}$ ,  $\varphi$ ,  $E_H^p$  and  $E_H^b$  sont spécifiques à chaque individu et sont distribués une loi lognormale.

La quantité de nourriture exploitée à chaque pas de temps dépend de la distance de prédation individuelle (paramètres  $R_{ref}$  et  $L_{ref}$ ), de la taille des proies auxquelles un individu a accès ( $a_{food}$ ,  $b_{food}$ ,  $ratio_f$ ) et de l'audace des mâles ( $Bold.M$ ). La compétition pour les aliments est modélisée en tenant compte de la biomasse totale des poissons et elle module l'apport d'énergie provenant des aliments ( $K_{dens}$ ,  $a_{Kdens}$ ) (voir Tableau 1).

Lorsque les poissons atteignent 26 mm de long, les juvéniles sont classés comme mâles ou femelles (taille des plus petits individus matures dans les données expérimentales). La maturité sexuelle des individus est prédite par le modèle DEB (figure 1, «Puberty processes»). De plus, lorsque les mâles ont des gonades matures, ils doivent accumuler suffisamment d'énergie pour soutenir les processus de reproduction.

La modélisation de la reproduction des femelles est basée sur la taille des pontes (nombre d'œufs) qu'elles peuvent produire et la fraction des pontes qu'elles peuvent pondre en une seule fois dans un nid (figure 1, «reproduction des femelles»). Le comportement reproducteur des mâles est plus complexe (figure 1, «reproduction des mâles») car ils doivent défendre un territoire si suffisamment d'espace est disponible, construire un nid, attirer les femelles, récolter les œufs et prendre soin du nid jusqu'à l'éclosion des œufs (Wootton, 1984). Chaque nid a une probabilité quotidienne d'être détruit. Les mâles peuvent faire plusieurs nids jusqu'à la fin de la période de reproduction. Outre la saison, la fin du processus de reproduction des mâles dépend également du nombre de nids réussis (Mori, 1993). À la fin de la période d'incubation dans le nid, le nombre de larves survivantes détermine le nombre de juvéniles nouvellement créés (figure 1, «Hatch»).

Enfin, la variabilité inter-mésocosme va influencer la mortalité et la densité de nourriture. Une variabilité inter-annuelle est incluse dans un paramètre responsable de la compétition pour la nourriture. Les simulations sont exécutées pendant la même durée que les expériences en mésocosme réelles et les sorties des simulation DEB-IBM sont les mêmes variables finales que celles enregistrées dans les expériences de mésocosme.

**Tableau 1.** Description des paramètres et de leurs valeurs du modèle en situation normale (David et al. 2019b)

Parameter	Description	Value	Unit
<b>DEB parameters</b>			
$\delta_M$	Shape coefficient	0.250	-
$E_0$	Initial reserve	5.61	J
$E_H^b$	Cumulated energy invested in maturity at birth	1.33	J
$E_H^p$	Cumulated energy invested in maturity at puberty	658	J
$\{p_{Am}\}$	Maximum surface area specific assimilation rate	2.42	J/mm <sup>2</sup> /d
$\dot{v}$	Energy conductance	1.33	mm/d
$\kappa$	Specific fraction of energy mobilized from energy from reserved allocated to growth and somatic maintenance	0.757	-
$\alpha$	Fraction subtracted from $\kappa$ to obtain $\kappa$ in males after maturity	0.111	-
$L_{egg}$	Size of primordial cell in physical length	0.563	mm
$[p_M]$	Volume specific somatic maintenance costs	0.132	J/mm <sup>3</sup> /d
$[E_G]$	Cost of synthesis of a unit of structure	1.10	J/mm <sup>3</sup>
$k_J$	Maturity maintenance rate	0.003	/d
$k_R$	Reproduction efficiency	0.978	-
$\phi$	Proportional factor to be fed ad libitum for a given day	15.31	J/mm <sup>2</sup>
$T_{max}$	Water temperature above which consumption ceases	25	°C
$Cq$	Rate at which the function increases over low temperatures	3	-
$T_{opt}$	Optimal water temperature	23	°C
<b>Reproduction parameters</b>			
Photop.Thr	Minimum day time to start the reproduction	11.305	h
Breeding.Period	Time of the breeding period	117.23	d
Adult.Thr	Minimum length to determine fish sex	26	mm
L0	Standard length of juveniles at hatching	5.72	mm
L_mat_founder	Standard mature length for the equations	33.01	mm
a_R.max	Calculation of the size clutch in function of the female length	5.37	1/mm
b_R.max	Calculation of the size clutch in function of the female length	16.8	-
P.OL	Survival probability of eggs	0.936	-
A.clutch.max	Maximal duration of keeping eggs for a female	2	d
Proba.Stop	Probability of stopping the reproduction processes for a male	0.09	-
Part_Rmax	Fraction of eggs laid by a female	0.703	-
a_Nb.Egg	Maximum number of eggs in a nest in function of the male length	58.8	-
b_Nb.Egg	Maximum number of eggs in a nest in function of the male length	-437	-
Time_harvest_mean	Harvest mean duration for males	12.7	%
Time.Acc	Time for male founder sticklebacks to acclimate themselves to their new environment	-7	degree/d
Female_Select	Maximal number of female to collect its eggs	4	-
Time_Dvpt_Eggs	Development time for the eggs	6.9	degree/d
R_min	Minimal energy for males to support the reproduction processes	1586.56	J
R_diff	Time between two reproductions	11.14	degree/d
A.territori.min	Minimal territory size for a male	0.226	m <sup>2</sup>
Gamma.Compete	Competition parameter for getting a territory	0.15	-
<b>Food parameters</b>			
a_food	Relationship Length - Mouth size	0.297	-
b_food	Relationship Length - Mouth size	-0.743	mm
ratio_f	Ratio prey size/mouth size	0.6	-
K_dens	Parameter of density dependence for the food	5630	mg/m <sup>2</sup>
a_Kdens	Parameter of density dependence for the food	0.437	-
R_ref	Reference radius to calculate the radius of the water column	57.60	mm
L_ref	Reference length to calculate the radius of the water column	23.54	mm
Bold.M	Pourcentage of boldness for males during foraging	0.17	-
<b>Survival parameters</b>			
m_dens	Parameter for the density dependent mortality	0.0000086	-
mr	Malus for the survival of males in reproduction	0.000856	-
Mu	Natural mortality rate at unit weight	0.00323	1/d
bN	Allometric scaling factor	-0.0516	1/d
DP50_m	50% of the density dependence	4000	mg/m <sup>2</sup>
M.nn	Daily mortality of the nests	0.0191	-
a_t	Parameter to calculate the mortality rate due to the temperature	3.54	-
b_t	Parameter to calculate the mortality rate due to the temperature	-90.8	-
P.Dest.nid	Probability of destroying a nest after an attack	0.01	-
<b>Variability parameters</b>			
cv	Inter-individual variability	0.061	-
CV.c_M	Coefficient of variation of the mortality (inter-mesocosm variability)	23.92	%
CV.c_F	Coefficient of variation of the food (inter-mesocosm variability)	14.94	%

Lors de l'évaluation du modèle en condition écologique, il s'est montré performant pour reproduire les dynamiques de populations des épinoches à trois épines. Ainsi, le modèle nous permet d'augmenter la connaissance sur la structure des populations d'épinoches à trois épines en condition normale en fin d'expérience en mésocosme en simulant les lois de distribution des variables descriptives de ces populations. En outre, nous avons vu le potentiel du modèle à améliorer les analyses statistiques des expériences en mésocosme avec un exemple d'application à un toxique théorique. En effet, l'utilisation du modèle nous a permis d'estimer des LOECs avec plus de certitude.

Nous avons testé les limites de notre DEB-IBM pour prédire des dynamiques de population anormales (perturbations contrôlées volontaires) produites lors de différentes expériences en mésocosme. Lorsque dans ces expériences, les protocoles sont restés proches de ceux des expériences sur lesquels a été calibré notre modèle (nombre identique de fondateurs introduits), le modèle a démontré de bonnes performances. Ainsi, nous pouvons supposer que nous pouvons utiliser notre modèle pour prédire des effets de substances chimiques pour des expériences ayant ce même protocole expérimental. Si certaines substances chimiques entraînent des dynamiques de population très différentes de la situation normale les prédictions du modèle sur un temps long seront plus incertaines.

### 3.2.2 Modèle intégrant la toxicologie

Pour prendre en compte les effets directs de substances chimiques et simuler les dynamiques de populations perturbées par ce stress chimique deux approches ont été testées : (a) utiliser les concentrations mesurées dans l'eau et (b) utiliser les réponses des biomarqueurs. Par ailleurs, une réflexion a été menée pour intégrer les effets indirects des substances (médiés par un autre compartiment de l'écosystème).

Une première application de cette démarche de changement d'échelle a été réalisée sur des données historiques obtenues dans les mésocosmes de l'INERIS sur les effets du BPA (de Kermoyan et al. 2013). L'objectif de ce travail était de tester les capacités prédictives d'un modèle de changement d'échelle paramétré en utilisant uniquement les effets de la substance sur les organismes décrits dans la littérature (tests en condition de laboratoire contrôlé) et d'évaluer les prédictions en utilisant les données mésocosmes.

Ce cas d'étude sera pris en exemple pour expliquer comment, en partant du modèle DEB-IBM pour l'épinoche à trois épines, des sous-modèles toxicologiques ont été intégrés afin de prédire les impacts des substances chimiques sur les processus des organismes (physiologie, comportement, génétique), et les conséquences de ces impacts sur la viabilité des populations. Une description complète de ce travail a été publiée (David et al. 2019a).

#### Intégration d'effets toxicologiques à partir des concentrations des substances chimiques.

L'extrapolation des effets des substances chimiques au niveau populationnel à partir des données de la littérature mesurées au niveau individuel est d'un enjeu majeur. Nous avons donc extrapolé les effets sur la dynamique de population en utilisant le DEB-IBM et les données de littérature mesurées au niveau individuel sur les impacts du BPA sur les processus physiologiques.

Ces effets sur les processus physiologiques des épinoches à trois épines ont été intégrés dans le modèle à l'aide d'équations dose-réponse. Pour ce faire, les effets du BPA sur les poissons ont été identifiés au niveau individuel en examinant la littérature (voir tableau S2 dans les SI de (David et al. 2019a)). Seules les études utilisant une exposition via l'eau et faisant état des concentrations mesurées dans l'eau ont été conservées. Un seul article a été conservé même si les concentrations mesurées n'étaient pas fournies car cette étude a fourni des informations toxicologiques directement mesurées sur des épinoches à trois épines (Jolly et al. 2009).

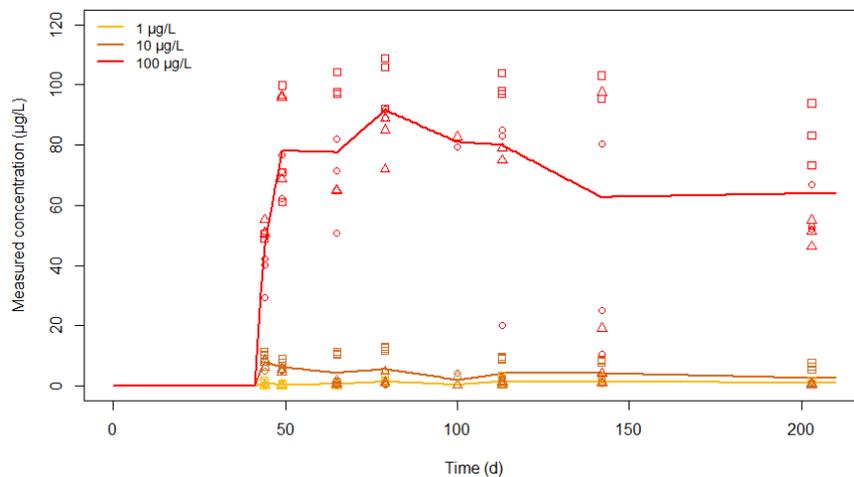
Le niveau de stress pour chaque type d'effet intégré dans le DEB-IBM a été déterminé avec une équation de Hill (équation 1).

$$S(t) = \frac{C(t)^{n_{tox}}}{EC_{50}^{n_{tox}} + C(t)^{n_{tox}}} \quad (\text{Eq. 1})$$

Avec  $C(t)$  la concentration d'exposition au temps  $t$ ,  $EC_{50}$  la concentration conduisant à 50% d'effet,  $n_{tox}$  le coefficient de Hill et  $s(t)$  le niveau de stress chimique au temps  $t$ . Les valeurs  $n_{tox}$  et  $EC_{50}$  sont spécifiques au type d'effet BPA intégré dans le modèle. Ces paramètres dose-réponse ont été ajustés sur les données de la littérature en utilisant le package R «drc» (Ritz et al. 2015).

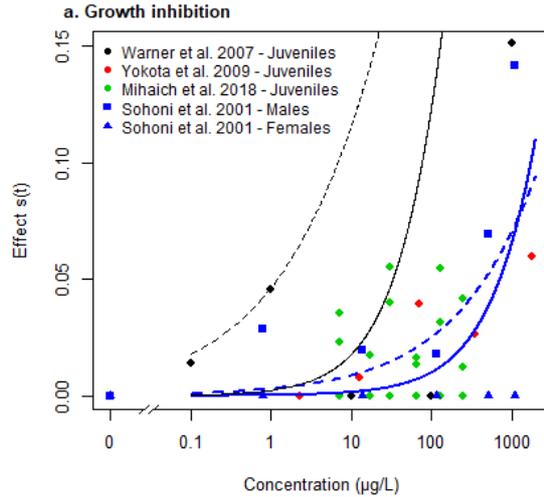
D'après la littérature et les données disponibles, quatre processus physiologiques des poissons sont altérés par l'exposition au BPA : la croissance, la maturité des gonades, la survie des œufs et des embryons et le comportement reproducteur des mâles.

De plus, comme l'ont montré Lindholm et al. (2003), la cinétique dans l'organisme du BPA se déroule très rapidement et l'état d'équilibre est atteint en 24 h pour le poisson zèbre et la truite arc-en-ciel. Par conséquent, nous avons directement lié la concentration de BPA dans l'eau ( $C(t)$ , Figure 5) aux effets sur les épinoches dans le modèle, car la concentration interne était supposée proportionnelle à la concentration externe.



