



HAL
open science

Compréhension et prédiction des effets des substances chimiques sur la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en mésocosme

Viviane David

► **To cite this version:**

Viviane David. Compréhension et prédiction des effets des substances chimiques sur la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en mésocosme. Ecotoxicologie. Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France, 2019. Français. NNT : 2019IAVF0023 . tel-04368893

HAL Id: tel-04368893

<https://pastel.hal.science/tel-04368893v1>

Submitted on 2 Jan 2024

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

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

NNT° : 2019 IAVF 0023

THESE DE DOCTORAT

préparée à l'Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (AgroParisTech)

pour obtenir le grade de

Docteur de l'Institut agronomique vétérinaire et forestier de France

Spécialité : Ecotoxicologie

École doctorale n° 581

Agriculture, alimentation, biologie, environnement et santé (ABIES)

par

Viviane DAVID

**Compréhension et prédiction des effets des substances chimiques sur
la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en
mésocosme**

Directeur de thèse : Rémy BEAUDOUIN

Thèse présentée et soutenue à Paris, le 11 décembre 2019 :

Composition du jury :

M. Alain GEFARD, Professeur d'Université, URCA
M. Arnaud CHAUMOT, CR, IRSTEA
M. Jérémie LOBRY, DR, IRSTEA
M. Benoît FERRARI, Chercheur, Centre Ecotox Eawag-EPFL
Mme Elise BILLOIR, MCF, Université de Lorraine
M. Rémy BEAUDOUIN, IR, Ineris
M. Xavier COUSIN, CR, Ifremer

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examinatrice
Directeur de thèse
Invité

Remerciements

Je tiens à adresser mes plus chaleureux remerciements à mon directeur de thèse, Rémy Beaudouin, qui m'a accompagné pendant ces trois années de thèse. Merci pour la qualité de ton encadrement, tes nombreux conseils, ta disponibilité, ta bonne humeur et ta confiance. Je n'aurais pas pu mener ce travail à bien sans ton aide précieuse. Merci de m'avoir fait découvrir les nombreux atouts de la modélisation individu-centrée !

Un grand merci à Eric Thibaud pour m'avoir accueillie au sein du pôle VIVA ainsi qu'à Céline Brochot pour m'avoir accueillie au sein de l'équipe METO. Merci de m'avoir fourni les conditions propices à la réalisation de ce travail de thèse. Un grand merci à Cléo Tebby pour son aide en statistiques et pour ses relectures des articles en anglais ! Je remercie également Enrico Monbelli, Florence Zeman, Frédéric Bois. Merci pour les nombreuses discussions lors des pauses café (avec parfois de bons gâteaux à goûter !). Je remercie également Vanessa Veg et Caroline Gourland, toujours très disponibles pour nous aider. Ce projet de thèse a été entièrement financé par l'Ineris que je souhaite aussi remercier.

Je remercie également Jean-Marc Porcher pour m'avoir laissée faire quelques passages au sein de l'équipe ECOT. Un grand merci à Sandrine Joachim, qui s'occupe si bien de nos amis les épinoches en mésocosme ! Je te remercie de m'avoir aidée sur toute la partie expérimentale liée aux rivières artificielles. Merci aussi pour nos nombreuses discussions sur la vie des épinoches, leurs joies, leurs peines et leurs soucis quotidiens en mésocosme ! Merci également aux autres membres de l'équipe, Anne Bado-Nilles, Edith Chadili, Cyril Turiel, Olivier Palluel, François Brion et Patrick Baudoin pour leurs conseils et leur aide sur certains projets.

Je souhaite aussi remercier toutes les personnes avec qui j'ai pu échanger dans le cadre de l'UMR SEBIO ainsi que pour le projet Interreg DIADeM. C'est toujours très intéressant et constructif de voir la diversité des méthodes et approches existantes en écotoxicologie.

Je remercie également tous les membres de mon comité de thèse qui n'ont pas été cités précédemment. Merci à Alexandre Pery, Véronique Poulsen et Samuel Soubeyrand pour leurs nombreux conseils sur mes travaux.

Mes pensées vont maintenant à mes amis doctorants. Dr Grech, la première à m'avoir accueillie, merci de toujours nous ramener le soleil de Marseille. Marco, mon cher co-bureau du début à la fin, on aura vraiment vécu ensemble toutes les étapes d'une thèse... ça n'a pas de prix ! Paul, merci de m'avoir fait découvrir un grand Ch'Nord vraiment chaleureux. Et Segogo, merci d'être toujours pétillante, drôle et généreuse. Une pensée également à Elias et Alice, nos faux Ineris. On en aura partagé des trajets en train (et des galères !), discuté des avancées de nos projets respectifs, échangé nos perpétuelles remises en question... Mais plus encore, nos nombreux fous rires, potins, soirées resteront inoubliables... En bref, merci d'avoir partagé tous ces moments de joie et de crise qui définissent une thèse. Celle-ci n'aurait clairement jamais été la même sans vous ! *Love moment* comme dirait Audrey.

Merci aussi aux autres doctorants, Audrey C. qui partage ma passion pour les épinoches, Adrien, Hélène, Corentin, Wang, ainsi que Gaëlle. Un grand merci aux stagiaires M2, Julie et Naïs, qui m'ont aidée à obtenir des données précieuses pour le modèle. Grâce à vous, j'ai pu me former à l'encadrement, ce qui n'était peut-être pas de tout repos pour vous !

Et parce que le monde ne s'arrête pas à l'Ineris... Je remercie également les Zoulous, bien sûr, parce que depuis la prépa jusqu'à la thèse, il s'en passe - fiamment - des choses ! Alex, la tata Tariel, Benji, *El profesor* Max, Mathilde, Loulou merci à vous tous. Alex, c'est ton tour maintenant, ne prend pas trop ton temps !! Et à toi et Loulou, finalement des dissections de phasmes aux dissections de poissons, il n'y a qu'un pas...

Merci à ma voisine de toujours, Andréa. A mes mathématiciens en herbe, Mathieu et Albert. Un grand merci à mes amies lakanaliennes, Claire, Al, Mar, Meg. Et à Marine et Pierre, pour leur soutien affectueux depuis Etreilles ! A Laurène et Marie-Armel, pour votre amitié et vos conseils. Vous êtes franchement des amis géniaux, j'ai beaucoup de chance, merci pour tout. J'adore quand vous résumez ma thèse à : « rivière + poissons ».

Je fais un petit aparté pour remercier la famille Johanet. A mon filleul, mon parrain, ma plus vieille amie Claire... Merci.

Enfin, je remercie ma famille que j'ai d'extraordinaire. A mes parents, pour votre soutien inconditionnel et vos encouragements sans faille. Merci à toi, Flo et à ta petite famille si adorable... Clémence et Agathe m'ont bien inspiré la rédaction de ma thèse ! A toi Nana, pour ne jamais douter de moi et être toujours présente malgré la distance (et pour cela les discussions par messages vocaux façon Guyanaise sont d'une aide incroyable...!).

Mes dernières pensées vont à ma Manon. Si je devais dédier ces trois ans de travail à quelqu'un, ce serait à toi petite sœur. Il y a exactement 9 ans j'étais à ta place, avec les mêmes craintes et angoisses... Mais finalement peu importe le chemin que tu prendras, on sera là pour toi.

Table des matières

Liste des figures.....	iii
Liste des tables	v
Abbréviations	vi
Introduction générale.....	1
Chapitre I. Etat de l'art	4
I. Les mésocosmes comme outils d'aide à l'évaluation des risques écotoxicologiques	5
I.1. Présentation des écosystèmes expérimentaux.....	5
I.2. Spécificité des mésocosmes de l'Ineris.....	9
I.3. L'interprétation des résultats des études en mésocosme.....	12
II. L'épinoches à trois épines comme modèle biologique	16
II.1. Caractéristiques générales.....	16
II.2. Cycle de vie.....	17
II.3. Facteurs environnementaux influençant les processus physiologiques de l'épinoche à trois épines.....	22
II.4. Adaptation des populations d'épinoches à trois épines à leur environnement.....	29
II.5. Les effets densité-dépendants modulant les dynamiques de population des poissons.....	30
III. Apport de la modélisation en évaluation du risque environnemental	32
III.1. La modélisation à l'échelle de l'individu	32
III.2. La modélisation à l'échelle de la population	38
III.3. L'analyse des modèles individu-centrés.....	43
Chapitre II. Développement d'un modèle individu-centré décrivant la dynamique de population des épinoches à trois épines en mésocosme en condition témoin.....	52
I. Application du modèle DEB pour des poissons vivants en mésocosme (Article 1)	54
I.1. Introduction.....	54
I.2. Article 1	57
I.3. Synthèse sur l'application de la théorie DEB à des épinoches en mésocosme	82
II. Modélisation individu-centrée pour prédire la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en mésocosme en condition témoin	84
II.1. Développement du DEB-IBM, calibration et évaluation de ses capacités prédictives (Article 2).....	85
II.2. Application du modèle sur des dynamiques de population originales : Exploration des limites du DEB-IBM	116
II.3. Synthèse sur le développement du DEB-IBM en condition témoin	148
Chapitre III. Application du modèle individu-centré en écotoxicologie	150

I. Approche combinée d'analyse de biomarqueurs, de données de population et de modélisation pour un diagnostic de l'état écologique des cours d'eau (Article 3)	152
I.1. Introduction.....	152
I.2. Article 3	155
I.3. Synthèse sur la compréhension des effets d'un mélange par expérimentation et modélisation	183
II. Modélisation des effets du bisphénol A sur la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en mésocosme (Article 4).....	184
II.1. Introduction.....	184
II.2. Article 4	186
II.3. Synthèse sur l'application du DEB-IBM pour comprendre et prédire les effets du BPA....	217
Chapitre IV. Discussion générale et perspectives	219
I. Les mésocosmes, des systèmes expérimentaux utiles en écotoxicologie mais présentant des limites	221
II. Vers un outil de modélisation pertinente combinée à une approche par mésocosmes	226
III. Pertinence de notre modèle pour l'évaluation des effets des substances chimiques	231
IV. Vers un outil utilisable pour simuler un écosystème naturel ?.....	236
Conclusions générales	239
Références	241
Annexes	255
Annexe 1 : Supporting Information (Article 1).....	255
Annexe 2 : Supporting Information (Article 2).....	276
Annexe 3 : Application du modèle sur des dynamiques de population anormales	315
Annexe 4 : Supporting Information (Article 3).....	324
Annexe 5 : Supporting Information (Article 4).....	352
Publications scientifiques.....	366

Liste des figures

Figure 1. Place des mésocosmes en analyse de risque environnemental des substances chimiques.....	6
Figure 2. Plateforme expérimentale de l’Ineris composée de douze rivières artificielles.	9
Figure 3. Représentation schématique d’un mésocosme de l’Ineris.....	10
Figure 4. Coefficients de variation des variables descriptives des populations de gambusies.....	13
Figure 5. Schéma présentant l’approche par modélisation des populations contrôles pour estimer la loi de distribution d’une variable descriptive de ces populations.....	15
Figure 6. Représentation d’une épinoche à trois épines (<i>Gasterosteus aculeatus</i>) de 60 mm ayant toutes les plaques latérales osseuses.....	16
Figure 7. Stades de développement des épinoches à trois épines au cours de leur cycle de vie.	17
Figure 8. Schéma représentatif de la taille standard de l’épinoche à trois épines..	18
Figure 9. Taille standard de l’épinoche à trois épines en fonction du temps selon le modèle de croissance de von Bertalanffy..	19
Figure 10. Photographies d’une femelle mature (a), d’un mâle mature présentant ses caractères sexuels secondaires pendant la période de reproduction (b), d’un nid (c) et d’alevins (d).	19
Figure 11. Nombre de nids construits durant la période de reproduction	22
Figure 12. Prise en compte de la température sur la vitesse des processus physiologiques pour 10 g de perche jaune.....	25
Figure 13. Comparaison de trois façons de prendre en compte l’effet de la température sur la consommation maximale de l’épinoche à trois épines.	24
Figure 14. Représentation schématique de la relation entre la croissance et le niveau de nourriture des épinoches à trois épines à une température donnée.....	26
Figure 15. Cycle de prédation de l’épinoche à trois épines.....	27
Figure 16. Les grands types de réponse fonctionnelle d’un prédateur à la densité de ses proies.....	28
Figure 17. Échantillonnages annuels d’épinoches à trois épines.....	30
Figure 18. Représentation schématique des flux énergétiques dans le modèle DEB standard..	33
Figure 19. Relations entre la croissance et la température estimées pour différentes épinoches à trois épines distinctes par leur masse.....	36
Figure 20. Evaluation de la capacité prédictive du modèle DEB de l’épinoche à trois épines pour la croissance pour des juvéniles nourris avec deux régimes alimentaires distincts.....	37
Figure 21. Classification des modèles pouvant être utilisés pour évaluer les effets de potentiels facteurs de stress sur les populations de poissons.....	38
Figure 22. Représentation schématique d’un modèle individu-centré..	39
Figure 23. Schéma conceptuel de l’IBM de Mintram et al. (2018).....	42
Figure 24. Abondance moyenne annuelle totale modélisée de la population par le modèle de Mintram et al. (2018).....	43

Figure 25. Visualisation de l'interface du logiciel NetLogo (Version 6.0.4).....	45
Figure 26. Distributions de la fréquence des tailles prédites par le modèle par rapport aux distributions de fréquences observées en fonction des différents traitements au diclofénac.	121
Figure 27. Nombre de fondateurs simulés au cours du temps.....	122
Figure 28. Distributions des fréquences des tailles prédites par le modèle par rapport aux distributions de fréquences observées avec 10 µg/L de diclofénac.....	123
Figure 29. Comparaison des observations et des prédictions des variables descriptives des populations d'épinoches par le DEB-IBM.....	124
Figure 30. Comparaison du nombre observé d'alevins dérivants par jour en mésocosme dans les trois réplicats du plus fort traitement au diclofénac.....	125
Figure 31. Distributions des fréquences des tailles prédites par le modèle par rapport aux distributions des fréquences observées en fonction des différents traitements à la carbamazépine.....	126
Figure 32. Nombre de fondateurs simulés au cours du temps.....	127
Figure 33. Comparaison des observations et des prédictions des variables descriptives des populations d'épinoches par le DEB-IBM.....	128
Figure 34. Comparaison du nombre d'alevins dérivants par jour en mésocosme dans les trois réplicats du plus fort traitement à la carbamazépine.....	129
Figure 35. Comparaison du nombre d'alevins dérivants en mésocosme dans les trois traitements. ...	136
Figure 36. Observations des variables descriptives pour les trois traitements concernant le nombre d'individus total dans les mésocosmes et en fonction des catégories d'individus.	137
Figure 37. Observations des variables descriptives pour les trois traitements concernant les fréquences, les tailles moyennes et les CVs des tailles.....	138
Figure 38. Analyse de sensibilité locale selon la méthode de Ginot et al. (2006).....	139
Figure 39. Comparaison des prédictions et des observations des variables descriptives des populations d'épinoches à trois épines.....	140
Figure 40. Distributions probabilistes de la fréquence des tailles prédites par le modèle par rapport aux distributions de fréquences observées dans les mésocosmes pour le témoin et les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio ».....	141
Figure 41. Représentation schématique de la période de reproduction dans les expériences en mésocosme.	143
Figure 42. Paramètres impliqués dans la récolte, le développement et la survie des œufs dans le DEB-IBM.	147
Figure 43. Coefficients de variation des variables descriptives des populations d'épinoches à trois épines dans les mésocosmes de l'Ineris.....	225
Figure 44. Représentation schématique du couplage des différents types de modèles s'intéressant à une échelle biologique particulière (tissu, organisme ou population) pour l'épinoche à trois épines.....	236

Liste des tables

Tableau 1. Classement des MDDs comme proposé par l'EFSA (2013)	14
Tableau 2. Les cinq grands types d'accélération modifiant la théorie DEB décrits par Kooijman (2014)	34
Tableau 3. Les étapes de validation d'un IBM. Source : Fitzpatrick (2019).....	50
Tableau 4. Sexe-ratio et nombre d'épinoches à trois épines introduites dans les mésocosmes et nombre de réplicats en fonction du traitement	133
Tableau 5. Essais réalisés afin de comprendre les mécanismes de régulation des populations dans les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio ».....	142

Abbréviations

ABC	<i>Approximate Bayesian Computation</i>
AIC	Critère d'information d'Akaike
AS	Analyse de Sensibilité
ANOVA	Analyse de la Variance
BMD	<i>Benchmark Dose</i>
BPA	Bisphenol A
CA	Concentration Addition
Cmax	Consommation maximale de l'épinoche à trois épines
CMR	Capture-Marquage-Recapture
CREAM	<i>Mechanistic Effect Models for Ecological Risk Assessment of Chemicals</i>
CV	Coefficient de Variation
CV.J	Coefficient de Variation moyen des juvéniles
CV.F.C00	Coefficient de Variation moyen des tailles des femelles fondatrices
CV.F.CXX	Coefficient de Variation moyen des tailles des femelles nées dans les mésocosmes
CV.M.C00	Coefficient de Variation moyen des tailles des mâles fondateurs
CV.M.CXX	Coefficient de Variation moyen des tailles des mâles nés dans les mésocosmes
CV.M.m	Coefficient de Variation moyen des tailles des mâles matures
DEB	<i>Dynamic Energy Budget</i>
DIADeM	Développement d'une approche intégrée pour le diagnostic de la qualité des eaux de la Meuse
DIC	Critère d'information de déviance
ECx	Concentration entraînant x % d'Effet
EE2	17 α -éthynylestradiol
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
ERE	Evaluation des risques environnementaux
F.J	Fréquence moyenne des juvéniles
F.F	Fréquence moyenne des femelles
F.M.m	Fréquence moyenne des mâles matures
FAST	<i>Fourier Amplitude Sensitivity Test</i>
IA	Indépendance des actions
IBM	<i>Individual-Based Modelling</i>
L.F.C00	Taille moyenne des femelles fondatrices
L.F.CXX	Taille moyenne des femelles nées dans les mésocosmes

L.J	Taille moyenne des juvéniles
L.M.C00	Taille moyenne des mâles fondateurs
L.M.CXX	Taille moyenne des mâles nés dans les mésocosmes
L.M.m	Taille moyenne des mâles matures
LOEC	<i>Low Observed Effect Concentration</i>
MDDs	<i>Minimal Detectable Differences</i>
NEC	<i>No-Effect Concentration</i>
N.F.C00	Nombre de femelles fondatrices
N.M.C00	Nombre de mâles fondateurs
NRMSD	<i>Normalized Root-Mean-Square Deviation</i>
N.tot	Abondance totale
OAT	<i>One At a Time</i>
ODD	<i>Overview, Design concepts and Details</i>
PBTK	Modèle Toxicocinétique à Base Physiologique
POM	<i>Pattern-Oriented Modelling</i>
POMIC	<i>Pattern-Oriented Modelling Information Criterion</i>
qAOP	<i>quantitative Adverse Outcome Pathway</i>
RE	<i>Relative Error</i>
RM-ANOVA	<i>Repeated Measures ANOVA</i>
TRACE	<i>TRansparent And Comprehensive Ecological modelling</i>
WLS	<i>Weighted Least Squares</i>

Introduction générale

Face aux enjeux sur la santé et les écosystèmes, la pollution est aujourd'hui une problématique majeure. En effet, 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 ses substances pour les organismes aquatiques est ainsi d'un enjeu considérable et concerne aussi bien les substances « existantes » que « nouvelles » (règlement REACH).

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, l'utilisation d'écosystèmes aquatiques artificiels à vocation expérimentale tels que les mésocosmes sont pertinents pour l'ERE 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. 2000).

D'autre part, 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 1976, Wootton 1984, Bell et 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 Kermoisan 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. 2000, Caquet 2002). Or, les sources de variabilité naturelle liées aux phénotypes individuels, aux communautés, aux aléas écologiques et aux conditions climatiques conduisent les études en mésocosme à avoir des résultats fortement variables pour une même condition expérimentale (i.e., intra-traitement). De plus, le coût élevé en termes de matériaux et de main d'œuvre des mésocosmes ne permet pas de réaliser un nombre important de réplicats. Ainsi, lors de la comparaison 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 mésocosmes contrôles (sans contaminant) et ceux contaminés 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 des solutions 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. 2012).

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. 2012, Martin et al. 2013).

L'objectif de cette thèse est donc de développer un DEB-IBM afin de prédire la dynamique de population en mésocosme en condition témoin puis exposée à des substances chimiques. Pour cela, plusieurs jeux de données d'expériences en mésocosme sont disponibles et peuvent servir au développement, à la calibration et l'évaluation du modèle. Après présentation d'un état de l'art en premier chapitre, cette thèse sera divisée en deux grandes étapes majeures. La première étape se focalisera sur le développement du DEB-IBM décrivant la dynamique de population en condition témoin afin de connaître précisément les lois de probabilité des variables descriptives de la population en mésocosme (deuxième chapitre). La deuxième étape de cette thèse consiste ensuite à adapter ce modèle pour intégrer les effets toxiques des substances chimiques testées en mésocosme dans le but d'améliorer la compréhension et la prédiction des mécanismes de toxicité de ces substances pour une meilleure analyse du risque environnemental (troisième chapitre). Les retombées et les enjeux futurs de ce travail seront ensuite discutés dans un dernier chapitre.

Chapitre I. Etat de l’art

Un état des connaissances des différents thèmes abordés lors de ce travail de recherche est présenté dans ce chapitre. Dans une première partie, les écosystèmes expérimentaux dans lesquels les expériences écotoxicologiques au niveau populationnel ont été effectuées seront présentés. Les limites de ces expériences seront également précisées. Le modèle biologique étudié, l'épinoche à trois épines, fera ensuite l'objet d'une deuxième partie. Enfin, la troisième partie présentera les outils de modélisation utilisés dans cette thèse ainsi que les étapes nécessaires à leur développement.

I. Les mésocosmes comme outils d'aide à l'évaluation des risques écotoxicologiques

Cette partie a pour objectif de faire un état de l'art des écosystèmes expérimentaux en général puis de préciser les caractéristiques propres aux mésocosmes de l'Ineris qui constitueront le système d'étude modélisé durant cette thèse. Les limites des écosystèmes expérimentaux en évaluation du risque chimique seront également présentées afin de souligner l'intérêt d'une modélisation de ce système d'étude.

I.1. Présentation des écosystèmes expérimentaux

Les écosystèmes aquatiques artificiels expérimentaux (ou mésocosmes) ont initialement été développés pour étudier la structure et les fonctions des écosystèmes. C'est à partir des années 70 que ces systèmes expérimentaux sont utilisés en analyse du risque environnemental. Selon la définition d'Odum (1984), les mésocosmes sont des dispositifs expérimentaux délimités et partiellement clos, construits en plein air, et qui se situent entre les microcosmes de laboratoire et le milieu naturel ou macrocosme.

Plus spécifiquement, les mésocosmes peuvent représenter des écosystèmes lentiques (lac, étangs, mares) ou des écosystèmes lotiques (rivière, ruisseau). La taille des mésocosmes est un des critères permettant de distinguer ces systèmes expérimentaux des microcosmes qui sont de plus petites tailles (Caquet et al. 2000, OECD 2006) (Figure 1). Les rivières artificielles ont des tailles qui varient de 1 à 520 m de longueur et un volume pouvant varier de 1 à 10^4 m³ (Caquet et al. 2000, OECD 2006). Plus généralement, les mésocosmes doivent avoir une taille suffisante pour les espèces d'intérêt étudiées, et être autonome sur le long terme afin de rendre possible la mise en place des principaux processus écologiques.

En écotoxicologie, ces systèmes permettent d’étudier le devenir ainsi que les effets indirects et directs des substances chimiques sur le long terme et à différentes échelles d’organisation biologique (individus, populations et communautés) (Boyle et Fairchild 1997, Caquet et al. 2000). Ces systèmes ont l’avantage d’augmenter le réalisme écologique de l’analyse du risque environnemental, comparé à des études standards en laboratoire, en introduisant des composants de base des écosystèmes naturels. Ils facilitent notamment l’accès à un certain nombre de paramètres physico-chimiques, biologiques et toxicologiques pouvant de plus, pour certains, être semi-contrôlés (Caquet 2002). Les études en mésocosme sont généralement considérées comme à l’intermédiaire entre les études en laboratoire et celles de terrain (Caquet et al. 1996) (Figure 1). En effet, les bioessais réalisés dans les conditions simplifiées du laboratoire ne permettent d’évaluer que certains effets directs des substances toxiques à l’échelle de l’individu et sur des traits d’histoire de vie bien définis (croissance, reproduction et mortalité). Le réalisme écologique des expériences de laboratoire est donc relativement faible. A l’inverse, il est difficile d’étudier les réponses biologiques à un stress chimique lors des études de terrain du fait de la complexité des écosystèmes et de leur unicité. Ainsi, l’introduction des principaux éléments constitutifs des écosystèmes naturels en mésocosme permet de réduire les facteurs confondants pour une meilleure analyse des effets des substances chimiques (Odum 1984).

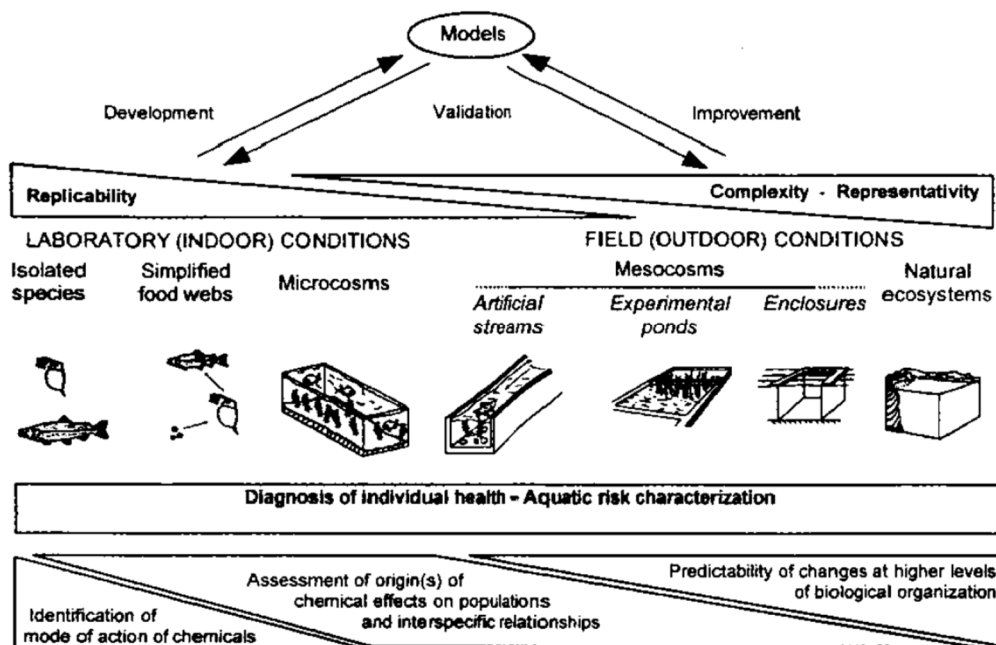


Figure 1. Place des mésocosmes en analyse de risque environnemental des substances chimiques. Source : Caquet (2002).

L’OCDE (2006) a énoncé un certain nombre de recommandations pour la mise en place d’expériences en mésocosme. Tout d’abord, le mésocosme doit être conçu en fonction de l’objectif de l’expérience. Cela va notamment induire la taille et le type de mésocosme. En effet, les mésocosmes ayant une forte capacité volumique seront plus appropriés pour les études sur le long terme (plus de 6 mois) (OECD 2006). Le nombre de traitements et réplicats ainsi que les concentrations testées de la substance chimique considérée doivent être également choisis pour obtenir dans la mesure du possible une courbe dose-réponse des effets. En général, les études en mésocosme sont néanmoins réalisées en testant trois traitements ainsi qu’un contrôle (Shaw et al. 1994). De plus, d’après Joachim et al. (2010), les mésocosmes sont majoritairement utilisés pour tester les effets de pesticides (54 % des études).

Concernant la composition des mésocosmes, l’OCDE (2006) recommande de toujours introduire des sédiments car ceux-ci permettent de procurer des habitats à de nombreuses espèces de macroinvertébrés. Les sédiments, ainsi que l’eau alimentant les mésocosmes, peuvent provenir du milieu naturel. Néanmoins, afin d’éviter toute contamination, il est nécessaire de vérifier leurs concentrations en polluants (OECD 2006, Joachim et al. 2010). D’autre part, le choix des espèces introduites est également primordial puisque celles-ci doivent être représentatives des écosystèmes naturels (OECD 2006). Les caractéristiques des espèces sont aussi à prendre en compte, comme par exemple la durée de leur cycle de vie qui doit être appropriée à la durée de l’expérience. De plus, après l’introduction des espèces dans les mésocosmes, il est nécessaire de laisser une période pré-traitement d’au moins quelques semaines pour la mise en place d’un équilibre des communautés et populations afin d’éviter les facteurs confondants de stress lié au changement d’environnement (EFSA 2013). Enfin, les variables biotiques et abiotiques suivies, ainsi que la fréquence d’échantillonnage doivent être sélectionnées pour évaluer au mieux les effets sur les espèces et leur environnement (OECD 2006).

Parmi les espèces envisagées pour les études en mésocosme, l’introduction d’espèces de macrophytes est importante puisqu’elles procurent des refuges à la faune (OECD 2006). De plus, des invertébrés benthiques et planctoniques sont généralement introduits dans les mésocosmes en même temps que les sédiments et l’eau. En particulier, les rotifères, cladocères et copépodes constituent les organismes zooplanctoniques les plus étudiés. Concernant les macroinvertébrés benthiques, ceux les plus étudiés sont les annélides (notamment les oligochètes), les mollusques (gastropodes et bivalves), les insectes, les crustacés et les plathelminthes (OECD 2006).

Enfin, les poissons sont utiles pour l’évaluation du risque environnemental car ils peuvent alarmer des dangers potentiels de nouveaux produits chimiques et la possibilité d’une pollution de l’environnement aquatique (Powers 1989). En effet, ceux-ci jouent un rôle important dans la structure et le fonctionnement des réseaux trophiques (van der Oost et al. 2003). En écotoxicologie, les poissons constituent l’un des trois grands groupes (algues, crustacés, poissons) à partir desquels sont calculées les valeurs seuils réglementaires comme la première concentration testée induisant un effet (LOEC) ou celle induisant 50 % d’effet (EC50). D’après Joachim et al. (2010), les expériences en mésocosme s’intéressant aux poissons constituent 25 % des études. Néanmoins, lorsque l’objectif de l’étude est d’évaluer les effets des substances chimiques sur les algues et crustacés, il n’est pas nécessaire d’introduire des poissons dans les mésocosmes (EFSA 2013). En effet, Joachim et al. (2010) montrèrent que les études en mésocosme étaient principalement focalisées sur les macroinvertébrés (32 % des études), les études s’intéressant aux zooplanctons et macrophytes sont en revanche plus rares (18 % et 5 % des études, respectivement).

Pour les expériences en mésocosme, l’OCDE (2006) recommande que seules les espèces de poissons endémiques des régions dans lesquelles sont réalisées les études soient utilisées. Plusieurs espèces de poissons ont déjà été étudiées en mésocosme comme le flet commun (*Platichthys flesus*) (Eggensl et al. 1996, Vethaak et al. 1996), le crapet arlequin (*Lepomis macrochirus*) (Weston et Drenner 2000), le vairon à tête-de-boule (*Pimephales promelas*) (Evans et al. 2016), la gambusie (*Gambusia holbrooki*) (Beaudouin et al. 2012, Evans et al. 2016), la carpe (*Cyprinus carpio*) (Evans et al. 2016), l’épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) (Roussel et al. 2007, de Kermoisan 2013), l’ide mélanote (*Leuciscus idus*) (Britton et al. 2019) ou la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) (Gyllenhammar et al. 2008, Crossin et al. 2015).

Toutes ces espèces possèdent des caractéristiques propres qu’il convient de prendre compte lors des études en mésocosme (milieu de vie, taille, cycle de vie, intérêt économique, etc.). Par exemple, le milieu de vie naturel dans lequel sont retrouvées ces espèces doit être adéquate avec le type de mésocosme. Ainsi, le crapet arlequin vit dans des milieux lenticules tandis que la truite arc-en-soleil se retrouve dans des milieux lotiques. En revanche, le flet commun est une espèce migratrice et change ainsi de milieu de vie selon la période de l’année (<https://www.fishbase.in>). En outre, la gambusie n’est pas originaire de la France mais des Etats-Unis (Pyke 2005) tandis que l’épinoche à trois épines est une espèce endémique de la France. Concernant la taille des poissons, les carpes et les truites arc-en-ciel présentent de plus des tailles relativement élevées (20 à 40 cm) comparé à la gambusie et l’épinoche à trois

épines (4 à 8 cm) (<https://www.fishbase.in>). Enfin, la truite arc-en-ciel présente un intérêt économique certain pour l’aquaculture justifiant son étude.

Néanmoins, lorsque l’objectif est d’étudier la dynamique de population des poissons en mésocosme, seules quatre de ces espèces peuvent réaliser leur cycle de vie dans des écosystèmes expérimentaux simples à concevoir : *Gasterosteus aculeatus*, *Lepomis macrochirus*, *Pimephales promelas* et *Gambusia holbrooki* (Beaudouin 2019). Ces espèces présentent un cycle de vie relativement court facilitant le suivi de plusieurs cohortes en mésocosme.

Ainsi, nous avons présenté les principales caractéristiques des mésocosmes applicables aussi aux mésocosmes de l’Ineris. Les spécificités de ces derniers seront d’ailleurs présentées dans la partie suivante.

I.2. Spécificité des mésocosmes de l’Ineris

L’Ineris présente une plateforme expérimentale équipée d’un ensemble de mésocosmes afin de réaliser des études écotoxicologiques à l’échelle de la population. L’historique de ce système expérimental ainsi que ses caractéristiques et son protocole d’utilisation seront résumés dans cette partie.



Figure 2. Plateforme expérimentale de l’Ineris composée de douze rivières artificielles.

Tout d’abord, construite en extérieur en 1994, la plateforme expérimentale de l’Ineris est constituée de douze rivières artificielles mesurant chacune 20 m de long (Figure 2). La Figure 3 présente une représentation schématique d’un mésocosme de l’Ineris. Ces mésocosmes

présentent une partie amont peu profonde (- 30 cm de profondeur), une pente d'1 m et une partie aval plus profonde (- 70 cm de profondeur) (Roussel et al. 2007, de Kermoysan et al. 2013). Ces rivières artificielles sont adaptées pour pouvoir exposer les espèces sur une longue période par un système de contamination de l'eau en continu (Roussel 2005, de Kermoysan 2013). Etant constituée de 12 mésocosmes, la plateforme expérimentale de l'Ineris permet de tester les substances chimiques en trois concentrations avec trois réplicats et d'avoir trois contrôles. Enfin, au vu de sa petite taille et du fait que ce soit une espèce endémique du Nord de la France, l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) a été choisie comme l'espèce de poisson introduite dans les mésocosmes de l'Ineris.