**Figure 5.** Concentrations de BPA mesurées dans l'eau pour les trois doses d'exposition. Les carrés, les cercles et les triangles représentent les concentrations mesurées de BPA dans les trois mésocosmes de chaque traitement à 0, 5 m et 19 m de l'entrée de l'eau. Les lignes complètes représentent les scénarios extrapolés pour chaque traitement au BPA.

Un exemple de dose-réponse pour la croissance modélisée à partir des données de la littérature est représentée sur la Figure 6.



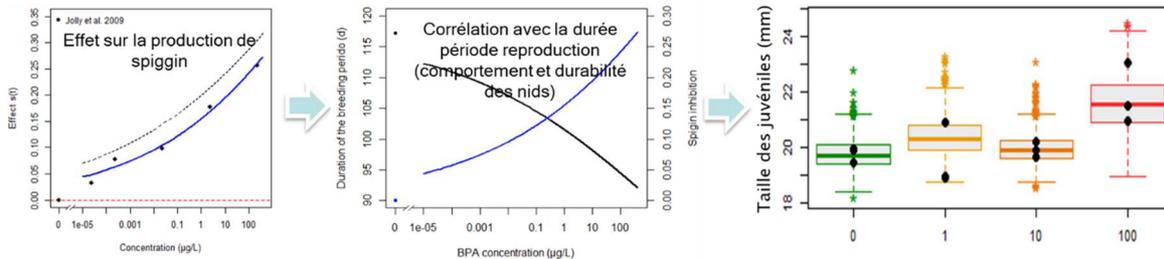
**Figure 6.** Dose réponses modélisées pour le bisphénol A.

### Intégration d'effets toxicologiques en se basant sur les réponses des biomarqueurs

Pour alimenter les modèles de changement d'échelle à partir des réponses des biomarqueurs, il nous faut explicitement relier, ou au minimum corrélérer, les réponses des biomarqueurs aux performances des organismes en termes de fécondité, fertilité, croissance, survie et comportement (modèles statistiques et/ou mécanistes).

Dans le DEB-IBM appliqué au cas d'étude du BPA, nous avons pu extrapoler les effets observés sur un biomarqueur chez l'épinoche à trois épines aux effets sur les dynamiques de population (Figure 7). Ainsi, le biomarqueur considéré était la spiggin, une glycoprotéine sécrétée par les reins chez les mâles servant de colle pour construire les nids (Jolly et al. 2009).

### Réponse Biomarqueur ► Performance des individus ► Conséquence pour les populations



**Figure 7.** Schéma de la démarche de changement d'échelle en partant d'un effet du BPA mesuré sur un biomarqueur de l'épinoche : la spiggin (Jolly et al. 2009). Pour les populations, les boxplots représentent les prédictions, et les points noirs les observations (Thèse V. David).

Pour réaliser cette extrapolation, il a fallu définir comment corrélérer les observations faites au niveau des biomarqueurs aux performances des individus. Dans le cadre de notre étude, il a été montré que l'inhibition de la spiggin était reliée assez fortement au comportement du mâle lors de la reproduction (Figure 7).

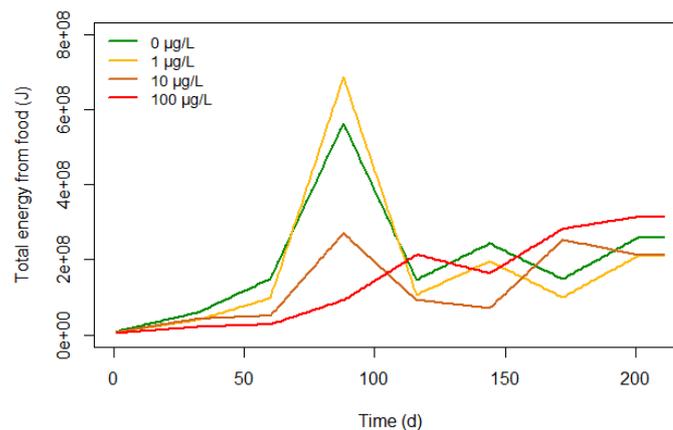
Pour aller plus loin dans l'établissement du lien entre les niveaux moléculaires et populationnels, le concept des AOPs (*Adverse Outcome Pathway*) est actuellement en croissante utilisation. Il décrit la cascade d'évènements déclenchée par l'interaction d'une substance toxique avec une ou plusieurs cibles moléculaires et pouvant mener à un effet néfaste à des niveaux supérieurs d'échelle d'organisation biologique (Tollefsen et al. 2014, Villeneuve 2016). En particulier, l'OCDE a élaboré des directives pour l'établissement et l'évaluation des AOPs (OECD 2018).

Plus récemment, des études ont montré l'importance d'avoir des AOPs quantitatives (qAOP) afin de les utiliser de manière pertinente dans l'évaluation des risques environnementaux des substances chimiques (Conolly et al. 2017). Les qAOPs font ainsi partie des modèles permettant d'améliorer la compréhension de la relation entre l'exposition à des substances toxiques et les effets sur les organismes et les populations (Conolly et al. 2017). Ainsi, il serait particulièrement intéressant de coupler un modèle de type qAOP à notre DEB-IBM afin d'établir le lien entre les événements toxiques à l'échelle moléculaire, individuel et populationnel.

### Intégration d'effet indirect

Bien que nous puissions dériver des courbes dose-réponses des effets directs sur les épinoches à partir de la littérature, il est plus difficile d'appréhender les impacts sur les autres compartiments de l'environnement (facteurs biotiques et abiotiques). Cependant, les impacts sur les autres compartiments pourraient être responsable d'effet indirect, modulant les réponses des populations d'épinoches. Négliger ces effets indirects pourrait conduire à une forte sous-estimation du risque environnemental des substances chimiques.

Dans le cas du BPA, nous avons pu estimer l'effet de la substance sur les proies de l'épinoche à partir des observations faites durant l'expérience (Figure 8). Ainsi, nous avons facilement réalisé une extrapolation entre les concentrations testées en mésocosme pour cet effet indirect, néanmoins l'extrapolation à des concentrations plus élevées que celle maximale testée en mésocosme entraîne des incertitudes plus importantes.



**Figure 8.** Scénarios de nourriture dans le temps pour chaque traitement au BPA (vert: 0 µg / L, jaune: 1 µg / L, orange: 10 µg / L, rouge: 100 µg / L) calculés à partir des résultats d'échantillons de zooplancton et de macroinvertébrés.

Pour pallier ce problème, une solution envisageable est de définir des pires cas à partir des données de la littérature (Rudén et al. 2017), en considérant par exemple la disparition des proies à partir de leurs LOEC recensées dans la littérature. Mais une seconde question se pose alors quant à la résilience des épinoches à trois épines lorsque leurs proies disparaissent. En effet, les épinoches à trois épines ont la capacité d'adapter leur régime alimentaire en fonction des espèces disponibles dans l'environnement, et elles peuvent notamment se nourrir d'espèces différentes lorsque la nourriture est limitante dans l'environnement (Beukema 1968, Allen and Wootton 1984). Or cette capacité n'est pas prise en compte dans le modèle ce qui peut induire des incertitudes sur les prédictions du modèle lorsque les proies sont fortement impactées par le toxique considéré. Ainsi, l'extrapolation des dose-réponses à des concentrations non testées en mésocosme n'est pas triviale à réaliser, mais constitue un des enjeux de la modélisation en évaluation des effets des substances chimiques.

### 3.3 Exemples d'application : effluent de STEP reconstitué (DIADeM)

#### 3.3.1 Contexte général

Pour répondre aux objectifs du projet DIADeM, une expérience dans les rivières artificielles de l'Ineris testant les effets d'un mélange de cinq pharmaceutiques sur les épinoches à trois épines a été réalisée. En parallèle, une étude en laboratoire a été également réalisée avec le même mélange pour analyser les effets de celui-ci sur les biomarqueurs et traits d'histoire de vie des épinoches. D'une part, les effets du mélange ont donc été étudiés au niveau individuel à l'aide d'analyses de biomarqueurs (en laboratoire et mésocosme) qui permettent d'évaluer les effets du mélange sur les grandes fonctions vitales des organismes (reproduction, croissance). D'autre part, les effets du mélange ont également été étudiés à l'échelle populationnelle en comparant les variables descriptives des populations exposées et non exposées en mésocosme après six mois d'exposition. Enfin, nous avons analysé les résultats de l'expérience en mésocosme en s'appuyant sur des simulations du DEB-IBM développé pour améliorer la compréhension des effets observés à l'échelle de la population.

L'intérêt d'utiliser plusieurs approches pour analyser les effets du mélange (expériences réalisées à l'échelle de l'individu et de la population et application du DEB-IBM) est de notamment faire le lien entre les réponses des biomarqueurs et les effets observés à l'échelle populationnelle, et ceci dans le but de permettre un meilleur diagnostic de l'état écologique des rivières.

Ces différents résultats ont été valorisés dans un article intitulé « *Effects of chronic exposure to a pharmaceutical mixture on the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) population dynamics in lotic mesocosms* », dans *Aquatic Toxicology*. Cet article présente les expériences en laboratoire et mésocosme ainsi que l'analyse des résultats de ces expériences en se focalisant sur les impacts du mélange pharmaceutique sur les épinoches à trois épines.

#### 3.3.2 Modélisation

Le DEB-IBM développé pour prédire la dynamique de la population d'épinoches à trois épines dans les mésocosmes sans stress toxique a été adapté pour prédire les effets du mélange de cinq substances pharmaceutiques.

Pour chaque concentration testée, les scénarios de température et de nourriture (densité alimentaire par jour) ont été calculés à partir des enregistrements par les sondes thermiques et des prélèvements de macroinvertébrés et de zooplanctons réalisés dans les mésocosmes.

Pour reproduire les effets observés dans les mésocosmes par le traitement, deux effets directs de la substance ont été intégrés : (i) mortalité chronique induite par le mélange et (ii) croissance de l'indice de conditions des adultes.

Pour intégrer la mortalité chronique induite par le mélange dans le modèle, la mortalité basale ( $M.n$ ) a été calculée pour chaque poisson avec l'Eq.2 (taux de mortalité normal dans des conditions témoins) et l'effet du mélange a été modélisé comme une surmortalité  $M.ex$  (Eq. 3).

$$M.n = M.u \times W_{(t)}^b \quad \text{Eq. 2}$$

$$M.tox = M.n + M.ex_{(t)} \quad \text{Eq. 3}$$

Avec,  $M.u$  le taux de mortalité naturelle par unité de poids,  $W_{(t)}$  le poids du poisson (en g) au temps  $t$  et  $b$  le facteur d'échelle allométrique. Dans l'équation 3,  $M.ex_{(t)}$  est la surmortalité au temps  $t$  et  $M.tox$  la mortalité globale des poissons, y compris l'effet du mélange de toxique.

La surmortalité a été modélisée à l'aide d'une dose-réponse définie par une équation de Hill (équation 4).

$$M. ex_{(t)} = \frac{C_{(t)}^{n_{tox}}}{EC_{50}^{n_{tox}} + C_{(t)}^{n_{tox}}} \quad \text{Eq. 4}$$

Avec  $C_{(t)}$  la concentration d'exposition au temps  $t$ ,  $EC_{50}$  la concentration conduisant à 50% d'effet,  $n_{tox}$  le coefficient de Hill et  $s_{(t)}$  le niveau de contrainte au temps  $t$ .

Afin de modéliser les effets du mélange sur les indices de condition, nous avons augmenté les masses individuelles des adultes et diminué le poids individuel des juvéniles en utilisant le même niveau pour le niveau de stress  $s(t)$  (équations 5 et 6). Les facteurs de condition ont ensuite été calculés pour chaque poisson comme :  $100 \times \text{body weight (g)]}/(\text{length})^3$  (cm).

$$W_{adult}(t) = W_{adult}(t) \times (1 + s(t)) \quad \text{Eq. 5}$$

$$W_{juvenile}(t) = W_{juvenile}(t) \times (1 - s(t)) \quad \text{Eq. 6}$$

Avec  $W_{adult}(t)$  et  $W_{juvenile}(t)$  le poids individuel des adultes ou des juvéniles au temps  $t$  et  $s(t)$  le niveau de stress induit par le mélange.

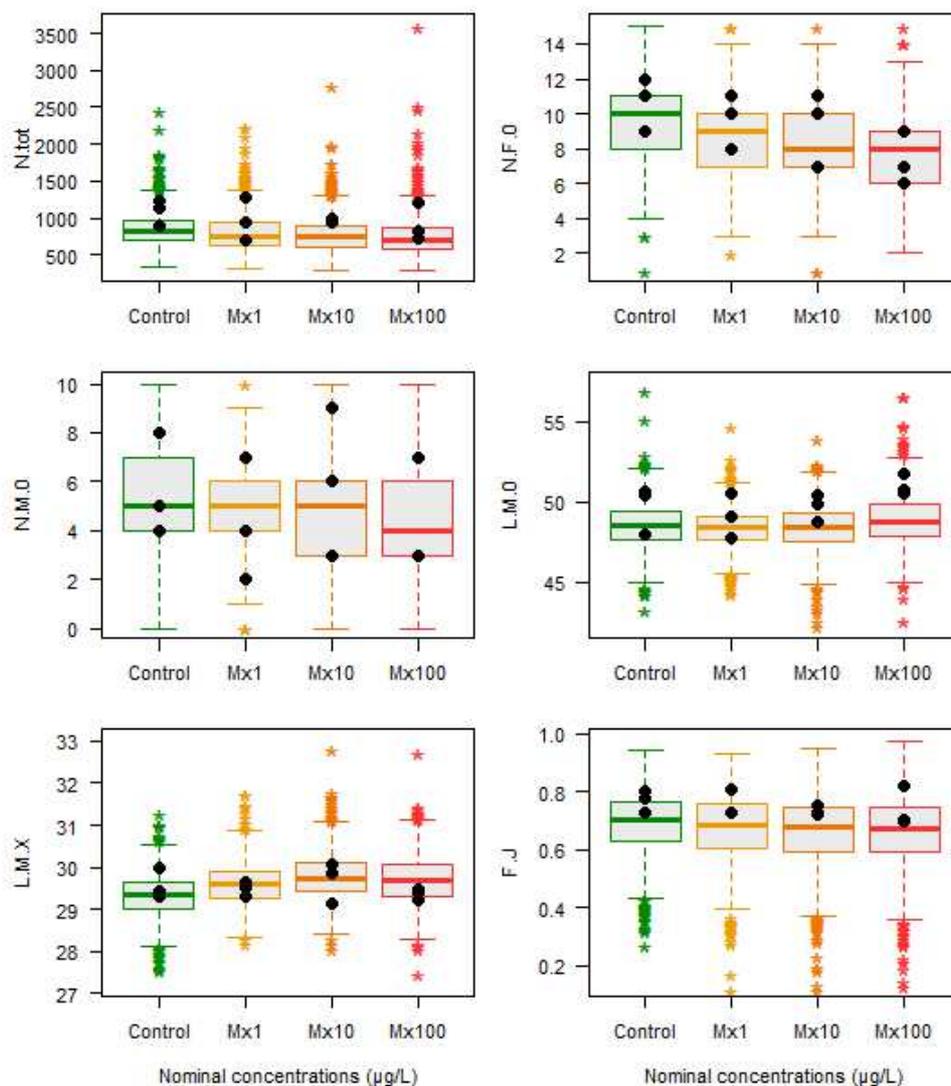
Les coefficients du modèle de Hill (équation 4) et les coefficients de stress (équations 5 et 6) ont été ajustés sur toutes les données de population observées dans les mésocosmes en utilisant le DEB-IBM et un algorithme génétique.

Les variables des populations simulées ont été comparées aux observations faites dans les mésocosmes pour chaque traitement. Pour ce faire, 1000 simulations du DEB-IBM ont été réalisées pour tenir compte de la stochasticité du modèle (variabilité environnementale inter-mésocosme, variabilité de performance interindividuelle et processus stochastiques). Des simulations ont été faites avec ou sans intégrer la courbe dose-réponse de la mortalité pour évaluer l'amélioration des prédictions. Les erreurs relatives (RE) entre les simulations du modèle et les observations pour le contrôle et chaque traitement ont été calculées pour conclure sur les prédictions du modèle.

Enfin, la résilience de la population a été évaluée en extrapolant les impacts du mélange pour un traitement entre  $Mx100$  et  $Mx10^7$  en gardant inchangés les scénarios de température et d'alimentation par rapport au témoin. Pour chaque concentration simulée, 1000 simulations ont été réalisées.

### 3.3.3 Résultat-Discussion

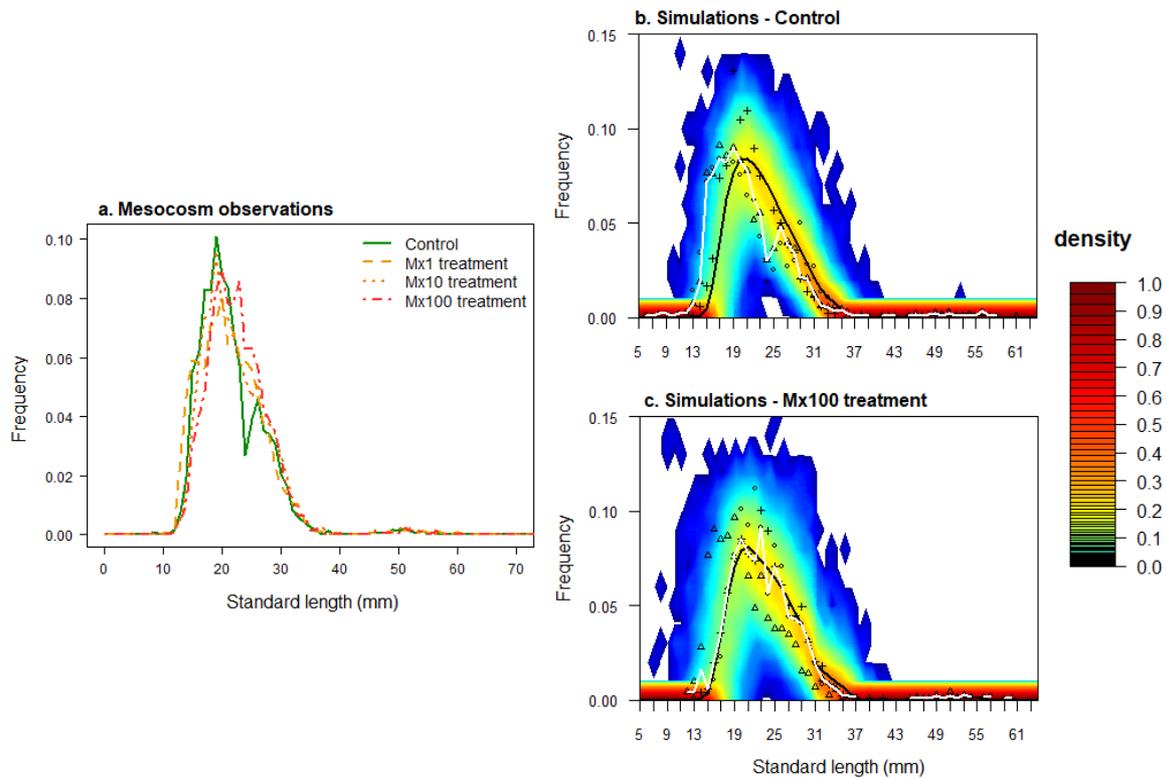
Avec les courbes dose-réponse des facteurs de mortalité et de condition des poissons intégrés dans le DEB-IBM, les prédictions du nombre de fondatrices femelles et mâles ont été améliorées, en particulier pour le traitement  $Mx100$  (Figure 9). En effet, les erreurs relatives étaient respectivement de 3,40% et 0,43% lors de l'intégration des courbes dose-réponse contre 29,11% et 26,21% lorsqu'aucun impact n'était intégré dans le DEB-IBM. De plus, le nombre de fondateurs mâles semble aussi être impacté par le traitement  $Mx100$  (4 mâles étaient prédits en médiane dans le traitement  $Mx100$  contre 5 pour les témoins).



**Figure 9.** Variables des populations simulées et observées en fonction des traitements de mélange (Mx0, Mx1, Mx10 et Mx100) avec un effet de mortalité chronique sur tous les poissons. Les boxplots représentent les simulations du modèle (n = 1 000 par traitement) tandis que les points représentent les observations faites dans les mésocosmes. Les variables des populations ont été observés ou simulés à la fin de l'expérience (N.tot: abondance totale des poissons, N.F.0: nombre de fondateurs femelles, N.M.0: nombre de fondateurs mâles, L.M.0: longueur moyenne des fondateurs mâles, L.M.X: longueur moyenne des mâles nés dans les mésocosmes et F.J: fréquence des juvéniles).

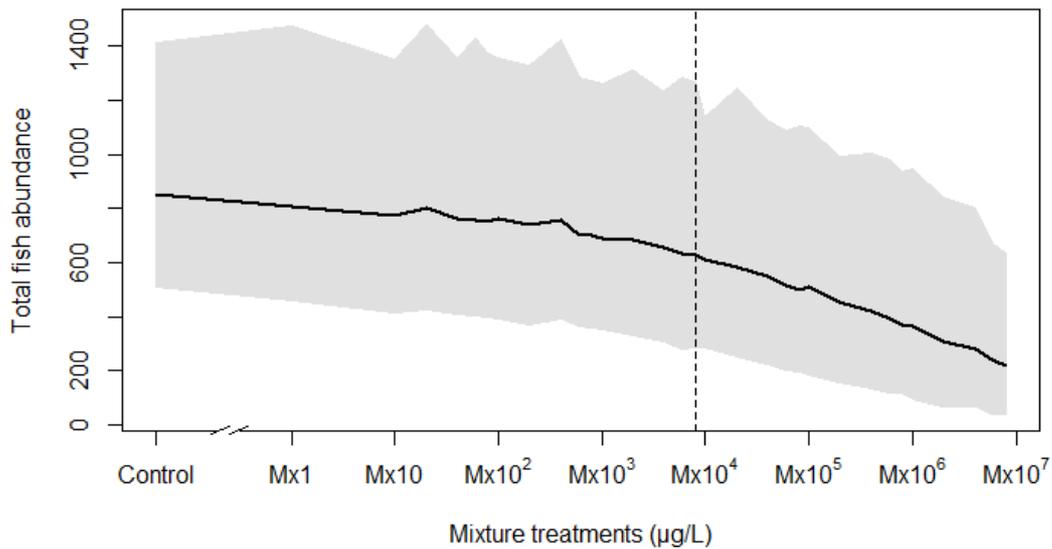
Les distributions des fréquences de tailles observées dans les traitements témoins et exposés sont présentées à la Figure 10a. Dans les témoins, une grande partie de la population (de 75% à 81%) a des longueurs standard comprises entre 5 et 26 mm. Au-dessus de 45 mm, seuls les fondateurs ont été observés. La même structure de population a été observée dans les traitements de mélange Mx1 et Mx10. En effet, les populations témoins ou exposées aux mélange Mx1 et Mx10 présentent une fréquence maximale à 19-20 mm (5,6 à 13% des populations). Au traitement Mx100, les populations présentent une fréquence maximale de 22-23 mm (11% des populations), par conséquent la structure de la population était légèrement décalée vers la droite avec ce traitement.

Le modèle reproduit bien les fréquences de tailles des populations contrôles et du traitement Mx100 avec l'intégration des courbes dose-réponse pour les facteurs de mortalité et de condition. En effet, tous les points se trouvent à l'intérieur de l'intervalle prédictif (Figure 10b, c).



**Figure 10.** Distributions des fréquences de tailles des populations dans les mésocosmes (a) et celles prédites par le modèle pour les populations témoin (b) et le traitement Mx100 (c). Sur la figure a, les distributions des fréquences de taille des poissons sont la moyenne des 3 populations observées dans chaque traitement. Pour les figures b et c, différents types de points représentent les distributions de fréquences de tailles observées dans les mésocosmes. Les lignes noires et blanches représentent les distributions médianes des populations simulées et observées respectivement. Le niveau de couleur représente la fréquence des populations simulées ( $n = 1000$ ) ayant un pourcentage donné d'individus pour une classe de taille donnée. Les fréquences inférieures à  $<1e-04$  sont représentées en blanc.

En négligeant un potentiel effet du mélange sur l'abondance des proies de l'épinoche, la population de poissons devrait être très résiliente à un effet direct sur la survie, car l'extrapolation du modèle a montré qu'au moins 8000 fois le mélange environnemental (Mx1) serait nécessaire pour que 80% de la distribution de l'abondance totale soit plus faibles que la distribution témoin (Figure 11).



**Figure 11.** Abondances prédites des populations exposées à des concentrations extrapolées de  $Mx10^2$  à  $Mx10^7$ . La ligne noire représente la médiane des simulations et la zone grise représente l'intervalle de prédiction à 95%. Les lignes pointillées représentent la première concentration de mélange où 80% de la distribution de l'abondance totale sont inférieures à l'abondance médiane témoin.

Ainsi, malgré le fait que des impacts de mélange aient été constatés au niveau individuel, aucun impact fort du mélange n'a été observé et prédit sur la dynamique des populations dans les mésocosmes. Par conséquent, des mécanismes de compensation peuvent s'être produits dans les mésocosmes (Rose et al. 2001) contrebalançant les impacts du mélange au niveau de la population. Par exemple, les effets densité-dépendant sur la mortalité ont été largement documentés chez les poissons et sont supposés être l'un des principaux facteurs régulant la dynamique des populations (Lorenzen 2005, Hazlerigg et al. 2012). De plus, une sélection des phénotypes les plus résistants d'épinoches pourrait également s'être produit dans les mésocosmes, mais une analyse de la génétique de la population serait nécessaire pour le confirmer.

D'autres impacts ont été observés sur les indices de condition des poissons. En effet, les masses et les indices de condition des poissons adultes échantillonnés dans les mésocosmes à la fin de l'expérience étaient significativement plus élevés pour tous les traitements que ceux des poissons témoins. Pour mieux comprendre ces résultats, nous avons introduit dans le DEB-IBM un effet obésogène sur les adultes du mélange de pharmaceutique. Cependant, dans le cas de substances qui ont un impact sur la masse mais pas sur la longueur, notre modèle DEB présente certaines limites. En effet, la relation allométrique entre le poids et la longueur, et par conséquent l'hypothèse d'isomorphisme, n'est plus valide dans ce cas. Ainsi, nous n'avons pas changé le modèle DEB mais introduit un paramètre qui module la masse du poisson indépendamment de la longueur pour tenir compte de l'impact du mélange. Ce faisant, le modèle reproduit bien les observations faites dans les mésocosmes.

Ces résultats suggèrent un impact direct sur la bioénergie des adultes du mélange. Les impacts sur les indices de condition des juvéniles sont probablement dus à la compétition inter-cohorte plutôt qu'à un effet direct du mélange. En effet, le traitement aurait perturbé la concurrence alimentaire, en poussant les adultes à augmenter au-delà de la normale leur réserve énergétique, ce qui s'est fait aux dépens des juvéniles qui ont vu leurs réserves de nourriture disponibles diminuer.

### 3.3.4 Conclusion

Cette étude avait pour objectif de tester les effets d'un mélange de substances pharmaceutiques retrouvées dans les cours d'eau à des concentrations environnementales sur les épinoches à trois épines en rivière artificielle. Pour cela, différentes approches (analyse des données de biomarqueurs et de population, modélisation) ont été combinées pour pouvoir prédire au mieux les conséquences des rejets des eaux traitées de stations d'épuration.

Bien qu'aucun impact sur les proies des épinoches n'ait été observé, le mélange a significativement impacté la survie des femelles fondatrices au plus fort traitement, sans pour autant induire de différences majeures sur la structure de la population de poissons. Des impacts sur les facteurs de condition des adultes et des juvéniles ont également été observés au niveau individuel et populationnel. Des effets ont également été observés sur une enzyme digestive, la phosphatase alcaline, qui pourrait être représentatif d'une perturbation de l'absorption de certains nutriments tels que les lipides. En revanche, les effets sur d'autres biomarqueurs (immunité, stress oxydatif, reproduction) sont négligeables.