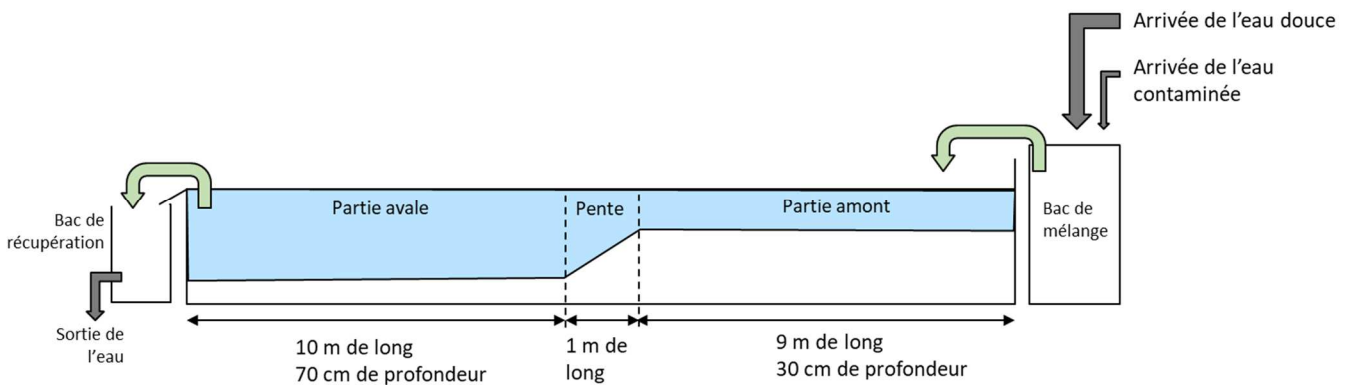


Figure 3. Représentation schématique d'un mésocosme de l'Ineris

Initialement, les expériences dans ces mésocosmes étaient réalisées avec un protocole non focalisé sur le poisson. Ainsi, Roussel et al. (2007) introduisaient 70 épinoches dans les mésocosmes sans que le sexe-ratio ne soit connu précisément, ni que les tailles des individus ne soient standardisées (de 20 à 57 mm). Les espèces de macrophytes ainsi que les macroinvertébrés étaient néanmoins choisis pour pouvoir reproduire au mieux un environnement propice aux épinoches bien que le nombre d'individus introduits n'était pas fixé précisément (Roussel 2005).

Afin d'éviter les biais expérimentaux dans l'analyse des résultats des expériences en mésocosme, un protocole standardisé pour les expériences écotoxicologiques dans ces mésocosmes et focalisé sur les poissons a été développé au cours du doctorat de de Kermoysan (2013). Ce protocole a été élaboré dans l'objectif d'étudier la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en présence de différentes substances chimiques. Il doit ainsi permettre de minimiser la variabilité inter-mésocosme mais également entre les expériences en mésocosme (variabilité inter-année).

Ainsi, la quantité d'individus par espèces de macrophytes, zooplancton et macroinvertébrés à introduire a été calibrée et un protocole précis d'introduction s'étalant d'octobre à décembre

a été élaboré. Pour les épinoches à trois épines, le nombre initial de poissons a été fixé à 15 femelles et 10 mâles (appelés alors fondateurs de la population). Pour cela, une méthode de sexage non invasive des poissons a été développée et permet de déterminer le sexe du poisson en fonction de la morphologie de la tête (de Kermoysan et al. 2013).

Au cours des dernières années, plusieurs substances chimiques ont été testées dans ces mésocosmes telles que le cuivre (Roussel et al. 2007, Roussel et al. 2007), le bisphénol A (BPA) (de Kermoysan et al. 2013) ainsi que le diclofénac (Joachim 2013) et la carbamazépine (Joachim 2014). Lors de l’expérience en mésocosme conduite par Roussel et al. (2007), les espèces étaient exposées durant 18 mois à du cuivre alors que lors du doctorat de de Kermoysan (2013), cette période de contamination a été réduite à 5 mois (de début avril à début octobre). De plus, la mise en place d’un suivi régulier d’un certain nombre de variables abiotiques (paramètres physico-chimiques de l’eau) et biotiques (abondance des espèces de zooplancton et macroinvertébrés et biomasse des macrophytes) pendant l’expérience a permis d’appréhender les conditions environnementales dans lesquelles vivaient les épinoches à trois épines lors de ces expériences en mésocosme.

Enfin, afin d’étudier au mieux les impacts des substances chimiques sur la dynamique de population des épinoches à trois épines en mésocosme, les variables descriptives d’intérêt de celles-ci ont été rigoureusement choisies. Celles-ci comportent le nombre total d’individu dans la population, le nombre de poissons fondateurs restant en fin d’expérience (mâles et femelles), la fréquence de mâles, femelles et juvéniles, la taille moyenne, le poids moyen et le facteur de condition moyen des différents types d’individus (femelles et mâles fondateurs, femelles et mâles nés dans les mésocosmes et juvéniles) ainsi que le coefficient de variation des tailles (de Kermoysan 2013). Néanmoins, du fait du dispositif expérimental des rivières artificielles, l’acquisition de connaissances sur ces variables descriptives n’est possible qu’en fin d’expérience lorsque les mésocosmes sont vidés pour récupérer tous les poissons présents dans la population. Ainsi, les populations d’épinoches à trois épines ne sont connues précisément qu’à deux stades de l’expérimentation : en début et fin d’expérience.

Ainsi, les études en mésocosme ont été pensées et repensées pour maximiser la répétabilité des expériences tout en maintenant un haut niveau de réalisme écologique. Néanmoins, l’interprétation des résultats de ces expériences peut s’avérer difficile à réaliser, et ceci pour les raisons expliquées dans la partie suivante.

I.3. L’interprétation des résultats des études en mésocosme

Au vu d’une utilisation des résultats en analyse du risque environnemental, la notion de répliquabilité des expériences en mésocosme est d’une importance majeure (Sanderson 2002). Or, l’augmentation de la complexité des expériences en écotoxicologie va de pair avec une diminution de la répliquabilité de l’étude. L’enjeu de la conception des mésocosmes consiste donc à optimiser l’équilibre entre la représentativité écologique et la répliquabilité (Caquet 2002).

En particulier, étant donné que les expériences en écosystèmes artificiels ont un réalisme écologique plus élevé que les expériences en laboratoire, celles-ci sont caractérisées par une plus forte variabilité des variables biologiques mesurées. Cette forte variabilité est principalement expliquée par la variabilité naturelle inhérente aux écosystèmes (Sanderson 2002, Joachim et al. 2010). Néanmoins, d’autres facteurs confondants peuvent expliquer cette variabilité, comme les incertitudes liées à l’expérimentation (erreurs de mesure, difficulté à échantillonner les espèces de manière homogène, etc.) (de Kermoysan 2013). De plus, bien que l’utilisation d’un protocole rigoureusement établi d’introduction des espèces dans les mésocosmes puissent permettre de minimiser les biais de l’étude (Kennedy et al. 1999), celui-ci ne peut empêcher l’évolution des processus sous-jacents des écosystèmes au cours de l’expérience.

Ainsi, Sanderson (2002) détermina que le coefficient de variation moyen des variables biologiques entre les mésocosmes était de 51 % en analysant 17 études en microcosme et mésocosme. De plus, la Figure 4 présente les coefficients de variation des variables descriptives de populations de gambusies vivantes en mésocosme lentique pour trois années d’expérience (Beaudouin 2007). Ceux-ci varient entre 0 et 50 % en fonction du type de variables descriptives considérées de la population (Beaudouin 2019) mais sont néanmoins plus faibles que ceux observés par Sanderson (2002). Par exemple, les coefficients de variation des tailles moyennes des femelles, mâles et juvéniles sont relativement faibles pour les trois années d’expérience alors que ceux pour les fréquences des mâles matures sont proches de 50 %. De plus, des résultats comparables pour des populations d’épinoches à trois épines en mésocosme ont été observés (de Kermoysan 2013, Beaudouin 2019). Ainsi, cela suggère que les variabilités observées sont structurelles des populations de poissons et qu’elles sont contraintes par le système d’étude (Beaudouin 2019).

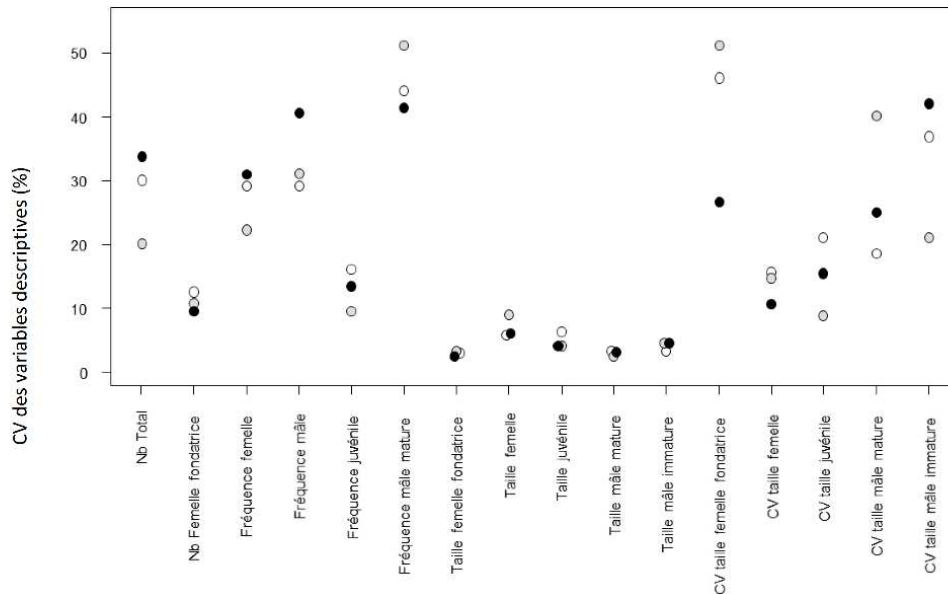


Figure 4. Coefficients de variation (%) des variables descriptives des populations de gambusies. Les points blancs, gris et noirs représentent respectivement les variables des populations témoins lors d'expériences en mésocosme lentique datant de 2002, 2003 et 2004. Nb signifie nombre et CV signifie coefficient de variation. Source : Beaudouin (2019).

Une seconde caractéristique des expériences en mésocosme est que celles-ci sont généralement réalisées avec un faible nombre de réplicats. En effet, Sanderson (2002) a montré que le nombre moyen de réplicats était de 3-4 pour les 17 études en microcosme et mésocosme analysées. Bien qu'intéressant d'un point de vue de l'analyse statistique des résultats, une augmentation du nombre de réplicats est en pratique peu envisageable. En effet, les coûts importants en terme matériel, humain et logistique des expériences en mésocosme limitent la possibilité de réaliser de plus grandes plateformes expérimentales (Kraufvelin 1999, Beaudouin et al. 2012, de Kermoisan 2013). Ainsi, la difficulté dans l'analyse des résultats des expériences en écosystème artificiel est que la forte variabilité des études en mésocosme, combinée à un faible nombre de réplicats, engendre une forte incertitude sur les statistiques descriptives des variables biologiques suivies (Beaudouin et al. 2017).

Afin d'avoir une indication de la puissance statistique de l'expérience en mésocosme, le concept des MDDs (*Minimal Detectable Differences*) a récemment été développé (EFSA 2013, Brock et al. 2015). Il définit la différence entre les moyennes d'un traitement et le contrôle qui doit exister pour détecter un effet statistiquement significatif en fonction du nombre de réplicat et de la variance des résultats de l'expérience. Le concept des MDDs a ainsi pour objectif d'accroître la transparence et la fiabilité des résultats d'expérience en mésocosme pour leur utilisation en analyse du risque environnemental des substances

chimiques (EFSA 2013). Ainsi, l’EFSA (2013) a proposé un classement des MDDs pour évaluer les effets d’un traitement sur l’abondance des espèces (Tableau 1).

Tableau 1. Classement des MDDs comme proposé par l’EFSA (2013)

Classe	MDD	Commentaire
0	> 100 %	Aucun effet ne peut être déterminé
I	90–100 %	Seulement les effets importants peuvent être déterminés
II	70–90 %	Les effets importants et intermédiaires peuvent être déterminés
III	50–70 %	Les effets intermédiaires peuvent être déterminés
IV	< 50 %	Les petits effets peuvent être déterminés

D’après l’EFSA (2013), le MDD devrait idéalement dépasser la classe II (Tableau 1). En revanche, une minimisation de l’erreur de type II à des niveaux de seuil plus faibles (20 %) est préconisé par Shaw et al. (1994). Cependant, des niveaux de seuil en dessous de 5 % ne pourrait être théoriquement obtenus qu’en augmentant le nombre de réplicats (Caquet et al. 2000).

Pour analyser statistiquement les résultats d’expériences en mésocosme, les analyses de la variance (ANOVA) pour comparer la moyenne des résultats dans les traitements et le contrôle peuvent être envisagées (Shaw et al. 1994). Plus particulièrement, les tests de Student ou le test post-hoc de Dunnett (pour une comparaison multiple) peuvent permettre d’analyser la réponse dans les traitements comparée à celle dans le contrôle (Shaw et al. 1994, Kennedy et al. 1999).

Néanmoins, l’analyse statistique des résultats par ANOVA ne mettent général en évidence que les effets majeurs de la substance chimique testée si ceux-ci existent (Shaw et al. 1994). En effet, le risque est élevé de ne pas rejeter l’hypothèse nulle et d’ainsi conclure qu’il n’y a pas d’effet de la substance chimique sur la variable biologique étudiée alors qu’en réalité il y en a un (erreur de type II, risque de faux négatifs) (Shaw et al. 1994, Kennedy et al. 1999). Les erreurs de type II sont en effet influencées par le nombre de réplicats et la variabilité inter-traitement (Kennedy et al. 1999).

D’autre part, en écotoxicologie, les modèles de régression sont souvent appliqués afin d’obtenir la relation dose-réponse de l’effet de la substance chimique testée. Néanmoins, dans le cas des études en mésocosme, il est en général difficile d’élaborer une courbe dose-réponse puisque seulement quelques concentrations chimiques sont testées (Shaw et al. 1994). De plus, au vu du nombre important de variables biologiques suivies en mésocosme, il est en pratique peu envisageable d’obtenir une courbe dose-réponse pour chacune d’elles puisque

l’intensité des effets toxiques induits par la substance peut varier en fonction de la variable considérée. En outre, toutes les variables peuvent ne pas suivre des courbes dose-réponses monotones notamment du fait des potentiels effets indirects des substances chimiques (Brock et al. 2015).

Récemment, une nouvelle méthodologie s’est montrée prometteuse pour analyser les résultats des expériences en mésocosme. Celle-ci repose sur la modélisation de l’écosystème artificiel, et plus particulièrement sur la dynamique de population de l’espèce d’intérêt dans le mésocosme en prenant en compte les caractéristiques de l’expérience, les facteurs environnementaux et les caractéristiques de l’espèce (Beaudouin et al. 2008, Beaudouin et al. 2012). L’idée générale de cette méthode est d’estimer avec une plus grande certitude la distribution des variables biologiques suivies expérimentalement en mésocosme (Beaudouin et al. 2017) (Figure 5). C’est donc sur cette méthodologie que se focalisera cette thèse.

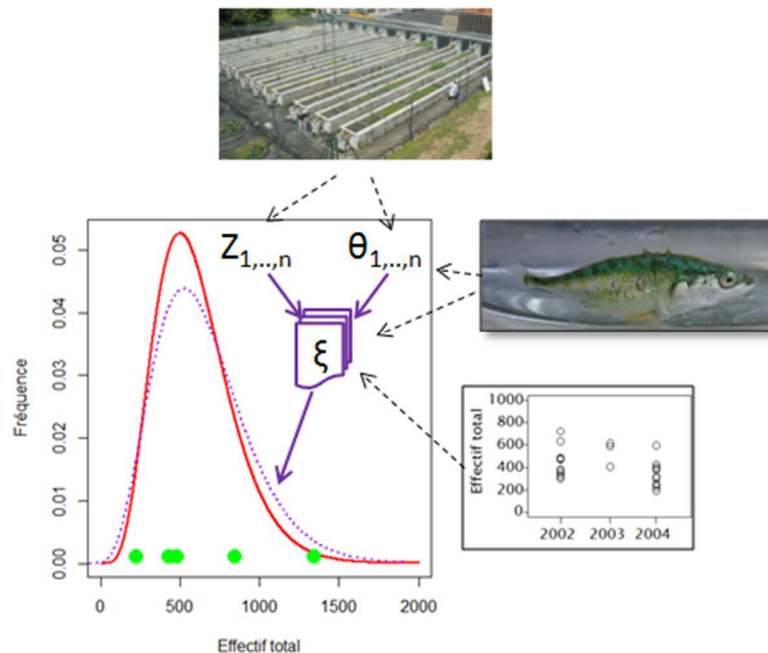


Figure 5. Schéma présentant l’approche par modélisation des populations contrôles pour estimer la loi de distribution d’une variable descriptive de ces populations. La courbe rouge représente la loi de distribution de l’effectif total, ici inconnue et que nous voulons approcher. Les points verts représentent un exemple d’observations pour une expérience donnée de la variable étudiée (5 tirages aléatoires dans la loi rouge). La courbe bleue est l’estimation statistique de la loi de distribution de l’effectif total réalisée à partir des observations (points verts). La courbe violette est la prédiction de la loi par le modèle. Z et θ sont les vecteurs de variables d’entrée et de paramètres du modèle (noté ξ). Ces trois objets sont définis en utilisant un maximum d’informations : caractéristiques de l’expérience, de l’espèce étudiée et du système expérimental. Adapté de Beaudouin (2019).

Ainsi, dans cette première partie de l’état de l’art, nous nous sommes focalisés sur les mésocosmes et sur leurs limites en écotoxicologie. Afin de développer un modèle mathématique pour permettre une meilleure analyse des résultats des mésocosmes de l’Ineris,

nous allons, dans la partie suivante, présenter le modèle biologique utilisé dans les mésocosmes de l’Ineris.

II. L’épinoche à trois épines comme modèle biologique

L’épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) étant l’espèce utilisée dans les rivières artificielles de l’Ineris (Roussel et al. 2007, de Kermoyan et al. 2013), ses principales caractéristiques seront présentées dans cette partie.

II.1. Caractéristiques générales

L’épinoche à trois épines est une espèce modèle pour les études expérimentales en biologie de l’évolution aquatique, en écologie et en comportement (Wootton 1984). C’est un poisson téléostéen de la famille des Gasterosteidae. Un grand nombre de phénotypes différents existe pour ce poisson (Bell et Foster 1994). Néanmoins, l’épinoche à trois épines est caractérisée par trois épines dorsales, la troisième étant plus petite et située proche de la nageoire dorsale (Figure 6). Trois formes morphologiques existent et sont distinguées par un nombre et un arrangement différent de plaques latérales osseuses (Wootton 1976).

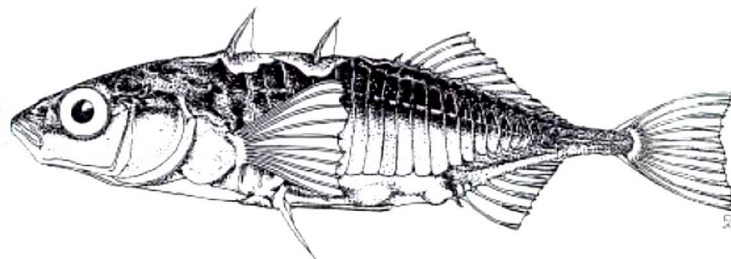


Figure 6. Représentation d’une épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) de 60 mm ayant toutes les plaques latérales osseuses. Source : Wootton (1984).

Les épinoches à trois épinoches sont présentes dans l’hémisphère nord et se retrouvent sur les côtes de l’océan Pacifique et Atlantique (Wootton 1984, Bell et Foster 1994). Il existe des épinoches marines (vivant dans l’eau de mer toute l’année), dulcicoles (vivant dans l’eau douce toute l’année) ainsi que des épinoches anadromes (se reproduisant dans l’eau douce mais vivant dans l’eau de mer). Les épinoches sont ainsi retrouvées dans différents habitats aquatiques mais elles vivent principalement dans les habitats côtiers, rivières et lacs.

Plus spécifiquement, les épinoches vivent dans des habitats peu profonds comme l’atteste des observations des nids des mâles (Wootton 1972, Mori 1994, Kraak 1999). Néanmoins,

Foster et al. (1988) suggèrent que les préférences d’habitat pouvaient varier durant le cycle de vie des épinoches, les épinoches juvéniles préférant les habitats végétalisés aux espaces ouverts contrairement aux adultes puisque ceux-ci leur procurent un refuge contre la prédation.

II.2. Cycle de vie

Le cycle de vie ainsi que les processus bioénergétiques de l’épinoche à trois épines ont été largement étudiés (Wootton 1984, Bell et Foster 1994) et seules les informations importantes pour développer un modèle de dynamique de population seront ainsi résumées dans cette partie.

Tout d’abord, le cycle de vie des épinoches peut être divisé en quatre stades : le stade œuf, alevin, juvénile et adulte (Figure 7).

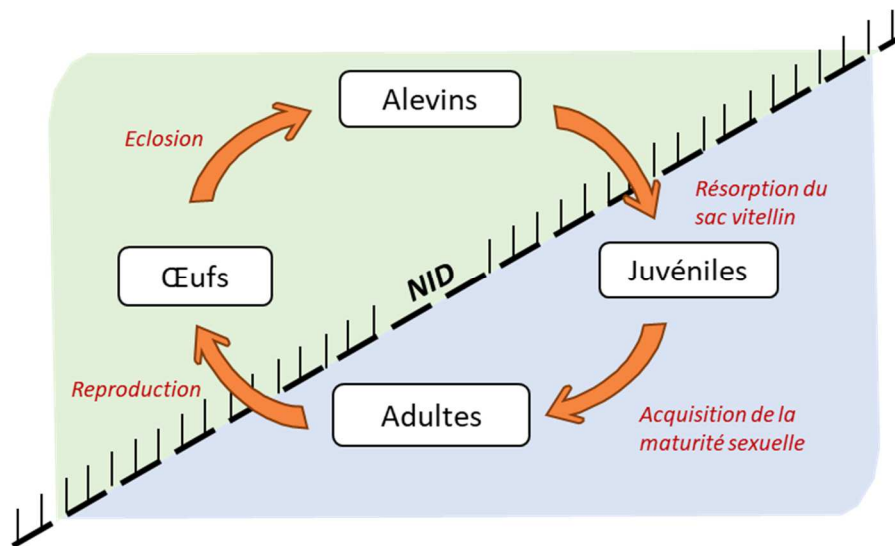


Figure 7. Stades de développement des épinoches à trois épines au cours de leur cycle de vie.

Le passage du stade alevin au stade juvénile est caractérisé par la résorption du sac vitellin et par le début d’une alimentation utilisant la nourriture externe tandis que celui du stade juvénile au stade adulte est caractérisé par l’acquisition de la maturité sexuelle. La durée de vie des épinoches varie entre 1 et 3 ans (Dufresne et al. 1990, Wootton et Smith 2000, DeFaveri et Merilä 2013) et peut parfois atteindre les 6 ans (Gambling et Reimchen 2012).

II.2.1. La croissance

Les épinoches à trois épines sont des organismes isomorphes (Leloutre et al. 2018) puisque leur forme ne change pas durant leur croissance (Wootton 1984), ainsi leur rapport volume sur taille reste constant au cours de sa croissance (Leloutre et al. 2018). La taille standard des épinoches est mesurée entre le bout de la lèvre supérieure du poisson et le milieu de la ligne noire qui se trouve à la base de la nageoire caudale (Figure 8).

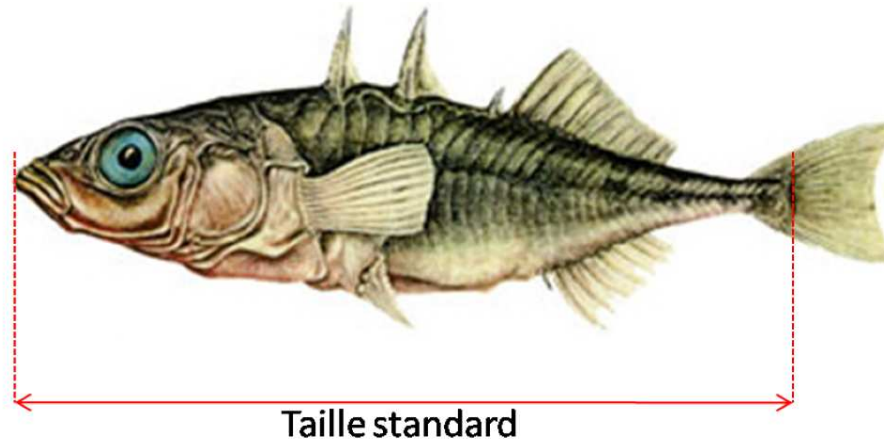


Figure 8. Schéma représentatif de la taille standard de l'épinoc à trois épines. Source : de Kermoysan (2013).

La taille standard maximale des épinoches à trois épines peut varier de 35 à 80 mm selon les populations (Wootton 1984). Des tailles standard maximales au-dessus de 100 mm ont été reportées (Mori et Takamura 2004) mais semblent relativement rares. La taille standard à la maturité sexuelle peut varier de 32 à 47 mm (Bell et Foster 1994, Leloutre et al. 2018). A l'éclosion, les alevins ont une taille de l'ordre de 5 mm (de Kermoysan 2013). D'autre part, l'épinoc présente un dimorphisme sexuel. En effet, la taille maximale des mâles est plus petite que celle des femelles (Wootton 1984). Ainsi, de Kermoysan (2013) reportait une taille maximale moyenne pour les mâles à 55 mm alors que les femelles atteignent 61 mm en moyenne.

En condition normale, la croissance des épinoches suit ensuite une courbe de type von Bertalanffy (Kooijman 2010, Leloutre et al. 2018) puisque la vitesse de croissance est relativement rapide après l'éclosion puis décroît jusqu'à atteindre une asymptote (Wootton 1984) (Figure 9).

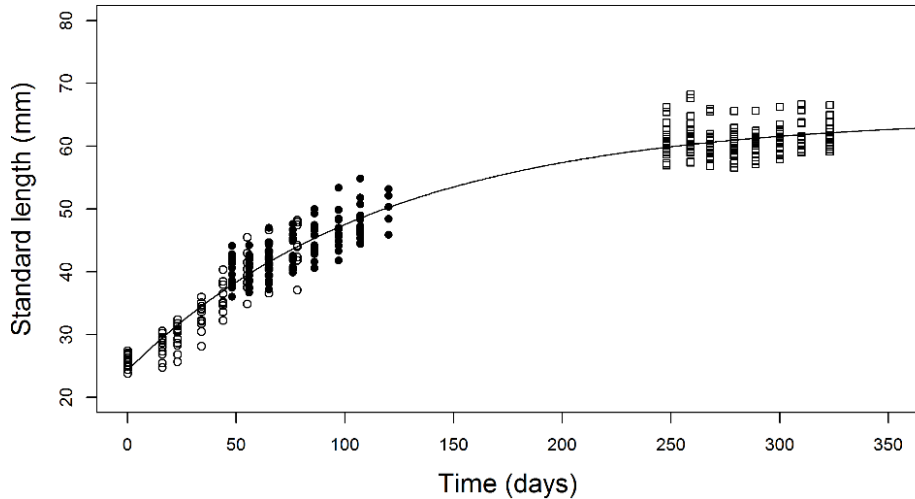


Figure 9. Taille standard de l’épinoche à trois épines en fonction du temps selon le modèle de croissance de von Bertalanffy. La ligne représente les prédictions du modèle de von Bertalanffy, les points vides représentent les observations de la taille standard d’épinoches à trois épines tandis que les points noirs représentent la moyenne par groupe. Source : Leloutre et al. (2018).

Enfin, la croissance des épinoches à trois épines est fortement dépendante des facteurs environnementaux comme la température et la nourriture, ainsi expliqué dans la suite de cet état de l’art.

II.2.2. La reproduction

La période de reproduction s’étend de mars à début août (Wootton 1984, Mori 1993, Sokołowska 2006), bien que des décalages existent pour certaines populations d’épinoches (Wootton 1984). Celle-ci est de plus régulée par des facteurs environnementaux comme la température et la photopériode (Borg 1982, Sokołowska 2006, Hopkins et al. 2010, Mehlis et Bakker 2014).

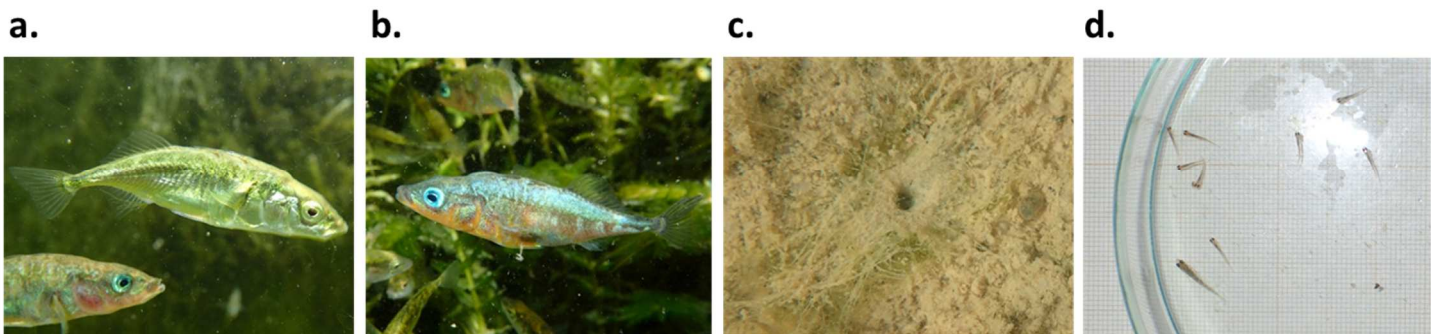


Figure 10. Photographies d’une femelle mature (a), d’un mâle mature présentant ses caractères sexuels secondaires pendant la période de reproduction (b), d’un nid (c) et d’alevins (d).

Pour les femelles (Figure 10a), la période de reproduction est caractérisée par une augmentation du nombre d’ovocytes à un stade avancé de développement (Sokołowska 2006). Une fois les ovocytes matures, les femelles déposent leurs œufs dans des nids construits par les mâles pour qu’ils soient fertilisés (Figure 10b,c). En absence de mâle, les femelles également pondent ou, plus rarement, gardent les œufs dans leur cavité ovarienne et développent des œufs trop matures (Wootton 1984). Les femelles peuvent pondre plusieurs fois durant la période de reproduction (Wootton 1973). La fréquence entre deux pontes distinctes a été étudiée dans des populations naturelles d’épinoches et peut varier de 2,2 à 7,8 jours selon les femelles (Brown-Peterson et Heins 2009). De plus, les femelles peuvent pondre les œufs d’un même lot d’ovocytes dans plusieurs nids (Wootton 1984). Enfin, le nombre d’œufs par ponte est dépendant de la taille des femelles (Wootton 1973, de Kermoyan 2013).

Concernant les mâles, lors de la période de reproduction, la production de spermatozoïdes augmente intensivement (Sokołowska 2006). D’autre part, la sécrétion d’androgènes tels que la testostérone va induire l’acquisition des caractères sexuels secondaires chez les mâles matures (Wootton 1984, Bell et Foster 1994). Ceux-ci comprennent notamment la production d’une protéine, la spiggin, utilisée comme colle dans la construction des nids, l’acquisition de colorations rouge et bleue, respectivement sur la face ventrale et au niveau des yeux des mâles (Figure 10c) et enfin l’acquisition d’un comportement reproducteur.

Ce comportement reproducteur a notamment été largement étudié (Van Iersel 1953, Wootton 1984). Lors de la période de reproduction, les mâles choisissent un site pour établir leur territoire et construire leur nid (Wootton 1984). La taille du territoire est de l’ordre de 0,200 m² (van den Assem 1967, Candolin et Voigt 2001) et elle est positivement corrélée avec la taille du mâle (Candolin et Voigt 2001). De plus, pour défendre leur territoire, les mâles peuvent adopter un comportement agressif (Van Iersel 1953, Wootton 1984). Les nids (Figure 10c) sont principalement construits sur des substrats sablonneux (Mori 1994). En revanche, il ne semble pas y avoir de consensus dans la littérature sur la préférence des mâles à construire leur nid près de la végétation (Kraak et al. 2000) ou dans des espaces ouverts éloignés de la végétation (Mori 1993, Candolin et Salesto 2005).

Une fois leur nid construit, les mâles attirent les femelles pour qu’elles pondent dans leur nid en réalisant une parade nuptiale (Van Iersel 1953, Ishikawa et Seiichi 2000). Ils fertilisent ensuite directement les œufs dès que la femelle les a déposés (Van Iersel 1953). La collecte des œufs dure généralement 2-3 jours mais peut aller jusqu’à 10 jours (Kraak et al. 1999). Plusieurs femelles peuvent pondre dans le même nid (Van Iersel 1953, Clutton-Brock et

Vincent 1991) et le nombre d’œufs collectés est dépendant de la taille des mâles (de Kermoyan 2013). Une fois les œufs collectés, les mâles acquièrent leur comportement parental, ils vont ainsi s’occuper des œufs jusqu’à leur éclosion et la naissance des alevins (Figure 10d). Durant toute la phase parentale, le mâle ventile son nid afin d’oxygéner les œufs et les défend contre les potentiels prédateurs (Wootton 1984). Cette phase est très demandeuse en terme énergétique (Wootton 1994, Smith et Wootton 1999). Ainsi, les mâles reproducteurs ont leur réserve énergétique totale fortement réduite à la fin de la période de reproduction, ce qui induit généralement une très forte mortalité (Chellappa et al. 1989).

L’accouplement des épinoches à trois épines peut s’effectuer plusieurs fois pendant la période de reproduction. En effet, il a été montré que les mâles peuvent construire plusieurs nids durant une période de reproduction. Par exemple, Mori (1993) estima que les mâles peuvent construire jusqu’à cinq nids néanmoins le taux de réussite du nid (de la construction à la sortie des alevins) est dépendante du nombre de nids construits précédemment. Ainsi, dans son étude, seulement un seul mâle sur 39 a construit trois nids réussis. Ceci pourrait s’expliquer par le fort coût énergétique de la reproduction (Wootton 1994, Smith et Wootton 1999). De plus, l’emplacement des nids pourrait être un facteur déterminant pour la réussite de ceux-ci. En particulier, les nids peuvent être détruits par des facteurs environnementaux (montée des eaux, conditions climatiques) (Mori 1993). Mori (1995) estime également qu’environ 10 % des nids sont susceptibles de subir de la prédation intra-spécifique (vol et cannibalisme des œufs). D’autre part, la fréquence de construction des nids semble bimodale, avec un premier pic arrivant vers la fin du mois d’avril et un second vers la fin du mois de mai (Figure 11).