L'utilisation du DEB-IBM a permis d'améliorer la compréhension des effets du mélange au niveau de la population. En effet, les prédictions ont montré que les impacts observés sur les indices de condition des adultes et juvéniles aux niveaux individuels et populationnels seraient dus à des mécanismes de régulation de la population par compétition alimentaire plutôt qu'à un effet direct du mélange. De plus, nous avons mis en évidence que le nombre de mâles fondateurs en fin d'expérience était plus faible au plus fort traitement du mélange.

En conclusion, nous n'avons pas pu établir de lien clair entre les mesures de biomarqueurs aux conséquences pour les populations. En revanche, l'application des différentes méthodes pour évaluer les effets du mélange sur les épinoches à trois épines répond à un des enjeux du projet DIADeM, qui est de développer des outils pour permettre aux gestionnaires d'optimiser la surveillance des masses d'eau.

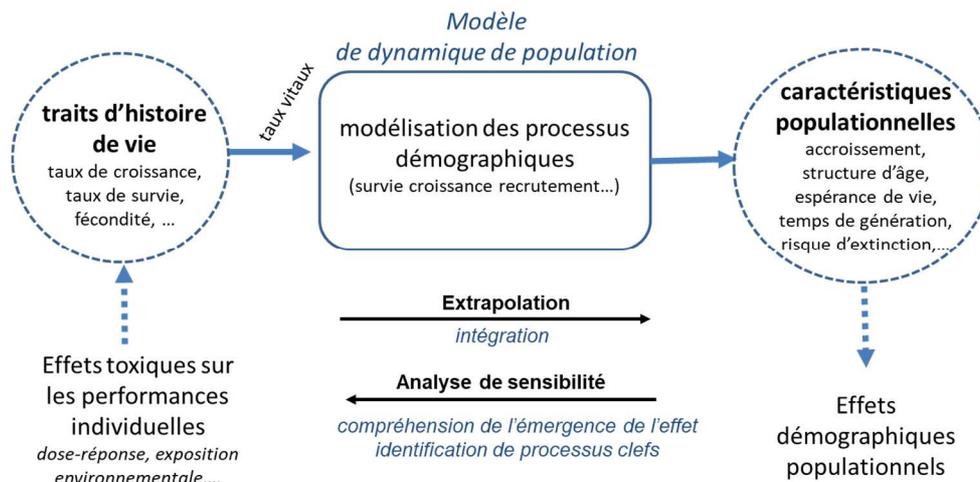
## 4 Modélisation populationnelle chez le crustacé *Gammarus fossarum* : développement et utilisation en biosurveillance

### 4.1 Contexte et objectif d'application du modèle de population développé chez *G. fossarum*

La pertinence des biomarqueurs en écotoxicologie pour l'évaluation du risque écologique est liée à leur capacité à être des indicateurs à la fois spécifiques des effets toxiques de la contamination et écologiquement pertinents (Forbes et al. 2006). Pour les milieux aquatiques continentaux, les gammaridés sont de bons candidats permettant d'illustrer comment il est possible d'asseoir la pertinence écologique de l'**approche biomarqueurs**, notamment au regard des nombreux marqueurs développés chez ces espèces (biomarqueurs moléculaires et réponses individuelles) (Trapp et al. 2014, Chaumot et al. 2015). La mise en place de tests se focalisant sur ces espèces qui assurent des processus clés du fonctionnement des écosystèmes lotiques peut permettre de mieux comprendre les effets de stress chimiques sur les écosystèmes. Maltby et al. (2002) ont montré par exemple que l'inhibition du taux d'alimentation chez des individus *Gammarus* engagés pouvait être fortement mise en corrélation avec une réduction du processus de décomposition des litières dans les cours d'eau ainsi qu'avec une diminution des densités des communautés de macro-invertébrés. Au-delà de ces approches de comparaisons empiriques entre réponses biomarqueurs / impacts populationnels ou écosystémiques, des approches plus mécanistes recourant à la modélisation de ce **changement d'échelle (individu / population)** peuvent être utilisées chez ces espèces sentinelles pour relier modulation des biomarqueurs spécifiques et effet populationnel, améliorant ainsi la capacité prédictive de ces outils écotoxicologiques. Un des atouts forts de la démarche est de pouvoir **intégrer** la réponse à la contamination évaluée via la mesure séparée de différents marqueurs de toxicité en une mesure globale de l'impact potentiel sur le maintien d'une population.

Issus de l'écologie et de la démographie, les modèles de populations sont en effet des modèles mécanistes qui relient les réponses individuelles (traits d'histoire de vie comme survies, croissance, fertilité) à l'évolution de la densité et de la structure d'une population. Différentes catégories de modèles de population sont décrites dans la littérature faisant l'inventaire des modèles utilisés dans le cadre du changement « individu / population » en écotoxicologie (Forbes et al. 2008, Galic et al. 2010). Le modèle développé ici chez *Gammarus* relève des modèles dits démographiques. L'idée assez simple exposée par Caswell (1996) est d'utiliser comme en écologie des populations, des **modèles démographiques** qui font le lien entre des taux vitaux comme la survie, la fertilité, et des descripteurs de la dynamique et de la structure de population (taux d'accroissement, pyramide d'âges, sex-ratio...). A titre illustratif, un des modèles démographiques les plus basiques est le modèle de croissance exponentielle de Malthus (1798), qui permet de calculer un taux de croissance intrinsèque de population  $r$ . Ce paramètre correspond au coefficient de proportionnalité entre le nombre d'individus supplémentaires dans une population au cours d'une unité de temps et le nombre d'individus présents dans la population à un instant  $t$ . Trivialement, si  $r$  est positif la population croît, s'il est négatif elle s'éteint. Ce paramètre peut être calculé comme la différence entre taux de natalité et taux de mortalité au sein de la population. On peut donc intégrer des valeurs de survie, fertilité sous la forme d'un indicateur qui informe du comportement de la dynamique de population à long terme (ici son taux d'accroissement intrinsèque). Dans le cas d'une exposition à la contamination, on peut ainsi intégrer les niveaux de différents traits d'histoire de vie influencés par la toxicité de la contamination en un indicateur populationnel, la variation de celui-ci par rapport à un niveau calculé en condition de référence permettant d'évaluer l'effet toxique global sur la démographie populationnelle (figure 12). Caswell (1996) a baptisé de « démographique » cette méthodologie qui recourt à l'utilisation de modèles mécanistes de dynamique de population et permet d'appréhender au niveau de la population l'impact de la pollution à partir de données d'altération des performances individuelles (fertilité, survie, croissance, ...). L'utilisation de ces modèles est de plus en plus encouragée pour les démarches

d'évaluation du risque *a priori* (Galic et al. 2010, Kramer et al. 2011), en revanche leur utilisation dans le cadre diagnostique de biosurveillance des milieux est une proposition récente (Coulaud et al 2014).



**Figure 12.** Démarche démographique en écotoxicologie.

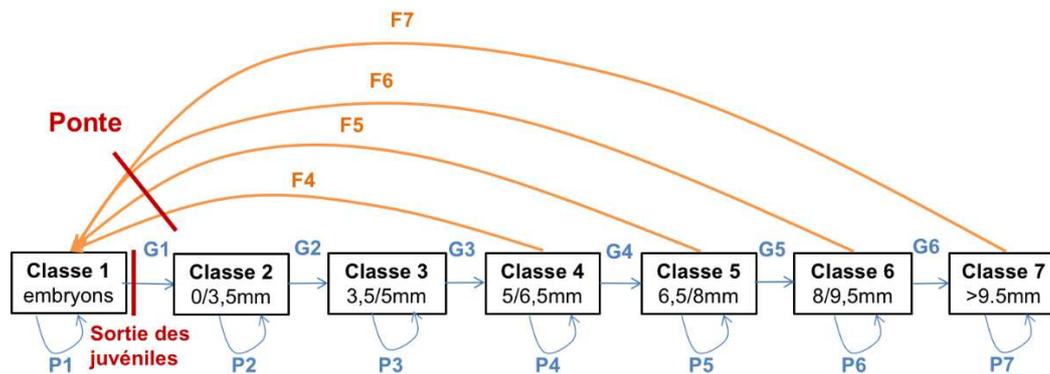
Dans le cadre du projet Diadem, différents développements de modélisation ont permis de proposer l'application de cette démarche dans le cadre de la biosurveillance de la qualité toxique des eaux de la Meuse comme cas d'étude. Un modèle mathématique de population a ainsi été appliqué à des données d'effets sur les traits de fitness de *Gammarus* (survie, fertilité, activité alimentaire) mesurés lors d'engagements in situ au niveau de rejets de 4 stations d'épuration sur le bassin versant de la Meuse. Le résultat attendu est l'évaluation de l'impact de ces rejets sur la qualité des milieux sur la base d'un **indice intégré d'impact populationnel** permettant de comparer globalement les différents sites en termes de qualité de l'eau pour le maintien de cette espèce sentinelle des milieux aquatiques.

Des modèles structurés en classes de taille ou en stades, suivant un formalisme reposant sur des équations matricielles ou différentielles (Baird et al. 2007, Kupisch et al. 2012, Coulaud et al. 2014), avaient déjà été développés chez les espèces *Gammarus pulex* et *Gammarus fossarum*. Pour *G. fossarum*, nous sommes repartis du modèle matriciel proposé par Coulaud et al (2014) avec l'objectif de simplifier ce modèle de type Leslie Lefkovich relativement complexe, car intégrant de façon fine la phénologie de l'espèce et la variabilité saisonnière de l'environnement spécifique d'une rivière beaujolaise prise comme cas d'étude pour le développement du modèle. L'objectif a été de proposer un modèle plus générique et plus facilement utilisable pour l'intégration des données de toxicité issues de la biosurveillance (réduction de survie, fertilité, taux de croissance, alimentation lors des tests in situ par encagement). Pour cela, nous avons formalisé et paramétré le modèle en nous basant sur un suivi en conditions constantes de température, à partir de suivi démographique de petites populations élevées au laboratoire sur un an (dans le cadre de la thèse de Pauline Cribiu (Cribiu 2020)). Dans une deuxième étape, le modèle mathématique a été appliqué aux données d'effets sur les traits de fitness mesurés dans le module de travail du projet Diadem dédié au déploiement de biomarqueurs (MT4) lors des engagements sur les rejets de 4 stations d'épuration. Le résultat attendu est l'évaluation de l'impact des rejets sur la qualité des milieux sur la base d'un indice intégré d'impact populationnel permettant de comparer les différents sites.

#### 4.2 Description du modèle matriciel de population développé (Leslie Lefkovich)

Une méthodologie similaire à celle suivie par Prud'homme et al. (2017) et les connaissances sur la dynamique des populations de *Gammarus fossarum* (Coulaud et al. 2014, Coulaud et al. 2015) ont été utilisées pour construire un modèle matriciel de type Leslie Lefkovich (Caswell 2001) paramétré sur l'élevage de cohortes d'individus produites au laboratoire à 16°C. Ce modèle est structuré en taille et pas en âge car chez les gammares, les traits d'histoire de vie et donc les taux vitaux de survie, croissance

et reproduction sont fortement corrélés à la taille des individus (Coulaud et al 2014). Le modèle matriciel est construit sur la base d'un graphe du cycle de vie présenté sur la figure 13.



**Figure 13.** Graphe du cycle de vie de la population de *Gammarus fossarum* du laboratoire avec discrétisation en 7 classes de taille, utilisé pour la modélisation de la dynamique de population.  $G_i$  = taux de passage de la classe  $i$  à la classe  $i+1$  à chaque pas de temps (ici une semaine),  $P_i$  = taux d'individus qui restent dans la même classe et  $F_i$  = fécondité des femelles de chacune des classes d'adultes (nombre d'embryons produits par semaine par femelle).

Dans ce type de modèles qui décrivent l'évolution des effectifs de populations au cours du temps, seules les femelles sont prises en compte. Les effectifs de la population sont décrits ici selon une structure en 7 classes de taille : une première classe qui correspond aux embryons, suivie par 2 classes d'organismes juvéniles et de 3 classes d'adultes (figure 13). Ce type de modèle est formalisé en considérant le temps de façon discrétisée ; nous avons considéré un pas de temps d'une semaine. Un recensement post-reproduction (post-breeding census) a été choisi pour la paramétrisation. Le graphe du cycle de vie peut alors être formalisé mathématiquement sous la forme d'une matrice de transition  $L$ , qui décrit l'évolution des effectifs des 7 classes de taille d'une semaine à l'autre (Caswell 2001) (d'une semaine à l'autre on obtient l'effectif de chaque classe (une classe par ligne) en sommant les contributions de chacune des 7 classes de taille de la population (en colonne) à cet effectif :

$$L = \begin{pmatrix} P_1 & 0 & 0 & F_4 & F_5 & F_6 & F_7 \\ G_1 & P_2 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & G_2 & P_3 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & G_3 & P_4 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & G_4 & P_5 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & G_5 & P_6 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & G_6 & P_7 \end{pmatrix}$$

$G_i$  est le taux de passage de la classe  $i$  à la classe  $i+1$ , i.e. le pourcentage d'individus qui survivent et qui atteignent la classe de taille suivante en une semaine, et  $P_i$  le taux d'organismes qui survivent, mais restent dans la même classe de taille.  $F_i$  est la fécondité des individus de chacune des classes d'adultes. Mathématiquement, la valeur propre dominante de la matrice  $L$  (notée  $\lambda$ ) correspond alors au **taux de croissance asymptotique** de la population (Caswell 2001).  $\lambda$  correspond à un coefficient d'accroissement des effectifs une fois atteint un équilibre de croissance (ou décroissance) dans la dynamique démographique. Un autre indicateur est le vecteur propre associé à  $\lambda$  qui correspond à la structure stable de la population et qui permet de calculer par exemple le pourcentage d'adultes attendu dans la population. D'autres indicateurs de la dynamique populationnelle peuvent être également calculés (temps de génération, taux net de renouvellement, valeurs reproductives ...) comme décrits dans Caswell (2001).

Les éléments de la matrice **L** ont été fixés à partir des paramètres biologiques mesurés lors du suivi de populations au laboratoire (taux de survie, taux de croissance, fertilité, sexe ratio...). Les paramètres  $G_i$  et  $P_i$  sont ainsi calculés de la manière suivante :

$$G_i = \sigma_i \gamma_i$$

$$P_i = \sigma_i (1 - \gamma_i)$$

où  $\sigma_i$  est la probabilité de survie des organismes dans la classe de taille  $i$  et  $\gamma_i$  le taux de transition, i.e. la proportion d'individus qui croissent de la classe de taille  $i$  à la classe  $i+1$  après un pas de temps d'une semaine.  $\gamma_i$  est donc directement en lien avec le taux de croissance de la classe de taille  $i$  qui conditionne le temps passé par les individus dans cette classe. Une complication mathématique réside dans le fait que les taux de transition  $\gamma_i$  dépendent de  $\lambda$  car les effectifs sont en constantes évolution de semaine en semaine. La méthode itérative proposée par Caswell (2001) a ainsi été appliquée en utilisant la formule suivante :

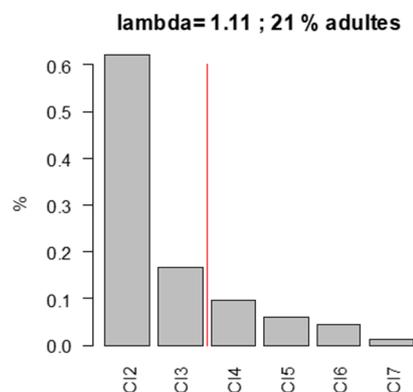
$$\gamma_i = \frac{\left(\frac{\sigma_i}{\lambda}\right)^{d_i-1}}{1 + \left(\frac{\sigma_i}{\lambda}\right) + \left(\frac{\sigma_i}{\lambda}\right)^2 + \dots + \left(\frac{\sigma_i}{\lambda}\right)^{d_i-1}}$$

où  $d_i$  est la durée en semaines de la classe de taille  $i$ , valeurs déterminées au regard des taux de croissance.

Les paramètres relatifs à la fécondité de la matrice **L** ont été calculés à partir de  $\sigma_i$ ,  $i = \{4; \dots; 7\}$ , du sexe ratio ( $sr$ ), de la proportion moyenne de femelles en reproduction ( $fr_i$ ), du nombre moyen d'ovocytes viables par femelle ( $no_i$ ) et de la durée du cycle de reproduction des femelles ( $d_c$ ).

$$\forall i \in \{4; \dots; 7\}, \quad F_i = \sigma_i (sr \times fr_i \times no_i) / d_c$$

La durée du cycle de reproduction a été fixée à 3 semaines, compte-tenu de la température de l'expérimentation de 16°C (Chaumot et al 2020) ; le sexe ratio à 50%.



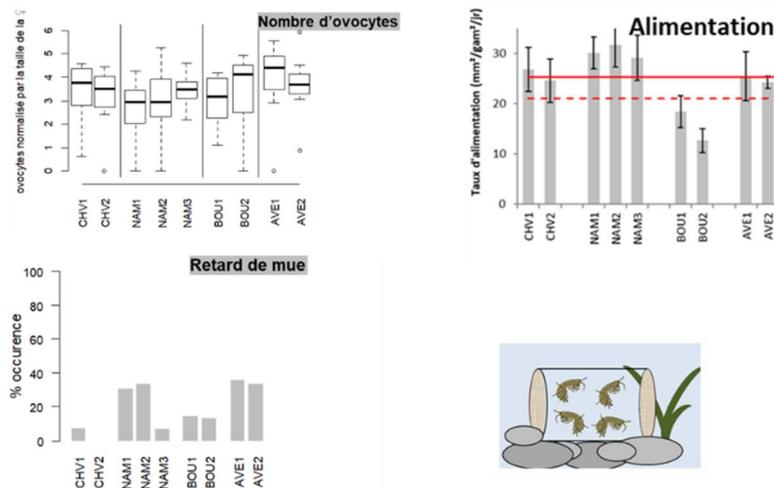
**Figure 14.** Indicateurs de l'état de la population de référence (taux d'accroissement asymptotique,  $\lambda$  structure de taille) calculés à partir des paramètres biologiques relevés au laboratoire.

Le modèle mathématique permet ainsi de caractériser la dynamique démographique sous forme d'indicateurs quantitatifs reflétant différents aspects du fonctionnement de la population, indicateurs calculés à partir des traits d'histoire de vie de la population (survies, fécondité, sexe ratio, taux de croissance, ...) (figure 14). Le taux de croissance asymptotique  $\lambda$  fournit une information sur le potentiel de croissance ou le maintien de la population. Le temps de génération et la structure stable de la population donnent des informations sur sa composition et le taux de renouvellement de ses individus. Les indicateurs comme le taux de croissance asymptotique  $\lambda$  ne sont pas des valeurs biologiques mesurables en tant que telles, mais ils permettent de décrire l'état des populations de façon intégrée. Il est en effet important de souligner que les résultats de ce type de modèles ne sont pas utilisés pour

prédire la taille ou la structure de futures des populations (comme c'est le cas de modèles qui procèdent par simulation par exemple), mais comme des indicateurs intégrés de leur état à un moment présent. Caswell (1996, 2001) précise ce positionnement en introduisant le terme de **projection** en lieu et place de la notion de prédiction qui fait trop écho à la notion de prévision d'états futurs. Par ces modèles, on utilise les informations d'un état donné à un niveau d'organisation biologique, les traits d'histoire de vie, pour projeter ce qui arriverait à une population si on suppose que les conditions futures restent inchangées, ce qui est évidemment irréaliste. Caswell fait l'analogie avec un compteur automobile qui indique de façon ponctuelle une certaine vitesse (50 km/h). Cette indication n'informe que peu sur la distance qui sera parcourue effectivement pendant la prochaine heure d'un trajet réel mais donne une information sur l'état présent en projetant les données actuelles dans le futur. Cette information même si elle n'est pas nécessairement prédictive, permet une évaluation du danger d'accident par exemple, peut permettre aussi une prise de décision ou la mise en place de réglementation.

#### 4.3 Application en biosurveillance : cas d'étude du bassin de la Meuse

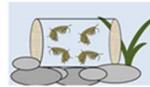
Cette version simplifiée du modèle démographique chez *Gammarus* a été utilisée pour illustrer la possibilité d'extrapoler au niveau populationnel des données de toxicité individuelle observées en rivière, en s'appuyant pour l'exercice sur les données enregistrées lors des encagements autour des stations d'épuration choisies sur le bassin de la Meuse (Module de travail 4 du projet Diadem). L'approche de biosurveillance active (transplantation de gammares par encagement) a ainsi permis d'évaluer la toxicité des milieux au travers des effets de la contamination sur les traits d'histoire de vie de cette espèce sentinelle (figure 15).



**Figure 15.** Exemples de marqueurs biologiques suivis lors des encagements de gammares (biotests *in situ*) sur 4 sites (Charleville CHV, Namur NAM, Bouillon BOU, Avesne AVE) en amont (CHV1, NAM1, NAM2, BOU1, AVE1) et en aval (CHV2, NAM3, BOU2, AVE2) de 4 stations d'épuration à l'automne 2018.

Parmi les réponses biologiques suivies lors de ces biotests *in situ*, les marqueurs de survie, de fertilité, de succès de mue (synonyme de succès de ponte chez les gammares) sont « écologiquement pertinents » dans le sens qu'ils peuvent être mis en lien direct avec des impacts potentiels sur les populations, en termes d'altération de la dynamique démographique. Ils sont directement intégrables dans la paramétrisation du modèle de Leslie Lefkovich développé, en modifiant simplement les éléments de la matrice **L** en lien avec les taux de survie, la fécondité, les durées de cycles de reproduction... Pour des marqueurs comme la réduction du taux d'alimentation (ou d'autres biomarqueurs moléculaires), un travail supplémentaire est nécessaire pour réaliser cette intégration, car l'alimentation ne constitue pas par exemple un trait démographique tels que peuvent l'être les traits de reproduction, la survie ou la croissance. Le modèle de dynamique de population ne permet

ainsi pas de prendre directement en compte les données d'inhibitions alimentaires pour les projeter en termes d'impact populationnel potentiel. Dans ce cadre, l'étude de Coulaud et al. (2015) a permis d'établir au laboratoire des liens quantitatifs entre inhibition alimentaire et réduction de la capacité reproductive des femelles, en montrant que la privation de nourriture entraîne un ralentissement du processus de mue et une réduction de la fertilité. Grâce à ces relations, nous pouvons traduire les inhibitions alimentaires observées en termes d'impact sur les paramètres de reproduction et donc les intégrés dans la paramétrisation de la matrice **L**.



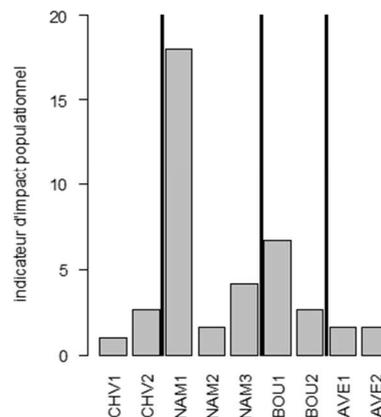
### Effets toxiques individuels *in situ*

	CHV1	CHV2	NAM1	NAM2	NAM3	BOU1	BOU2	AVE1	AVE2
mortalité juvéniles 21j	3%	15%	12%	5%	5%	3%	0%	2%	3%
mortalité femelles 21j	14%	9%	24%	19%	29%	24%	5%	9%	5%
mortalité mâles 7j	6%	15%	7%	11%	19%	12%	4%	26%	27%
inhibition alimentaire	0%	0%	0%	0%	0%	25%	50%	0%	0%
retard de mue	5%	0%	30%	30%	5%	15%	15%	30%	30%
réduction fertilité	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

### Projection / intégration

$$L = \begin{pmatrix} P1 & 0 & 0 & F4F5F6F \\ G1P2 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & G2P3 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & G3P4 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & G4P5 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & G5P6 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & G6P7 \end{pmatrix}$$

Impact démographique potentiel

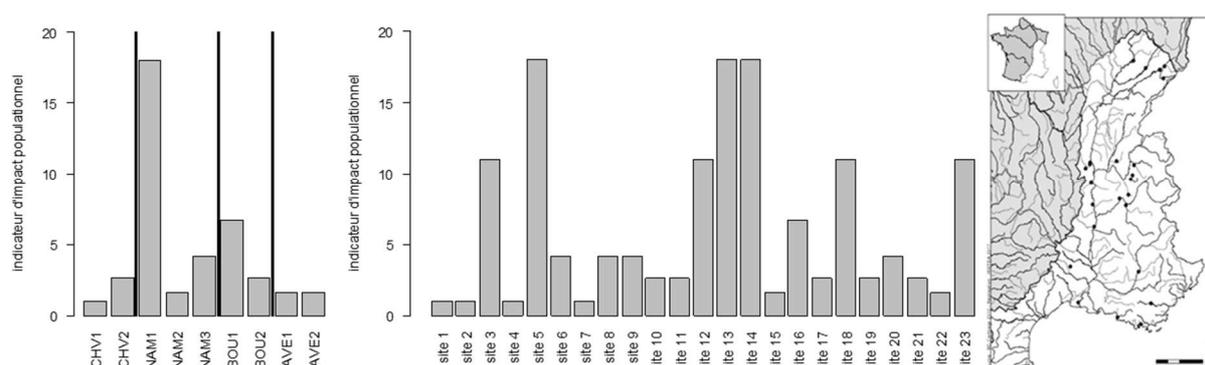


**Figure 16.** Intégration dans le modèle populationnel des effets toxiques relevés lors des encagements de gammars (biotests *in situ*) sur 4 sites (Charleville CHV, Namur NAM, Bouillon BOU, Avesne AVE) en amont (CHV1, NAM1, NAM2, BOU1, AVE1) et en aval (CHV2, NAM3, BOU2, AVE2) de 4 stations d'épuration à l'automne 2018. L'indicateur d'impact populationnel est calculé comme le taux de réduction (ratio) du taux d'accroissement asymptotique annuel de la population.

La démarche de projection au niveau populationnel des effets observés au niveau individuel a ainsi pu être réalisée sur les résultats obtenus pour les différentes stations expérimentées lors de l'étude de l'impact des 4 stations d'épuration sur le bassin de la Meuse (figure 16). En regardant les indicateurs sur les sites aval de l'étude, il ressort que les stations d'épuration ont globalement peu d'impact. L'intérêt de cette démarche d'intégration est par exemple de pouvoir diagnostiquer que la qualité chimique des eaux des zones comme Charleville et Avesne sont globalement moins à risque d'impact que Bouillon, ce qui est plus difficile à formaliser en regardant de façon déconnectée les différents marqueurs de toxicité. La démarche de modélisation populationnelle permet pour cela de pondérer la gravité des réponses (mortalité versus inhibition alimentaire versus perturbation de la mue...) au regard d'un risque d'impact démographique global. Ainsi, on peut faire ressortir les situations les plus problématiques : ici il apparaît que les eaux de la station en amont de Namur (NAM1) ont présenté un profil de toxicité pendant la période d'encagement représentant très nettement le plus fort risque d'impact populationnel de l'étude.

### Perspectives

Dans cet effort de qualification de la gravité des impacts diagnostiqués par les démarches écotoxicologiques *in situ*, un des atouts de l'espèce sentinelle *G. fossarum* et de la démarche active appliquée aujourd'hui par une diversité de gestionnaires de la qualité des eaux est de pouvoir se référer à des études réalisées en suivant le même protocole d'évaluation par biotests *in situ*, dans des contextes variés en termes de géographie, d'hydrosystèmes ou de sources de contamination potentielles, ou encore à différentes périodes (suivis saisonniers, pluriannuels). Pour illustration, la figure 16 met en regard les résultats de l'étude sur la Meuse avec ceux réalisés dans le cadre d'une étude à large échelle sur 23 sites du réseau de surveillance de l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse (Projet INDICE, Francois et al. (2016)).