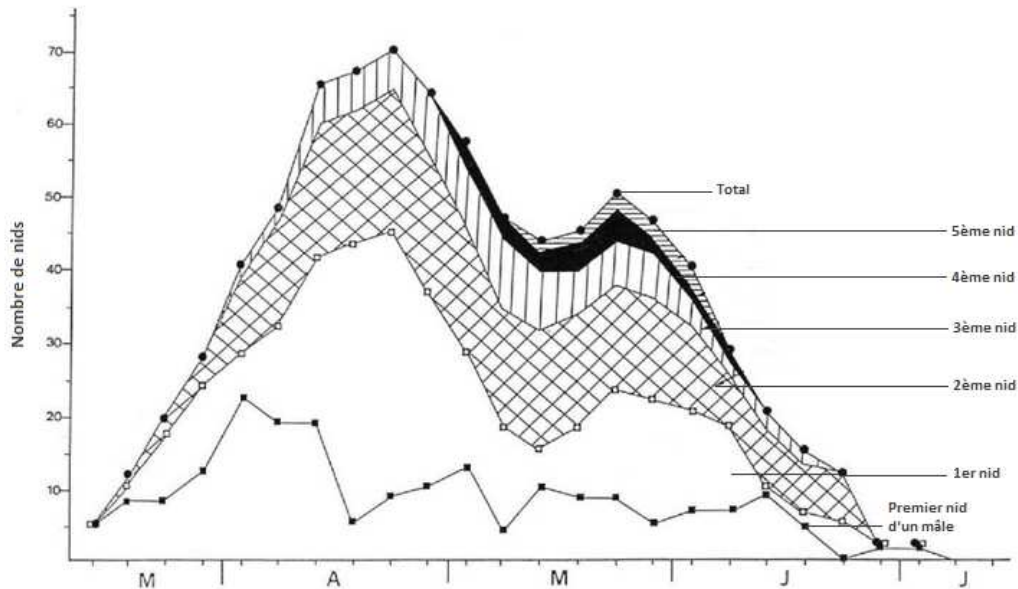


Figure 11. Nombre de nids construits durant la période de reproduction, présenté selon que ce soit le premier, deuxième, troisième, quatrième ou cinquième nid. Les carrés noirs représentent un mâle qui a construit un nid pour la première fois. Adapté de Mori (1993).

Enfin, comme la croissance, la reproduction des épinoches à trois épines est dépendante des facteurs environnementaux ce qui fera ainsi l’objet de la partie suivante.

II.3. Facteurs environnementaux influençant les processus physiologiques de l’épinoche à trois épines

Les processus physiologiques des épinoches à trois épines sont influencés par différents facteurs environnementaux. Ces principaux facteurs (la température, le niveau de nourriture et la photopériode) seront donc présentés dans cette partie.

II.3.1. La température

Les épinoches à trois épines sont des organismes poïkilothermes c’est-à-dire que leur température corporelle varie avec celle de leur environnement. Ainsi, les variations de température de l’environnement sont susceptibles d’influencer certains processus physiologiques.

Tout d’abord, la plage de tolérance à la température de l’épinoche à trois épines communément décrite dans la littérature est entre 3°C (Allen et Wootton 1982, Lefébure et al. 2011) et 30°C (Jordan et Garsid 1972, Lefébure et al. 2011). La température optimale de

l'épinoche est comprise entre 19°C et 22°C (Allen et Wootton 1982, Lefébure et al. 2011, Hovel et al. 2015). Néanmoins, au vu de la distribution géographique de cette espèce, de nombreuses populations subissent régulièrement des températures de l'eau proches de 0°C (Wootton 1984), ainsi la température minimale pourrait être surestimée (Lefébure et al. 2011). De même, la température maximale pour l'épinoche à trois épines est fonction des températures d'acclimatation et des niveaux de salinité selon Jordan et Garsid (1972). Ainsi celle-ci semble dépendante du milieu de vie de l'espèce d'épinoche considérée.

L'influence de la température sur la vitesse des processus physiologiques des épinoches a été bien étudiée. En effet, de nombreux articles ont relié la température de l'eau à la vitesse de croissance et le taux d'alimentation des épinoches (Wootton 1984, Lefébure et al. 2011, Hovel et al. 2015). La température influe également directement sur la vitesse de développement des œufs et larves. En effet, le développement des œufs peut passer de 6-8 jours à une température proche de l'optimale (20°C) (Wootton 1976, Wootton 1984) à 40 jours à température basse (8°C) (Wootton 1976). La température a également un effet direct sur le succès reproducteur de l'épinoche à trois épines (Hopkins et al. 2010), pouvant influencer la production et la qualité des gamètes ainsi que la fertilisation (Wallace et Selman 1979, Mehlis et Bakker 2014).

Lefébure et al. (2011) proposèrent un premier modèle pour prendre en compte l'effet de la température sur la croissance des épinoches à trois épines. Celui-ci n'est cependant pas continu pour toutes les températures (Figure 12).

Par la suite, Hovel et al. (2015) proposa un modèle pour l'épinoche à trois épines afin de prendre en compte l'effet de la température sur les capacités d'alimentation de l'épinoche à trois épines en se basant sur le modèle de Kitchell et al. (1977) (Figure 12). En effet, Kitchell et al. (1977) développèrent un modèle bioénergétique pour prendre en compte les effets de la température sur la croissance des poissons en général. Ce modèle prédit une augmentation de la vitesse des processus physiologiques avec l'augmentation des températures jusqu'à atteindre la température optimale de l'organisme. Néanmoins, lorsque la température dépasse la température optimale, la vitesse de ses processus physiologiques diminue puis cesse au-delà d'une température maximum pouvant entraîner la mort du poisson (Figure 13).

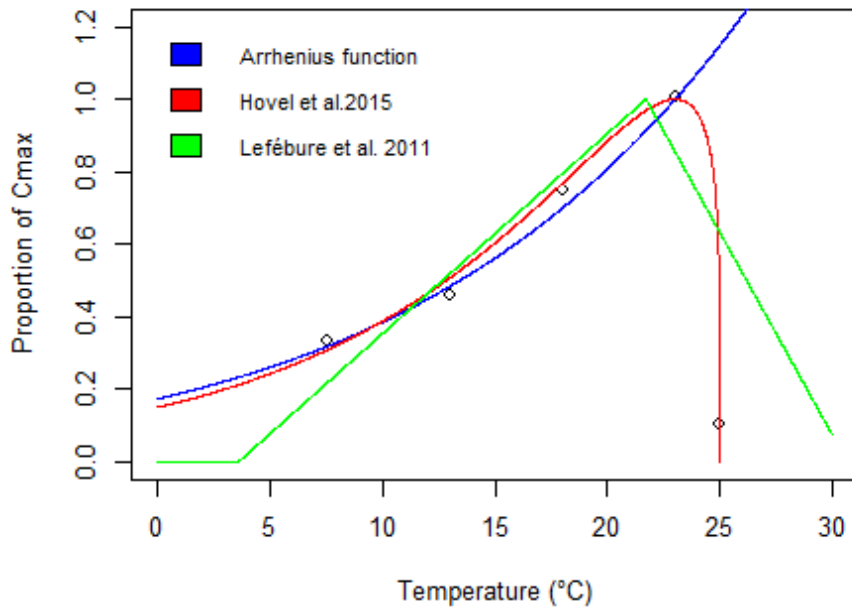


Figure 12. Comparaison de trois façons de prendre en compte l'effet de la température sur la consommation maximale de l'épinoche à trois épines (C_{max}). Les points représentent les observations effectuées par Hovel et al. (2015) et qui ont été utilisées pour adapter leur modèle et la fonction d'Arrhenius. Lefébure et al. (2011) ont adapté leur modèle à leurs propres données. Source : Leloutre et al. (2018).

Enfin, l'effet de la température sur les processus physiologiques des organismes est communément décrit par la fonction d'Arrhenius qui prédit l'augmentation de la vitesse d'un processus physiologique due à l'augmentation des températures à proximité de la température optimale pour chaque espèce (Kooijman 2010).

La comparaison de la prise en compte de la température sur la consommation maximale avec la fonction d'Arrhenius ou les modèles de Hovel et al. (2015) et Lefébure et al. (2011) pour les épinoches à trois épines est présenté en Figure 12. La fonction d'Arrhenius donne les mêmes effets de la température sur les capacités d'alimentation de l'épinoche, néanmoins celle-ci ne prédit pas de décroissance au-delà de la température optimale. Ainsi, le modèle de Hovel et al. (2015) reste celui permettant une meilleure prise en compte de la température sur les processus physiologiques des épinoches à trois épines.

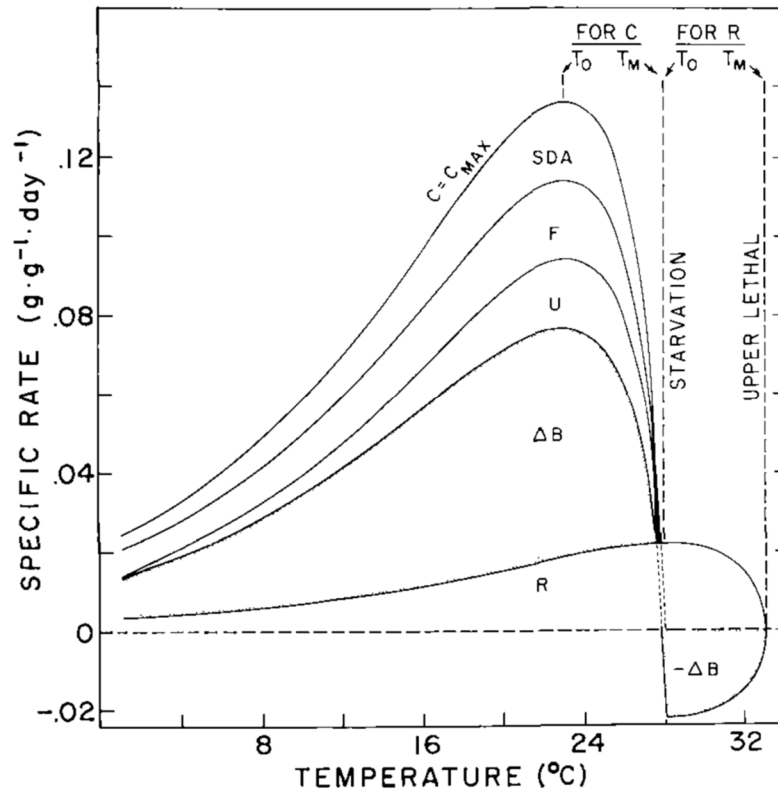


Figure 13. Vitesse des processus physiologiques en fonction de la température pour 10 g de perche jaune. C = consommation, R = respiration ou métabolisme, F = éjection, U = excréation et B = poids de poisson. T_0 = Température optimale et T_M = Température maximale. Source : Kitchell et al. (1977).

II.3.2. La nourriture

Les épinoches à trois épines sont des prédateurs visuels (Wootton 1984). Leurs principales proies sont du zooplancton (majoritairement des copépodes, cladocères et ostracodes), des crustacés (gammare et aselles) et des chironomes (Hynes 1950, Allen et Wootton 1984, Wootton 1984). Du cannibalisme des œufs peuvent aussi arriver pendant la période de reproduction (Hynes 1950, Allen et Wootton 1984).

A l'échelle individuelle, plusieurs études ont montré les effets de la quantité de nourriture sur les processus physiologiques de l'épinoche à trois épines (Wootton 1984). La relation entre la consommation alimentaire et la croissance des épinoches a été très étudiée (Allen et Wootton 1982, Wootton 1984, Hovel et al. 2015). Lorsque le niveau de satiété des épinoches n'est pas atteint, la vitesse de croissance est dépendante du niveau d'alimentation (Allen et Wootton 1982, Wootton 1984). Selon Wootton (1984), il y aurait alors trois niveaux de nourriture remarquables correspondant (i) au niveau de nourriture minimale permettant à

l’organisme de maintenir sa taille, (ii) au niveau de nourriture optimal qui maximise le rapport entre la croissance et le taux de nourriture assimilée et (iii) au niveau de nourriture maximal qu’un poisson peut consommer à une température donnée (Figure 14).

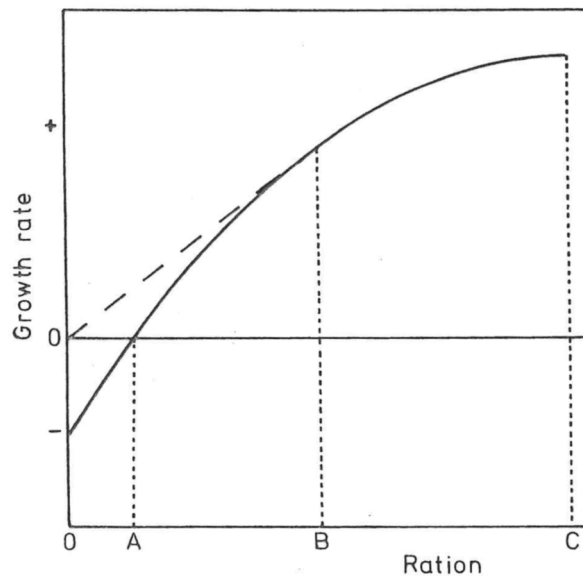


Figure 14. Représentation schématique de la relation entre la croissance et le niveau de nourriture des épinoches à trois épines à une température donnée. En abscisse, A correspond au niveau de nourriture minimale permettant à l’organisme de maintenir sa taille, B au niveau de nourriture optimal qui maximise le rapport entre la croissance et le taux de nourriture assimilée et C représente le niveau de nourriture maximal qu’un poisson peut consommer à une température donnée. Source : Wootton (1984).

Concernant la reproduction, la fécondité des femelles est également dépendante de la quantité de nourriture (Wootton 1973), ainsi une importante quantité de nourriture induira un plus grand nombre d’œufs produits. De même, chez les mâles, la quantité de nourriture influence positivement le nombre de territoire et de nids construits (Stanley et Wootton 1986).

Afin de connaître la quantité de nourriture assimilée, le comportement de prédation des épinoches à trois épines a été largement étudié (Beukema 1968, Thomas 1974, Gill et Hart 1994) (Figure 15). Différents facteurs peuvent l’influencer comme les caractéristiques physiologiques de l’épinoche (Wootton et al. 1980, Lefébure et al. 2011, Lefébure et al. 2014), le niveau de satiété (Beukema 1968, Gill et Hart 1994, Riddell et Webster 2017) et le type et la taille de la proie (Hart et Gill 1992, Gill et Hart 1994). Lors de la rencontre avec une proie, les épinoches peuvent choisir d’attaquer ou non (Thomas 1974, Hart et Gill 1994). Hart et Gill (1994) ont notamment cherché à connaître la taille optimale de l’espèce à prédaté et suggèrent qu’un ratio de 0.6 entre la taille de la bouche de l’épinoche et la taille de la proie permettrait de maximiser la prise énergétique. Néanmoins, en cas de limitation de la

nourriture, les épinoches se nourrissent de tout ce qu'elles ont à disposition (Beukema 1968, Allen et Wootton 1984). Les caractéristiques du milieu sont également à prendre en compte. Par exemple, la distance à laquelle une épinouche peut repérer une proie (distance de prédation) est dépendante de la turbidité de l'eau (Quesenberry et al. 2007).

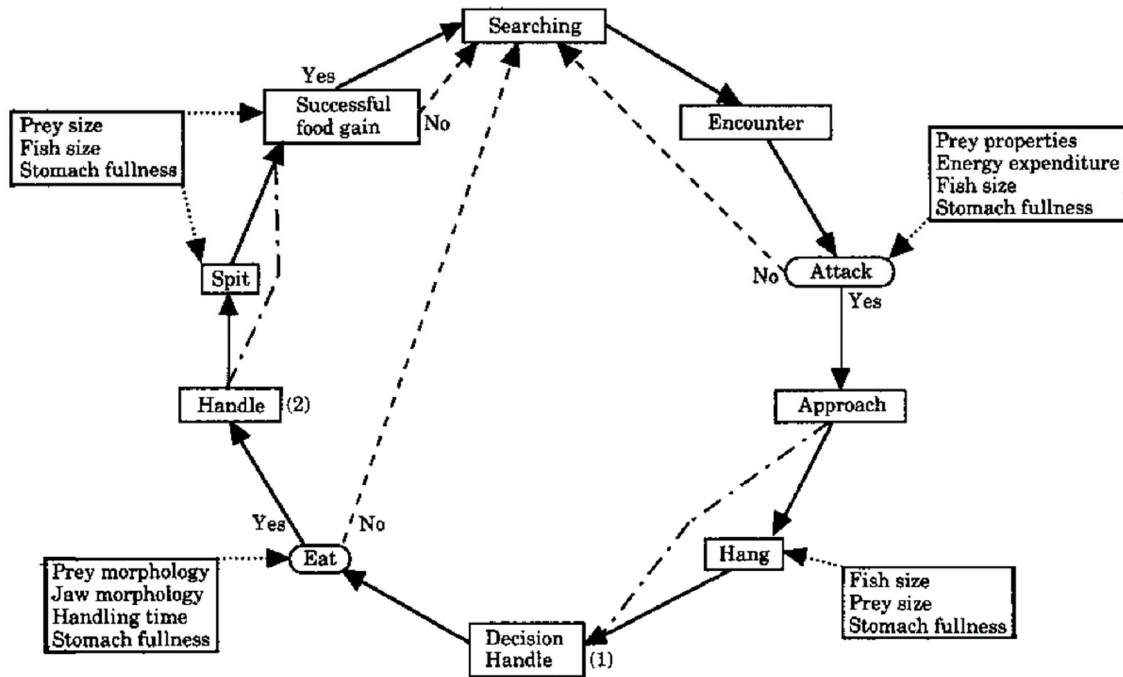


Figure 15. Cycle de prédation de l'épinouche à trois épines. Les rectangles représentent le comportement des épinoches tandis que les cercles mettent en évidence des prises de décision. Les facteurs influençant le comportement de l'épinouche sont donnés dans les rectangles fléchés. (1) : Prise de décision d'acceptation ou de rejet de la proie, (2) : Consommation de la proie. Source : Gill et Hart (1994).

De plus, les épinoches à trois épines sont des poissons sociaux et le comportement des individus peut différer (audacieux ou timide) (King et al. 2013, Ólafsdóttir et al. 2014, Olafsdóttir et Magellan 2016). Ces traits peuvent avoir des conséquences importantes sur leur comportement de recherche de nourriture. En effet, le comportement social présente des avantages comme notamment l'échange d'informations sur la localisation et la qualité des aliments (Hansen et al. 2016, Jolles et al. 2018). D'autre part, les mâles sont plus audacieux que les épinoches femelles et vont avoir tendance à explorer plus loin leur environnement pour rechercher de la nourriture (King et al. 2013).

Enfin, lorsqu'on s'intéresse à une population d'épinoches à trois épines, il est nécessaire de prendre en compte les interactions entre les différents niveaux trophiques d'un écosystème puisque celles-ci ont un impact majeur sur la dynamique de population de ces épinoches et le

fonctionnement global de cet écosystème. Ainsi, la compréhension des relations proies-prédateurs a été l’objet de nombreuses recherches en écologie (Dajoz 2003). La densité de proies disponibles dans l’environnement va notamment influencer la dynamique globale des prédateurs en général (Dajoz 2003). En particulier, la réponse fonctionnelle des prédateurs aux variations de densité de proies a été décrite selon quatre grands types (réponses fonctionnelles selon les modèles de Thompson, Holling, Nicholson et une réponse sigmoïde) (Figure 16). D’après Dajoz (2003), seule la réponse de type sigmoïde semble permettre une stabilisation des populations de proies.

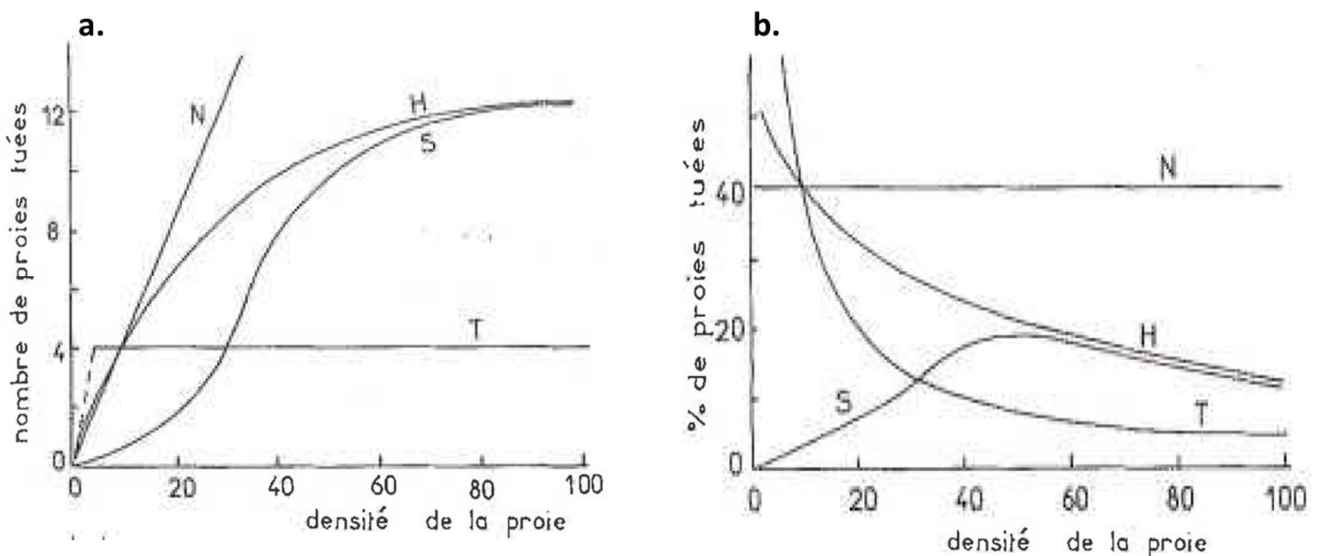


Figure 16. Les grands types de réponse fonctionnelle d’un prédateur à la densité de ses proies. La figure (a) représente le nombre de proies tuées en fonction de la densité de la proie tandis que la figure (b) représente le pourcentage de proies tuées en fonction de la densité de la proie. Les lettres T, H, N et S représentent respectivement les réponses fonctionnelles selon les modèles de Thompson, Holling, Nicholson et selon une croissance sigmoïde du nombre de proies tuées en fonction de leur densité. Source : adapté de Dajoz (2003).

II.3.3. La photopériode

Les épinoches à trois épines deviennent principalement matures durant le printemps où la photopériode se rallonge et les températures augmentent (Wootton 1984). En plaçant des épinoches récoltées en octobre à une photopériode de 8h ou 16h de jour à 20°C, Borg (1982) démontra que les photopériodes longues (fin du printemps et début de l’été) favorisent la reproduction chez les mâles et femelles (Borg 1982, Yeates-Burghart et al. 2009). En effet, l’augmentation de la durée du jour au printemps favorise la maturation gonadique des femelles et le cycle spermatogénétique des mâles (Borg 1982, Sokołowska 2006). Enfin, les longues

photopériodes favorisent le comportement reproducteur des mâles (acquisition d’un territoire, construction de nids), l’acquisition de leurs caractères sexuels secondaires (colorations bleue et rouge) et la production de spigine (colle pour la construction d’un nid) (Borg et al. 2004).

Néanmoins, bien que le début de la période de reproduction semble corrélé à une augmentation de la photopériode, à notre connaissance, les facteurs influençant la fin de celle-ci restent encore mal compris.

II.4. Adaptation des populations d’épinoches à trois épines à leur environnement

L’épinoche à trois épines est une espèce modèle en évolution. En effet, ses traits morphologiques, physiologiques et comportementaux peuvent évoluer rapidement (Wootton 2009). Les variations géographiques et environnementales peuvent induire une évolution génétique des populations d’épinoches à trois épines (Weber et al. 2017) mais ces poissons peuvent également s’adapter à leur environnement par des phénomènes de plasticité (Via et Lande 1985). Ainsi, chez les épinoches, plusieurs traits liés à la reproduction (taille à maturation, taille de la ponte, taille des œufs, coloration des mâles) pourraient changer de manière plastique (Baker et al. 2015, Brock et al. 2017).

Un exemple d’adaptation des populations à l’environnement a été montré par Mori et Takamura (2004) où une diminution de la taille standard des individus de la population fut observé après leur introduction dans le lac Towada au Japon. Néanmoins, le mécanisme d’adaptation reste mal connu, ces changements morphologiques pouvant être liés à une divergence génétique ou à la plasticité phénotypique adaptative (Mori et Takamura 2004).

De plus, il n’existe pas de consensus dans la littérature quant aux résultats de reproduction de deux écotypes différents. En effet, il a été montré que les épinoches à trois épines pourraient se reproduire préférentiellement avec des épinoches du même écotype, ce qui favoriserait la divergence phénotypique (Berner et al. 2017). Or, Taylor et al. (2006) ont montré que l’isolement des populations pourrait induire des différences morphologiques et génétiques en favorisant l’hybridation de deux écotypes : des espèces benthique et limnétique d’épinoches. En effet, des épinoches à trois épines échantillonnées dans le lac Enos à Vancouver (Canada) en 1977 appartiennent à deux clusters morphologiques distincts alors que des échantillonnages d’épinoches réalisés au même endroit en 2002 ne montrent plus qu’un cluster (Figure 17). Ce phénomène, appelé spéciation inverse (Seehausen 2006), s’accompagne ainsi d’une perte de biodiversité. De plus, il peut conduire à des changements

écologiques. En effet, Rudman et Schluter (2016) montrèrent que le phénomène de spéciation inverse chez l’épinoche à trois épines eu des conséquences écologiques en cascade qui ont modifié l’abondance de leur proie et des insectes aquatiques.

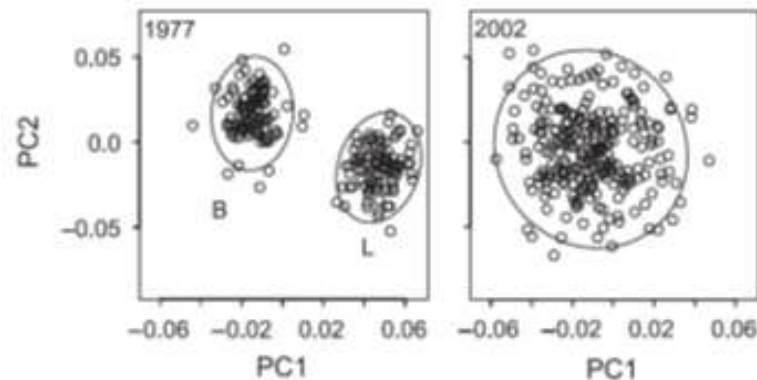


Figure 17. Échantillonnages annuels d’épinoches à trois épines tracées le long des première et deuxième chaînes relatives (PC1 et PC2). Les ellipses encerclent environ 95% des données de chaque groupe d’individus. B et L désignent les espèces benthique et limnétique. Les ellipses sont basées sur la distribution normale bivariée la mieux adaptée à chaque cluster. Figure adaptée de Taylor et al. (2006).

Ainsi, les mécanismes d’adaptation des épinoches à trois épines restent encore mal compris mais peuvent avoir des conséquences non négligeables sur les populations d’épinoches à trois épines. D’autre part, lorsque l’on souhaite étudier la dynamique de population de poissons, un autre élément fondamental à prendre en compte est le concept d’effets densité-dépendants régulant les populations. Les connaissances sur ces effets seront donc présentées dans la partie suivante.

II.5. Les effets densité-dépendants modulant les dynamiques de population des poissons

La dépendance à la densité est un concept fondamental dans l’étude de la dynamique de population de poissons (Rose et al. 2001). Ainsi, les exemples donnés dans cette partie ne seront pas forcément restreints aux épinoches à trois épines.

En particulier, les effets densité-dépendants sur la croissance et la mortalité sont d’une importance majeure dans la régulation des populations de poissons (Post et al. 1999). Ceux-ci seraient entraînés par les phénomènes de compétition pour la nourriture et les effets de prédation et du cannibalisme. En effet, les individus les plus grands et agressifs sont plus susceptibles de dominer les autres poissons (Walters et Post 1993, Huss et al. 2008). En outre, ces effets peuvent être particulièrement importants dans les populations structurées par âge,

où la présence d'une cohorte peut modifier le comportement d'une autre cohorte (Nordwall et al. 2001).

Les effets de la densité-dépendance sur la mortalité ont été largement documentés (Rose et al. 2001, Hazlerigg et al. 2012). En particulier chez les juvéniles, la mortalité est généralement plus élevée que chez les adultes. Néanmoins, ceci peut résulter des phénomènes de densité-dépendance sur la mortalité ou être directement lié à la mortalité naturelle (Lorenzen 2005, Hazlerigg et al. 2012). En effet, la mortalité naturelle, très dépendante du stade de développement du poisson, est généralement modélisée par une relation allométrique avec le poids et est plus élevée chez les juvéniles (Lorenzen 2005).

Beverton et Holt (1957) proposèrent une équation de la survie densité-dépendante en fonction du nombre d'individus dans la population (Eq. 1).

$$S = \frac{a}{(1 - b \times N)} \quad (\text{Eq. 1})$$

Avec a la survie à très faible abondance ($N = 0$), b la mortalité dépendante de la densité et N est l'abondance de la population.

A mesure que les poissons grandissent, l'effet de la densité-dépendance sur leur mortalité décroît. En revanche, les effets de densité-dépendance sur leur croissance deviennent majoritaires (Post et al. 1999). L'inversion de l'importance des effets densité-dépendants sur la mortalité et la croissance au cours du cycle de vie du poisson se ferait de manière graduelle (Lorenzen 2005). De plus, les effets densité-dépendants sur la croissance sont généralement modélisés en prenant en compte la biomasse des poissons (Hazlerigg et al. 2012) (Eq. 2).

$$\frac{dL}{dt} = K \times \left(\frac{L_{\infty}}{1 + g \times B} - L \right) \quad (\text{Eq. 2})$$

Avec L_{∞} la taille standard maximale, L est la taille standard, K un taux de croissance, B la biomasse et g le paramètre de densité-dépendance.

Enfin, des effets de la densité-dépendance ont également été observés sur l'exploitation de l'environnement et l'habitat des poissons (Persson et al. 2000). Les preuves d'effets densité-dépendants sur la reproduction sont néanmoins plus contrastées. Chez les épinoches à trois épines, le nombre de territoires acquis par les mâles diminuerait avec la densité (Wootton 1984). La compétition pourrait également influencer le comportement agressif du mâle et l'intensité de sa coloration (Candolin et Voigt 2001). Chez le poisson zèbre, des études ont montré l'importance des signaux olfactifs pour la reproduction du poisson zèbre. En effet, certains glucuronides libérés dans l'eau par les mâles ou les femelles stimuleraient les

processus de reproduction des poissons du sexe opposé, mais inhiberaient également les processus de reproduction des poissons du même sexe (Eaton et Farley 1974, Gerlach 2006, Lawrence 2007). En revanche, Rochet et al. (2000) suggérèrent que les effets sur la fécondité seraient principalement liés aux effets de la densité-dépendance sur la croissance des poissons, les effets directs de la densité-dépendance sur la fécondité des femelles à une taille donnée étant négligeables.

En conclusion, nous avons présenté les connaissances principales sur les épinoches à trois épines nécessaires pour le développement d’un modèle populationnel simulant la dynamique de population de ce poisson dans les rivières artificielles de l’Ineris. La partie suivante se focalisera maintenant sur les outils de modélisation existants en évaluation du risque environnemental et qui seront utilisés dans cette thèse.

III. Apport de la modélisation en évaluation du risque environnemental

Ces dernières années, la modélisation a été suggérée comme un outil pertinent permettant une meilleure analyse de risque environnemental des substances chimiques (Galic et al. 2010, Forbes et al. 2017). La dernière partie de cet état de l’art se focalisera sur la modélisation DEB et individu-centrée puisque le modèle développé au cours de cette thèse est composé de ces deux modèles. De plus, un focus sur leur application en écotoxicologie sera réalisé.

III.1. La modélisation à l’échelle de l’individu

III.1.1. Généralité sur la modélisation bioénergétique

A l’heure actuelle, il existe deux grands types de modèles bioénergétiques très utilisés à l’échelle de l’individu. Ils sont basés sur la *Metabolic Theory of Ecology* (MTE) (Brown et al. 2004) ou la théorie *Dynamic Energy Budget* (DEB) (Kooijman 2010). Tout d’abord, la MTE permet d’expliquer le lien entre le métabolisme, la taille des individus et leur température en prenant en compte des considérations sur les réseaux de distribution vasculaire et la cinétique biochimique. Brown et al. (2004) posent notamment l’hypothèse que les effets de la taille de l’organisme et de la température sur les taux métaboliques d’un organisme individuel induisent les caractéristiques au niveau des populations, communautés et écosystèmes.

Néanmoins, bien que souvent utilisée, selon Price et al. (2012) la MTE repose sur des hypothèses non validées voire parfois incohérentes.

La théorie DEB, quant à elle, décrit les flux énergétiques au sein de l’organisme pour prédire les grands processus physiologiques au cours de leur cycle de vie (assimilation de l’énergie, croissance, reproduction et maintenance) en fonction de la nourriture et de la température (Kooijman 2010). Dans cette thèse, nous nous sommes focalisés sur la théorie DEB qui sera présentée plus spécifiquement dans la suite de cette partie.

En 1986, Kooijman (1986) proposa un premier modèle bioénergétique pour décrire les grandes fonctions vitales de l’organisme. Par la suite, ses travaux de recherche aboutirent au développement de la théorie DEB (Kooijman 1986, Kooijman et al. 1989, Kooijman et Troost 2007, Kooijman et al. 2008, Kooijman 2010, Kooijman et al. 2011).

Cette théorie utilise les principes de la thermodynamie pour décrire mathématiquement l’allocation de l’énergie au sein de l’organisme (Jusup et al. 2017) et repose sur plusieurs hypothèses. Tout d’abord, les lois de conservation de la masse et de l’énergie doivent être respectées au cours du cycle de vie de l’organisme. De plus, elle repose sur les concepts de faible et forte homéostasie supposant une constante composition de l’organisme lorsque la nourriture est constante. Enfin, la théorie DEB suppose qu’une fraction fixe κ soit affectée au maintien et à la croissance de l’organisme alors que la fraction restante $(1 - \kappa)$ est disponible pour la maturité et la reproduction (Kooijman 2010) (Figure 18).

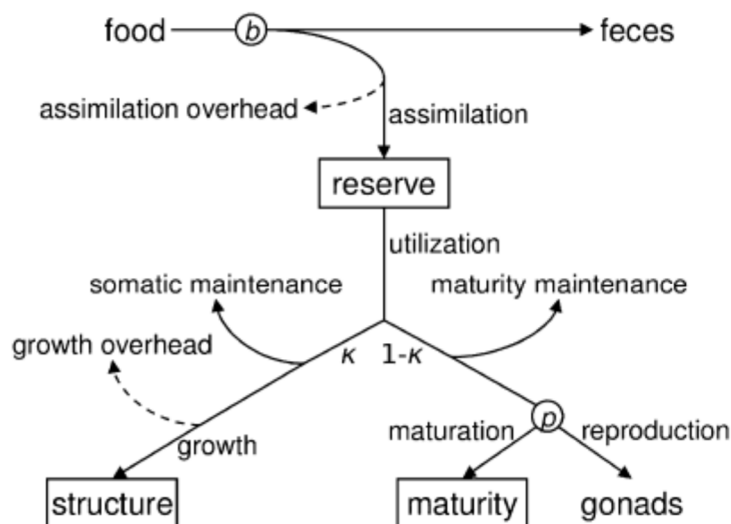


Figure 18. Représentation schématisée des flux énergétiques dans le modèle DEB standard. Les variables d’état usuelles sont représentées par des rectangles. Les nœuds b et p indiquent les changements réalisés à la naissance (début de l’alimentation) et à la puberté (début de la reproduction). L’utilisation des réserves est divisée entre la structure et la maturité conformément à la règle Kappa. Source : Jusup et al. (2017).

Le modèle DEB standard décrit le métabolisme d’un organisme isomorphe (Kooijman 2010). La structure du modèle DEB standard n’est pas spécifique à une espèce, la spécificité à une espèce étant due aux valeurs des paramètres (Jusup et al. 2017). Récemment, Kooijman (2014) proposa de rajouter à la théorie DEB des phénomènes d’accélération métabolique définis comme une augmentation sur le long terme de la respiration. Cinq grands types d’accélération modifiant chacun des processus différents de la théorie DEB sont décrits dans Kooijman (2014) (Tableau 2).

Tableau 2. Les cinq grands types d’accélération modifiant la théorie DEB décrits par Kooijman (2014)

Type d’accélération	Changement dans la théorie DEB
Accélération de type R	Modification d’allocation des ressources au cours de la vie (impact sur Kappa)
Accélération de type X	Modification de la qualité de la nourriture sans de changement des paramètres physiologiques de l’organisme
Accélération de type A	Modification de la capacité d’alimentation à certains stades de développement
Accélération de type M	Modification de la capacité d’alimentation et de la conductance de l’énergie à certains stades de développement
Accélération de type T	Modification de tous les taux métaboliques en lien avec la température corporelle

Au cours des dernières années, de nombreux modèles DEB ont été développés. Ainsi, plus de 1900 modèles sont présents dans la base *Add-my-pet* disponible en ligne (https://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add_my_pet/).

Ces modèles DEB ont été utilisés dans différents domaines (Jusup et al. 2017). En particulier, en écotoxicologie, ils peuvent être utilisés pour lier mécaniquement les concentrations externes d’une substance toxique aux effets sur les traits d’histoire de vie de l’organisme (croissance, reproduction et maintenance) au cours du temps (Kooijman et Bedaux 1996, Billoir et al. 2008). Ces modèles, appelés alors DEBtox, comportent ainsi un modèle à un compartiment pour prendre en compte la toxicocinétique. En effet, la concentration dans l’organisme est calculée à partir de la concentration externe par simple cinétique (Péry et al. 2002) (Eq. 3).

$$\frac{dC_i}{dt} = ke \times (C_e(t) - C_i(t)) \quad (\text{Eq. 3})$$

Avec ke le taux d’élimination, $C_e(t)$ la concentration du toxique dans l’eau et $C_i(t)$ la concentration du toxique dans l’organisme.

De plus, les modèles DEBtox supposent l’existence d’un seuil appelé concentration sans effet (NEC pour *no-effect concentration*) en dessous duquel la substance chimique n’a pas d’effet sur l’organisme (Péry et al. 2002, Billoir et al. 2008). Le stress induit par la présence d’une substance chimique lorsque la concentration interne est supérieure à la NEC peut être calculé à l’aide de l’équation suivante (Eq. 4).

$$s(t) = \begin{cases} b \times (c(t) - NEC) & \text{si } c(t) > NEC \\ 0 & \text{si } c(t) < NEC \end{cases} \quad (\text{Eq. 4})$$

Avec $s(t)$ le stress induit par la présence de la substance chimique, NEC la concentration sans effet, $c(t)$ la concentration interne de la substance chimique calculée à partir d’un modèle cinétique simple à un compartiment et b le paramètre de proportionnalité (Billoir et al. 2008).

Classiquement, les modèles DEBtox peuvent décrire cinq modes d’actions différents des substances chimiques : une mortalité accrue au cours de l’oogenèse, une augmentation des coûts énergétiques par œuf, des coûts de croissance supplémentaires, une diminution de l’énergie assimilée ou des coûts de maintenance supplémentaires (Billoir et al. 2008). Ces perturbations sont prises en compte sur les valeurs des paramètres du modèle DEB associés à chaque mode d’action (Péry et al. 2017). Plusieurs exemples d’utilisation des modèles DEB en écotoxicologie ont montré leur pertinence pour décrire les effets des substances chimiques sur les organismes (Péry et al. 2002, Billoir et al. 2011, Goussen et al. 2015, Zimmer et al. 2018, Sadoul et al. 2019, Vlaeminck et al. 2019). En conséquence, les modèles DEBtox permettent une meilleure compréhension des mécanismes de toxicité à l’échelle des individus (identification du mode d’action du toxique).

Néanmoins, bien que les modèles DEB puissent prédire correctement les effets toxiques impactant l’allocation de l’énergie au sein de l’organisme, ils ne sont en revanche pas adaptés pour prédire les effets liés à une perturbation endocrinienne ou un trouble du comportement (Péry et al. 2017). Ainsi, la modélisation de tels effets nécessite des considérations alternatives et représente une limite à l’utilisation des modèles DEB.

III.1.2. La modélisation à l’échelle individuelle chez l’épinoche à trois épines

De nombreuses relations empiriques ont été développées afin de prédire la croissance ou la reproduction des épinoches en fonction des différents facteurs environnementaux comme le niveau de nourriture ou la température (Allen et Wootton 1982, Wootton 1984, Mori et Nagoshi 1987, Wootton et Fletcher 2009, Lefébure et al. 2011, Lefébure et al. 2014). Le modèle de Hovel et al. (2015) est quant à lui plus complet puisqu’il prédit la croissance et la respiration des épinoches en fonction de leur masse, de leur consommation maximale et de la température (Figure 19). Néanmoins, une des principales limites de ce modèle est qu’il ne prend pas en compte le cycle de vie des épinoches à trois épines.

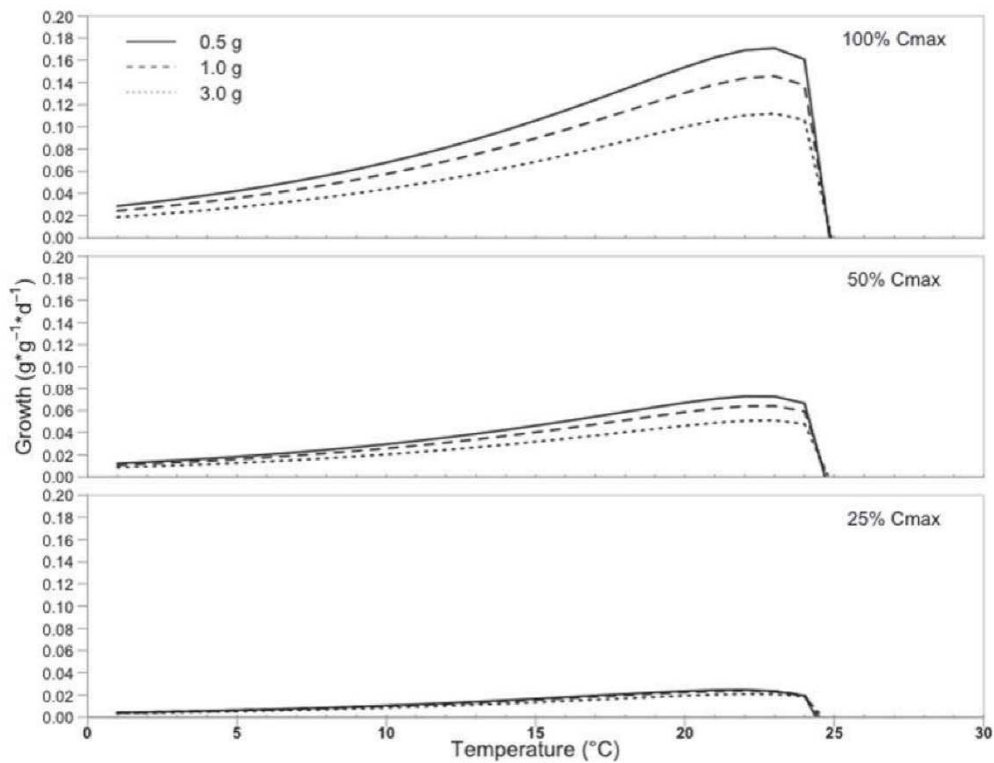


Figure 19. Relations entre la croissance et la température estimées pour différentes épinoches à trois épines distinctes par leur masse (0,5, 1 et 3 g) et se nourrissant sur des proies ayant une densité énergétique de 2 745 J / g avec des vitesses d’assimilation différentes (calculées à partir d’un pourcentage du taux de consommation maximum théorique (Cmax)). Source : Hovel et al. (2015).

Récemment, un modèle mathématique basé sur la théorie DEB (Kooijman 2010) décrivant les processus bioénergétiques de l’épinoche durant tout son cycle de vie a été développé à l’Ineris (Leloutre et al. 2018). Ce modèle prend en compte l’influence des facteurs environnementaux (nourriture, température) et prédit la croissance durant tout le cycle de vie, l’acquisition de la maturité, le nombre d’œufs produits par les femelles matures ainsi que

l’énergie investie dans la reproduction pour les mâles matures. Ce modèle répond aux hypothèses des modèles DEB standard, avec la particularité que le dimorphisme sexuel de l’épinoche à trois épines est modélisé par une augmentation de la valeur κ pour les mâles matures traduisant un plus grand investissement énergétique dans la reproduction (accélération de type R) (Kooijman 2014).

Ce modèle DEB a été calibré sur des données de laboratoire portant sur les traits d’histoire de vie des épinoches à trois épines. Ses capacités prédictives pour la croissance ont été évaluées avec succès pour des juvéniles nourris avec deux régimes alimentaires différents (Figure 20). De même, les prédictions du nombre d’œufs produits par femelles se sont également montrées pertinentes (Leloutre et al. 2018).

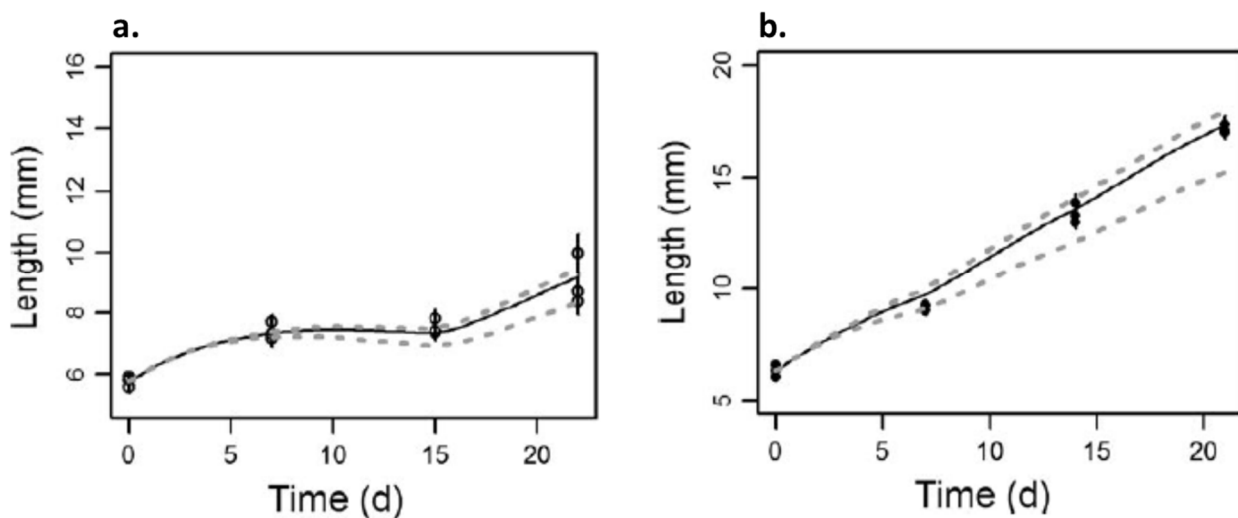


Figure 20. Evaluation de la capacité prédictive du modèle DEB de l’épinoche à trois épines pour la croissance pour des juvéniles nourris avec deux régimes alimentaires distincts. Les points représentent les observations de taille des juvéniles. Les barres d’erreur représentent 95% de l’intervalle de crédibilité des observations. Les lignes noires représentent la médiane et les lignes grises en pointillés représentent 95% de l’intervalle de confiance des prédictions du modèle. Pour la figure (a), les juvéniles ont été nourris avec le même niveau de nourriture pendant la première et troisième semaines et avec un plus petit niveau de nourriture pendant la deuxième semaine. Pour la figure (b), les juvéniles ont été nourris avec un niveau constant de nourriture réajusté en fonction de leur taille. Source : Leloutre et al. (2018).

En revanche, ce modèle DEB n’a pas été utilisé pour prédire et/ou expliquer des effets de substances chimiques sur les processus physiologiques des épinoches à trois épines.

Les modèles DEB étant des modèles à l’échelle individuel, pour prédire les effets de substances chimiques à une échelle d’organisation biologique plus élevée telle que la population, il est nécessaire de s’intéresser à des modèles de type populationnels.

III.2. La modélisation à l’échelle de la population

III.2.1. Concepts et caractéristiques de la modélisation individu-centrée

Plusieurs types de modèles populationnels ont été développés et peuvent être classés en fonction de leur complexité, de leur niveau de détails et du degré auquel l’objet modélisé est représenté (Adams 2002) (Figure 21).

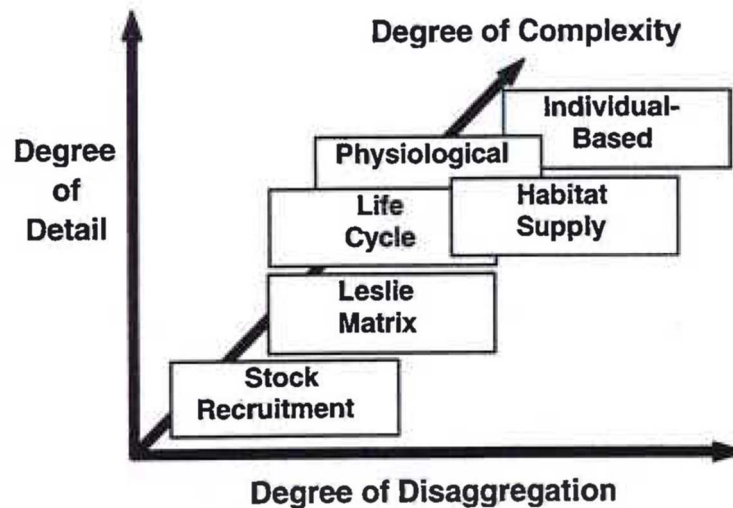


Figure 21. Classification des modèles pouvant être utilisés pour évaluer les effets de potentiels facteurs de stress sur les populations de poissons en fonction du degré de détail, de complexité et de désagrégation. Source : Adams (2002).

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés à la modélisation individu-centrée car celle-ci permet de décrire les systèmes biologiques avec un fort niveau de précision et de détails. En outre, les IBMs sont de plus en plus utilisés en écologie (DeAngelis et Grimm 2014). Dans ce type de modélisation, chaque individu est modélisé explicitement comme une entité autonome pouvant réaliser différentes actions qui leur est propre (Grimm et Railsback 2005). La simulation d’un certain nombre d’individus va conduire à modéliser une dynamique de population globale, celle-ci n’étant ainsi pas explicitement formulée mais émergeant des interactions entre les individus et leur environnement (Grimm et Railsback 2005, Railsback et Grimm 2011) (Figure 22). Chaque individu est décrit par un ensemble de variables d’état (ou attributs) pouvant inclure la localisation spatiale, les traits physiologiques et les comportements (Grimm et Railsback 2005). Ces attributs peuvent varier selon les individus (unicité des individus) et changer avec le temps. Ainsi, l’un des principaux intérêts à l’utilisation d’un modèle individu-centré (IBM) est la prise en compte de la variabilité individuelle (Grimm et al. 1999).

Un certain nombre d’IBMs décrivant des dynamiques de population de poissons ont été publiés. Ces modèles ont été développés avec des objectifs différents, que ce soit pour

améliorer la compréhension des phénomènes écologiques en général (Hölker et Breckling 2005), la gestion des stocks de pêche (Politikos et al. 2015, Cao et al. 2016, Boyd et al. 2018) ou encore l’évaluation des effets des substances chimiques sur les populations de poissons (Beaudouin et al. 2012, Beaudouin et al. 2015).

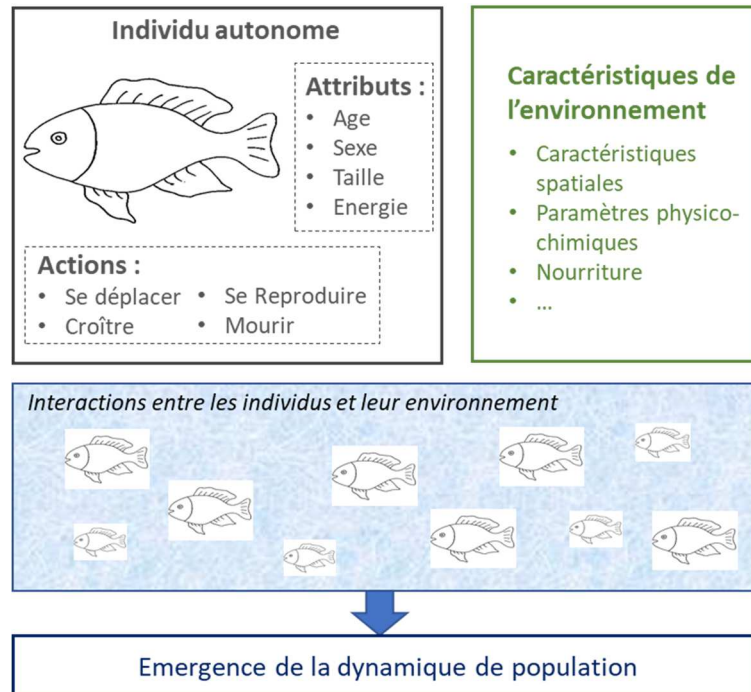


Figure 22. Représentation schématique d’un modèle individu-centré. Chaque individu est une entité autonome possédant un certain nombre d’attributs et réalisant des actions. Le modèle prend en compte les caractéristiques de l’environnement et la dynamique de population émerge des interactions entre les individus et leur environnement.

Grimm (1999) distingue deux motivations pour développer un IBM : une motivation pragmatique ou paradigmatique. Dans le cas d’une motivation pragmatique, les IBMs sont simplement considérés comme des outils pour étudier une population spécifique, les modèles à variables d’état étant trop simples pour le faire. En revanche, le terme paradigmatique signifie que les IBMs sont utilisés pour progresser dans la compréhension des phénomènes écologiques. Aujourd’hui, les IBMs sont de plus en plus utilisés pour répondre à des questions paradigmatiques (DeAngelis et Grimm 2014). En particulier, les IBMs développés en écotoxicologie rentrent dans cette catégorie. En effet, ceux-ci permettent d’augmenter le réalisme écologique des analyses de risque actuelles et d’améliorer la compréhension du fonctionnement des écosystèmes en présence d’une perturbation anthropique (Forbes et al. 2017). Les IBMs prennent en effet en compte des éléments essentiels comme la dynamique spatiotemporelle des facteurs biotiques et abiotiques de l’environnement en plus du stress chimique (Goussen et al. 2016). Dans le cadre de l’évaluation des risques associés à

l’utilisation des pesticides, l’emploi des modèles de dynamique de population commence notamment à être proposé dans les démarches règlementaires (Forbes et al. 2009).

Plus spécifiquement, la modélisation individu-centrée a été utilisée pour reproduire des résultats d’expériences en mésocosme (Beaudouin et al. 2008). En effet, les auteurs développèrent un IBM pour décrire la dynamique de population de la gambusie (*Gambusia holbrooki*) dans des marres artificielles (Beaudouin et al. 2008). De plus, ils appliquèrent leur modèle à un cas de perturbation mécanique des populations (augmentation du nombre de poissons introduits dans les mésocosmes) (Beaudouin et al. 2012). Par comparaison des données observées des variables descriptives des populations perturbées aux lois de distribution simulées par le modèle en condition contrôle, ils montrèrent que leur modèle permettait d’améliorer la puissance statistique de l’analyse des résultats des expériences en mésocosme. En effet, le modèle mis en évidence des effets significatifs sur 14 variables descriptives de la population contre seulement 4 en utilisant les données observées des populations contrôles. Par conséquent, la modélisation individu-centrée serait outil prometteur pour améliorer l’analyse des données des écosystèmes artificiels.

III.2.2. Le changement d’échelle individu-population en imbriquant des modèles DEB aux IBMs

Etant donné que la modélisation individu-centrée décrit chaque individu de la population explicitement, une méthode qui a naturellement émergée est le couplage des IBMs aux modèles DEB prédisant les processus biologiques au niveau des individus (Jusup et al. 2017). En outre, imbriquer des modèles DEB aux IBMs permet de faciliter le développement des IBMs (Beaudouin et al. 2012, Martin et al. 2013, Beaudouin et al. 2015, Jusup et al. 2017). L’utilisation de sous-modèles standardisés comme les modèles DEB permet également d’améliorer la communication et la compréhension des IBMs (Grimm et Berger 2016).

En écotoxicologie, les DEB-IBMs présentent un intérêt certain puisqu’ils permettent l’extrapolation des effets observés à l’échelle individuelle des substances chimiques à un niveau d’organisation biologique plus élevé, comme celui de la population (Forbes et al. 2017). En effet, la prise en compte par les modèles DEB de l’altération des performances des individus comme la croissance, la reproduction et la survie peut faire émerger une nouvelle dynamique de population, prédite par l’IBM, en impactant par exemple des caractéristiques de la population telles que sa densité, sa structure et sa biomasse.

Ainsi, après avoir développé et validé un DEB-IBM reproduisant la dynamique de population de daphnies (*Daphnia magna*) élevées en laboratoire (température et nourriture constante) (Preuss et al. 2009, Martin et al. 2013), Martin et al. (2013) appliquèrent leur modèle à un cas de toxicité. Les populations de *Daphnia magna* furent alors exposées en laboratoire (température et nourriture constante) à une substance chimique, la 3,4-dichloroaniline. Les auteurs testèrent deux modes d’action du toxique sur la reproduction prédite par le modèle DEB (augmentation des coûts de reproduction ou surmortalité des descendants). Dans les deux cas, ils montrèrent que le DEB-IBM reproduisait correctement les réponses (densité totale et structure des tailles) des populations de *Daphnia magna* exposée à la 3,4-dichloroaniline.

Un autre exemple du potentiel des DEB-IBMs pour extrapoler les effets mesurés à l’échelle individuelle à celle de la population est réalisé par Beaudouin et al. (2014). Les auteurs adaptèrent le modèle de Beaudouin et al. (2015) décrivant la dynamique de population du poisson-zèbre en condition normale dans son milieu naturel, pour prédire les effets d’un perturbateur endocrinien, le 17 α -éthinyloestradiol (EE2). Les effets de l’EE2 sur les processus physiologiques et le comportement du poisson-zèbre ont été intégrés dans le modèle à partir de relations dose-réponses estimées avec des données de littérature. Les prédictions ont ensuite été évaluées avec succès sur des observations faites sur la viabilité des populations du poisson-zèbre exposées à de l’EE2 en milieu naturel (Kidd et al. 2007).

De plus, les DEB-IBMs peuvent également être utilisés pour tester plusieurs hypothèses de mécanismes de sélection à long terme d’une population soumise à un stress toxique. Par exemple, Beaudouin et al. (2012) développèrent un DEB-IBM prédisant la dynamique de populations de *Chironomus riparius* sur plusieurs générations pour évaluer les réponses adaptatives induites par une exposition à de l’uranium. En comparant les données simulées avec des observations faites en laboratoire sur 8 générations, le modèle permit de conclure que l’exposition à l’uranium a induit une sélection phénotypique des individus caractérisés par un délai d’apparition plus long et une taille maximale plus petite des larves.

Plusieurs DEB-IBMs ont également été utilisés dans des cadres plus exploratoires des effets de substances chimiques. Par exemple, Goussen et al. (2016) adaptèrent le modèle de Martin et al. (2013) pour tester plusieurs scénarios d’exposition et mettre en évidence l’importance de prendre en compte les conditions environnementales et les facteurs confondants de stress (par exemple l’effet de la température et du toxique). De même, Galic et al. (2017) développèrent un DEB-IBM pour prédire la dynamique de population d’un crustacé amphipode d’eau douce, *Gammarus pseudolimnaeus* et explorer les effets combinés du

réchauffement climatique et des expositions à des toxiques hypothétiques aux modes d’actions différents. Ils montrèrent ainsi que l’effet du toxique considéré peut être accentué par l’augmentation des températures, et qu’il est donc nécessaire de prendre en compte le réchauffement climatique dans les évaluations futures des effets des substances chimiques.

En conséquence, du fait des nombreux avantages à imbriquer un modèle DEB à un IBM, le modèle développé au cours de cette thèse sera un DEB-IBM.

III.2.3. Modèle individu-centré existant de l’épinoche à trois épines

Un IBM pour des épinoches à trois épines dulçaquicoles dans des rivières d’Angleterre a été développé par Mintram et al. (2018). Un schéma conceptuel de ce modèle est présenté en Figure 23. Ce modèle a pour objectif de simuler une dynamique de population réaliste de l’épinoche à trois épines et évaluer les effets de l’exposition à des substances toxiques au niveau de la population.

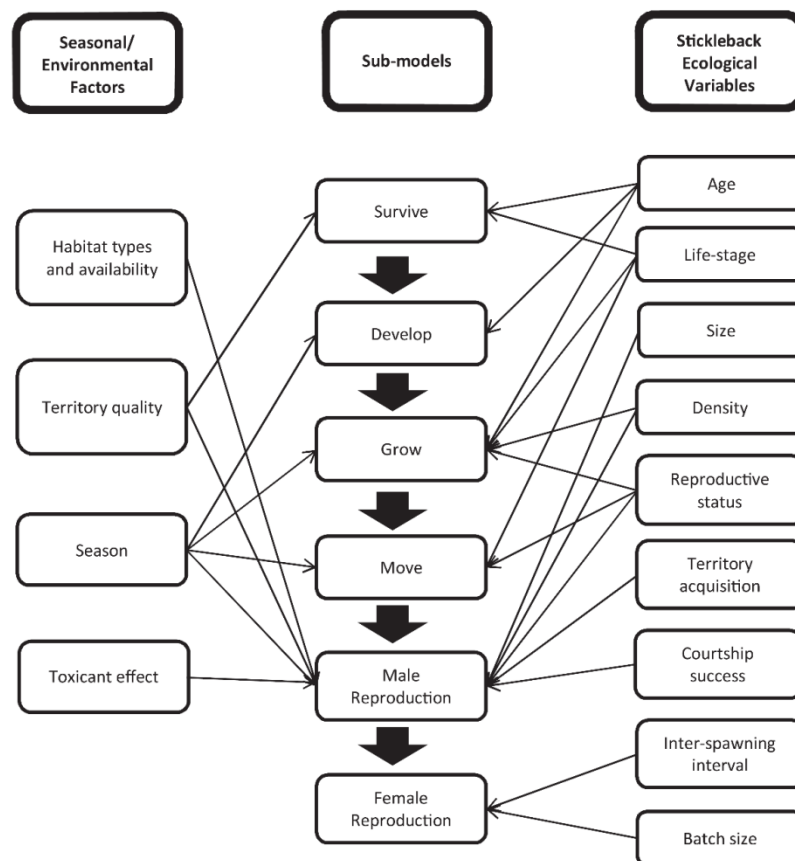


Figure 23. Schéma conceptuel de l’IBM de Mintram et al. (2018) présentant les processus clés (sous-modèles) entrepris par les épinoches à trois épines et les variables écologiques et environnementales qui les influencent. Les petites flèches indiquent les interactions et les grandes flèches indiquent l’ordre des processus. Source : Mintram et al. (2018).

Mintram et al. (2018) appliquèrent leur modèle dans un cadre d’analyse des effets écotoxicologiques d’un insecticide organophosphoré, le fénitrothion. Cet insecticide est considéré être un perturbateur endocrinien. Les résultats ont suggéré que l’impact de cet insecticide sur le comportement reproducteur des mâles au niveau individuel induit un effet sur l’abondance de la population. Cependant, les processus de densité-dépendance pourraient compenser certains de ces effets, en particulier lorsque l’exposition au fénitrothion n’est pas continue (Figure 24).

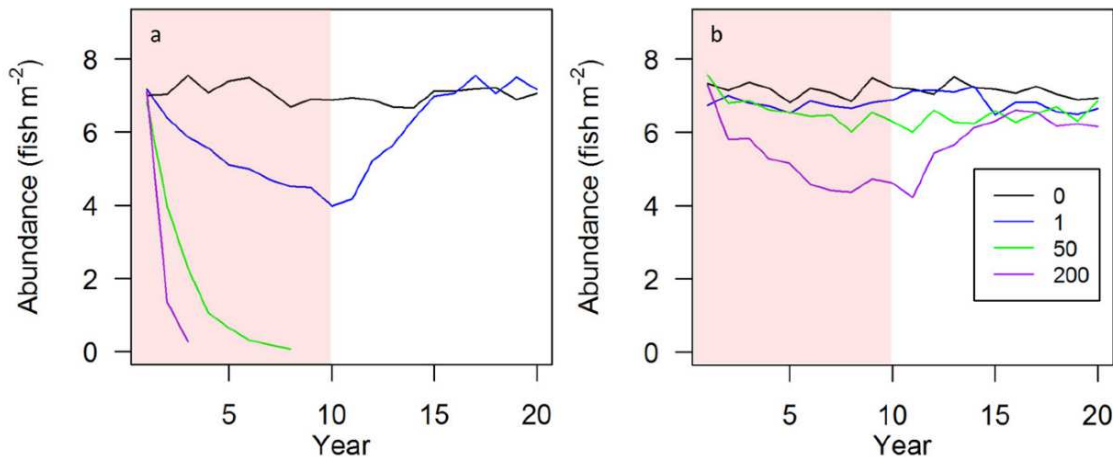


Figure 24. Abondance moyenne annuelle totale modélisée de la population par le modèle de Mintram et al. (2018) (valeur moyenne de 15 simulations) à partir du 1er janvier de chaque année pour des expositions continues (a) et des expositions intermittentes au fénitrothion (b). La couleur des lignes représente la concentration en fénitrothion (en µg/L). Les sections rouge (10 ans d'exposition) et blanche (10 ans de récupération) divisent les périodes d'exposition et de récupération. Source : Mintram et al. (2018).

Cependant, ce modèle n’intègre pas certains facteurs environnementaux tels que la photopériode, la température de l’eau et la disponibilité de la nourriture. De plus, cet IBM ne contient pas un modèle bioénergétique comme les modèles DEB décrivant les processus physiologiques au niveau de l’organisme. Ainsi, comme le suggèrent les auteurs, une approche plus mécanistique qui tiendrait compte des interactions entre les effets d’une ou plusieurs substances chimiques et les facteurs environnementaux contribueraient à améliorer le réalisme des prédictions de l’IBM.

III.3. L’analyse des modèles individu-centrés

La contrepartie de la capacité des IBMs à incorporer un niveau élevé de détails sur les individus et leur environnement est que leur développement, leur calibration et leur temps de simulation peuvent être coûteux en temps (Grimm et Railsback 2005, van der Vaart et al.

2016). De plus, les IBMs sont souvent difficiles à comprendre pour les personnes ne les ayant pas développés (Fitzpatrick 2019).

Afin de faciliter la compréhension des IBMs et leur diffusion, le format pour les décrire a été standardisé sous forme d’un protocole appelé le protocole ODD pour *Overview, Design concepts* et *Details* (Grimm et al. 2006, Grimm et al. 2010). En effet, afin de permettre une utilisation du modèle par d’autres personnes que les développeurs, la question de la répliquabilité du modèle est essentielle (Fitzpatrick 2019). Plus spécifiquement, en analyse du risque environnemental, le projet européen CREAM (*Mechanistic Effect Models for Ecological Risk Assessment of Chemicals*) a proposé d’élargir le protocole ODD à d’autres modèles populationnels. Ainsi, la documentation TRACE (*Transparent And Comprehensive Ecological modelling*) vise à rendre les modèles populationnels plus transparents en vue d’améliorer leur acceptation en réglementation (Grimm et al. 2009). Plusieurs IBMs ont ainsi été développés dans le cadre de ce projet (Gabsi et al. 2014, Kułakowska et al. 2014, Liu et al. 2014).

D’autre part, Devillers et al. (2010) réalisa une revue de la littérature des outils existants permettant de développer des IBMs. Parmi les outils cités, le logiciel NetLogo (Railsback et Grimm 2011), gratuit et libre d’accès, facilite le développement et l’utilisation des IBMs puisqu’il est accessible à des utilisateurs ayant des compétences limitées en programmation. Ce logiciel est notamment composé d’une interface graphique permettant de visualiser le système modélisé (Figure 25). 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 développé et permet de réaliser des simulations d’un modèle développé sous NetLogo à partir du logiciel R (Thiele et al. 2012, Thiele et al. 2014). Ainsi, pour ces différentes raisons, nous avons choisis le logiciel Netlogo pour développer le modèle IBM dans cette thèse.

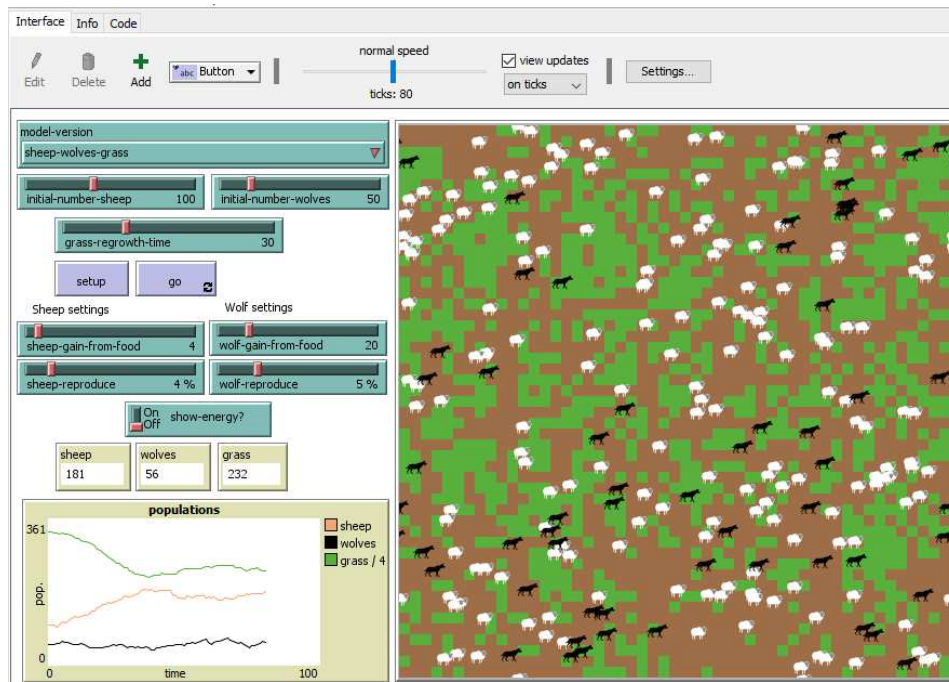


Figure 25. Visualisation de l’interface du logiciel NetLogo (Version 6.0.4) pour un modèle implémenté dans la librairie du logiciel qui décrit les relations de prédation entre des loups, des moutons et de l’herbe. L’utilisateur peut choisir certains critères et valeurs de certains paramètres (boîtes 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 de droite).