**Figure 17.** Mise en regard des résultats de l'étude sur le bassin de la Meuse et ceux obtenus en suivant la même méthodologie dans le cadre d'une étude à large échelle sur 23 sites du réseau de surveillance de l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse (François et al 2015).

Cet exercice amène par exemple à conclure que la situation sur NAM1 fait partie des situations globalement les plus problématiques observées sur les cours d'eau et que les niveaux de toxicité sur des stations comme NAM3 ou sur BOU1 sont dans des niveaux de risque rencontrés relativement couramment dans des situations de perturbations toxiques du milieu aquatique. Une des perspectives de ces travaux est de compiler les résultats d'études aujourd'hui de plus en plus nombreuses recourant à l'utilisation de l'outil d'engagement pour la surveillance des milieux aquatiques (notamment par les agences de l'eau en France) pour construire des grilles de gravité en se basant sur les niveaux d'occurrence des niveaux d'impacts évalués. En complément, une approche alternative en cours de réflexion et déjà appliquée pour la calibration d'indicateurs de la contamination biodisponible se basant sur la bioaccumulation du gammare (Ciliberti et al. 2017, Alric et al. 2019) est de confronter ces indicateurs d'impact aux niveaux de densité des populations autochtones et de l'état écologique des stations expérimentées.

## 5 Description et application du modèle dreissène

### 5.1 Contexte

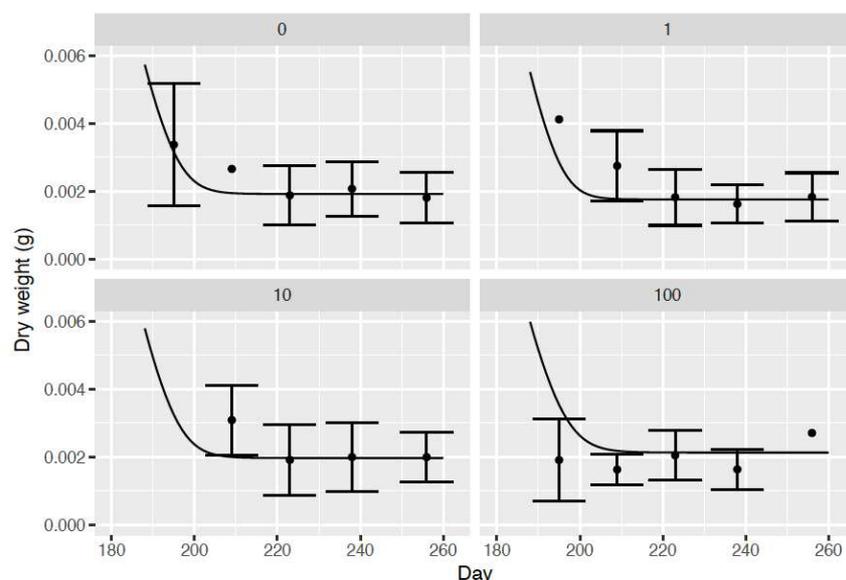
La description complète des modèles et des fichiers associés sont décrits dans le fichier « Report.pdf ». Ce fichier comprend trois parties. Tout d'abord, nous décrivons comment nous avons analysé les poids des moules individuelles dans les mésocosmes, testé statistiquement les effets du mélange de contaminants sur ces poids, et appliqué un modèle mécaniste à ces données. Deuxièmement, nous décrivons comment nous avons analysé les longueurs des moules dans les mésocosmes, testées statistiquement pour déterminer les effets du mélange de contaminants sur ces longueurs, et appliqué un modèle mécaniste. Troisièmement, nous explorons les conséquences des effets trouvés dans les deux premières parties pour la dynamique des populations, à nouveau en utilisant un modèle mécaniste. Donc, au totale, trois modèles ont été faits.

### 5.2 Modèle 1 : Modèle du poids individuel

Les poids individuels des moules ont été mesurés dans l'expérience en mésocosme et ont servi à la calibration d'un modèle mathématique. Ce modèle est basé sur les travaux de Schneider (1992) :

$$\frac{dW}{dt} = cW^d - aW^b$$

où le terme  $cW^d$  représente l'assimilation,  $aW^b$  représente les pertes (par exemple la respiration). Les coefficients sont des taux maximaux, tandis que les exposants sont des modificateurs dépendant du poids. Notre approche pour calibrer ce modèle a été de supposer que le poids final observé est le poids à équilibre (défendable, à en juger par les graphiques des données), et que - si des effets se produisent - des effets se produisent sur le rapport de  $c$  (assimilation) et  $a$ . Basé sur une analyse statistique (décrit dans Report.pdf), les poids n'ont pas changé à cause du traitement, et donc les paramètres du modèle sont les mêmes dans tous les traitements. Si on utilise des paramètres de la publication de Schneider (1992), et on calibre les inconnus sur les poids finaux mesurés on obtient les résultats en Figure 18.



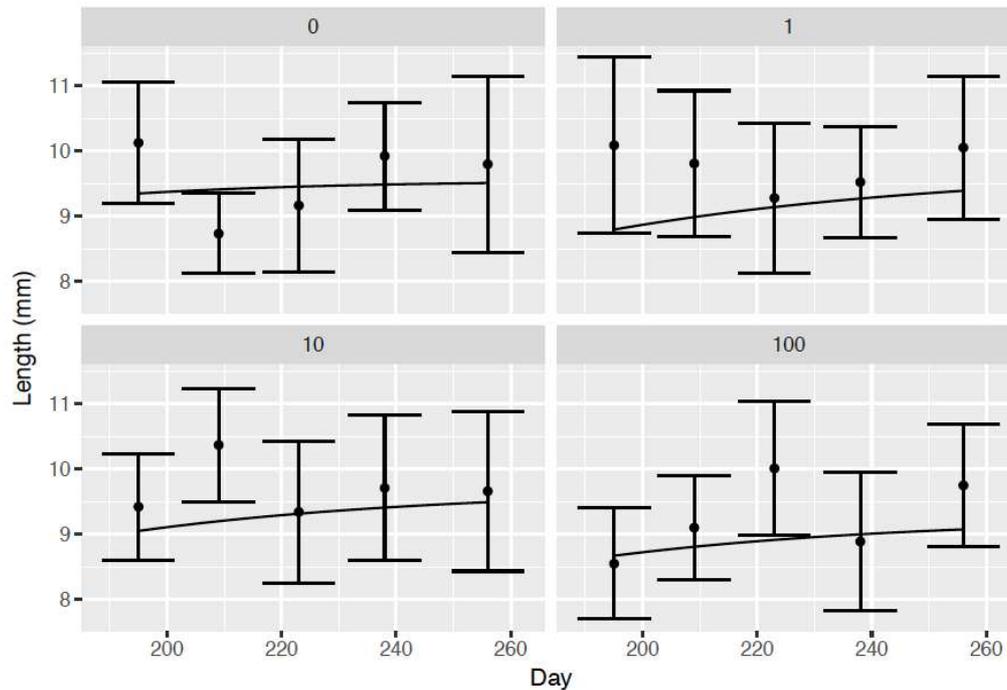
**Figure 18.** Le poids des moules en fonction du temps et traitement (0 – 100 x), selon le modèle de Schneider (ligne), et comme mesuré en mésocosme (moyenne +- 1sd).

### 5.3 Modèle 2 : Modèle de la longueur individuelle

On utilise le modèle Von Bertalanffy :

$$L_t = L_\infty(1 - e^{-k(a-a_0)})$$

où  $a$  est l'âge,  $k$  est le coefficient de croissance,  $a_0$  est une valeur utilisée pour calculer la taille lorsque l'âge est nul et  $L_\infty$  est la taille maximale. Sur base d'une analyse statistique (dans Report.pdf), nous calibrons ce modèle en supposant que le traitement affecte la taille maximale. Cette calibration donne les résultats présentés en Figure 19. Nous concluons que les effets du traitement sont faibles (les moules sont environ 10% plus petites au traitement 100x).



**Figure 19.** La longueur des moules en fonction du temps et traitement (0 – 100 x), selon le modèle (ligne), et comme mesuré en mésocosme (moyenne  $\pm$  1sd).

### 5.4 Modèle 3 : Modèle de population

Nous concluons que le seul effet écologiquement pertinent pour lequel les données sont corroborées est la longueur réduite des moules au traitement 100x. Cependant, nous devons garder à l'esprit que le traitement n'affecte pas le poids. Par conséquent, nous concluons que les conséquences du traitement sur la dynamique de la population sont probablement très faibles. Dans le Report.pdf nous effectuons une analyse illustrative pour le pire cas absolu où l'effet sur la longueur de la coquille se traduit directement par un effet comparable sur la reproduction de toutes les classes d'âge. Ici, on se focalise sur le modèle même. Ce modèle est un modèle avec plusieurs classes d'âge. Nous utilisons le modèle de dynamique des populations publié par Casagrandi et al. (2007). La description complète du modèle peut être trouvée dans leur article. En bref, ce modèle est une dynamique structurée par âge en temps discret qui comprend la reproduction de toutes les classes d'âge à l'exception des larves véligères, la consommation de ces larves par des moules plus âgées, et la survie d'une classe d'âge à l'autre. Cet exercice montre que le comportement qualitatif de la dynamique des populations n'est pas altéré par les diminutions du rendement reproductif.

## 5.5 Appliquer les modèles

Les trois modèles peuvent être appliquées en faisant tourner les script R, qui sont fournis en Annexe de ce document.

## 6 Attentes et améliorations attendues par les gestionnaires

Dans le cadre du projet Interreg DIADeM, l'atelier « Opérationnalité et transfert des outils de modélisation pour le diagnostic de la qualité des masses d'eau » a eu lieu le 04/12/2019 dans les locaux de l'INERIS à Paris. Cet atelier a permis de mieux identifier les attentes des utilisateurs finaux des modèles, et d'envisager certaines améliorations de nos modèles. Nous proposons dans cette partie du guide d'en faire un résumé.

### 6.1 Rappel des objectifs de l'atelier

Les différentes partenaires scientifiques du projet Interreg DIADeM développent une approche pluridisciplinaire afin d'améliorer le diagnostic et le suivi de la qualité chimique des masses d'eau (<https://www.univ-reims.fr/interreg-diadem>). En particulier, un module de travail est consacré à développer des modèles mathématiques permettant d'intégrer les réponses biologiques mesurées à différentes échelles d'organisation (biomarqueurs *in situ* en particulier) pour fournir une évaluation considérant le niveau populationnel des impacts, et se plaçant ainsi au niveau des conséquences écologiques de la pollution chimique toxique.

Dans ce contexte, un atelier a été organisé afin de questionner et favoriser le transfert des outils de modélisation aux utilisateurs finaux, en les adaptant à leurs exigences/attentes et en analysant les modalités de transfert d'outils de modélisation déjà réalisés dans le domaine de la gestion de la qualité des eaux au sein des bassins versants.

Cet atelier vise donc à questionner les utilisateurs potentiels de ces modèles sur leurs attentes :

- Quelles sont les questions auxquelles les modèles écologiques doivent répondre ? dans quels contextes (surveillance, étude d'impact, ...) ?
- Quelles sorties des modèles écologiques sont attendues ?
- Quels types d'informations relatives à la toxicité doivent-ils intégrer ?
- Critères de qualité des modèles / incertitude des prédictions ?
- Quelle démarche mettre en place pour intégrer les sorties de ces modèles dans des schémas d'évaluation environnementale ?

### 6.2 Compte rendu

L'atelier a donné lieu à des échanges très enrichissants entre les 21 personnes présentes. Agence de l'Eau Artois Picardie, VEOLIA, URCA, Univ Lorraine, Univ Liège, Univ Namur, IRSTEA, MNHN, IFREMER, EDF R&D, l'EPAMA-EPTB Meuse et l'Ineris étaient représentés lors de l'atelier.

Après une brève présentation de l'atelier et de ses objectifs, une présentation générale du projet et des travaux menés dans le cadre du module 5 « Réponses au niveau populationnel : rivières artificielles et modélisation » a été faite. Le projet nous a ainsi permis de développer et/ou améliorer des modèles mathématiques pour trois espèces clés des écosystèmes aquatiques : un mollusque filtreur (*Dreissena polymorpha*), un crustacé détritivore (*Gammarus fossarum*), et un poisson (*Gastrosteus aculeatus*), qui font l'objet du développement de démarches de biosurveillance active (transplantation par encagement) par les partenaires du projet DIADeM. La démarche a notamment été appliquée sur différents sites sous l'influence de rejets urbains sur le bassin de la Meuse dans le cadre de ce projet.

En début d'après-midi, Jean-François DELIEGE (Université de Liège) a présenté les travaux réalisés par son équipe de recherche autour de la plateforme logicielle PEGASE (Planification Et Gestion de l'ASSainissement des Eaux). PEGASE est un modèle intégré bassin hydrographique / rivières qui permet de calculer de façon déterministe et non stationnaire la qualité des eaux des rivières en fonction des rejets et apports de pollution. PEGASE est développé depuis les années 1990 et utilisé par différentes agences de l'eau françaises et belges. Une attention particulière pour le développement du modèle est apportée sur l'évolutivité (amélioration continue), la modularité des programmes, et la prise en

compte des besoins et des retours d'expérience des utilisateurs (existence d'un « Club des Utilisateurs » se réunissant tous les deux ans). Ce dernier point a été discuté en détails lors de l'atelier, et les différents modes de fonctionnement ont été présentés.

Enfin, Jean PRYGIEL (Agence de l'Eau Artois-Picardie) a présenté un historique de l'utilisation des biomarqueurs pour l'évaluation de l'état des masses d'eau en s'appuyant sur l'exemple de bassin Artois-Picardie au cours des 20 dernières années, en insistant sur les attentes, les freins, et les projets.

Pour initier les discussions lors de la table ronde, une présentation du cadre de travail TRACE a été faite (Towards better modelling and decision support, (Grimm et al. 2014)). Ce cadre de travail part du même constat que celui de l'atelier : « In ecological modelling, however, we do not yet have a culture of documenting model development, testing, and analysis, because clients of models usually do not know what kind of documentation they should require, hence model developers do not know what clients expect ».