Néanmoins, le développement de modèles complexes tels que les IBMs n’étant pas trivial, les différentes méthodes pour développer et analyser un IBM seront détaillées dans la suite de cette partie.

III.3.1. Les analyses de sensibilité

Les IBMs étant des modèles complexes, ils possèdent en général un grand nombre de paramètres pouvant interagir entre eux (Grimm et Railsback 2005, Grimm et Berger 2016). Ainsi, réaliser des analyses de sensibilité (AS) présente un intérêt certain puisque celles-ci permettent de déterminer les paramètres influençant le plus les sorties du modèle et ainsi d’améliorer la compréhension globale du modèle (Ginot et al. 2006). Tout d’abord, la méthode d’AS locale a été appliquée à un certain nombre d’IBMs (Ginot et al. 2006, Beaudouin et al. 2015, Mintram et al. 2018) car celle-ci est la plus facile à mettre en œuvre. Cette méthode, entièrement décrite dans Ginot et al. (2006), permet d’évaluer l’influence d’une faible variation autour de la valeur de référence des paramètres sur les sorties du modèle et ne s’intéresse ainsi qu’aux effets directs des paramètres.

Néanmoins, pour aller plus loin dans la compréhension des effets directs des paramètres ainsi que de leurs interactions, des méthodes d’AS dites globales sont à envisager. Ces AS globales permettent d’analyser la variabilité des sorties du modèle lorsque les valeurs de paramètre varient sur l’ensemble de leur domaine de définition (par exemple leur domaine d’incertitude). Différentes méthodes d’AS globale existent. Tout d’abord, l’utilisation d’une méthode de criblage telle que la méthode de Morris est une solution avantageuse dans le cas de modèle complexe et coûteux en temps d’exécution, car celle-ci permet de réaliser un premier tri des paramètres. En effet, cette méthode, qui fait partie des méthodes dites *One At a Time* (OAT), permet d’évaluer les effets directs ainsi que les interactions entre les paramètres en faisant varier un à un les valeurs des paramètres (Faivre et al. 2013). La méthode de Morris a notamment été utilisée pour analyser l’influence des paramètres d’un IBM prédisant la dynamique de population du poisson-zèbre (Beaudouin et al. 2015), et a montré que les paramètres liés à l’environnement ainsi qu’à la recherche de nourriture avaient des effets directs et des interactions fortes sur les sorties.

Une autre méthode d’AS globale est celle de l’analyse de la variance (ANOVA) associé à un plan factoriel de simulation (Ginot et al. 2006). Cette méthode a été appliquée à un IBM simulant la dynamique de population de la gambusie (*Gambusia holbrooki*) en mésocosme et a montré une forte contribution des interactions des paramètres liés à la croissance densité-dépendante (Beaudouin et al. 2008).

D’autres approches d’AS globale existent également comme la méthode de Sobol (Sobol’ 2001, Saltelli et al. 2010) et la méthode FAST (*Fourier Amplitude Sensitivity Test*) (Saltelli et al. 1999). La méthode de Sobol permet notamment de calculer un indice de sensibilité du premier ordre quantifiant la contribution d’un paramètre donné sur la variance des sorties du modèle et un indice de sensibilité total qui est défini comme la somme de tous les indices de sensibilité impliqués dans le paramètre en question (Saltelli et al. 2008). Néanmoins, à notre connaissance, bien que la méthode de Sobol ait pu être utilisée pour calibrer les modèles DEB combinés aux IBMs (Beaudouin et al. 2015), ces méthodes n’ont pas été appliquées aux IBMs en eux-mêmes, trop coûteuses en temps d’exécution.

L’une des motivations à comprendre l’influence des paramètres sur les sorties du modèle est que, du fait du grand nombre de paramètres, la calibration des IBMs est souvent difficile à réaliser. Ainsi, pour faciliter celle-ci, les AS peuvent permettre au préalable de réduire le nombre de paramètre à calibrer (Grimm et Railsback 2005, Beaudouin et al. 2008, Railsback et Grimm 2011). Les analyses de sensibilité peuvent également être utilisées pour évaluer le

modèle et éventuellement le simplifier lorsque des processus sont montrés comme ayant peu d’effets sur les sorties (Grimm et Railsback 2005, Schmolke et al. 2010).

III.3.2. Paramétrisation et calibration des IBMs

Idéalement, la paramétrisation des IBMs devrait être réalisée en obtenant des données spécifiques du système modélisé (Schmolke et al. 2010). Néanmoins, lorsque ce sont des phénomènes écologiques naturels qui sont modélisés, les études terrains sont généralement limitées et l’obtention de données spécifiques à l’écosystème reste marginale. Ainsi, les valeurs des paramètres sont souvent obtenues par d’autres biais, l’utilisation de données de littérature pouvant par exemple constituer une première étape dans la paramétrisation du modèle.

La calibration d’un modèle peut ensuite permettre d’estimer la valeur des paramètres que l’on ne connaît pas *a priori* afin de permettre aux simulations de reproduire le plus précisément possible les observations empiriques réalisées (Railsback et Grimm 2011). D’autre part, les IBMs étant des modèles stochastiques, leur calibration doit être nécessairement réalisées sur plusieurs simulations (Railsback et Grimm 2011).

Pour calibrer les paramètres, plusieurs méthodes existent (Grimm et Railsback 2005). Tout d’abord, la méthode de calibration manuelle peut éventuellement fonctionner lorsqu’un nombre restreint de paramètres influence considérablement les sorties du modèle. Cela peut être le cas notamment des paramètres liés à la régulation des populations (Grimm et Railsback 2005). Pour faciliter la calibration de l’IBM, la calibration de sous-modèles de l’IBM peut également être envisageable. Cette méthode a déjà été utilisée pour calibrer les modèles DEB indépendamment de l’IBM (Beaudouin et al. 2012, Martin et al. 2013, Beaudouin et al. 2015).

Une technique pour estimer les paramètres et améliorer le développement du modèle est la méthode de POM (*Pattern-Oriented Modeling*) (Grimm et Railsback 2005). Cette technique permet d’optimiser la structure du modèle, tester et sélectionner des sous-modèles de processus clés (Topping et al. 2010). La méthode de POM a également été utilisée pour paramétrer des IBMs (Grimm et Railsback 2005). De plus, plusieurs paramètres peuvent être calibrer en même temps. Dans ce cas, les sorties du modèle sont comparées à des « *pattern* », c’est-à-dire à des motifs observés à différents niveaux d’organisation biologique. Par exemple, pour paramétrer leur IBM prédisant la dynamique de population du campagnol des champs (*Microtus agrestis*), Topping et al. (2012) ont défini plusieurs motifs relatifs à la

structure de la population (âge et sexe), la densité de campagnols en fonction du type d'habitat, la dispersion des campagnols et la capacité du modèle à prédire les interactions proies-prédateurs. Bien que la méthode de POM se soit montrée efficace (Grimm et Railsback 2005), elle reste néanmoins limitée aux données expérimentales (Topping et al. 2012, van der Vaart et al. 2016). De plus, la méthode de POM utilise généralement des méthodes classiques d'ajustement telles que l'écart quadratique moyen. Ainsi, Piou et al. (2009) proposèrent d'adapter des méthodes de statistiques telles que le critère d'information d'Akaike (AIC) ou le critère d'information de déviance (DIC) utilisé en statistique bayésienne pour améliorer l'optimisation des IBMs. Ils proposèrent alors un critère POMIC (*Pattern-oriented modelling information criterion*) et en démontrèrent leur potentiel pour sélectionner les sous-modèles les plus appropriés pour reproduire les données observées tout en respectant le principe de parcimonie.

Parmi les autres méthodes de calibration existantes, les méthodes d'inférence bayésienne permettent d'améliorer la connaissance des valeurs de paramètres à partir d'informations *a priori* sur ces paramètres. Elles nécessitent la détermination de la fonction de vraisemblance, c'est-à-dire la probabilité d'obtenir les observations compte tenu de la valeur d'un paramètre. Or, dans le cas de modèles complexes tels que les IBMs, celle-ci est difficile à calculer (Beaumont 2010). Pour pallier ce problème, les méthodes appelées *Approximate Bayesian computation* (ABC) ont été développées et permettent d'éviter le recours à une fonction de vraisemblance. Ainsi, les méthodes ABC sont de plus en plus utilisées en écologie (Beaumont 2010). Le principe de base de ces méthodes consiste à comparer les résultats des simulations du modèle avec les valeurs de paramètres issues d'une distribution antérieure définie aux données observées afin de conserver les paramétrages permettant d'obtenir le plus faible écart aux observations. Les valeurs des paramètres conservées renvoient alors une approximation de la distribution postérieure des paramètres du modèle (Jabot et al. 2013). Il existe trois principaux types d'algorithmes d'ABC : l'algorithme standard de rejet (*ABC-rejection*), l'algorithme d'échantillonnage séquentiel (*ABC-SMC*) et l'algorithme couplé avec les méthodes de Monte-Carlo par chaînes de Markov (*ABC-MCMC*). L'algorithme standard de rejet est le plus simple à mettre en œuvre puisqu'il est basé sur l'acceptation ou le rejet des jeux de paramètres choisis aléatoirement en se basant sur un critère de distance entre les résultats de simulations et les observations. L'utilisation d'un algorithme séquentiel ou d'une méthode MCMC permettent ensuite d'optimiser l'échantillonnage des valeurs *a priori* des paramètres.

Ces méthodes ABC ont été utilisées pour calibrer plusieurs IBMs. Par exemple, Lagarrigues et al. (2015) appliquèrent ces méthodes ABC à un IBM simulant le cycle dynamique d’une forêt pour recalibrer deux paramètres de l’IBM sélectionnés à partir d’une analyse de sensibilité. Ils montrèrent que l’incertitude associée à la recalibration ABC était faible par rapport à la stochasticité intrinsèque du modèle et à l’incertitude liée à la calibration initiale, soulignant l’intérêt des méthodes ABC. Un autre exemple d’application de ces modèles est montré par van der Vaart et al. (2016) qui utilisèrent l’algorithme standard de rejet pour calibrer avec succès les 14 paramètres d’un IBM d’un ver de terre (*Eisenia fetida*).

Ainsi, bien que les méthodes bayésiennes puissent être utilisées pour calibrer des sous-modèles des IBMs, comme les modèles DEB (Beaudouin et al. 2015), les méthodes ABC, encore relativement peu utilisées aujourd’hui, pourraient représenter une solution avantageuse pour paramétrer entièrement les IBMs. De plus, un package de R appelé « *EasyABC* » a récemment été développé (Jabot et al. 2013, Jabot et al. 2015) et pourrait faciliter l’application des méthodes ABC pour les IBMs.

Enfin, d’autres techniques de calibration ont été testées pour les IBMs comme la méthode du maximum de vraisemblance pour estimer les moyennes et les intervalles de confiance des paramètres de leur modèle (Mooij et DeAngelis 2003) ou l’utilisation de méthode d’optimisation heuristique comme les algorithmes génétiques (Calvez et Hutzler 2006).

Plus précisément, les algorithmes génétiques sont des algorithmes d’optimisation s’appuyant sur des techniques (croisements, mutations, sélection) dérivées de la génétique et de l’évolution naturelle. Leur utilisation permet d’explorer l’espace des paramètres et de trouver le meilleur jeu de paramètres en utilisant une fonction d’optimisation (Calvez et Hutzler 2006). La définition de la fonction d’optimisation a une importance majeure pour mener à bien cette calibration. Par exemple, Calvez et Hutzler (2006) trouvèrent des résultats très différents selon la fonction d’optimisation choisie pour calibrer un IBM décrivant les déplacements de fourmis lors de la recherche de nourriture. Cette méthode fut également utilisée pour des IBMs plus complexes comme celui décrivant la dynamique de population du poisson-zèbre de Beaudouin et al. (2015). Néanmoins, le modèle bioénergétique couplé à l’IBM a été calibré indépendamment et l’algorithme génétique fut utilisé seulement pour calibrer les paramètres importants de régulation de la population. Enfin, l’utilisation de cette méthode de calibration est facilitée par l’existence du logiciel BehaviorSearch qui permet d’automatiser l’exploration d’IBMs en utilisant des algorithmes génétiques et d’autres

techniques heuristiques pour effectuer une recherche dans l’espace des paramètres. Ce logiciel est implémenté avec NetLogo et est libre d’accès (www.behaviorsearch.org).

Ainsi, plusieurs méthodes ont été testées pour calibrer les IBMs, il ne semble néanmoins pas y avoir de consensus dans la littérature sur la méthode la plus efficace. Afin de pouvoir utiliser les IBMs dans un objectif paradigmatique, la calibration mais également la validation du modèle sont des étapes fondamentales. Cette dernière étape de validation sera donc présentée dans la partie suivante.

III.3.3. Validation du modèle

La validation des IBMs est d’une importance majeure car celle-ci démontre la pertinence de la structure du modèle pour appréhender les phénomènes biologiques ainsi que la précision de son paramétrage (Schmolke et al. 2010). Celle-ci implique un certain nombre d’étapes qui nécessitent à la fois de valider l’adéquation entre le modèle et la question posée, les données utilisées pour calibrer le modèle, les hypothèses et la structure du modèle ainsi que ses résultats. Fitzpatrick (2019) résuma sept étapes pour la validation du modèle (Tableau 3).

Tableau 3. Les étapes de validation d’un IBM. Source : Fitzpatrick (2019)

Etapes de validation	Objectif à valider
1) Validation des objectifs	Les objectifs du modèle ont-ils été correctement spécifiés pour le problème à résoudre ?
2) Validation des données	Les données utilisées pour calibrer le modèle ont-elles été correctement collectées et vérifiées ?
3) Validation globale	Les hypothèses et les sorties du modèle semblent-elles raisonnables ?
4) Validation des processus	Les étapes déroulées lors de l’exécution du modèle, les actions des agents et de l’algorithme correspondent-elles à des processus réels ?
5) Validation de la théorie	Le modèle utilise-t-il correctement la théorie sur laquelle il est basé ?
6) Validation de l’agent	Les comportements des agents correspondent-ils à des comportements individuels réels ?
7) Validation des résultats	Les données simulées par le modèle sont-elles comparables aux données observées ?

D’après Fitzpatrick (2019), l’utilisation d’un protocole (ODD) (Grimm et al. 2010) permet de s’assurer de réaliser les six premières étapes de validation données dans le Tableau 3. La dernière étape de validation peut, quant à elle, être réalisée en comparant les prédictions à des observations du système d’étude modélisé. Néanmoins, dans une revue de la littérature, Schmolke et al. (2010) montrèrent que seuls 3 % des 62 modèles populationnels (dont 6 IBMs) utilisés en analyse du risque des pesticides avaient été validés avec des jeux de données indépendants de ceux utilisés pour les développer et les paramétrer.

Ainsi, cette étude souligne que cette dernière étape de validation est souvent négligée or celle-ci est pourtant essentielle dans le cadre d’une utilisation en analyse du risque environnemental (Forbes et al. 2008, Forbes et al. 2017). En effet, sans une validation approfondie, l’acceptation du modèle en réglementation sera limitée (Augusiak et al. 2014).

En conclusion, nous avons présenté dans cet état de l’art, les mésocosmes de l’Ineris et l’épinoche à trois épines qui est le modèle biologique utilisé dans ces rivières artificielles. Puis, nous avons présenté les caractéristiques des DEB-IBMs pour simuler des dynamiques de population de poissons ainsi que les différentes méthodes existantes pour les développer. Dans la suite de cette thèse, nous présenterons donc le DEB-IBM développé pour prédire les dynamiques de population des épinoches à trois épines dans les mésocosmes de l’Ineris en présence ou non de substances chimiques.

Chapitre II.

Développement d'un modèle individu-centré décrivant
la dynamique de population des épinoches à trois épines
en mésocosme en condition témoin

L'approche que nous avons adoptée dans cette thèse consiste à premièrement développer le DEB-IBM en condition contrôle avant d'intégrer de potentiels effets toxiques. Cette approche est essentielle pour permettre une utilisation future de celui-ci en évaluation des effets des substances chimiques sur les populations d'épinoches à trois épines. En effet, notre modèle doit être pertinent pour prédire les phénomènes biologiques se déroulant en mésocosme en condition contrôle. En particulier, le modèle doit pouvoir appréhender correctement la variabilité inhérente aux écosystèmes. En effet, la prédiction de l'étendue des trajectoires possibles des dynamiques de population en condition contrôle est cruciale afin que, en présence d'un stress anthropique, les trajectoires anormales soient discriminées. Comme montré dans Beaudouin et al. (2012), la comparaison des données observées des populations exposées à des toxiques aux lois de distribution simulées en condition contrôle des variables descriptives de la population devrait notamment permettre de réduire le nombre de faux négatifs des études en mésocosme. De plus, le DEB-IBM doit pouvoir prédire correctement les dynamiques de population en condition contrôle avant d'envisager de le modifier pour améliorer la compréhension des mécanismes de toxicité des substances chimiques et de prédire les conséquences à long terme d'une exposition. Ainsi, l'objectif de ce chapitre est de présenter les différentes étapes du développement du DEB-IBM prédisant la dynamique de population des épinoches à trois épines en mésocosme en condition contrôle.

Pour cela, nous nous sommes tout d'abord focalisés sur 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). Afin de faciliter le développement du modèle individu-centré, nous avons cherché à évaluer la pertinence de ce modèle pour des épinoches à trois épines en mésocosme. 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.

Nous avons ensuite développé notre DEB-IBM en modélisant les interactions entre les individus et leur environnement afin de faire émerger la dynamique de population des épinoches à trois épines en mésocosme. Pour cela, nous nous sommes basés sur les observations de populations réalisées en rivière artificielle et sur les connaissances acquises sur la biologie, l'écologie et le comportement des épinoches à trois épines. Plusieurs jeux de données indépendants nous ont permis de calibrer et d'évaluer les prédictions du modèle. Nous avons également évalué le potentiel de ce modèle en condition contrôle pour améliorer la puissance statistique des analyses des résultats des expériences en mésocosme, et nous

avons notamment cherché à quantifier le gain de notre modèle pour diminuer le nombre de faux négatifs.

Enfin, nous avons exploré les limites de notre modèle en réalisant plusieurs cas d'application sur des dynamiques de populations originales. En effet, identifier les limites et les points d'amélioration de notre modèle est essentiel pour une application en risque environnemental, et finalement pour permettre son acceptation en réglementation.

I. Application du modèle DEB pour des poissons vivants en mésocosme (Article 1)

I.1. Introduction

Afin de transposer le modèle DEB développé par Leloutre et al. (2018) et calibré sur des données de laboratoire (température et nourriture constantes) à des conditions semi-naturelles de mésocosmes, plusieurs questions se sont posées. Tout d'abord, les facteurs environnementaux (température et nourriture) dans les mésocosmes sont soumis à des variations naturelles tout au long de l'expérience. Ainsi, à partir des suivis de ces conditions abiotiques et biotiques réalisés, nous avons cherché à développer des scénarios écologiques permettant d'optimiser la prise en compte des facteurs environnementaux dans le modèle DEB.

En effet, la température de l'eau a par exemple été mesurée toutes les 10 min à deux profondeurs différentes dans les mésocosmes. Nous avons donc cherché à quantifier le gain dans les prédictions du modèle DEB à intégrer la variabilité temporelle et spatiale de la température de l'eau. De plus, les épinoches à trois épines n'étant pas nourries par l'expérimentateur durant l'expérience, il est difficile *a priori* de connaître la quantité exacte de nourriture assimilée. Néanmoins, des échantillonnages du zooplancton et des macroinvertébrés à intervalle de temps régulier (toutes les quatre semaines) ont été réalisés. Nous avons donc émis plusieurs hypothèses sur les proies à considérer pour les épinoches en mésocosme, sur la conversion de leur donnée d'abondance en données énergétiques (nécessaire pour le modèle DEB) et sur le comportement alimentaire des épinoches à trois épines. Enfin, l'expérience en mésocosme intègre une période de reproduction qui entraîne des modifications comportementales et des transformations morphologiques, notamment chez les épinoches mâles, pouvant modifier leurs processus physiologiques et donc potentiellement la paramétrisation du modèle DEB.

Pour répondre à ces différentes questions, notre analyse s'est focalisée sur les épinoches introduites dans les mésocosmes (fondateurs) car leur taille était connue individuellement en début et fin d'expérience. Ainsi, nous avons modélisé leurs trajectoires individuelles pour comparer les différentes hypothèses et conclure sur les capacités prédictives du modèle DEB.

Ces travaux de recherche ont été valorisés dans un article intitulé « *Modelling historical mesocosm data: Application of a fish bioenergetics model in semi-natural conditions* », publié dans la revue *Ecology of Freshwater Fish* en 2018 (DOI : 10.1111/eff.12418), et présenté ci-dessous. Le matériel supplémentaire est disponible en Annexe 1.

Résumé : L'élaboration de modèles en écologie permettant de prédire avec précision la dynamique d'une population et des processus physiologiques individuels dans des conditions naturelles est d'un intérêt certain pour la gestion des écosystèmes et l'évaluation des risques environnementaux. Nous proposons ici d'évaluer la pertinence d'un modèle basé sur la théorie DEB pour des épinoches à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) adultes vivantes dans des conditions semi-naturelles. En effet, ce modèle a été calibré à l'aide de données générées lors d'expériences en laboratoire. Nous avons émis plusieurs hypothèses pour intégrer au mieux l'ensemble des données mesurées dans les expériences en mésocosme, concernant la température de l'eau et l'abondance des proies des épinoches. Pour discriminer les différentes hypothèses, nous avons comparé les prédictions du modèle et les observations faites sur des poissons issus de deux expériences en mésocosme ayant des conditions écologiques différentes (notamment un fort et faible niveau de nourriture). Nous avons conclu que l'intégration d'un scénario donnant la température journalière moyenne de l'eau permettait de minimiser les erreurs de prédictions. De plus, nous avons mis en évidence que le zooplancton, les gammarés, les aselles et les chironomidés étaient les principales proies des épinoches et que l'intégration du comportement alimentaire de ces poissons (recherche de la nourriture dans la colonne d'eau) permettait de bonnes prédictions par le modèle.

En conclusion, un modèle DEB calibré avec des données de laboratoire peut être utilisé pour prédire les processus physiologiques d'un organisme vivant dans des conditions naturelles, mais le comportement de reproduction de l'organisme peut affecter les prédictions du modèle. De plus, nous avons émis des recommandations pour l'élaboration des scénarios écologiques prenant en compte les variations naturelles de la température et de la nourriture. Néanmoins, des hypothèses supplémentaires sur le comportement alimentaire peuvent être

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

nécessaires pour les épinoches immatures puisque cette étude s'est focalisée sur les adultes matures introduits dans les mésocosmes.

I.2. Article 1

Modelling historical mesocosm data: Application of a fish bioenergetics model in semi-natural conditions

Viviane David*, Benoit Goussen†[⊥], Cleo Tebby*, Sandrine Joachim‡, Jean-Marc Porcher‡, Rémy Beaudouin*

* Unit of Models for Ecotoxicology and Toxicology (METO), INERIS, 60550 Verneuil en Halatte, France. Tel: +33344618238; e-mail: remy.beaudouin@ineris.fr

‡ Ecotoxicology *in vitro* and *in vivo* Unit (ECOT), INERIS, 60550 Verneuil en Halatte, France.

† Environment Department, University of York, Heslington, York YO10 5DD, UK.

[⊥] Safety and Environmental Assurance Centre, Colworth Science Park, Unilever, Sharnbrook, Bedfordshire, UK

Abstract. Developing ecological models for accurately predicting the dynamics of a population and individual physiological processes in field conditions is a challenging task for ecosystem management and ecological risk assessment. Here we propose to assess the relevance of a Dynamic Energy Budget (DEB) model calibrated using data previously generated from laboratory experiments for adult three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) living in semi-natural conditions. We compared different ways of integrating different data sets such as temperature and prey abundance obtained in mesocosm experiments in order to assess the predictive capacity of the model. By this study, we provide recommendations for developing an appropriate environmental scenario (*e.g.* natural variations of food and temperature) for using a DEB model in a field context. We conclude that a DEB model calibrated with laboratory data can be used to predict the physiological processes of an organism living in semi-natural conditions, but that the reproductive behavior of the organism can affect the predictions. Finally, we suggest that further studies on the feeding behavior may be necessary for immature organisms.

Key words: Dynamic energy budget, three-spined stickleback, environmental scenario, mesocosm

Introduction

Ecosystems have been threatened by human activities for several centuries. The pressure made on habitats, the release of pollutants as well as changes in global climate are among the causes driving biodiversity loss and disturbing ecosystem functioning. Evaluating biological responses to specific anthropogenic stressors such as warming or toxicant releases are of great interest but are often restrained to tests on specific organisms in laboratory conditions. However, laboratory experiments do not include many biological interactions like predation, competition, or variations of environment factors although these ecological factors may significantly modulate the effect of the studied stress (Forbes et al. 2011, Beaudouin et al. 2015, Goussen et al. 2016). To overcome these limitations, developing ecological models that integrate relevant information on the ecosystem has been proposed as a powerful solution to help ecosystem management and risk assessment (Forbes et al. 2017).

Among the existing ecological models, the Dynamic Energy Budget (DEB) Theory has been suggested as a starting point to improve ecosystem management and risk assessment (Galic and Forbes 2017). This theory describes the energy fluxes during the whole life cycle of an individual taking into account the effects of both temperature and food level (Kooijman 2010). DEB models have been tested on many organisms and used in different applications (*e.g.* global change, ecotoxicology, extrapolation to population-level dynamics) (Jusup et al. 2017). However, as environmental data are often difficult to obtain, DEB models are mainly calibrated with laboratory experiments usually performed under standard conditions (Augustine et al. 2011, Goussen et al. 2015). Nevertheless, some studies have already shown that integrating effects of environmental factors (*e.g.* food level or temperature) in DEB models is critical for highlighting the effects of chemical stressors (Jager and Zimmer 2012, Cedergreen et al. 2016). Indeed, the complexity of natural ecosystems explains why the results from laboratory often fail to accurately predict natural processes. Thus, in order to improve ecosystem management, a focus on DEB model predictions using environmental scenarios (*e.g.* natural variations of food and temperature) should be made.

Developing environmental scenarios requires a large amount of data on the seasonal and temporal variations of temperature and food web dynamics. To fill this gap, mesocosm experiments provide a sound basis to reconstruct environmental scenarios and study the biological responses of organisms in semi-natural conditions. Indeed, they have played an important role in improving our understanding of ecology and ecosystem functioning (Caquet et al. 2000). For example, these experiments have been used in ecotoxicology to assess direct

and indirect effects of toxicants on populations and also investigate responses at different levels of biological organization under natural variations of ecological factors (Boyle and Fairchild 1997, Caquet et al. 2000). Thus, these experiments provide a hazard analysis with an improved ecological realism compared to laboratory experiments (Beaudouin et al. 2008, Beaudouin et al. 2012).

The three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) is a small teleost fish native to the Northern Hemisphere and is a relevant fish species for mesocosm studies (OECD 2006) as it has a relatively small size and its habitat is easy to mimic. Furthermore, the ecology and biology of this species is relatively well-known (Wootton 1984, Bell and Foster 1994), and experiments have already been performed in mesocosms to assess the effects of chemicals on stickleback populations (Roussel et al. 2007, de Kermoisan et al. 2013). The effects of environmental factors on the stickleback biology has also been extensively studied in laboratory with both temperature and food availability affecting the biology of sticklebacks (Wootton 1984, Bell and Foster 1994, Hopkins et al. 2010, Hovel et al. 2015). In addition, a bioenergetic model of the three-spined stickleback, based on the DEB theory (Kooijman 2010) and describing its whole life cycle, has already been developed and calibrated using laboratory data (Leloutre et al. 2018).

Accordingly, this study aims to assess the relevance of the *Gasterosteus aculeatus* DEB model calibrated with previously generated laboratory data to describe the physiological processes of the organism under semi-natural conditions (variations of temperature and food) using pre-existing data from mesocosm experiments. For this purpose, we tested different ways of integrating temperature and food data into the DEB model to properly formulate the food and temperature scenarios. To build the food scenario, we made different hypotheses on the distribution of food in the mesocosms and on the feeding behavior of sticklebacks. These hypotheses were tested by comparing predicted and observed data on stickleback processes recorded during two different mesocosm experiments.

Material and methods

Experiment description

The present study uses previously generated data from two experiments (1 and 2) performed in lotic mesocosms (INERIS, Verneuil-en-Halatte, France) during two different years with two contrasted sets of environmental conditions (*i.e.* temperature, food dynamics). Each experiment was conducted with 11 mesocosms, thus a total of 22 stickleback

populations were monitored. A complete description of the experimental setup can be found in De Kermoisan et al. (2013). Briefly, each mesocosm was 20 m long and 1 m wide with a water depth of 30 cm upstream (0–9 m) and 70 cm downstream (11–20 m). A one-meter slope separated the two sections. The water flow for each mesocosm was $0.8 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. Each mesocosm was set up between October and December with sediments (80% sand and 20% clay), macrophytes, zooplankton and macroinvertebrates (details provided in Supplementary Information (SI) Section 1). The experiments started at the beginning of March when 15 mature female and 10 mature male sticklebacks (thereafter called the founders) were introduced in each mesocosm. Before their release, founders were measured, weighed and marked with a 1.2 mm \times 2.7 mm alphanumeric tag (VI Alpha Tags, NorthwestMarine Technology, Shaw Island, WA, USA). Individuals were selected to have a similar length. The experiments lasted 210 days and 213 days, respectively for experiment 1 and 2. At the end of each experiment, each mesocosm was emptied to collect all sticklebacks which were then sacrificed using a high dose of MS-222, measured, and weighed. Fish sex was determined by visual observation of the gonads. In our study, only the data for which a founder with a visible tag was recovered were used for the DEB model simulations (SI Table S1). Daily background mortality probability of sticklebacks during the experiments was estimated using the method described by Soubeyrand et al. (2007).

Macroinvertebrates and zooplankton were sampled every four weeks and identified to the lowest practical taxonomic level. A detailed description of the sampling methodology is provided in SI Section 1 and Table S3. The water temperature was measured every 10 minutes throughout the course of the experiments using two sensors ($\pm 0.1^\circ\text{C}$, HOBO0257, Prosensor, Amanvillers, France) which were positioned at 5 m and 15 m from the inlet of water, respectively on the surface and at 70 cm-depth (thereafter called Temp5 and Temp15). These sensors were placed in four randomly chosen mesocosms (thus a total of four Temp5 and Temp15 for each experiment).

DEB model description

DEB theory describes the rate at which the organism assimilates and uses energy for its energetic processes: maintenance, growth and reproduction. This theory resulted in the κ -rule DEB model which proposes that a fixed fraction κ is allocated to maintenance and growth and that the remaining fraction $(1 - \kappa)$ is available for maturity and reproduction (Kooijman 2010). In the present study, we used the DEB model developed for the whole life cycle of the

three-spined stickleback by Leloutre et al. (2018). The equations are provided in SI Section 2. Parameters depending on temperature were corrected by the temperature function adapted for sticklebacks by Hovel et al. (2015). Male sticklebacks have a smaller maximal length than females, this dimorphism was modeled by a type R metabolic acceleration (Kooijman 2014): the value of the parameter κ for males decreases after maturity and the parameter α is the fraction subtracted from κ . This assumes that a higher amount of energy is used for the reproduction which is coherent with the fact that male sticklebacks provide all the parental care during the breeding season.

We adapted the implementation of the feeding level in the DEB model of Leloutre et al. (2018) by using a hyperbolic functional response, as suggested by Kooijman (2010):

$$f = \frac{x}{1+x} \text{ with } x = \frac{X}{\frac{1}{2}\varphi L^2} \quad (1)$$

Where x is the scaled food density and X the food density in J which is daily updated, φ is the necessary amount of food to be fed ad libitum (J/mm²) which depends on the squared structural length L (mm) of the fish. Our definition of the functional response is slightly different from the one in Kooijman (2010) as it takes into account the length of the fish. Indeed, for a given amount of food in the environment, two fish predators with different length would not have the same level of satiety. According to Leloutre et al. (2018), φ is a parameter which gives a theoretical value of the demand in energy of the fish to cover all its bioenergetics processes, including all its energy costs.

Integration of the freshwater temperature in the DEB model

First, the inter-mesocosm variability was assessed by comparing the temperature data recorded by the same type of sensor in the four mesocosms (four Temp5 and Temp15 per experiments) to their overall mean temperature for each type of sensor.

Then, in order to account efficiently for the effects of the spatial heterogeneity of the water temperature into the mesocosm (intra-mesocosm variability) on the bioenergetic processes of sticklebacks, we performed three simulations of the growth and reproduction of a hypothetical individual using (i) the temperature recorded every 10 minutes on the surface (from Temp5), (ii) in the bottom (from Temp15), or (iii) using the mean of both temperatures recorded every 10 minutes by the sensors. The hypothetical individual was fed ad-libitum and considered

immature for the length simulations (Initial length at 10 mm) and mature for the reproduction (Initial length at 35 mm).

Finally, to take into account the effect of the temporal variation of water temperature during the experiments on the bioenergetic processes of sticklebacks, we examined how a temperature scenario could be integrated into a model using discrete time. Three time-steps were tested to understand which precision level is needed in the observations to accurately predict growth and reproduction (SI Figure S3). Simulations of growth and reproduction using the temperature data were either implemented as (i) the daily mean temperature, (ii) the weekly mean temperature, (iii) the mean of the temperature over the experiment or (iv) using all the temperatures recorded every 10 minutes (this simulation was considered as the reference). The results of the three first simulation types were compared to the last simulation considered as the reference. Predictions were performed using the same hypothetical individual and the mean of both temperatures recorded by the sensors.

Integration of food samples in the model

Prior to integrating food samples in the DEB model, the uncertainty of zooplankton and macroinvertebrate samples was estimated. For this purpose, specific samples were performed using 13 water samples for the zooplankton and 12 samples of macroinvertebrates using each type of sampling devices (tubes, tiles, or scrubbed walls, see SI Section 1 Tables S5 and S7). The uncertainty was assessed by a bootstrap method with replacement (n=10,000). The uncertainty analysis is detailed in SI Section 4.

Furthermore, of all the zooplankton and macroinvertebrate species encountered in the mesocosm, sticklebacks only predate a subset. This subset was determined by analyzing literature data focusing on the diet of the three-spined sticklebacks (Hynes 1950, Walkey 1967, Allen and Wootton 1984) and data on the gut contents of 40 sticklebacks obtained in a former mesocosm experiment (SI Tables S9 and S10). Then, the total mesocosm abundance of this subset was estimated by assuming that the quantity of prey was homogeneous throughout the mesocosms and that the density in the sampling devices was representative. Hence, a ratio between the volume/area of the sampling devices and mesocosms was used to convert the abundance of a given species in the sampling devices to the mesocosm abundance (SI Tables S11 and S12). Then, abundance per species was converted into energy by using organism mass/energy content ratio found in literature (SI Tables S13 and S14). Finally, the energy density in the mesocosms was linearly interpolated between the sampling dates.