Ci-dessous, une synthèse des éléments discutés lors de la table ronde est présentée.

- Un premier volet des discussions était centré sur la communication des résultats des modèles.
  - Il a été noté que la communication devait être simple et accessible : résultats intelligibles, avec des sorties formalisées à l'aide d'indicateurs synthétiques.
  - La variabilité / les incertitudes sur les prédictions sont difficiles à communiquer, car elles complexifient le message.
  - Quelques pistes pour communiquer les incertitudes : probabilité d'être mal classé par exemple.
  - Les cartes avec quelques indicateurs colorés semblent être une bonne façon de communiquer les résultats des modèles.
  - Arriver à produire des indicateurs globaux. La difficulté étant de bien garder un lien clair entre la question posée et la formalisation de l'indicateur. C'est-à-dire qu'avec les mêmes données/résultats, on peut imaginer différents indicateurs « globaux » qui ne vont pas répondre à la même question : risque de dépassement d'un seuil fixé par des données extérieures (ex : conformité NQE), place dans un gradient de réponse (ex : priorisation d'actions entre différentes stations), ...
- Un second axe de discussion a été l'appropriation par les utilisateurs finaux des modèles. Pour cela, la simplicité d'utilisation des modèles semble importante.
  - Interface des modèles simples pour simplifier leur appropriation
  - Travailler sur le code pour que les modèles soient légers et utilisables sur un PC (sans serveur de calcul)
  - Les messages d'erreur doivent être clairs et précis pour permettre une compréhension/ résolution du problème.
- Une utilisation opérationnelle indirecte semble être la plus pertinente : modélisateur reste expert.
- Conception des modèles : processus itératif en collaboration avec les utilisateurs finaux. Travailler avec un consortium d'utilisateurs semble être efficace.
- Nécessité de fixer des standards et d'avoir de la continuité dans le développement des outils (biomarqueurs / modèle) : 30 ans de développement avant d'arriver à PegOpéra.
  - Fixer des outils réglementairement pour permettre un développement continu.
  - Finalisation des outils pour permettre une transmission à des utilisateurs avertis (bureau étude)
- Structuration de la communauté : formation initiale à mettre en place et structurer une communauté. Education à la complexité et à sa gestion. Mise en place de tutoriaux. Formation d'écologie théorique et statistique.

## 7 Bibliographie

- Adams, S. M. 2002. Introduction and overview. *in* S. M. Adams, editor. Biological indicator of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Allen, J. R. M., and R. J. Wootton. 1984. Temporal Patterns in Diet and Rate of Food-Consumption of the 3-Spined Stickleback (*Gasterosteus-Aculeatus* L) in Llyn Frongoch, an Upland Welsh Lake. *Freshwater Biology* **14**:335-346.
- Alric, B., O. Geffard, A. Chandesris, M. Ferreol, A. Francois, O. Perceval, J. Piffady, B. Villeneuve, and A. Chaumot. 2019. Multisubstance Indicators Based on Caged *Gammarus* Bioaccumulation Reveal the Influence of Chemical Contamination on Stream Macroinvertebrate Abundances across France. *Environmental Science & Technology* **53**:5906-5915.
- Baird, D. J., S. S. Brown, L. Lagadic, M. Liess, L. Maltby, M. Moreira-Santos, R. Schulz, and G. I. Scott. 2007. In Situ-Based Effects Measures: Determining the Ecological Relevance of Measured Responses. *Integrated Environmental Assessment and Management* **3**:259-267.
- Beaudouin, R., V. Dias, J. M. Bonzom, and A. Pery. 2012a. Individual-based model of *Chironomus riparius* population dynamics over several generations to explore adaptation following exposure to uranium-spiked sediments. *Ecotoxicology* **21**:1225-1239.
- Beaudouin, R., V. Dias, J. M. Bonzom, and A. Pery. 2012b. Individual-based model of *Chironomus riparius* population dynamics over several generations to explore adaptation following exposure to uranium-spiked sediments. *Ecotoxicology* **21**:1225-1239.
- Beaudouin, R., V. Ginot, and G. Monod. 2012c. Improving mesocosm data analysis through individual-based modelling of control population dynamics: a case study with mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Ecotoxicology* **21**:155-164.
- Beaudouin, R., B. Goussen, B. Piccini, S. Augustine, J. Devillers, F. Brion, and A. R. Pery. 2015. An individual-based model of zebrafish population dynamics accounting for energy dynamics. *Plos One* **10**:e0125841.
- Bell, M. A., and S. A. Foster. 1994. The evolutionary biology of the threespine stickleback. Oxford University Press. 584 pp.
- Beukema, J. J. 1968. Predation By the Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus Aculeatus* L.): the Influence of Hunger and Experience. *Behaviour* **31**:1-125.
- Calow, P., and V. E. Forbes. 2003. Does ecotoxicology inform ecological risk assessment? *Environmental Science & Technology* **37**:146A-151A.
- Caquet, T., L. Lagadic, and S. R. Sheffield. 2000a. Mesocosms in ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **165**:1-38.

- Caquet, T., L. Lagadic, and S. R. Sheffield. 2000b. Mesocosms in ecotoxicology: outdoor aquatic systems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **165**:1-38.
- Casagrandi, R., L. Mari, and M. Gatto. 2007. Modelling the local dynamics of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Freshwater Biology* **52**:1223-1238.
- Caswell, H. 1996. Demography meets ecotoxicology: untangling the population level effects of toxic substances. Pages 255-292 *in* M. C. Newman and C. H. Jago, editors. *Ecotoxicology : a hierarchical treatment*. Lewis Publishers.
- Caswell, H. 2001. *Matrix population models*. . Oxford University Press Inc
- Chaumot, A., O. Geffard, J. Armengaud, and L. Maltby. 2015. Gammarids as reference species for freshwater monitoring. Pages 253-280 *in* C. Mouneyrac, C. Amiard-Triquet, and J. C. Amiard, editors. *Aquatic Ecotoxicology: Advancing tools for dealing with emerging risks*. Academic Press.
- Ciliberti, A., A. Chaumot, R. Recoura-Massaquant, A. Chandesris, A. Francois, M. Coquery, M. Ferreol, and O. Geffard. 2017. Caged Gammarus as biomonitors identifying thresholds of toxic metal bioavailability that affect gammarid densities at the French national scale. *Water Research* **118**:131-140.
- Conolly, R. B., G. T. Ankley, W. Cheng, M. L. Mayo, D. H. Miller, E. J. Perkins, D. L. Villeneuve, and K. H. Watanabe. 2017. Quantitative Adverse Outcome Pathways and Their Application to Predictive Toxicology. *Environmental Science & Technology* **51**:4661-4672.
- Cottingham, K. L., and D. E. Schindler. 2000. EFFECTS OF GRAZER COMMUNITY STRUCTURE ON PHYTOPLANKTON RESPONSE TO NUTRIENT PULSES. *Ecology* **81**:183-200.
- Coulaud, R., O. Geffard, A. Coquillat, H. Queau, S. Charles, and A. Chaumot. 2014. Ecological Modeling for the Extrapolation of Ecotoxicological Effects Measured during in Situ Assays in Gammarus. *Environmental Science & Technology* **48**:6428-6436.
- Coulaud, R., O. Geffard, A. Vigneron, H. Quéau, A. François, and A. Chaumot. 2015. Linking feeding inhibition with reproductive impairment in Gammarus confirms the ecological relevance of feeding assays in environmental monitoring. *Environmental Toxicology and Chemistry* **34**:1031-1038.
- Cribiu, P. 2020. Étude des effets inter et transgénérationnels de l'exposition parentale au stress chimique chez le crustacé amphipode Gammarus fossarum Université Lyon 1.
- David, V., B. Goussen, C. Tebby, S. Joachim, J. M. Porcher, and R. Beaudouin. 2018. Modelling historical mesocosm data: application of a fish bioenergetics model in semi-natural conditions. *Ecology of Freshwater Fish* **27**:1101-1113.

- David, V., S. Joachim, A. Catteau, K. Nott, S. Ronkart, C. Robert, N. Gillard, A. Bado-Nilles, E. Chadili, O. Palluel, C. Turies, N. Julian, J. Castiglione, O. Dedourge-Geffard, Y. Hani, A. Geffard, J. M. Porcher, and R. Beaudouin. 2020. Effects of chronic exposure to a pharmaceutical mixture on the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) population dynamics in lotic mesocosms. *Aquatic toxicology* **224**:105499.
- David, V., S. Joachim, J. M. Porcher, and R. Beaudouin. 2019a. Modelling BPA effects on three-spined stickleback population dynamics in mesocosms to improve the understanding of population effects. *Science of the Total Environment* **692**:854-867.
- David, V., S. Joachim, C. Tebby, J.-M. Porcher, and R. Beaudouin. 2019b. Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model. *Ecological Modelling* **398**:55-66.
- de Kermoisan, G., S. Joachim, P. Baudoin, M. Lonjaret, C. Tebby, F. Lesaulnier, F. Lestremau, C. Chatellier, Z. Akrouf, E. Pheron, J.-M. Porcher, A. R. R. Pery, and R. Beaudouin. 2013. Effects of bisphenol A on different trophic levels in a lotic experimental ecosystem. *Aquatic toxicology* **144**:186-198.
- Folke, C., S. Carpenter, B. Walker, M. Scheffer, T. Elmqvist, L. Gunderson, and C. S. Holling. 2004. Regime shifts, resilience, and biodiversity in ecosystem management. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* **35**:557-581.
- Forbes, V. E., and P. Calow. 2002. Extrapolation in ecological risk assessment: balancing pragmatism and precaution in chemical controls legislation. *BioScience* **52**.
- Forbes, V. E., P. Calow, and R. M. Sibly. 2008. The extrapolation problem and how population modeling can help. *Environmental Toxicology and Chemistry* **27**:1987-1994.
- Forbes, V. E., A. Palmqvist, and L. Bach. 2006. The use and misuse of biomarkers in ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry* **25**:272-280.
- Forbes, V. E., C. J. Salice, B. Birnir, R. J. F. Bruins, P. Calow, V. Ducrot, N. Galic, K. Garber, B. C. Harvey, H. Jager, A. Kanarek, R. Pastorok, S. F. Railsback, R. Rebarber, and P. Thorbek. 2017. A Framework for Predicting Impacts on Ecosystem Services From (Sub)Organismal Responses to Chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry* **36**:845-859.
- Francois, A., A. Chaumot, and O. Geffard. 2016. Intérêt d'un indicateur écotoxicologique pour diagnostiquer et comprendre l'état des milieux aquatiques et aider à la restauration. . <https://hal.inrae.fr/hal-02607334>.
- Galic, N., U. Hommen, J. Baveco, and P. J. van den Brink. 2010. Potential application of population models in the European ecological risk assessment of chemicals II: Review of models and their potential to address environmental protection aims. *Integrated Environmental Assessment and Management* **6**:338-360.

- Grimm, V., J. Augusiak, A. Focks, B. M. Frank, F. Gabsi, A. S. A. Johnston, C. Liu, B. T. Martin, M. Meli, V. Radchuk, P. Thorbek, and S. F. Railsback. 2014. Towards better modelling and decision support: Documenting model development, testing, and analysis using TRACE. *Ecological Modelling* **280**:129-139.
- Grimm, V., U. Berger, D. L. DeAngelis, J. G. Polhill, J. Giske, and S. F. Railsback. 2010. The ODD protocol: A review and first update. *Ecological Modelling* **221**:2760-2768.
- Grimm, V., and S. F. Railsback. 2005. *Individual-based Modeling and Ecology*. Princeton University Press edition, Princeton, New Jersey. 428 pp.
- Jolly, C., I. Katsiadaki, S. Morris, N. Le Belle, S. Dufour, I. Mayer, T. G. Pottinger, and A. P. Scott. 2009. Detection of the anti-androgenic effect of endocrine disrupting environmental contaminants using in vivo and in vitro assays in the three-spined stickleback. *Aquatic toxicology* **92**:228-239.
- Kennedy, J. H., L. P. Ammann, W. T. Waller, J. E. Warren, A. J. Hosmer, S. H. Cairns, P. C. Johnson, and R. L. Graney. 1999. Using statistical power to optimize sensitivity of analysis of variance designs for microcosms and mesocosms. *Environmental Toxicology and Chemistry* **18**:113-117.
- Kidd, K. A., P. J. Blanchfield, K. H. Mills, V. P. Palace, R. E. Evans, J. M. Lazorchak, and R. W. Flick. 2007. Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**:8897-8901.
- Kidd, K. A., M. J. Paterson, M. D. Rennie, C. L. Podemski, D. L. Findlay, P. J. Blanchfield, and K. Liber. 2014. Direct and indirect responses of a freshwater food web to a potent synthetic oestrogen. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* **369**.
- Kooijman, S. A. L. M. 2010. *Dynamic Energy Budget Theory for Metabolic Organisation*. Cambridge University Press. 532 pp.
- Kramer, V. J., M. A. Etterson, M. Hecker, C. A. Murphy, G. Roesijadi, D. J. Spade, J. A. Spromberg, M. Wang, and G. T. Ankley. 2011. Adverse Outcome Pathways and Ecological Risk Assessment Bridging to Population-Level Effects. *Environmental Toxicology and Chemistry* **30**:64-76.
- Kupisch, M., S. Moenickes, J. Schlieff, M. Frassl, and O. Richter. 2012. Temperature-dependent consumer-resource dynamics: A coupled structured model for *Gammarus pulex* (L.) and leaf litter. *Ecological Modelling* **247**:157-167.
- Leloutre, C., A. R. R. Pery, J. M. Porcher, and R. Beaudouin. 2018. A bioenergetics model of the entire life cycle of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Ecology of Freshwater Fish* **27**:116-127.
- Lin, B.-I., A. Tokai, and J. Nakanishi. 2005. Approaches for Establishing Predicted-No-Effect Concentrations for Population-Level Ecological Risk Assessment in the