Finally, three different hypotheses were considered to compute the individual feeding level for founder fish. In all cases, we assumed that founders were dominants compared to other sticklebacks born during the experiments, and thus monopolize the feeding resources in case of limitation. (i) The first hypothesis was to simply consider that sticklebacks were fed ad libitum in the mesocosms and thus, food samples are not required to estimate the feeding level of sticklebacks (hypothesis “ad libitum”).

(ii) Using the food energy in the mesocosms, another hypothesis was to consider that the food level is equally divided between founders. To do that, we calculated a proportion factor relative to the number of founders in mesocosms to equally divide the amount of food between them (hypothesis “equal food partition”)

(iii) Our last hypothesis is based on the stickleback foraging behavior (hypothesis “foraging behavior”). It has been shown that sticklebacks eat in the water column (Thomas 1974, Hart and Gill 1994). We then considered that the food density X corresponds to the amount of available food in the water column around the foraging fish. To do that and because the food energy was assumed to be homogenous throughout the mesocosm, we calculated a proportion factor from the total surface of the mesocosm and a surface taking into account the needed distance for foraging. Indeed, sticklebacks have a reaction distance between 102 mm for a pale-yellow daphnids and 260 mm for a 10 mm-long *Gammarus* in turbid water (Wootton 1984). Furthermore, the mean distance travelled by sticklebacks after rejection of a food object was calculated (Thomas 1974) and was at most 146 mm. This distance is reduced to 60 mm in case of acceptance of the food. Considering these results, we calculated that a distance of 130.8 mm (i.e. median values reported by Thomas (1974) in case of rejection of an item) should be sufficient for the stickleback to find its preys. Thus, a proportion factor of 1/1500 was calculated and seemed to be a relevant assumption as it resulted in dividing the mesocosm into 130.8 mm diameter cylinders.

Model calibration

A new calibration of the DEB model parameters using the functional response for the feeding level was performed. Model parameters values were inferred by Bayesian numerical calibration (Bois 2009) using the same laboratory experiments, likelihood functions and prior distributions as detailed in Leloutre et al. (2018) (SI Section 2).

Energy budgets for males were also re-adjusted to assess the level of sexual dimorphism in the mesocosms. For this purpose, parameter α (called α') was re-calibrated using the male

length data from experiment 1 and the calibration was assessed on the data from experiment 2.

Finally, we calibrated the inter-individual variability considering that the DEB parameters related to the feeding processes (surface-area-specific maximum assimilation rate $\{\dot{p}Am\}$ and the proportional factor to be fed ad libitum (ϕ)) were individual-specific. To fit the parameters, we used a hierarchical population model (Gelman et al. 1996) in order to disentangle the inter-individual variability from the uncertainty in parameter estimation (Gelman et al. 1996, Bois et al. 2010) (SI Section 2). The calibration was made on the 83 individual female length data from experiment 1. The calibration of the DEB model was performed using the software R 3.3.1 with the coda package (Plummer et al. 2016) and MCSim, which is designed for Bayesian inference through Markov Chain Monte Carlo (MCMC) (Bois 2009). Three independent Markov Chains were run for each calibration.

Predictive capacity of the DEB model for mesocosm experiments

All simulations for growth and reproduction were run with the R 3.3.1 software. The predictive capacity for growth was assessed by comparing the predicted and observed mean length of the founders in the mesocosms at the end of the experiments. The uncertainties over the food availability (1000 different scenarios) and over the DEB parameters (computed from 1000 randomized sets of parameters selected from the last 5000 posterior distributions) were taken into account. To analyze the predictions of the inter-individual variability, we compared the simulated length of each individual trajectory in experiment 2 considering 100 scenarios of food with or without 100 random draws of $\{\dot{p}Am\}$ and ϕ per individuals to the observed length of the individuals.

As female founder sticklebacks were supposed to be mature, the DEB model predicts the cumulated number of eggs produced by the females. To assess if the order of magnitude of the cumulated number of eggs predicted by the DEB model for female sticklebacks during the breeding period were accurate, we compared the predictions to data provided from literature (Wootton 1973, Mori 1993). The simulations were made considering 100 random draws of $\{\dot{p}Am\}$ and ϕ and 100 scenarios of food per individual and considering the same breeding period (March to early July) than in Mori (1993).

Results

Mesocosm description

Table S1 gives the number of founder males and females used for the analysis and their observed length at the beginning and end of the experiments and Table S2 gives the population characteristics for both experiments. At the end of the experiments, founders were smaller in experiment 2 than in experiment 1 and males were smaller than females in both experiments. Furthermore, the estimated daily mortality probability was 0.21 % for female founders in both experiments and 0.31 % and 0.20 % for male founders in experiment 1 and 2 respectively.

Integration of the freshwater temperature in the DEB model

The differences in temperature measured by Temp5 and Temp15 were small between the four different mesocosms (SI Figure S1, 95% of inter-mesocosm differences were smaller than 2.4 %), thus the mean temperature recorded every 10 minutes respectively by all Temp5 and Temp15 for each experiment was kept for the following analyses.

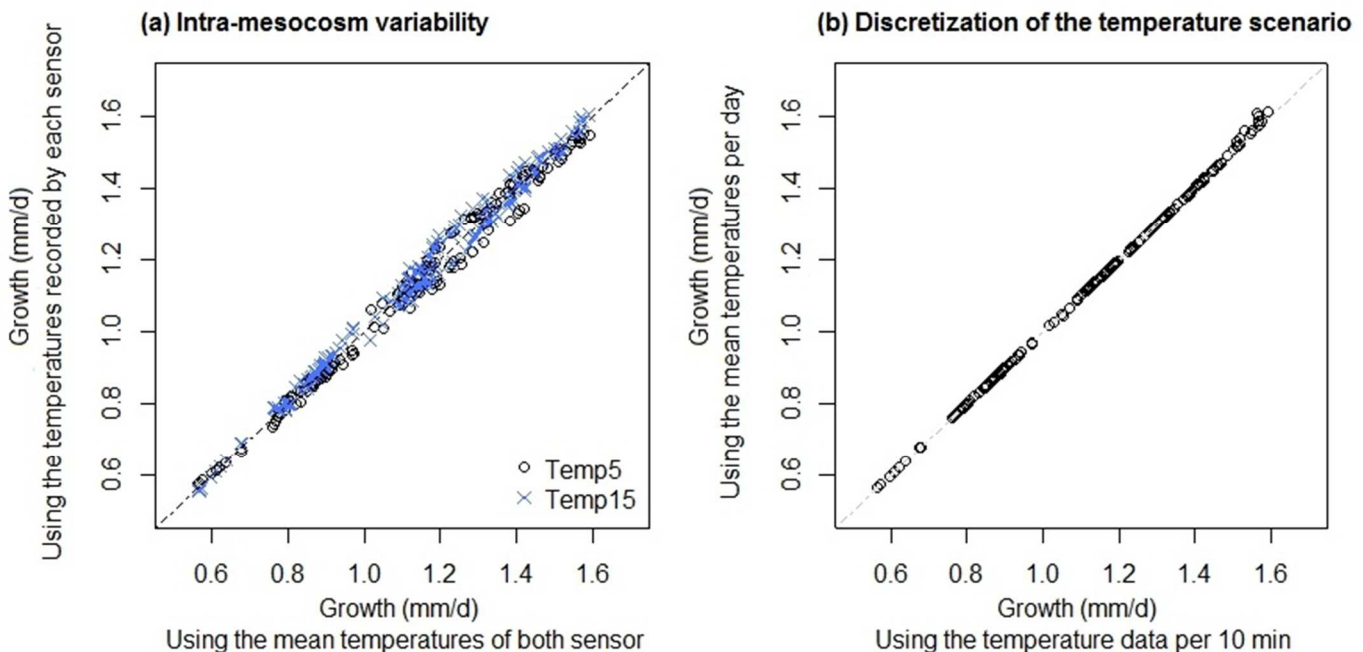


Figure 1. Growth predictions of DEB model using different observed data and time-steps to summarize the temperature scenario. (a) Growth predicted from the temperature recorded every 10 minutes by Temp5 (black circles) or by Temp15 (blue crosses) is compared to the growth predicted using the mean temperatures of both sensors. (b) Growth predictions from the temperature scenario defined by the mean of both sensors (Temp5 and Temp15) summarized using a time step of one day (mean per day) or all the data recorded (every 10 min). The growth (mm/d) per day is presented on these two graphics.

Concerning the intra-mesocosm variability of the temperature, the difference of temperature between Temp5 and Temp15 could reach up to 4°C during the summer period. The results of the simulations using the temperatures recorded every 10 minutes throughout time by Temp5, Temp15 or the mean temperatures of both sensor showed that the use of the mean temperatures would lead to an error of 5 % maximum on growth and reproduction. However, the error can reach 15 % if we only use the temperatures measured either in the surface water (Temp5) or in deeper water (Temp15) (Figure 1a, SI Figure S2).

Regarding the choice of time-steps for temperature to integrate in the model, Figure 1b shows that using the mean temperature per day led to 0.2% of mean error over the entire experiment on growth and reproduction with a maximum of 3% error occurring with the highest temperatures. The error was no larger using a step of 1 week to implement the temperatures (SI Figure S4). Furthermore, the simulation with the mean temperature over the entire experiment led to a good approximation of the mean growth and reproduction at the end of the experiment (error < 1%, data not shown).

Integration of the food samples in the model

Zooplankton, higher crustacea (*Gammarus* and *Asellus*), and a diptera family (*Chironomidae*) were among the most frequently found species in the gut contents of sticklebacks (SI Tables S9 and S10). Considering the abundance of these species, we calculated the total amount of available energy obtained from these preys in the mesocosms. Moreover, our uncertainty analysis on food data showed that for zooplankton, at each sampling date, the sampling methodology captures 80 % of abundances estimated with an error less than 25%, 18%, 15% and 11% for *Rotifera*, *Cladocera*, *Nauplii* and *Copepoda* respectively (SI Table S6, Figures S5 and S6). For macroinvertebrates, we considered that the uncertainty for *Gammarus pulex*, *Asellus aquaticus* and *Chironomidae* were the same as for *Stylaria lacustris* and were less than 40% in 80% of the cases (SI Table S8 and Figure S7).

Model calibration

For each calibration (DEB model, inter-individual-variability), the Gelman-Rubin index was smaller than 1.1 and the three Markov chains converged around the same value. Parameter values were close to the ones estimated during the last calibration (Leloutre et al.

2018). For male sticklebacks, the value of α' (0.111 ± 0.001 (-)) using mesocosm data was more important than the one obtained with laboratory data (0.082 ± 0.004). For the inter-individual variability, the coefficient of variation of $\{p_{Am}\}$ and φ were similar (0.054 ± 0.010 and 0.055 ± 0.010 respectively). All the estimated values for the parameters can be found in the Appendix.

Predictive capacity of the DEB model for growth in semi-natural conditions

Figure 2 shows the total amount of available energy and the resulting functional response f over the course of the experiments using the different hypotheses for food access. The energy provided by food in the mesocosms was lower in experiment 2 than in experiment 1 (Figure 2a). Using the hypothesis called “foraging behavior”, f fluctuated between 0.61 and 0.98 for experiment 2 whereas for experiment 1, f was close to 1. Using the hypothesis “equal food partition”, f was close to 1 for both experiments (Figure 2b).

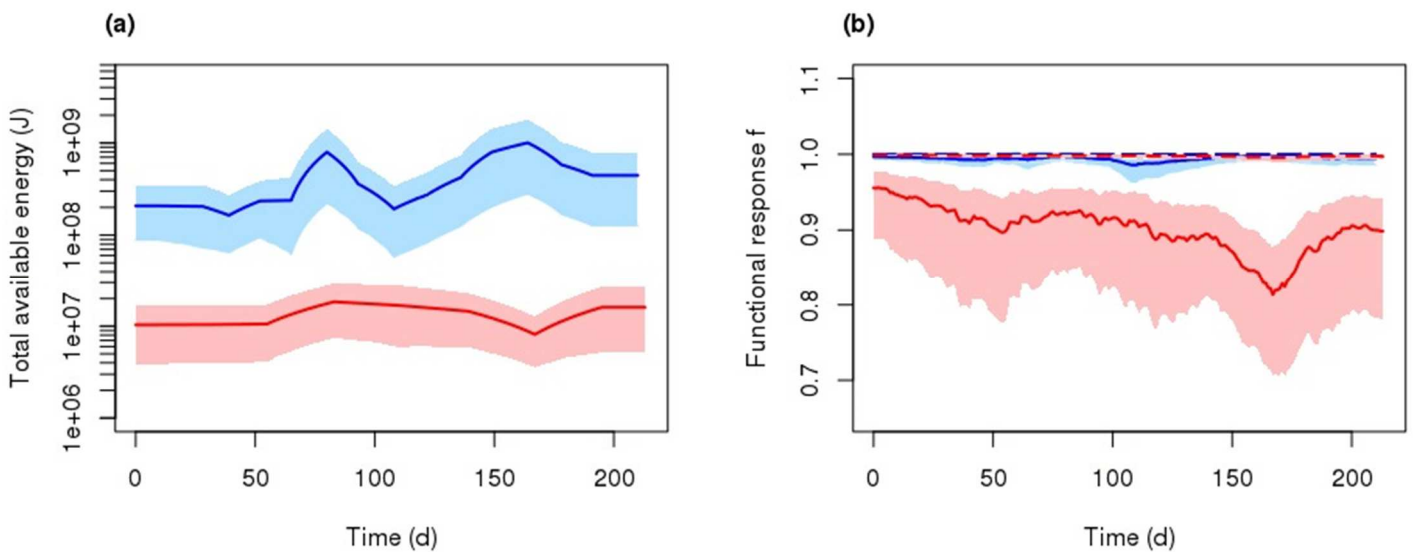


Figure 2. Total available energy from zooplankton and macroinvertebrates found in mesocosms (a) and the resulting scaled functional response f (b) of founder sticklebacks for experiment 1 (blue lines) and 2 (red lines). In graph b, the full lines are for the hypothesis “foraging behavior” and the dashed lines are for the hypothesis “equal food partition”. Light color zones correspond to the 95 % uncertainty interval.

Simulations considering that sticklebacks were fed ad libitum led to an overestimation of the length of the founders at the end of both experiments. The difference between the observations and predictions is particularly marked for experiment 2. Indeed the mean female

observed length is 56.14 mm against 62.93 mm for the mean predicted length (observed mean length outside the 95% prediction interval), resulting in an error of 12% (Figure 3a).

For females, the simulations including prey abundance and hypothesis “equal food partition” were not relevant as they gave the same results as when female sticklebacks were considered ad libitum (Figure 3b). Simulations considering the hypothesis “foraging behavior” were better for both experiments and the prediction error is reduced to 0.8 % for experiment 2 (Figure 3c): the observed mean female length was inside the 95% prediction interval.

Similarly, predictions for males were more accurate using the hypothesis “foraging behavior” for the food scenario. However, the predictions overestimated the mean length of the male founders by 4% at the end of both experiments (Figure 3c). The use of α' , accounting for the level of sexual dimorphism in mesocosms and calibrated with data from experiment 1, considerably improved the predictions (0.6% of error on the mean predicted length) for experiment 2 (Figure 3c).

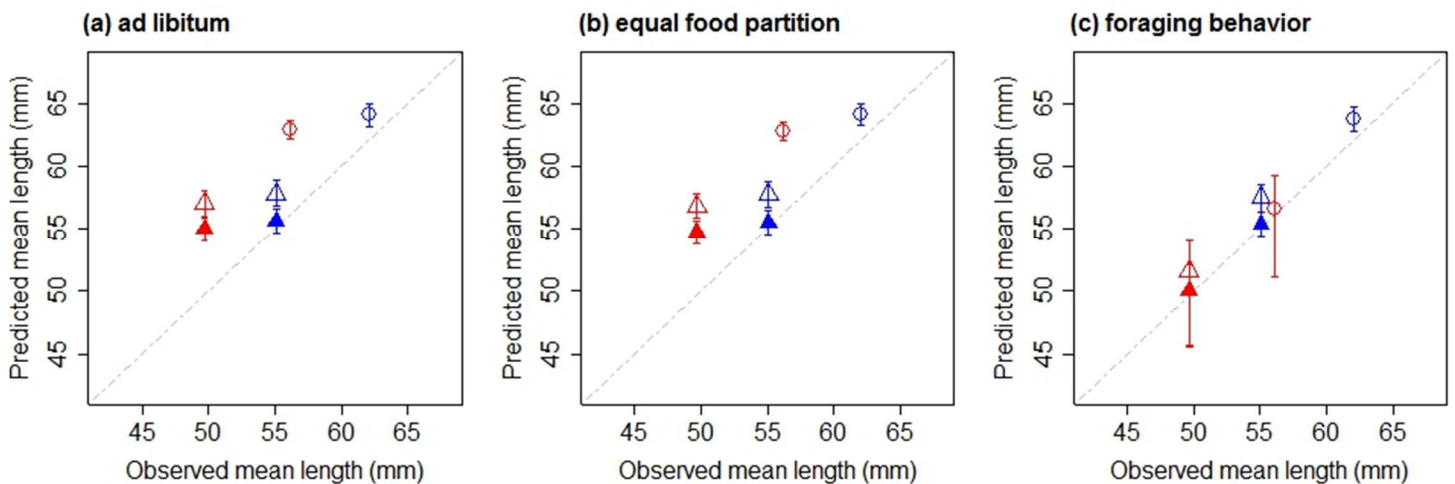


Figure 3. Predicted mean length at the end of the experiments considering that the founders were “ad libitum” (a) or assuming the hypotheses “equal food partition” (b) or “foraging behavior” (c). Blue symbols represent the predictions done for the experiment 1 and red symbols for the experiment 2. Circles represent the predictions for the females and triangles for males. Full symbols represent the simulations for males using the parameter α' , calibrated with mesocosm experiments. The error bars represent the 95% prediction interval computed from the posterior distributions of the DEB parameters and from the food uncertainty.

Finally, simulations of individual length of sticklebacks which only include the food uncertainty failed to predict the highest observed lengths of male and female founders (Figure 4a,b). However, the introduction of an inter-individual variability (here introduced on parameters $\{p_{Am}\}$ and ϕ) gave a relevant range of length at the end of experiments (Figure

4c,d) as the majority of the observed points were within the 95% prediction interval. The extreme points were also successfully captured.

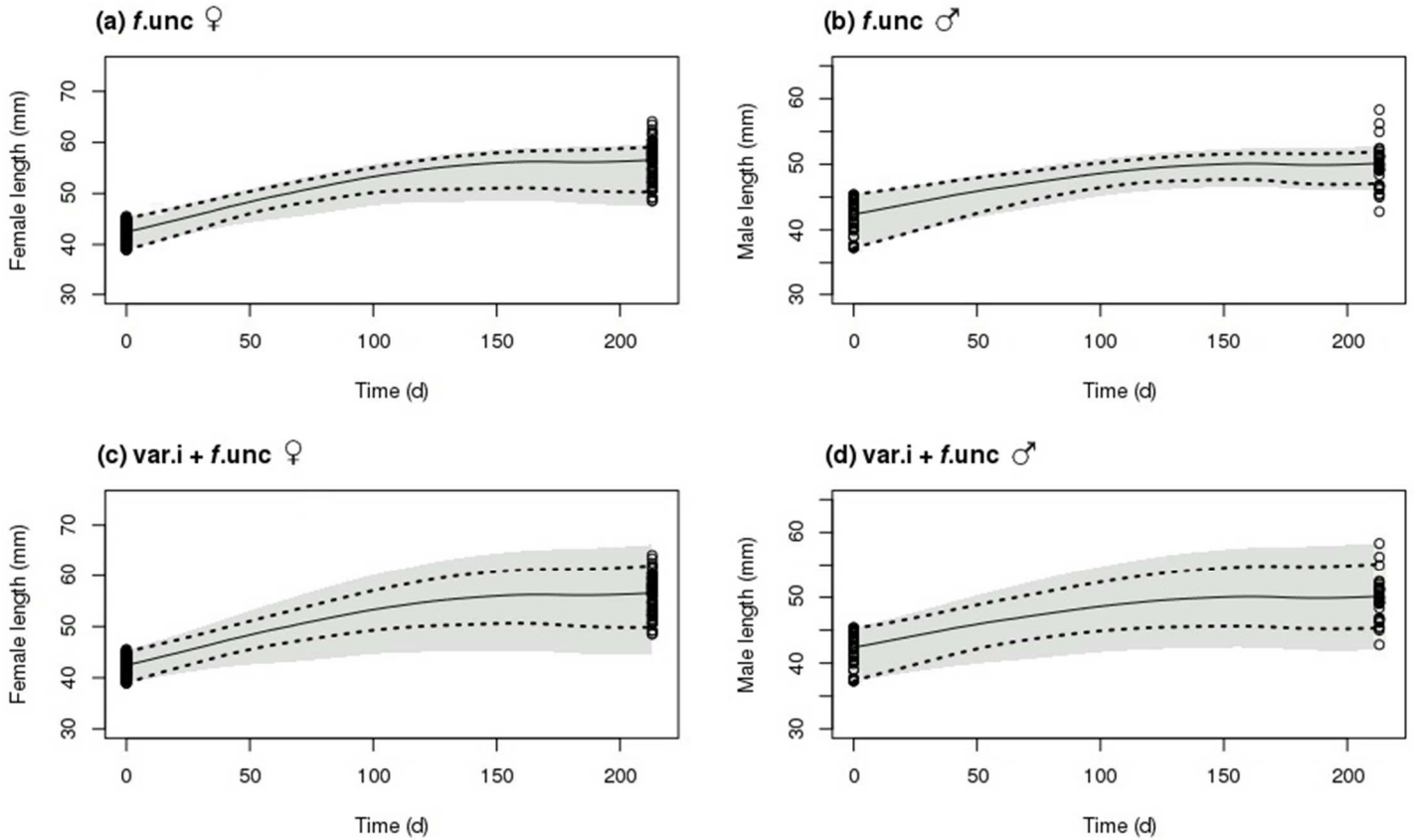


Figure 4. Predictions of the DEB model for the individual length of the founder females (a, c) and males (b, d) in experiment 2 with 100 scenarios of food (*f.unc*) and the hypothesis “foraging behavior” for the access to the food. Simulations were made without inter-individual variability (a, b), or considering the inter-individual variability (*var.i*) with 100 random draws of $\{pAm\}$ and ϕ (c, d). Simulations for males were made using the parameter α' , calibrated with mesocosm experiments. The black line represents the predicted mean length, dotted black lines represent the 95% prediction interval and grey zones represent the range of the predicted lengths. The points represent the observed lengths at the beginning and end of the experiment.

Predictive capacity of the DEB model for reproduction in semi-natural conditions

Figure 5 gives the cumulated number of eggs observed in field and laboratory and predicted by the DEB model for founder female sticklebacks. Simulations of our DEB model taking into account the hypothesis “foraging behavior” yielded an estimated number of eggs of 1093 ± 138 and 907 ± 92 for the period March to early July for experiments 1 and 2 respectively (Figure 5). Mori (1993) estimated that the cumulative number of eggs for females was of 940 eggs at the most for the same period. In the laboratory, the number of eggs can reach 2610 eggs in 13 weeks with a high feeding ration and decrease at 727 eggs with a low feeding ration (Wootton 1973).

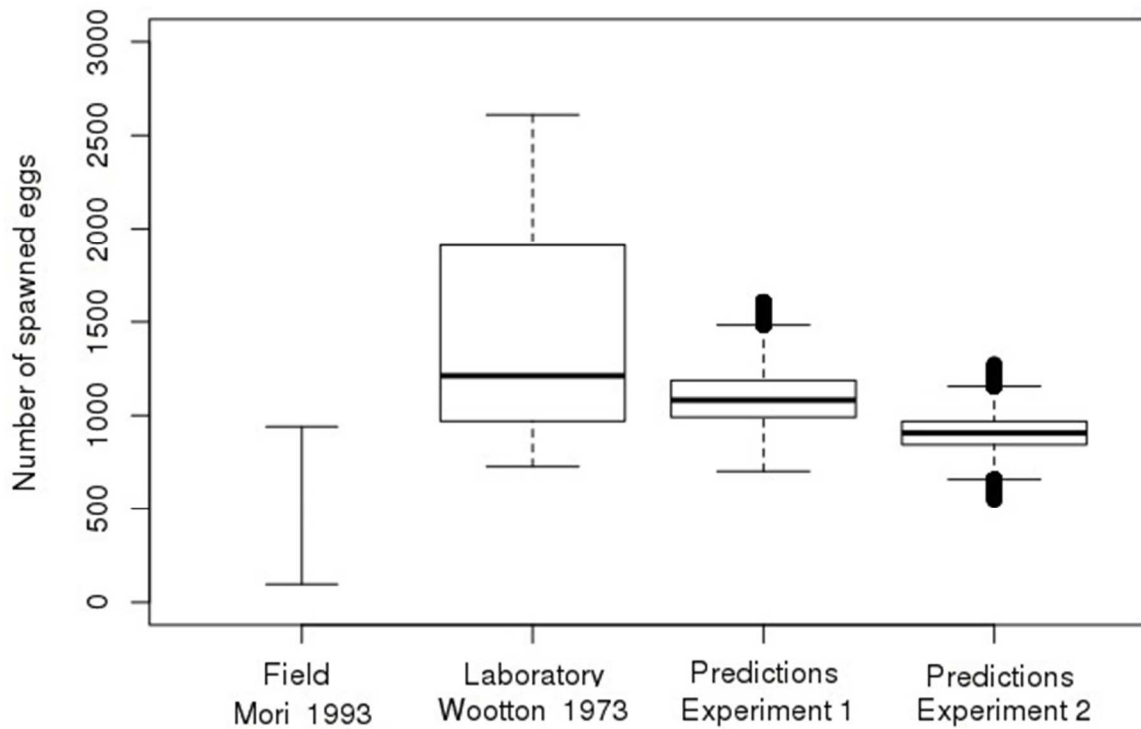


Figure 5. Number of spawned eggs predicted and reported in different studies. Field: estimations from Mori (1993) of the minimum and maximum of spawned eggs from field observations during four months. Laboratory: number of spawned eggs from 13-week experiments made by Wootton (1973) in laboratory with different amount of food. Experiments 1 and 2: Simulated number of spawned eggs considering the same period than in Mori (Beginning of March to early July).

Discussion

Mesocosm description

Mesocosm experiments provide great insight and understanding of ecosystems. During the mesocosm experiments, the daily mortality probability was more important for male sticklebacks than females in experiment 1. This higher mortality rate for males was expected because of their important parental care during the breeding season. Indeed, during the reproductive period, males have a lower prey encounter rate compared to females which are more mobile: Wootton (1972) explained that the amount of time spent at the nest for a male stickleback can reach up to 90% until hatchling emergence. Males are also more exposed to some risks (Moodie 1972, Whoriskey and Fitzgerald 1985) like predation. We did not find the same result for experiment 2 as male and female founders had about the same daily mortality probability. One may hypothesize that males in experiment 2 may have been less active than in experiment 1. Indeed, by definition, the environmental conditions (food density, photoperiod, freshwater temperature) of mesocosms vary between experiments and could

have induced a difference in investment in the reproduction processes of male sticklebacks (Borg 1982, Stanley and Wootton 1986).

Development of the temperature scenario

To consider temperature effects on the bioenergetic processes of sticklebacks, a focus on the temperature used for the simulations should be made. The habitat of sticklebacks is characterized by relatively shallow water (Kynard 1978, Mori 1994, Kraak et al. 1999). Inside each mesocosm, sticklebacks were observed in both upstream (-30 cm) and downstream (-70 cm) during the experiments. Given this intra-mesocosm variability, the temperatures recorded by both sensors (Temp5 and Temp15) could be relevant. Our study showed that the variations of temperature in the water column (surface vs depth) may strongly impact the DEB predictions. Thus, the location of the temperature sensor in the experiment should be set according to the ecology of the species of interest. For example, a bottom temperature may be more relevant to use for benthic species whereas the surface temperature would be more relevant for pelagic species. In our temperature scenario (Table S4), we decided to use the mean of both sensors as sticklebacks could be found in both locations.

Furthermore, the temperature regime in the mesocosm experiments corresponds to a small stream (1 m wide and 30 to 70 cm depth) with a relatively low water flow ($0.8 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$). The daily freshwater temperature fluctuations were mostly dependent on the atmospheric temperature. In a natural stream, the water temperature would also be depending on the distance from the source and the water flow, but usually the atmospheric conditions are the main drivers of the seasonal and diurnal temperature fluctuations (Caissie 2006). Therefore, integrating these temperature variations in the DEB model was also worthy of interest. However, our study showed that implementing the temperature fluctuations over time did not strongly improve the predictions. Hence, the choice of the temperature step to integrate in the model is not decisive and should be set in regard to the objective of the model and the computational costs. In our case, to reduce computational costs of the model while keeping temperature variations to assess the effects of both variations of environmental factors (*e.g.* temperature, food) on the predictions, we used the daily mean temperatures from both sensors for the temperature scenario (Table S4).

Development of the food scenario

The stickleback's diet has been extensively studied. We analyzed studies of freshwater populations of sticklebacks from Northern Europe to determine which prey were relevant for our food scenario. The importance of zooplankton, especially copepods, was described in Hynes (1950), Walkey (1967) and Allen and Wootton (1984) as well as for the sticklebacks raised in mesocosms (Tables S9 and S10). Higher crustacea as well as chironomids were also major elements of the diet in both the literature (Hynes 1950, Walkey 1967, Allen and Wootton 1984) and the mesocosm observations. Furthermore, seasonal variations of the gut content of sticklebacks have been identified but can be interpreted as changes in the food availability rather than seasonal shifts in food preferences of sticklebacks (Wootton 1984). As zooplankton and macroinvertebrate populations were sampled every four weeks, the presence of the preys in mesocosms was followed seasonally and was accounted for in the food scenario.

Among the range of possible prey, a selection of a preferred prey type by sticklebacks could be assumed. However, it has been shown that prey selection in sticklebacks is related to prey density. Indeed, when exposed to low food density environments, sticklebacks tend to be less selective and to eat less palatable prey types (Beukema 1968, Wootton 1984, Gill and Hart 1994). Consequently, we did not include any selection of prey type in the DEB model to leave the possibility to eat all available preys in case of limited food resources.

Relevance of the DEB model predictions for mesocosms

First, the fact that simulations considering that sticklebacks were fed ad libitum in the mesocosms led to an overestimation of the length of the founders at the end of both experiments was not surprising since organisms in their natural environment often have to face limiting resources. The importance of food limitation in DEB model predictions has already been described in literature (Peeters et al. 2010, Augustine et al. 2011, Jager and Zimmer 2012) and food level is also known to affect the growth of sticklebacks (Allen and Wootton 1982, Wootton 1984). Furthermore, the available energy provided by food in experiment 2 was low compared to experiment 1 (Figure 2a) and the observed length of the founders at the end of experiment was also lower than in experiment 1 (SI Table S1). This indicates that the sticklebacks were unlikely to have been feeding ad libitum during experiment 2. This example emphasizes the importance of considering the prey density in mesocosms even if such information is not straightforward to obtain and to handle.

Among the two hypotheses on the limitation of food, only the “foraging behavior” hypothesis led to good predictions of the mean length of founders for both experiments. However, the uncertainty of the predictions for experiment 2 was important but can be explained by the uncertainty of the f functional response which was also larger compared to experiment 1 (Figure 2b).

Finally, as the predictions for male sticklebacks were improved using the parameter α' , our study pointed out the effect of the environment on the sexual dimorphism between males and females. Indeed, during the spawning period, male sticklebacks establish and defend their territory, build a nest and take care of their eggs until hatchling emergence (Van Iersel 1953): the energy expenditure in parental care is considerable (Wootton 1994, Smith and Wootton 1999). This reproductive behavior was not reproduced during the laboratory experiments used for the calibration, which can explain the overestimation of male predicted lengths at the end of the experiment. We corrected this overestimation by recalibrating the parameter α on the mesocosm data resulting in an increased value. Therefore, assuming an increase in the energy allocation to the reproduction processes. The energy expenditure of male sticklebacks was the main reason for using a type R metabolic acceleration in the DEB model rather than a type A metabolic acceleration that would account for a difference in assimilation rates (Kooijman 2014). Indeed, a decrease of the assimilation rates of the food for mature males could explain the smaller length of males compared to females, however this would not have explained the highest energy expenditure of male sticklebacks that was observed thanks to respirometry measurements during parental behavior (Smith and Wootton 1999). One could also assume a mix of both approaches for males in reproduction (i.e. a difference in the allocation of energy coupled to a decrease of the assimilation rate), but additional laboratory or field observations on males during the breeding period would be required to explore this hypothesis.

The accuracy of the DEB model in predicting the reproduction of sticklebacks was also assessed as it can be affected by both temperature and food availability. Indeed, it has been shown that food levels can influence the number of spawned eggs (Wootton 1973, Wootton and Evans 1976). Temperature also has an effect, as an increased ambient temperature may disrupt the reproductive behavior of sticklebacks (Hopkins et al. 2010). Thermal conditions can affect sperm performance and fertilization success (Mehlis and Bakker 2014) Furthermore, increased temperature can affect the egg sizes in a clutch (Shama 2017) and disrupt the spawn frequency as shown in the field study of Hovel et al. (2016). As the design of mesocosm experiments does not allow accurate recording of the number of spawned eggs in the nests, we compared the model predictions for reproduction with literature data of

studies assessing the breeding system of the three-spined stickleback. Mori (1993) observed the reproduction of sticklebacks in field conditions during four months (March to early July). This author estimated that females spawned around 3.4 times and that the cumulative egg production during this period was of 940 eggs at the most. In laboratory, females had a higher spawning frequency (until 7.8 spawns per female) depending on the feeding ration (Wootton 1973) which strongly positively impacted the number of produced eggs. In mesocosms, the reproductive conditions were closer to the ones in natural field, therefore female sticklebacks were unlikely to spawn a high number of times. Thus, an order of magnitude of a thousand eggs during March to early July in mesocosms using the hypothesis “foraging behavior” was deemed to be reasonably consistent with the literature data.

Additional assumptions on the access to food resources may be required to predict physiological processes of juveniles or younger mature sticklebacks. Indeed, this study only focused on founder sticklebacks. Yet, founders are larger than the other fish in the mesocosms, thus they dominate them and are relatively unaffected by phenomena like competition during foraging (Gill and Hart 1996). However, the cohorts which were born during the experiments may be more sensitive to competition. Indeed, intraspecific competition is known to exert powerful selective forces on fishes (Ward et al. 2007). For example, the effects of density-dependence on growth resulting from intraspecific competition or predation were demonstrated for wild populations and *Danio rerio* (Lorenzen and Enberg 2002, Hazlerigg et al. 2012). Another point to note is that juvenile and adult stickleback have the same diet (Wootton 1984) but the mouth length of the early juvenile sticklebacks can limit the size of the prey they have access to (Hart and Gill 1992, Gill and Hart 1994). Thus, food availability should be reduced to small preys only. Finally, as not all sticklebacks may be mature at the same moment, it would be relevant to integrate an inter-individual variability on the DEB parameters related to the maturity as suggested by Kooijman (1989). Finally, we focus on stages when the organisms can assimilate food, and consequently, the relevance of the model predictions should be assessed for the specific stage of the embryo-larvae (Leloutre et al. 2018).

Further considerations for wild organisms

The lack of knowledge on parameter values for wild organisms is often one of the limits of DEB models for species of interest (Galic and Forbes 2017) but in this study we showed that changing the value of one parameter (α accounting for sexual dimorphism) was sufficient to

improve the predictions for semi-natural populations of sticklebacks. Thus, as a first approximation, a DEB model calibrated with laboratory experiments can be used to predict the physiological processes of an organism in field conditions, but users should keep in mind that some parameters, depending on the studied species, may need to be recalibrated with environmental data in order to improve the accuracy of the predictions. Concerning the inter-individual variability, the calibrated values of the coefficients of variation of $\{\hat{p}_{Am}\}$ and φ were consistent with the value of 0.05 suggested by Kooijman (1989) and gave good predictions of the range of stickleback lengths. Thus, this value may be used as a first approximation for predicting the inter-individual variability of wild populations.

Furthermore, our study suggests that the energy obtained from food can be calculated by using abundance data of the prey community. It implies that the diet of the species of interest should be well known which is the case for the three-spined stickleback (Hynes 1950, Walkey 1967, Allen and Wootton 1984) but can be delicate for other species. Particularly, the foraging behavior of the studied species should be well known in order to make assumptions on the access to food. Calculating the amount of available energy per water column can be a relatively simple solution applicable for species for which considering the food availability per volume of environment makes sense (Kooijman 2010). For other species for which food availability is most appropriately expressed in terms of biomass per surface area, alternative hypotheses on how to use data from prey samples should be tested.

Additional considerations should be made on the food distribution in natural ecosystems as prey distribution may vary spatially and temporally. Hence, the hypothesis of homogeneous repartition of food may not be relevant. Furthermore, patchily distributed resources may influence the behavior of the studied species. For example, Hansen et al. (2016) showed that when resources were patchy in space and time, sticklebacks tend to adopt joining foraging tactics to reduce both search times and the variance in finding food. Another point is that patchily distributed resources could induce a specific behavior of defense of food patches which has been widely observed in a range of both aquatic and terrestrial species (Taylor et al. 2016). Juvenile salmonids are a good example of this specific territorial behavior as it is only related to feeding purposes. Indeed, their territory size was shown to decrease with increasing food abundance suggesting that juvenile salmonids can adapt their foraging behavior in function of their environment (Grant et al. 2017). These aspects of ecology, food distribution as well as foraging strategies, may be of interest for the use of DEB models in a natural context as they could influence the amount of food organisms have access to.

Finally, the standard DEB model considers one type of food and assumes constant assimilation efficiency (Kooijman 2010). In our study, we consider different prey types and used the energy content per prey type found in literature to calculate the food density. However, there were no data to estimate differences on the assimilation efficiency depending on the prey types chosen for the food scenario. Moreover, the morphology and behavior of sticklebacks (Wootton 1994) was suggested to strongly affect the level of differences between the assimilation efficiency of two different types of prey. In our case, we had no argument to justify that there were any differences in assimilation efficiency of prey. Nevertheless, further studies should be made on this point as assimilation efficiency may be dependent on the type of prey in natural ecosystems and is likely to have significant implications for the use of standard DEB models for wild organisms. Furthermore, we used multiple food types to develop the food scenario. Especially, *Asellus aquaticus* were the most dominant species in the food scenarios for both experiments due to its high abundance in mesocosms and its relative high energy content. On the contrary, zooplankton species had the lower relative weight in the food scenarios. In the context of assessing fish population resilience to an environment change (*e.i.* climate change or toxic effect), considering different preys in the food scenario is important. Indeed, preys could be differently impacted by a stress which could lead to a shift in the food preferences of the fish. Thus, the effects on the fish population are not straightforward to predict.

In conclusion, this study showed that DEB models calibrated with laboratory experiments may be suitable to extrapolate laboratory data on standard organisms to wild populations, which is one of the challenges of current ecological modelling in the context of developing more relevant risk assessment and ecological management. Minimal assumptions on natural behavior of organisms were necessary to improve the predictions of the DEB model, and were mostly related to the foraging behavior. The study also showed that integrating reproductive behavior can strongly improve the predictions. Thus, this study addresses the concern of developing more relevant environmental scenarios and integrating important aspects of species biology and ecology for the use of DEB models in field conditions.

Acknowledgments

The authors wish to thank G. De Kermoisan and all other people who contributed to the success of the experiments. This study was supported by the 190 program of the Ministry of Ecology. The contribution of Benoit Goussen has been financed by Unilever (MA-2014-

00701). The authors also thank Cecilie Rendal, Geoff Hodges, and Ian Malcomber for their comments on the manuscript as well as two anonymous reviewers for their helpful suggestions for improvement. The present work is based on historical data and no experiments were performed as part of the present work.

References

- Allen, J. R. M. and Wootton, R. J. (1982). The effect of ration and temperature on the growth of the three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology*, 20, 409-422.
- Allen, J. R. M. and Wootton, R. J. (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. doi: 10.1111/j.1365-2427.1984.tb00158.x.
- Augustine, S., Gagnaire, B., Floriani, M., Adam-Guillermin, C. and Kooijman, S. A. (2011). Developmental energetics of zebrafish, *Danio rerio*. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, 159, 275-283. doi: 10.1016/j.cbpa.2011.03.016.
- Augustine, S., Litvak, M. K. and Kooijman, S. A. L. M. (2011). Stochastic feeding of fish larvae and their metabolic handling of starvation. *Journal of Sea Research*, 66, 411-418. doi: 10.1016/j.seares.2011.07.006.
- Beaudouin, R., Ginot, V. and Monod, G. (2012). Improving mesocosm data analysis through individual-based modelling of control population dynamics: a case study with mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Ecotoxicology*, 21, 155-164. doi: 10.1007/s10646-011-0775-1.
- Beaudouin, R., Goussen, B., Piccini, B., Augustine, S., Devillers, J., Brion, F. and Pery, A. R. (2015). An individual-based model of zebrafish population dynamics accounting for energy dynamics. *PLoS One*, 10, e0125841. doi: 10.1371/journal.pone.0125841.
- Beaudouin, R., Monod, G. and Ginot, V. (2008). Selecting parameters for calibration via sensitivity analysis: An individual-based model of mosquitofish population dynamics. *Ecological Modelling*, 218, 29-48. doi: https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2008.06.033.
- Bell, A. M. and Foster, S. A. (1994). *Introduction to the evolutionary biology of the threespine stickleback. The evolutionary biology of the threespine stickleback*. Oxford University Press. Chapter 1: 1-28.
- Beukema, J. J. (1968). Predation By the Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus Aculeatus L.*): the Influence of Hunger and Experience. *Behaviour*, 31, 1-125. doi: https://doi.org/10.1163/156853968X00018.
- Bois, F. Y. (2009). GNU MCSim: Bayesian statistical inference for SBML-coded systems biology models. *Bioinformatics*, 25, 1453-1454. doi: 10.1093/bioinformatics/btp162.
- Bois, F. Y., Jamei, M. and Clewell, H. J. (2010). PBPK modelling of inter-individual variability in the pharmacokinetics of environmental chemicals. *Toxicology*, 278, 256-267. doi: https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.06.007.
- Borg, B. (1982). Seasonal effects of photoperiod and temperature on spermatogenesis and male secondary sexual characters in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus L.* *Canadian Journal Of Zoology*, 60, 3377-3386. doi: 10.1139/z82-427.
- Boyle, T. P. and Fairchild, J. F. (1997). The role of mesocosm studies in ecological risk analysis. *Ecological Applications*, 7, 1099-1102.
- Caissie, D. (2006). The thermal regime of rivers: a review. *Freshwater Biology*, 51, 1389-1406. doi: 10.1111/j.1365-2427.2006.01597.x.
- Caquet, T., Lagadic, L. and Sheffield, S. R. (2000). Mesocosms in ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 165, 1-38.
- Cedergreen, N., Norhave, N. J., Svendsen, C. and Spurgeon, D. J. (2016). Variable Temperature Stress in the Nematode *Caenorhabditis elegans* (Maupas) and Its Implications for Sensitivity to an Additional Chemical Stressor. *PLoS One*, 11, e0140277. doi: 10.1371/journal.pone.0140277.

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

- de Kermoyan, G., Joachim, S., Baudoïn, P., Lonjaret, M., Tebby, C., Lesaulnier, F., Lestremau, F., Chatellier, C., Akrou, Z., Pheron, E., Porcher, J. M., Pery, A. R. and Beaudouin, R. (2013). Effects of bisphenol A on different trophic levels in a lotic experimental ecosystem. *Aquatic toxicology*, 144-145, 186-198. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.09.034.
- Forbes, V. E., Calow, P., Grimm, V., Hayashi, T. I., Jager, T., Katholm, A., Palmqvist, A., Pastorok, R., Salvito, D., Sibly, R., Spromberg, J., Stark, J. and Stillman, R. A. (2011). Adding Value to Ecological Risk Assessment with Population Modeling. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 17, 287-299. doi: 10.1080/10807039.2011.552391.
- Forbes, V. E., Salice, C. J., Birnir, B., Bruins, R. J. F., Calow, P., Ducrot, V., Galic, N., Garber, K., Harvey, B. C., Jager, H., Kanarek, A., Pastorok, R., Railsback, S. F., Rebarber, R. and Thorbek, P. (2017). A Framework for Predicting Impacts on Ecosystem Services From (Sub)Organismal Responses to Chemicals. *Environmental toxicology and chemistry*, 36, 845-859. doi: 10.1002/etc.3720.
- Galic, N. and Forbes, V. E. (2017). The role of Dynamic Energy Budget theory in predictive modeling of stressor impacts on ecological systems: Comment on: “Physics of metabolic organization” by Marko Jusup et al. *Physics of Life Reviews*, 20, 43-45. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plprev.2017.01.008>.
- Gelman, A., Meng, X. L. and Stern, H. (1996). Posterior predictive assessment of model fitness via realized discrepancies. *Statistica Sinica*, 6, 733-760.
- Gill, A. B. and Hart, P. J. B. (1994). Feeding behaviour and prey choice of the threespine stickleback, the interacting effects of prey size, fish size and stomach full. *Animal Behaviour*, 47.
- Gill, A. B. and Hart, P. J. B. (1996). Unequal competition between three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, L., encountering sequential prey. *Animal Behaviour*, 51, 689-698. doi: <https://doi.org/10.1006/anbe.1996.0072>.
- Goussen, B., Beaudouin, R., Dutilleul, M., Buisset-Goussen, A., Bonzom, J. M. and Pery, A. R. (2015). Energy-based modelling to assess effects of chemicals on *Caenorhabditis elegans*: a case study on uranium. *Chemosphere*, 120, 507-514. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.09.006.
- Goussen, B., Price, O. R., Rendal, C. and Ashauer, R. (2016). Integrated presentation of ecological risk from multiple stressors. *Scientific reports*, 6, 36004. doi: 10.1038/srep36004.
- Grant, J. W. A., Weir, L. K. and Steingrímsson, S. Ó. (2017). Territory size decreases minimally with increasing food abundance in stream salmonids: Implications for population regulation. *Journal of Animal Ecology*, 86, 1308-1316. doi: 10.1111/1365-2656.12737.
- Hansen, M. J., Ward, A. J. W., Fürtbauer, I. and King, A. J. (2016). Environmental quality determines finder-joiner dynamics in socially foraging three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 70, 889-899. doi: 10.1007/s00265-016-2111-5.
- Hart, P. J. B. and Gill, A. B. (1992). Constraints on prey size selection by the three-spined stickleback: energy requirements and the capacity and fullness of the gut. *Journal of Fish Biology*, 40, 205-218. doi: 10.1111/j.1095-8649.1992.tb02567.x.
- Hart, P. J. B. and Gill, A. B. (1994). *Evolution of foraging behaviour in the threespined stickleback. The evolutionary biology of the threespine stickleback*. Oxford University Press. Chapter 8: 207-236.
- Hazlerigg, C. R., Lorenzen, K., Thorbek, P., Wheeler, J. R. and Tyler, C. R. (2012). Density-dependent processes in the life history of fishes: evidence from laboratory populations of zebrafish *Danio rerio*. *PLoS One*, 7, e37550. doi: 10.1371/journal.pone.0037550.
- Hopkins, K., Moss, B. R. and Gill, A. B. (2010). Increased ambient temperature alters the parental care behaviour and reproductive success of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Environmental Biology of Fishes*, 90, 121-129. doi: 10.1007/s10641-010-9724-8.
- Hovel, R., M. Carlson, S. and P. Quinn, T. (2016). Climate change alters the reproductive phenology and investment of a lacustrine fish, the three-spine stickleback. *Global Change Biology*, 23, 2308-2320. doi: 10.1111/gcb.13531.
- Hovel, R. A., Beauchamp, D. A., Hansen, A. G. and Sorel, M. H. (2015). Development of a Bioenergetics Model for the Threespine Stickleback. *Transactions of the American Fisheries Society*, 144, 1311-1321. doi: 10.1080/00028487.2015.1079554.
- Hynes, H. B. N. (1950). The Food of Fresh-Water Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* and *Pygosteus pungitius*). *Journal of Animal Ecology*, 19, 36-58.
- Jager, T. and Zimmer, E. I. (2012). Simplified Dynamic Energy Budget model for analysing ecotoxicity data. *Ecological Modelling*, 225, 74-81.

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

- Jusup, M., Sousa, T., Domingos, T., Labinac, V., Marn, N., Wang, Z. and Klanjšček, T. (2017). Physics of metabolic organization. *Physics of Life Reviews*, 20, 1-39. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plrev.2016.09.001>.
- Kooijman, S. A. (2010). *Dynamic Energy Budget for metabolic organization*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Kooijman, S. A. L. M. (2014). Metabolic acceleration in animal ontogeny: An evolutionary perspective. *Journal of Sea Research*, 94, 128-137. doi: [10.1016/j.seares.2014.06.005](https://doi.org/10.1016/j.seares.2014.06.005).
- Kooijman, S. A. L. M., Van Der Hoeven, N. and Van Der Werf, D. C. (1989). Population Consequences of a Physiological Model for Individuals. *Functional Ecology*, 3, 325-336. doi: [10.2307/2389373](https://doi.org/10.2307/2389373).
- Kraak, S. B. M., Bakker, T. C. M. and Mundwiler, B. (1999). Sexual selection in sticklebacks in the field: correlates of reproductive, mating, and paternal success. *Behavioral Ecology*, 10, 696-706. doi: [10.1093/beheco/10.6.696](https://doi.org/10.1093/beheco/10.6.696).
- Kynard, B. E. (1978). Breeding Behavior of a Lacustrine Population of Threespine Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.). *Behaviour*, 67, 178-207.
- Leloutre, C., Péry, A. R. R., Porcher, J.-M. and Beaudouin, R. (2018). A bioenergetics model of the entire life cycle of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Ecology of Freshwater Fish*, 27, 116-127. doi: [10.1111/eff.12329](https://doi.org/10.1111/eff.12329).
- Lorenzen, K. and Enberg, K. (2002). Density-dependent growth as a key mechanism in the regulation of fish populations: evidence from among-population comparisons. *Proceedings Biological Sciences*, 269, 49-54. doi: [10.1098/rspb.2001.1853](https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1853).
- Mehlis, M. and Bakker, T. C. M. (2014). The influence of ambient water temperature on sperm performance and fertilization success in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Evolutionary Ecology*, 28, 655-667. doi: [10.1007/s10682-014-9707-x](https://doi.org/10.1007/s10682-014-9707-x).
- Moodie, G. E. E. (1972). Predation, natural selection and adaptation in an unusual threespine stickleback. *Heredity*, 28, 155-167.
- Mori, S. (1993). The Breeding System of the 3-Spined Stickleback, *Gasterosteus-Aculeatus* (Forma-Leiura) with Reference to Spatial and Temporal Patterns of Nesting Activity. *Behaviour*, 126, 97-124. doi: [10.1163/156853993x00362](https://doi.org/10.1163/156853993x00362).
- Mori, S. (1994). Nest site choice by the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* (form leiurus), in spring-fed waters. *Journal of Fish Biology*, 45, 279-289. doi: [10.1111/j.1095-8649.1994.tb01307.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1994.tb01307.x).
- OECD (2006). Guidance document on simulated freshwater lentic field tests. OECD, Environment and Directorate. Paris. 53: 37.
- Peeters, F., Li, J., Straile, D., Rothhaupt, K.-O. and Vijverberg, J. (2010). Influence of low and decreasing food levels on *Daphnia*-algal interactions, numerical experiments with a new dynamic energy budget model. *Ecological Modelling*, 22, 2642-2655. doi: [10.1016/j.ecolmodel.2010.08.006](https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2010.08.006).
- Plummer, M., Best, N., Cowles, K., Vines, K., Sarkar, D., Bates, B. and Almond, R. (2016). coda: Output Analysis and Diagnostics for MCMC.
- Roussel, H., Joachim, S., Lamothe, S., Palluel, O., Gauthier, L. and Bonzom, J. M. (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. doi: [10.1016/j.aquatox.2007.02.018](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.02.018).
- Shama, L. N. S. (2017). The mean and variance of climate change in the oceans: hidden evolutionary potential under stochastic environmental variability in marine sticklebacks. *Scientific reports*, 7, 8889. doi: [10.1038/s41598-017-07140-9](https://doi.org/10.1038/s41598-017-07140-9).
- Smith, C. and Wootton, R. J. (1999). Parental energy expenditure of the male three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology*, 54, 1132-1136. doi: [10.1006/jfbi.1999.0940](https://doi.org/10.1006/jfbi.1999.0940).
- Soubeyrand, S., Beaudouin, R., Desassis, N. and Monod, G. (2007). Model-based estimation of the link between the daily survival probability and a time-varying covariate, application to mosquitofish survival data. *Mathematical biosciences*, 210, 508-522. doi: [10.1016/j.mbs.2007.06.005](https://doi.org/10.1016/j.mbs.2007.06.005).
- Stanley, B. V. and Wootton, R. J. (1986). Effects of ration and male density on the territoriality and nest-building of male three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.). *Animal Behaviour*, 34, 527-535. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(86\)80121-X](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(86)80121-X).
- Taylor, D. E. F., Cownden, D. and Webster, M. M. (2016). Sticklebacks show consistent prey share hierarchies within but not between patchy and sequential prey distributions. *Journal of Zoology*, 300, 137-141. doi: [10.1111/jzo.12350](https://doi.org/10.1111/jzo.12350).
- Thomas, G. (1974). The influences of encountering a food object on subsequent searching behaviour in *Gasterosteus aculeatus* L. *Animal Behaviour*, 22, 941-952.

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

- Van Iersel, J. J. A. (1953). An Analysis of the Parental Behaviour of the Male Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus Aculeatus* L.). *Behaviour. Supplement*, III-159.
- Walkey, M. (1967). The ecology of *Neoechinorhynchus Rutili*. *The Journal of Parasitology*, 53, 795-804.
- Ward, D. M., Nislow, K. H., Armstrong, J. D., Einum, S. and Folt, C. L. (2007). Is the shape of the density-growth relationship for stream salmonids evidence for exploitative rather than interference competition? *Journal of Animal Ecology*, 76, 135-138. doi: 10.1111/j.1365-2656.2006.01169.x.
- Whoriskey, F. G. and Fitzgerald, G. J. (1985). The effects of bird predation on an estuarine stickleback (Pisces: Gasterosteidae) community. *Canadian Journal Of Zoology*, 63, 301-307. doi: 10.1139/z85-046.
- Wootton, R. J. (1972). The Behaviour of the Male Three-Spined Stickle-Back in a Natural Situation. *Behaviour*, 41, 232-241.
- Wootton, R. J. (1973). The effect of size of food ration on egg production in the female three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Journal of Fish Biology*, 5, 89-96. doi: 10.1111/j.1095-8649.1973.tb04433.x.
- Wootton, R. J. (1973). Fecundity of the three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology*, 5, 683-688.
- Wootton, R. J. (1984). *A Functional Biology of Sticklebacks*. University of Sheffield, England.
- Wootton, R. J. (1994). *Energy allocation in the threespine stickleback. The evolutionary biology of the threespine stickleback*. Oxford University Press. Chapter 5: 114-143.
- Wootton, R. J. and Evans, G. W. (1976). Cost of Egg-Production in 3-Spined Stickleback (*Gasterosteus-Aculeatus*-L). *Journal of Fish Biology*, 8, 385-395. doi: 10.1111/j.1095-8649.1976.tb03967.x.

Appendix

Table. Mode and standard deviation of the *a posteriori* parameters of the DEB model calibrated with laboratory or mesocosm experiments

Parameter	Prior	Posterior Mode	Posterior SD	Unit	Definition	Calibration data
δ_M	N(0.25, 0.025)	0.250	0.014	-	Shape coefficient	Laboratory
E_0	N(8, 1)	5.61	0.388	J	Initial reserve	Laboratory
E_H^b	N(0.675, 0.3)	1.33	0.134	J	Cumulated energy invested in maturity at birth	Laboratory
E_H^p	N(1000, 250)	442	154	J	Cumulated energy invested in maturity at puberty	Laboratory
$\{\dot{p}_{Am}\}$	N(1.5, 0.5)	2.42	0.262	J/mm ² /d	Maximum surface area specific assimilation rate	Laboratory
\dot{v}	N(1.25, 0.5)	1.33	0.084	mm/d	Energy conductance	Laboratory
κ	N(0.7, 0.1)	0.757	0.016	-	Specific fraction of energy mobilized from energy from reserved allocated to growth and somatic maintenance	Laboratory
α	U(0, 1)	0.082	0.004	-	Fraction subtracted from κ to obtain κ in males after maturity	Laboratory
L_{egg}	N(0.55, 0.05)	0.563	0.050	mm	Size of primordial cell in physical length	Laboratory
$[\dot{p}_M]$	N(0.07, 0.1)	0.111	0.017	J/mm ³ /d	Volume specific somatic maintenance costs	Laboratory
$[E_G]$	N(5.2, 2.5)	1.10	0.183	J/mm ³	Cost of synthesis of a unit of structure	Laboratory
\dot{k}_j	N(0.002, 0.1)	0.003	0.004	/d	Maturity maintenance rate	Laboratory
k_R	N(0.95, 0.1)	0.978	0.052	-	Reproduction efficiency	Laboratory
φ	N(17, 1.7)	15.31	1.65	J/mm ²	Proportional factor to be fed ad libitum for a given day	Laboratory
T_{max}	-	25	-	°C	Water temperature above which consumption ceases	Hovel et al. (2015)
C_Q	-	3	-	-	Rate at which the function increases over low temperatures	Hovel et al. (2015)
T_{opt}	-	23	-	°C	Optimal water temperature	Hovel et al. (2015)
α'	U(0,1)	0.111	0.001	-	Fraction subtracted from κ to obtain κ in males after maturity	Mesocosm
CV_Phi	TruncN(0.05, 0.01, 0.01, 1.4)	0.054	0.010	-	Coefficient of variation of φ	Mesocosm
CV_Pam	TruncN(0.05, 0.01, 0.01, 1.4)	0.055	0.010	-	Coefficient of variation of $\{\dot{p}_{Am}\}$	Mesocosm

I.3. Synthèse sur l'application de la théorie DEB à des épinoches en mésocosme

Nous avons validé l'utilisation du modèle DEB pour prédire les processus physiologiques des fondateurs des populations d'épinoches à trois épines en mésocosme. 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 individu-centré. 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. Ainsi, le paramètre du modèle DEB responsable du dimorphisme sexuel a dû être recalibré entraînant une allocation plus importante de l'énergie à la reproduction. 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.

D'autre part, négliger les phénomènes de compétition alimentaire pour les fondateurs est une hypothèse acceptable puisque ceux-ci sont largement dominants dans les mésocosmes. En revanche, cette hypothèse n'est *a priori* pas valable pour les épinoches nées dans les rivières artificielles. En effet, pour celles-ci, les phénomènes de compétition alimentaire intra et inter-cohortes sont susceptibles d'impacter considérablement leur accès à la nourriture et donc leur énergie assimilée (utilisée en entrée du modèle DEB). De plus, le comportement alimentaire, et notamment le type de proie prédaté, peut être différent au stade juvénile et au stade adulte.

En conclusion, 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. De plus, pour prendre en compte les interactions entre les épinoches à trois épines en mésocosme, imbriquer notre modèle DEB à un IBM est une solution prometteuse (Beaudouin et al. 2012, Martin et al. 2013, Beaudouin et al. 2015, Jusup et al. 2017). En revanche, bien que des DEB-IBMs relativement simples (juxtaposition de plusieurs modèles DEB) se soient montrés pertinents pour reproduire des populations expérimentales vivantes dans les conditions standardisées de laboratoire (Martin et al. 2013), il est néanmoins nécessaire de modéliser l'écologie et le comportement des individus (comportement alimentaire, de reproduction) pour décrire des populations vivantes en conditions naturelles ou semi-naturelles (en mésocosme) (Beaudouin et al. 2012). En effet, ceux-ci peuvent considérablement impacter les processus physiologiques des organismes et les interactions entre les individus et l'environnement. Dans la partie suivante, nous

présenterons donc le développement de notre DEB-IBM pour les épinoches à trois épines vivantes en mésocome.

II. Modélisation individu-centrée pour prédire la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en mésocosme en condition témoin

L'objectif du développement de notre DEB-IBM a été d'estimer le plus précisément possible les lois de distribution des variables descriptives des populations d'épinoches à trois épines des mésocosmes de l'Ineris (Beaudouin et al. 2012, Beaudouin et al. 2017). En effet, les expériences en mésocosme sont restreintes à un faible nombre de réplicats (3 réplicats). Ainsi, tout l'enjeu du développement et de la calibration de notre DEB-IBM est de pouvoir obtenir que les lois de distribution simulées des variables descriptives des populations d'épinoches à trois épines soient vraisemblables par rapport aux observations faites en mésocosme (forme, paramètres de position et de variabilité). La simulation des trajectoires des dynamiques de population des épinoches à trois épines en conditions témoins devrait ainsi permettre d'améliorer l'analyse des données de mésocosmes et mettre en évidence les potentiels effets des substances chimiques.

Pour développer un tel modèle, nous avons utilisé plusieurs jeux de données indépendants et provenant de différentes expériences en mésocosme afin de calibrer et d'évaluer les prédictions du modèle. En effet, deux expériences en mésocosme où aucune substance chimique n'avait été testée ont notamment été réalisées (de Kermoysan 2013). Ces deux expériences nous ont permis d'avoir des connaissances solides sur les dynamiques de population des épinoches en condition témoin et avec des conditions écologiques différentes (expériences réalisées à deux années différentes). De plus, nous avons utilisé des jeux de données provenant de trois expériences en mésocosme où des substances chimiques ont été testées pour évaluer le modèle. Pour cela, nous n'avons conservé que les données issues des mésocosmes contrôles.

Nous avons également réalisé un cas théorique d'application de ce modèle en évaluation des risques environnementaux afin d'en montrer son potentiel. Par simulation d'effets de toxiques hypothétiques, nous avons essayé de quantifier l'intérêt du modèle pour diminuer le nombre de faux négatifs lors de l'analyse statistique des expériences en mésocosme. Pour cela, nous avons comparé la technique d'analyse statistique couramment utilisée pour les expériences en mésocosme (test ANOVA suivi d'un test post'hoc de Dunnet) avec une analyse basée sur la distribution simulée des variables descriptives des populations témoins (test de Kolmogorov–Smirnov).

Enfin, une dernière étape d'exploration de notre modèle à l'aide de jeux de données obtenus présentant des dynamiques de population originales a été réalisée. Cette étape visait à mettre en évidence les limites de notre DEB-IBM et les éléments modélisés pouvant éventuellement être améliorés. La compréhension des phénomènes impliqués dans les dynamiques de population restant difficile à appréhender dans leur globalité, cette étape semble essentielle avant l'utilisation de notre modèle pour analyser les effets d'un stress chimique sur ces dynamiques.

II.1. Développement du DEB-IBM, calibration et évaluation de ses capacités prédictives (Article 2)

Le développement du DEB-IBM, la calibration, l'évaluation et un cas théorique d'application du modèle sont présentés dans un article intitulé « *Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model* », publié dans la revue *Ecological Modelling* en 2019 (<https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.02.008>). Le matériel supplémentaire est disponible en Annexe 2.

Résumé : L'élaboration de modèles de dynamique de population présente un grand intérêt, car ces modèles permettent d'extrapoler la toxicité observée au niveau moléculaire ou individuel au niveau de la population et d'améliorer ainsi l'évaluation des effets des substances chimiques dans l'environnement. À cette fin, il est nécessaire de prendre en compte les variations naturelles des conditions environnementales et la dynamique des proies, ainsi que le stress chimique. Dans cette étude, un DEB-IBM a été développé afin de prédire la dynamique de population d'épinoches à trois épines dans des expériences en rivière artificielle (mésocosme) en condition contrôle (sans contaminant). Plusieurs jeux de données obtenus dans ces mésocosmes offrent la possibilité de développer et d'évaluer les prédictions du modèle.

Le modèle a été rigoureusement analysé à l'aide de plusieurs analyses de sensibilité locales et globales afin d'identifier les paramètres les plus influents sur les sorties du DEB-IBM. Ces paramètres ont ensuite été calibrés à l'aide de jeux de données provenant de deux expériences indépendantes en mésocosme. Afin d'évaluer la pertinence du DEB-IBM pour décrire les dynamiques de population des épinoches à trois épines en mésocosme, ses capacités prédictives ont été évaluées à l'aide de trois jeux de données d'expériences en mésocosme

présentant différents scénarios environnementaux. Enfin, notre modèle a été appliqué à un cas théorique d'effets toxiques afin d'en montrer son potentiel pour analyser des données écotoxicologiques d'expériences en mésocosme. En particulier, nous avons comparé deux méthodes statistiques pour analyser les résultats d'expériences en mésocosme, la première se basant sur les tests classiques utilisés en écotoxicologie et la seconde sur l'utilisation de notre DEB-IBM en condition contrôle.

Alors que certains processus (en particulier la compétition pour les ressources alimentaires) dans le DEB-IBM pourraient être modélisés plus précisément, notre modèle peut déjà servir à évaluer les impacts des substances toxiques au niveau de la population en améliorant les analyses des expériences en mésocosme et en réduisant l'incertitude des résultats expérimentaux. Par conséquent, dans un deuxième temps, il pourrait être utilisé pour prédire les conséquences sur la viabilité d'une population exposée à un contaminant dans divers scénarios d'environnement et d'exposition.

Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model

Viviane David^{1,2}, Sandrine Joachim², Cleo Tebby¹, Jean-Marc Porcher², Rémy Beaudouin^{1,2}

¹ Unit of Models for Ecotoxicology and Toxicology (METO), INERIS, 60550 Verneuil en Halatte, France. Tel: +33344618238; e-mail: remy.beaudouin@ineris.fr

² UMR-I 02 SEBIO, INERIS, Parc ALATA, BP2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France

Abstract. Developing population models is of great interest as these models enable to extrapolate toxicity observed at the molecular or individual levels to the population level, and thus improve environmental risk assessment of chemical substances. For this purpose, accounting for natural variations of environmental conditions and prey dynamics along with the chemical stress is needed. In this study, an individual-based model (IBM) coupled to a Dynamic Energy Budget (DEB) model was developed in order to predict three-spined stickleback population dynamics in semi-controlled stream experiments (in mesocosms). Datasets obtained in mesocosms offer the opportunity to develop and evaluate the model predictions. The most sensitive parameters of the DEB-IBM were identified by sensitivity analyses and were calibrated based on data from two independent mesocosm experiments. The predictive capacities of our model were subsequently evaluated using three independent mesocosm datasets under different environmental scenarios. Finally, our model was applied to a theoretical case of toxic effects to show an example of application of the model in a regulatory context. While the most uncertain population processes (in particular, competition for food in mesocosms) in our three-spined stickleback DEB-IBM could be modelled more accurately, our model can already serve to assess the impacts of toxicants at the population level by improving the analyses of mesocosm experiments, in decreasing the uncertainty of the experimental results. Therefore, in a second step, it could be used to predict the consequences on viability of a population exposed to a contaminant under various environmental and exposure scenarios.

Key words: Individual-based model, bioenergetics, three-spined stickleback, mesocosm, risk assessment

1. Introduction

In a regulatory context, predicting chronic exposure and effects of pollutants on aquatic ecosystem endpoints is of a great interest (Adams, 2002; Ruden et al., 2016). However, as ecosystems are dynamic entities which exhibit a complex network of interactions among organisms and between organisms and their environment, current ecological risk assessment approaches often fail to predict toxicant effects accurately on population and ecosystem endpoints (Adams, 2002). Indeed, toxicant effects are mainly studied at an individual level and extrapolation towards a higher level of organization is often too simplistic (Forbes et al., 2017). Ecological risk assessment should be a comprehensive and integrated approach able to assess toxicant impacts in complex ecosystems. In particular, a focus should be made on the bottom-up and top-down processes that occur in aquatic ecosystems and make risk assessment a challenge (Galic et al., 2010).

For this purpose, ecological modeling has been suggested as a relevant tool to improve the understanding of ecosystem functioning and interactions between biocenosis and biotope. Indeed, the potential of models towards enhancing ecological realism in current risk assessment is increasingly recognized (Beaudouin et al., 2015; Forbes et al., 2011; Forbes et al., 2017; Galic et al., 2010; Grimm et al., 2017). Furthermore, individual-based modelling (IBM) has demonstrated its ability to predict population dynamics by modelling the interactions between individuals and their environment (Grimm and Railsback, 2005). Furthermore, including individual energy budgets in IBMs was suggested to be essential for realistic modelling of populations affected by food availability (Sibly et al., 2013). In particular, in risk assessment, among the different existing approaches for energy budgets, embedding a Dynamic Energy Budget (DEB) model (Kooijman, 2010) into an IBM is a convenient way of extrapolating impacts of toxicants from organism to population level (Beaudouin et al., 2012a; Beaudouin et al., 2015; Martin et al., 2013) thus providing considerable insight into the possible range of effects of chemicals (Galic et al., 2017).

Although demand for DEB-IBMs in ecotoxicology is rising, special attention should be paid to their outcomes so that the models may be relevant tools for risk assessment and decision-making. Indeed, the model should be able to accurately predict real-world ecosystem and the population properties, under a variety of environmental conditions (food availability and seasonal variations of the environment) without chemical stress. Unfortunately, the predictive capacities of DEB-IBMs are rarely evaluated, because there are rarely enough data to both calibrate and evaluate these models. Furthermore, detailed and accurate comparisons between simulations and observations often require a sound knowledge of the population

characteristics (size of the population, sex, length of the individuals, data on the state of maturity, etc.); these data are often scarce because multiple samplings in the same environment are costly, logistically difficult and time-consuming.