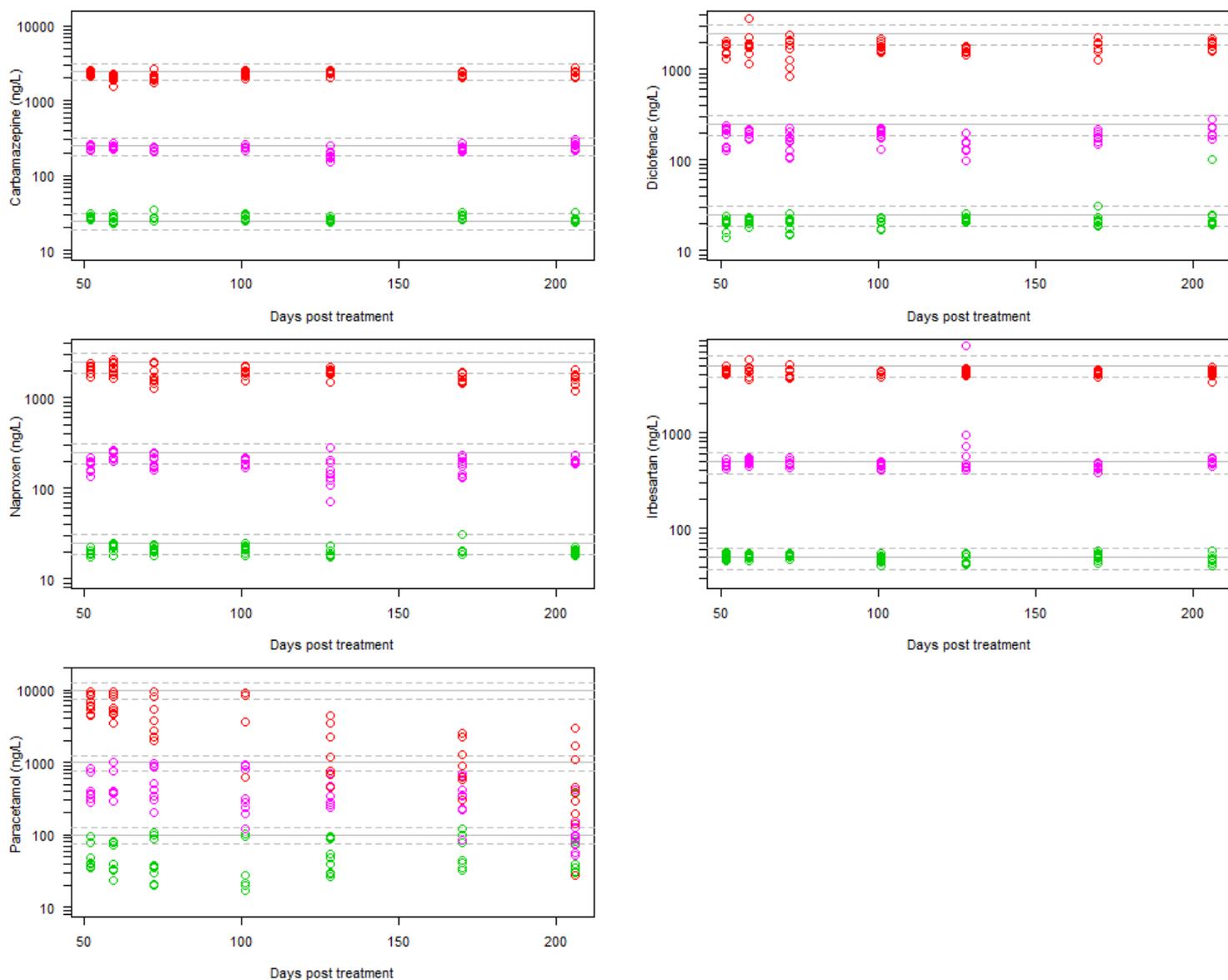
- Context of Chemical Substances Management. *Environmental Science & Technology* **39**:4833-4840.
- Lindholm, C., P. M. Wynne, P. Marriott, S. N. Pedersen, and P. Bjerregaard. 2003. Metabolism of bisphenol A in zebrafish (*Danio rerio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to estrogenic response. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology* **135**:169-177.
- Maltby, L., S. A. Clayton, R. M. Wood, and N. McLoughlin. 2002. Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: Robustness, responsiveness, and relevance. *Environmental Toxicology and Chemistry* **21**:361-368.
- Malthus, R. T. 1798. *An Essay on the Principle of Population as It Affects the Future Improvement of Society, with Remarks on the Speculations of Mr. Godwin, M. Condorcet, and Other Writers*. J. Johnson, London.
- Martin, B. T., T. Jager, R. M. Nisbet, T. G. Preuss, and V. Grimm. 2013. Predicting Population Dynamics from the Properties of Individuals: A Cross-Level Test of Dynamic Energy Budget Theory. *American Naturalist* **181**:506-519.
- Martin, B. T., E. I. Zimmer, V. Grimm, and T. Jager. 2012. Dynamic Energy Budget theory meets individual-based modelling: a generic and accessible implementation. *Methods in Ecology and Evolution* **3**:445-449.
- O'Gorman, E. J., D. E. Pichler, G. Adams, J. P. Benstead, H. Cohen, N. Craig, W. F. Cross, B. O. L. Demars, N. Friberg, G. M. Gislason, R. Gudmundsdottir, A. Hawczak, J. M. Hood, L. N. Hudson, L. Johansson, M. P. Johansson, J. R. Junker, A. Laurila, J. R. Manson, E. Mavromati, D. Nelson, J. S. Olafsson, D. M. Perkins, O. L. Petchey, M. Plebani, D. C. Reuman, B. C. Rall, R. Stewart, M. S. A. Thompson, and G. Woodward. 2012. Impacts of Warming on the Structure and Functioning of Aquatic Communities: Individual-to Ecosystem-Level Responses. *Advances in Ecological Research, Vol 47: Global Change in Multispecies Systems, Pt 2* **47**:81-176.
- OECD. 2006. Guidance document on simulated freshwater lentic field tests. Page 37 *in* OECD, Environment, and Directorate, editors., Paris.
- OECD. 2018. Users' Handbook supplement to the guidance document for developing and assessing adverse outcome pathways.
- Prud'homme, S. M., A. Chaumot, E. Cassar, J. P. David, and S. Reynaud. 2017. Impact of micropollutants on the life-history traits of the mosquito *Aedes aegypti*: On the relevance of transgenerational studies. *Environmental Pollution* **220**:242-254.
- Railsback, S. F., and V. Grimm. 2011. *Agent-Based and Individual-Based Modeling A Practical Introduction*. Princeton University Press.
- Ritz, C., F. Baty, J. C. Streibig, and D. Gerhard. 2015. Dose-Response Analysis Using R. *Plos One* **10**.

- Roussel, H., S. Joachim, S. Lamothe, O. Palluel, L. Gauthier, and J. M. Bonzom. 2007. A long-term copper exposure on freshwater ecosystem using lotic mesocosms: Individual and population responses of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Aquatic toxicology* **82**:272-280.
- Rudén, C., J. Adams, M. Ågerstrand, T. C. M. Brock, V. Poulsen, C. E. Schlekat, J. R. Wheeler, and T. R. Henry. 2017. Assessing the relevance of ecotoxicological studies for regulatory decision making. *Integrated Environmental Assessment and Management* **13**:652-663.
- Sanchez, W., W. Sremski, B. Piccini, O. Palluel, E. Maillot-Maréchal, S. Betoulle, A. Jaffal, S. Aït-Aïssa, F. Brion, E. Thybaud, N. Hinfray, and J.-M. Porcher. 2011. Adverse effects in wild fish living downstream from pharmaceutical manufacture discharges. *Environment International* **37**:1342-1348.
- Santos, E. M., P. B. Hamilton, T. S. Coe, J. S. Ball, A. C. Cook, I. Katsiadaki, and C. R. Tyler. 2013. Population bottlenecks, genetic diversity and breeding ability of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) from three polluted English Rivers. *Aquatic toxicology* **142**:264-271.
- Scheffer, M., S. Carpenter, J. A. Foley, C. Folke, and B. Walker. 2001. Catastrophic shifts in ecosystems. *Nature* **413**:591-596.
- Schneider, D. W. 1992. A Bioenergetics Model of Zebra Mussel, *Dreissena*-Polymorpha, Growth in the Great-Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **49**:1406-1416.
- Shaw, J. L., M. Moore, J. H. Kennedy, and I. R. Hill. 1994. Design and statistic analysis of field aquatic mesocosm studies. Pages 85-103 *in* R. L. Graney, J. H. Kennedy, and J. H. Rodgers, editors. *Aquatic Mesocosm Studies in Ecological Risk Assessment*. Lewis, BocaRaton, Florida 33431.
- Thiele, J. C., W. Kurth, and V. Grimm. 2012. RNETLOGO: an R package for running and exploring individual-based models implemented in NETLOGO. *Methods in Ecology and Evolution* **3**:480-483.
- Thiele, J. C., W. Kurth, and V. Grimm. 2014. Facilitating Parameter Estimation and Sensitivity Analysis of Agent-Based Models: A Cookbook Using NetLogo and 'R'. *Journal of Artificial Societies and Social Simulation* **17**:11.
- Tollefsen, K. E., S. Scholz, M. T. Cronin, S. W. Edwards, J. de Knecht, K. Crofton, N. Garcia-Reyero, T. Hartung, A. Worth, and G. Patlewicz. 2014. Applying Adverse Outcome Pathways (AOPs) to support Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA). *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **70**:629-640.
- Trapp, J., J. Armengaud, A. Salvador, A. Chaumot, and O. Geffard. 2014. Next-Generation Proteomics: Toward Customized Biomarkers for Environmental Biomonitoring. *Environmental Science & Technology* **48**:13560-13572.

- Tyler, C. R., S. Jobling, and J. P. Sumpter. 1998. Endocrine disruption in wildlife: A critical review of the evidence. *Critical Reviews in Toxicology* **28**:319-361.
- van der Oost, R., J. Beyer, and N. P. Vermeulen. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **13**:57-149.
- Villeneuve, D. 2016. Adverse Outcome Pathway on Aromatase Inhibition Leading to Reproductive Dysfunction (in Fish).
- Wootton, R. J. 1984. *A Functional Biology of Sticklebacks*. Croom Helm, London. 272 pp.

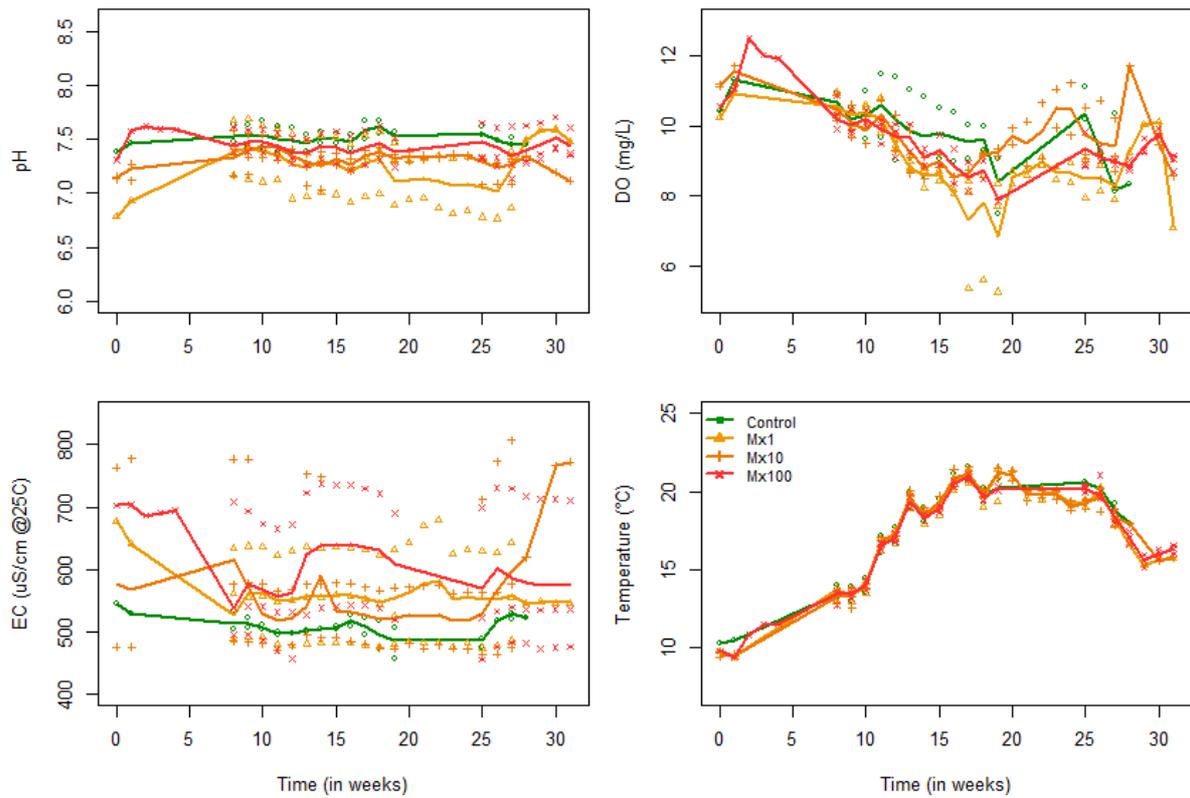
## 8 Annexe

### 8.1 Données expérimentales utilisées par les modèles



**Figure S20:** Measured concentrations of the different mixture component over time. Green, pink and red circles represent the measured concentrations respectively in the Mx1, Mx10 and Mx100 treatments. The dashed lines represent the  $\pm 25\%$  interval around the nominal concentrations and the full line the nominal concentration.

## 8.2 Physico-chemistry in mesocosms



**Figure S21:** pH, dissolved oxygen (DO), conductimetry (EC) and temperature over time of experiments. The treatments are differentiated with the colors (Mx0: green, Mx1: yellow, Mx10: orange and Mx100: red). The points represent the observed data in the different mesocosms and the lines represent the mean per treatment.

### 8.3 Modèle épineche

L'ensemble des scripts Netlogo et R, ainsi que les données d'entrée du modèle sont disponibles dans les annexes de :

- (David et al. 2019b). « Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model ».
- (David et al. 2020). « Effects of chronic exposure to a pharmaceutical mixture on the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) population dynamics in lotic mesocosms »