Mesocosm experiments are of a great interest because they are a convenient tool to perform high tier ecotoxicological studies (i.e. studies performed at the population level or higher) (EFSA, 2013). Among species used for mesocosm studies, fish species are of a specific interest for assessing impacts of contaminants in the environment (van der Oost et al., 2003). Specifically, the teleost fish three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) is one of the fish species that can be used in mesocosms (OECD, 2006). This species is native of the Northern Hemisphere and its ecology and biology have been well studied (Bell and Foster, 1994; Wootton, 1984). Moreover, effects of toxicants have been studied both in laboratory and mesocosms on stickleback individuals and populations (de Kermoyan et al., 2013a; Maunder et al., 2007; Naslund et al., 2017; Roussel et al., 2007). Mesocosm experiments have the advantage of mimicking the complexity of a natural ecosystem by exhibiting a high level of biological organization (Caquet, 2002; Caquet et al., 2000) and they can provide interesting datasets for developing ecological models. However, these studies are mostly performed using few replicates and exhibit an important variability of the results due to the natural variability inherent of high levels of biological organization (EFSA, 2013; Sanderson, 2002). Consequently, these experiments are characterized by a low statistical power when comparing the control and the chemical-exposed populations which could be improved by using IBMs (Beaudouin et al., 2012b).

Consequently, developing an IBM to predict the stickleback population dynamics in mesocosm would help to analyze the ecotoxicological experiment, and offers the opportunity to evaluate an ecological model later applied to risk assessment. An IBM has recently been developed for sticklebacks in field conditions (Mintram et al., 2018) to predict endocrine disruption. However, this model does not integrate some ecological factors like photoperiod, water temperature, and food availability, nor a bioenergetic model which would describe physiological processes at the organism level. Hence, as suggested by the authors, a more mechanistical approach which would take into account interactions between the effect of a toxicant and ecological factors would help to improve the realism of the IBM predictions.

In this paper, we developed a DEB-IBM to predict three-spined stickleback population dynamics in mesocosms. We used this model to analyze data from mesocosm experiments that included relevant information on the environmental conditions (food density, temperature and photoperiod). The predictive capacities of our model were assessed by calibrating and

evaluating it on several independent datasets of mesocosm experiments. In this study, we showed how individual-based modeling can provide realistic simulated population dynamics in mesocosms. Furthermore, to illustrate usage in a risk assessment context, we used our model to assess the impacts of hypothetical toxicants on stickleback population dynamics in mesocosm experiments.

2. Material and methods

2.1. Mesocosm experiments.

2.1.1. Experimental design.

Five independent experiments from 2010 to 2014 with an identical protocol were performed using artificial streams of 20-m long and 1-m wide, located in the North of France (INERIS, Verneuil-en-Halatte, France). The two first mesocosm experiments (2010 and 2011) were conducted with 9 and 8 replicates of mesocosms respectively whereas experiments performed in 2012, 2013 and 2014 were conducted with 3 replicates. The same experimental design was used for each experiment. A detailed description is given in de Kermoysan et al. (2013a). Briefly, the same protocol of species introduction was used for each experiment. Each mesocosm was set up with sediments, macrophytes and macroinvertebrates between October and December. The experiments started in March when 15 females and 10 male sticklebacks with homogenous length (See Appendix Part I.1.2. Tables A.1 and A.2) were introduced (after called the founders). The sex identification of the founders was performed with the model developed by de Kermoysan et al. (2013b). Founders were individually marked with 1.2 mm x 2.7 mm alphanumeric tags (VI Alpha Tags, Northwest Marine Technology, Shaw Island, WA, USA).

The different species as well as the physico-chemical parameters of the environment varied naturally throughout the experiments and the freshwater temperature and stickleback prey abundances were monitored over time. Water temperature was recorded every 10 minutes by two temperature sensors (HOBO0257, Prosensor, Amanvilliers, France) placed in the surface at 5 m from the inlet of water and at 15 m at a water depth of 70 cm. Macroinvertebrates were sampled every four weeks by specific sampling devices, *i.e* tubes, tiles or mesocosm walls. Zooplankton were also sampled every four weeks with a Perspex tube of 5 cm in diameter and 0.8 m in height (See David et al. (2018) for more details on temperature measurements and prey samplings).

Mesocosms were emptied in October and fish were killed by an overdose of MS-222 and stored in 4% formalin before being individually measured and weighed. Fish shorter than 26

mm in length were assumed to be immature and thus classified as juveniles (de Kermoisan et al., 2013a). Sexes of fish longer than 26 mm were determined by visual observations. The ethics committee of the National Institute of Industrial Environment and Risks (INERIS) approved all the experiments performed and described in this manuscript.

2.1.2. Descriptive variables of the stickleback populations.

The descriptive variables of each fish population at the end of the experiments were the population abundance (N.tot), female and juvenile frequencies (F.F and F.J) and the mean lengths and coefficients of variation of the lengths of five categories of individuals, male and female founders (L.M.C00, L.F.C00, CV.M.C00, CV.F.C00) males and females born in the mesocosms (L.M.CXX, L.F.CXX, CV.M.CXX, CV.F.CXX), and juveniles (L.J, CV.J). Finally, observations of gonad maturity of males (immature vs mature) were also made and the frequency of mature males among the total number of males (F.M.m) was calculated as well as the mean length of mature males and the coefficient of variation of their lengths (L.M.m and CV.M.m). Observed endpoint values for each year can be found in Appendix Part I.1.3. Tables A.3 and A.4.

2.2. DEB-IBM description.

The DEB theory is based on a mathematical description of the energy fluxes within the organism. It describes the rates at which the organism assimilates energy from food and uses it for maintenance, growth and reproduction. Rates of ingestion and allocation depend on body size and temperature (Kooijman, 2010). Individual-based modelling simulates population dynamics by describing the interactions between individuals as well as with their environment (Grimm and Railsback, 2005). Our DEB-IBM description follows the ODD (Overview, Design concepts, Details) protocol (Grimm et al., 2010). The detailed description of the Design concepts, initialization, input data and submodels are provided in Appendix Part II.1. The model was implemented under Netlogo 6.0.2 and the script of the model is provided in Appendix Part IV.

2.2.1. Purpose.

The DEB-IBM was developed to predict three-spined stickleback population dynamics in mesocosm experiments. To this end, the model includes relevant information about the environment (i.e. temperature, photoperiod and prey dynamics). The DEB model was previously developed with laboratory data on life history traits of three-spined sticklebacks (Leloutre et al., 2018) and validated for founder sticklebacks in mesocosms (David et al., 2018). The objective of the model is to help improve current risk assessment of chemicals, by improving the analyses of mesocosm experiments (Beaudouin et al., 2012b).

2.2.2. Entities, state variables, and scales.

The model is based on daily timesteps and the simulated mesocosm is a channel of 20 m² based on the mesocosm surface areas at INERIS); the depth is not taken into account.

The model includes two entities, individuals and environment. Individuals are divided into three categories, juveniles, female and male adults. Individuals are characterized by variables describing their physiology in terms of sex, length, mass, energetic processes, maturity and reproductive states. The eggs and larvae are not explicitly modelled as individuals because they still use their energy from their yolk sac and thus do not assimilate food. However, they are taken into account in the reproduction processes: the eggs, larvae and nests are modelled as a whole entity and are represented as an attribute of males.

The second entity in the model, environment, is defined by three main variables, temperature, photoperiod and mesocosm food density. These variables are updated daily from the data recorded during the experiments. Briefly, temperature and food scenarios were respectively defined daily from the freshwater temperature measurements (averaged per day and per location of the sensors) and the prey samplings (abundance data converted into energy) made in mesocosms using the same framework than in David et al. (2018). Daily photoperiod data were from the Astronomical Applications Department of the U.S. Naval Observatory (http://aa.usno.navy.mil/data/docs/Dur_OneYear.php). Figures A.1 and A.2 present the inputs for each of the five years and details are given in Appendix Part I.1.1.

2.2.3. Process overview and scheduling.

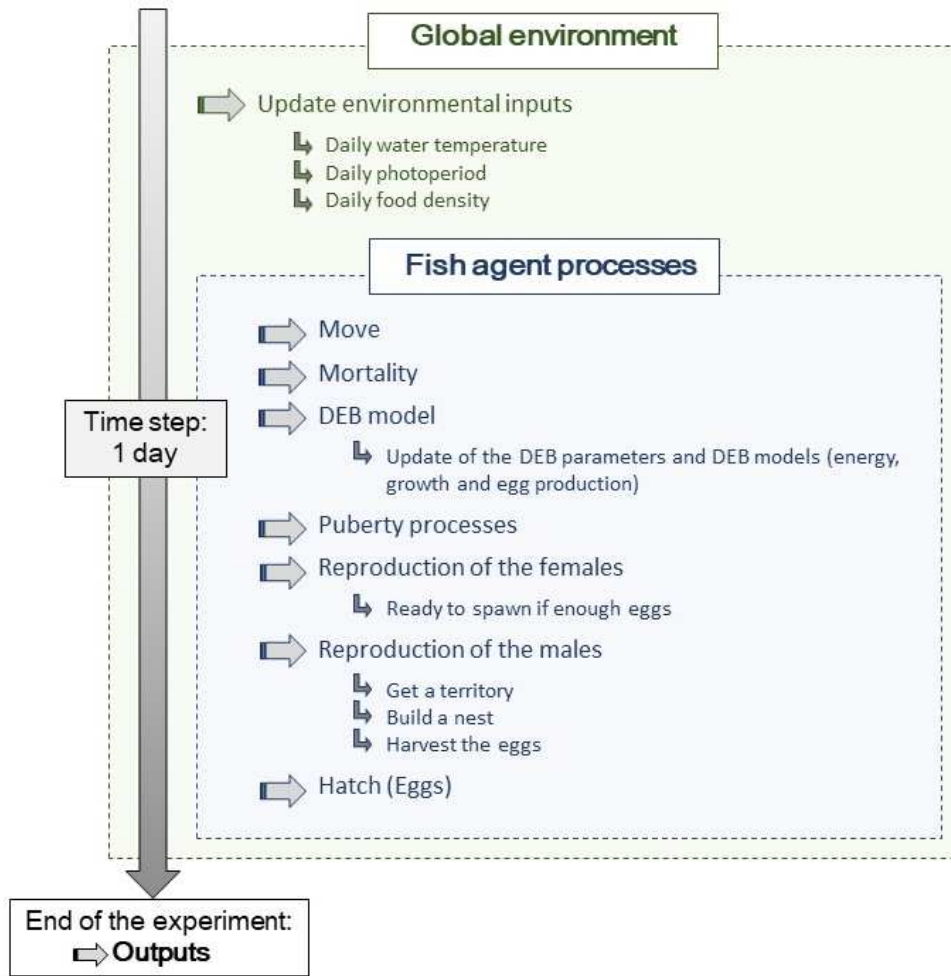


Figure 1. Conceptual diagram of the overall scheduling of events within one timestep in the DEB-IBM

Full details of all processes and the associated equations (Eq. (A.1) to (A.16)) can be found in the ODD protocol provided in Appendix Part II.1. Figure 1 presents the overall scheduling of events within one timestep. At each timestep, the environment global variables are updated (temperature, photoperiod and food density) followed by the fish variables (see Figure 1, “global environment” box). Individuals can move in their environment (Figure 1, “move”) and their growth, energy for maturity and reproduction dynamics are described by the individual DEB models (Figure 1, “DEB model”). To introduce inter-individual variability, the $\{pAm\}$, φ , E_H^p and E_H^b DEB parameters are individual-specific and are lognormally distributed as suggested by Kooijman et al. (1989) and explained in Appendix Part I.1.1.

The amount of food foraged depends on the individual predation distance (R_{ref} and L_{ref} parameters), on the prey size an individual has access to (a_{food} , b_{food} , $ratio_f$), and on the boldness of males ($Bold.M$). Competition for food is modeled taking into account the total fish biomass and modulates the intake of energy from food (K_{dens} , a_{Kdens}) (see Table 1).

When they reach 26 mm-long, juveniles are classified as males or females as in the experimentally collected data. Sexual maturity of the individuals is predicted by the DEB model (Figure 1, “puberty processes”). Furthermore, when males have mature gonads, they need to accumulate enough energy to support the reproduction processes. Then, reproduction processes are modelled for females based on the clutch sizes they can produce and the fraction of eggs they can spawn in a nest (Figure 1, “reproduction of the females”). The reproductive behavior of males is more complex (Figure 1, “reproduction of the males”) as they must defend a territory if enough space is available, build a nest, attract females, harvest eggs and take care of them until hatching (Wootton, 1984). Each nest has a daily probability to be destroyed. Males can make several nests until the end of the breeding period. Besides the season, the end of the reproduction processes for males also depends on the number of successful nests (Mori, 1993). At the end of the incubation period in the nest, the number of surviving larvae determines the number of newly created juveniles (Figure 1, “hatch”). Individuals can die due to the temperature- and density-dependent stochastic mortality sub-model (Figure 1, “mortality”). Finally, inter-mesocosm variability is included on the mortality and the food density and inter-annual variability is included on one parameter responsible for competition for food. The simulations run for the same length of time as the real mesocosm experiments and the DEB-IBM simulation outputs are the endpoints monitored in the mesocosm experiments (see 2.1.2).

Table 1.Parameter names, values, units and descriptions of the IBM.

Parameter	Description	Value	Unit	Equation	References
Reproduction parameters					
Photop.Thr	Minimum day duration for beginning of breeding period	11.305	h		de Kermoysan. 2013
Breeding.Period	Duration of the breeding period	117.23	d		Fitted on population data
Adult.Thr	Minimum length for fish sex determination	26	mm		de Kermoysan. 2013
L0	Standard length of juveniles at hatching	5.72	mm		de Kermoysan. 2013
L_mat_founder	Standard length of mature fish for the equations	33.01	mm		de Kermoysan. 2013
a_R.max	Parameter for calculation of the clutch size depending on female length	5.37	1/mm	A.10	Laboratory observations
b_R.max	Parameter for calculation of the clutch size depending on female length	16.8	-	A.10	Laboratory observations
P.OL	Survival probability of eggs	0.936	-		Poulin & FitzGerald. 1989; Mori. 1987; Santos. 2013; Kynard. 1978
A.clutch.max	Maximal duration females keep eggs	2	d		Wootton. 1984
Proba.Stop	Probability of stopping the reproduction processes for a male	0.09	-		Fitted on population data
Part_Rmax	Fraction of eggs laid by a female	0.703	-		de Kermoysan. 2013
a_Nb.Egg	Parameter in relationship between maximum number of eggs in a nest and male length	58.8	-	A.11	Laboratory observations
b_Nb.Egg	Parameter in relationship between maximum number of eggs in a nest and the male length	-437	-	A.11	Laboratory observations
Time_harvest_mean	Harvest mean duration for males	12.7	%		Kraak et al 1999
Time.Acc	Length of time for male founder sticklebacks to acclimate to their new environment	-7	degree/d		Laboratory observations
Female_Select	Number of females that can spawn in a given nest	4	-		Van Iersel 1953 ; Moodie. 1972 ; Wootton 1984
Time_Dvpt_Eggs	Duration of egg development	6.9	degree/d		de Kermoysan. 2013
R_min	Minimal energy for males to support the reproduction processes	1586.56	J		Smith 1992
R_diff	Length of time between two breeding periods	11.14	degree/d		Fitted on population data
A.territori.min	Minimal territory size for a male	0.226	m ²		van den Assem 1967; Candolin & Voigt. 2001; Mori. 1987
Gamma.Compete	Competition parameter for getting a territory	0.15	-		Rowland. 1994
Food parameters					
a_food	Parameter in Length - Mouth size relationship	0.297	-	A.4	Fitted on population data
b_food	Parameter in Length - Mouth size relationship	-0.743	mm	A.4	Fitted on population data
ratio_f	Ratio prey size/mouth size	0.6	-	A.5	Gill & Hart. 1994
K_dens	Parameter of density dependence for the food	8702.2	mg/m ²	A.8	Fitted on population data
a_Kdens	Parameter of density dependence for the food	0.437	-	A.8	Fitted on population data
R_ref	Reference radius in calculation of the radius of the water column	57.60	mm	A.3	Fitted on population data
L_ref	Reference length in calculation of the radius of the water column	23.54	mm	A.3	Fitted on population data
Bold.M	Percentage of boldness for males during foraging	0.17	-		Fitted on population data
Survival parameters					
m_dens	Parameter for density dependent mortality	0.0000086	-	A.16	Fitted on population data
mr	Malus for the survival of males in reproduction	0.000856	-		Laboratory observations
Mu	Natural mortality rate at unit weight	0.00323	1/d	A.15	Laboratory observations
bN	Allometric scaling factor	- 0.0516	1/d	A.15	Laboratory observations
DP50_m	50% of the density dependence	4000	mg/m ²	A.13	Laboratory observations
M.nn	Daily mortality of the nests	0.0191	-		Laboratory observations
a_t	Parameter in mortality rate - temperature relationship	3.54	-	A.14	Laboratory observations
b_t	Parameter in mortality rate - temperature relationship	-90.8	-	A.14	Laboratory observations
P.Dest.nid	Probability of a nest being destroyed after an attack	0.01	-	A.12	Laboratory observations
Variability parameters					
cv	Inter-individual variability	0.061	-		Fitted on population data
CV.c_M	Coefficient of variation of the mortality (inter-mesocosm variability)	23.92	%		Fitted on population data
CV.c_F	Coefficient of variation of the food (inter-mesocosm variability)	14.94	%		Fitted on population data
Year-dependent parameters					
Inter-annual variability for K_dens	Year 2010Year 2011Year 2012Year 2013Year 2014	0.9741.0260.7590.6280.724			

Laboratory observations mean that data are from observations or previous experiments made on sticklebacks in INERIS (See Appendix Part I.3. Figures A.3 to A.6).

2.3. Sensitivity analysis.

In order to highlight the parameters affecting the most the model outputs, and to prepare the calibration process, local and global sensitivity analyses of the IBM were conducted. A sensitivity analysis for the DEB model had already been performed in Leloutre et al. (2018). For the IBM, a local sensitivity analysis was first performed using 5 % variation on the parameters in order to assess the direct effects of the parameters on the model outputs according to the method described in Ginot et al. (2006). To account for the interactions between parameters, a sensitivity analysis using the Morris method was also performed (Morris, 1991). In case of complex models, this method allows to sort the factors according to their influence using a specific exploration process. This method is described in Beaudouin et al. (2015). Briefly, 80 trajectories were carried out using 30 replicates of each set of parameters (see Appendix Part II.2.2.). Finally, the variance-based Sobol method (Saltelli et al., 2010; Sobol' et al., 2007) was used to obtain detailed information on the interactions between the most important parameters that had been identified previously using the local and Morris sensitivity analysis. The Sobol method was performed with 10 % variation on the parameter values.

2.4. Model calibration.

Calibration of the DEB model had already been performed with laboratory experiments in Leloutre et al. (2018) and the relevance of the model for predicting the physiological processes of founder sticklebacks was presented in David et al. (2018). Values and descriptions of the DEB parameters is given in Appendix Part II.3. Table A.6. Only one DEB parameter representing energy at puberty (J) was refitted to better predict the maturity of males in mesocosms. Calibration of the population model was an iterative process using a genetic algorithm available within the software BehaviorSearch (Grimm and Railsback, 2005). The distance to minimize was the weighted sum of least squares (WLS) between the predictions and the observations of the endpoints of the population (Eq. 1).

$$WLS = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(Sim_i - \mu_{obs_i})^2}{\sigma_{obs_i}^2} \quad (\text{Eq. 2})$$

With n the number of observed outputs, Sim_i the value of the simulated outputs, μ_{obs} the mean of the observed outputs and σ_{obs} the standard deviation of the observed outputs.

Uncertainty range of the parameters to calibrate were specified based on the parameter values either from the literature (see Table 1) or from historical laboratory experiments on three-spined sticklebacks performed at INERIS (De Kermoisan, 2013); they are provided in Appendix Part II.3. Table A.7. When necessary, ratios between parameters were introduced to cope with collinearity. The parameters for the generic algorithm were 0.01, 100, 0.7, 3 respectively for the mutation rate, the population size, the crossover rate and the tournament size. The model was calibrated on two datasets obtained in control mesocosms (experiments 2010 and 2011, 9 and 8 populations respectively) joined together, thus the final function to minimize was the sum of the WLS for both years. The parameters with the higher impacts on the outputs according to the sensitivity analyses were calibrated. Five independent calibrations were performed, final parameters values were kept when less than 5% of variations in parameter values between the independent calibrations was found.

Finally, after the mean dynamics of the populations were calibrated, the inter-mesocosm variability was calibrated. To this purpose, the CV of the food scenarios and the mortality (see Table 1) were calibrated minimizing the weighted sum of least squares (WLS) between the predictions (CV of the outputs calculated on 100 simulations) and the observations of the CV of the outputs for both experiments. To assess the relevance of the calibration, the comparison of the predicted distributions of the descriptive variables of the stickleback population in mesocosms to the observed data for both years was made using a Kolmogorov–Smirnov test.

A focus was made on the data used for the calibration. Indeed, when the mesocosms were emptied, the recovery rate of the fry was lower than for other fish size classes due to multiple factors such as small length and cannibalism after collection. However, they represent a small fraction of the population (2.2 and 8.0 % of the population monitored in 2010 and 2011 respectively). We therefore excluded data relative to juveniles shorter than 15 mm to reduce the uncertainty linked to this specific class size during the calibration process.

2.5. Model evaluation.

The predictions of the model were assessed for three independent datasets (experiments 2012, 2013 and 2014) by comparing the observed and predicted values of the descriptive variables of the stickleback populations at the end of the experiments. 1000 model simulations were run for each year of experiments and were compared to the observed endpoints in mesocosms (in three replicates). The parameter values were the same in each simulation; the distributions of the descriptive variables of the populations is a result of the stochasticity of the model.

2.6. Model application to analyze mesocosm experiment

In order to demonstrate added values of the DEB-IBM in a context of mesocosms and risk assessment, we simulated mesocosm experiments testing hypothetical stressors that impact the physiological processes of sticklebacks and used the model to simulate the control distributions of the population endpoints for these experiments.

We tested the five DEBtox classical modes of action of toxicants (Billoir et al., 2008) but we chose the one with the strongest impacts on the model outputs: the so-called “synthesis cost impact” where reproduction and growth are both impacted by an increase of the cost of synthesis of a unit of structure $[E_G]$ (Eq. 2). We presented another hypothetical toxicant which impacts directly the basal mortality $M.n$ (Eq. 3) to model effects on survival.

$$[E_G]_t = \frac{[E_G]}{(1-s(C_t))} \text{ with } 0 < s(C_t) < 1 \quad (\text{Eq. 3})$$

$$M.n_t = \frac{M.n}{(1-s(C_t))} \text{ with } 0 < s(C_t) < 1 \quad (\text{Eq. 4})$$

With C_t the toxicant concentration and $s(C_t)$ the stress level.

These two modes of action were tested separately. The toxicant concentration C_t at time t was modeled to lead to a stress level $s(C_t)$ which we integrated in the model. The tested values for the stress level $s(C_t)$ ranged from 0 to 0.9 with an increment of 0.1. Inputs of year 2013 were used for the simulations. The stress levels of the toxicants during the simulation were modeled as constant.

As the experimental mesocosm platform comprises 12 artificial streams, one control and three chemical concentrations can be tested with three replicates per condition. To be representative of this experimental design, we designed hypothetical 1000 mesocosm experiments by simulating the population endpoints with three replicates of population per dose and three doses were kept leading to a stress level of 0.2, 0.5 and 0.8.

Then we compared two statistical methods to assess the toxicant effects on the population endpoints. First, the data in contaminated mesocosms was compared to the data in control conditions as usually made in mesocosm experiments (de Kermoyan et al., 2013a). This comparison was performed for each population endpoint at each concentration level with three replicates per condition using a Dunnett’s post hoc test (hereafter referred as the classical methodology).

Secondly, the DEB-IBM was used to simulate the distribution of the control endpoints with 1000 simulations. Then, each population endpoint at each concentration level (with three replicates) was compared to the estimated distribution of the endpoints in control conditions

using a Kolmogorov–Smirnov test (hereafter referred to as the methodology based on the estimation of the control endpoint distributions). Thus, the data collected in the control conditions of the mesocosm experiment would therefore not be used in this comparison.

We used both methodologies to determine the lowest observed effect concentrations (LOECs) for each endpoint. The level of significance for the tests was 5%.

3. Results

3.1. Sensitivity analysis.

The local sensitivity analysis showed that the parameters that influenced the most the endpoints at the end of experiments were a parameter related to the male reproduction processes (Breeding.Period), the optimal temperature for the individual bioenergetic processes (CTO) and parameters related to the food: parameters determining the foraged water column volume (L_ref, R_ref), the prey size according to the mouth size (a_food, b_food, ratio_f) and the impact of the population density on the food availability (Appendix Part II.2.1. Figure A.7).

Based on the Morris sensitivity analysis (Appendix Part II.2.2. Figure A.8), we analyzed the importance of the different parameters on the outputs. Regarding population abundance, m_dens was clearly the most influential parameter. Regarding mean lengths and coefficients of variation, the parameters related to the food (R_ref, L_ref, a_food, b_food) and to a lesser degree K_dens, as well as parameters involved in male reproduction processes (R_diff, Proba.Stop) were the most influential parameters. Regarding the frequencies of females and juveniles, all parameters mentioned above were influent. These parameters presented both important means and standard deviations meaning that they have an overall strong influence on the outputs and present non-linear effects or strong interactions with other parameters.

Based on the local and Morris sensitivity analyses, the ten most influent parameters were prioritized for calibration: the density-dependent mortality (m_dens), the time between two reproduction events, the breeding period and the probability of stopping the reproduction processes for males (R_diff, Breeding.Period and Proba.Stop) as well as the food parameters (R_ref, L_ref, a_food, b_food, K_dens and a_Kdens). We also added two other parameters in the calibration: the inter-individual variability because it was only calibrated for founder sticklebacks in mesocosms (David et al., 2018) and the parameter Bold.M responsible for the boldness of males in a foraging context as we had no information in literature.

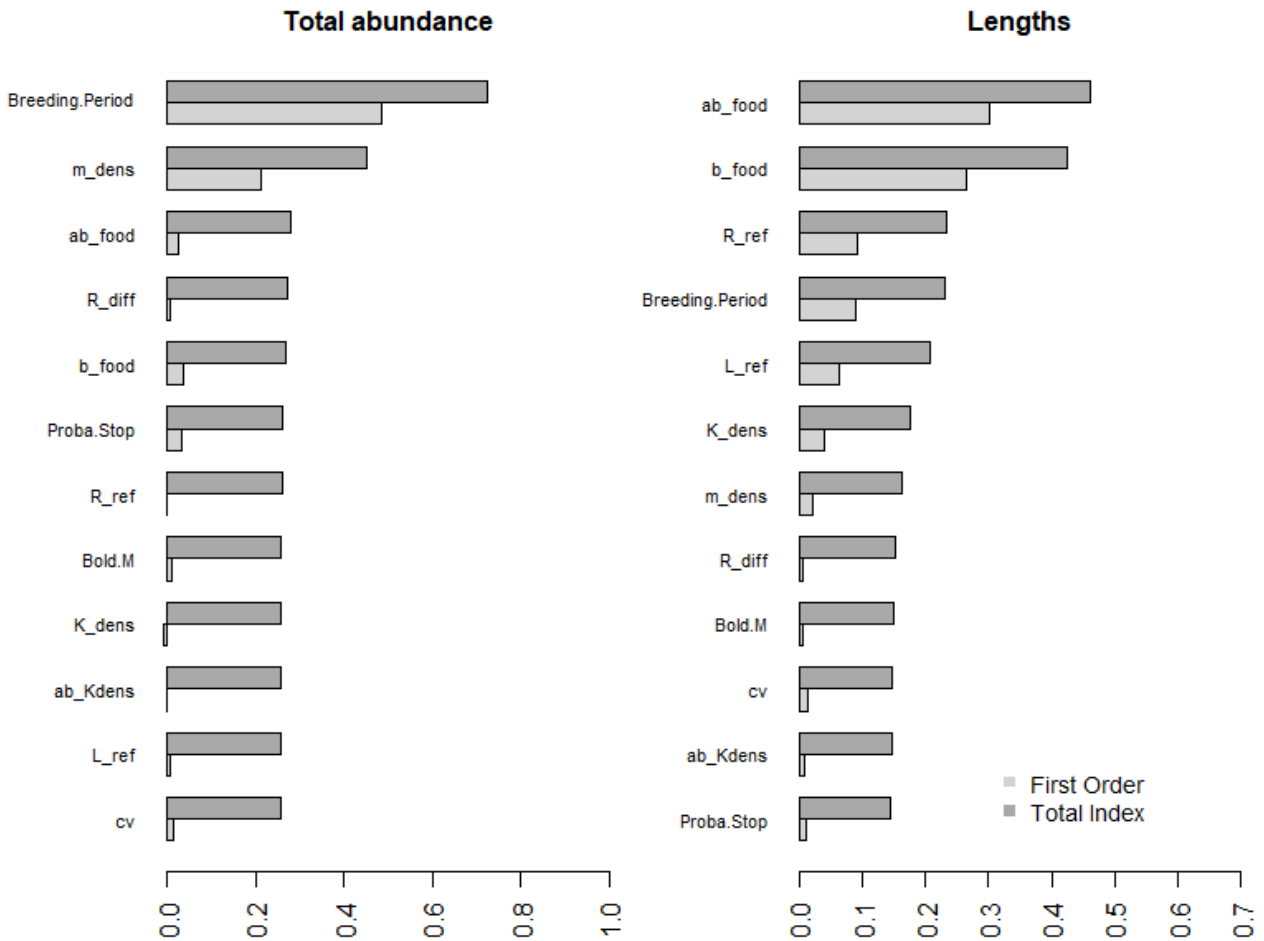


Figure 2. Results of the sensitivity analysis using the Sobol method. The graph on the left represents the first order and total index of the total abundance output and the graph on the right represents the first order and total index of the length outputs (averaged over each category of individuals). To avoid correlation between some parameters, a ratio between some parameters were used for the sensitivity analysis (ab_food for a_food/b_food and ab_Kdens for K_dens/a_Kdens corresponding respectively to the sensitivity analysis of a_food and a_Kdens).

Results of the sensitivity analyses using the Sobol method on the twelve chosen parameters (Figures 2 and A.9) highlighted the fact that interactions between these parameters were very important, suggesting that the calibration should be performed keeping all the chosen parameters together.

3.2. Model calibration.

The five independent calibrations of the parameters including the calibrations of the CV of the outputs converged to the same values which can be found in Table 1 and A.7. Figure 3 shows that the predictions of the population endpoints were consistent with the observations as all points were lined up on the identity line. The statistical analyses showed no significant differences ($p\text{-value} > 0.05$) between the observed and the simulated distributions of the descriptive variables of the population except for L.F.C00, L.F.CXX and CV.F.CXX of 2010.

However, for these endpoints, the medians of the simulations were still included in the interval of confidence of the observed medians (see Appendix Part II.3.2. Figure A.10). Furthermore, if the 36 outputs for both years are considered to be independent binomial variates, 0 to 5 false positive results are expected ($\alpha = 0.05$). Distributions of the length frequencies of all sticklebacks and of mature males were well predicted for both years as seen in Appendix Part II.3.2. Figures A.11 and A.12.

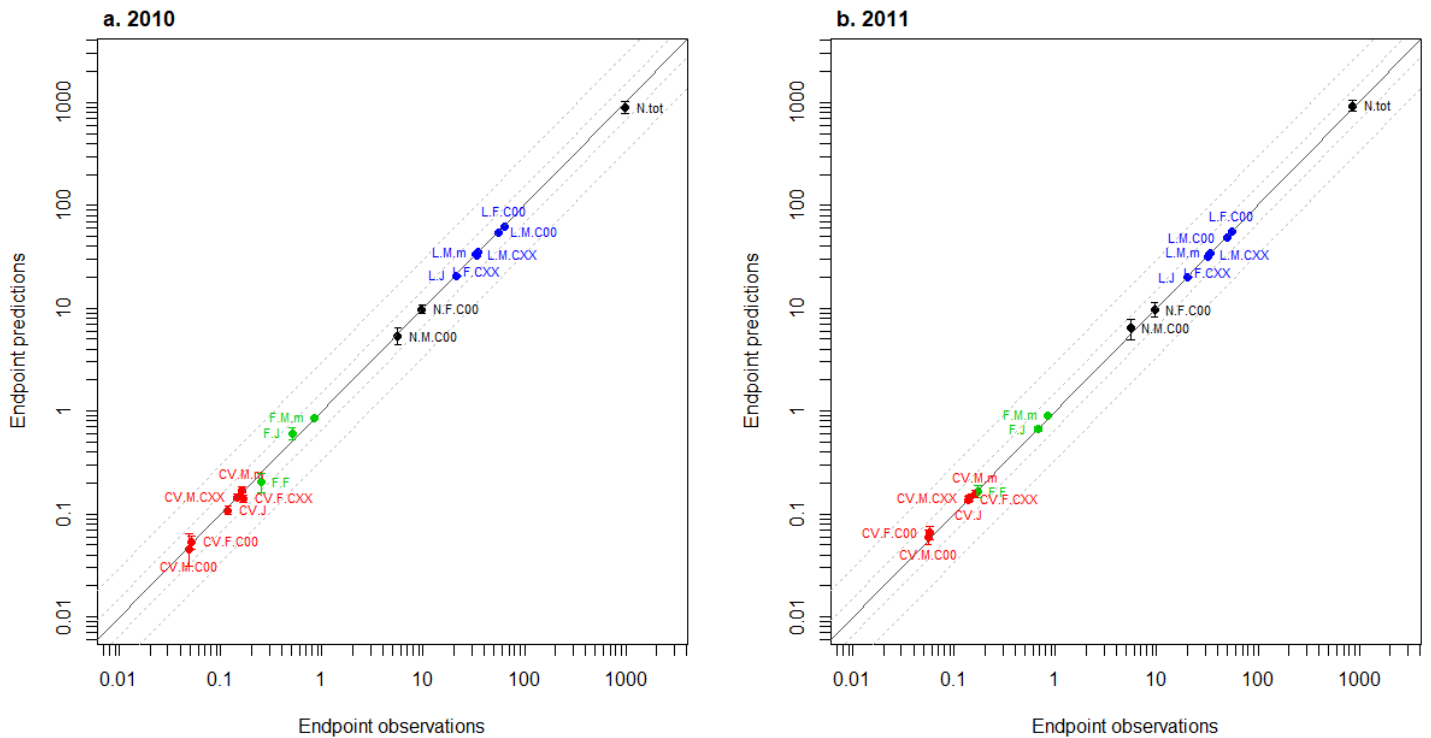


Figure 3. Results of the calibration for 2010 (a) and 2011 (b). The colors represent the type of endpoints: the abundance is in black, the mean lengths in blue, the frequencies in green and the CV of lengths in red. Dotted lines represent the 1.5-fold and 3-fold changes. The full line represents the identity line.

3.3. Model evaluation.

Daily mean temperatures follow the same dynamics in the 2012, 2013, and 2014 mesocosm experiments (see Appendix Part I.1.1.2. Figure A.2a). The largest variation was observed in 2013 when the most extreme temperatures were observed (4.3 and 21.3°C). Daylight data were the same every year (see Appendix Part I.1.1.2. Figure A.2b). Concerning data on food availability, zooplankton dynamics were similar in all three experiments (see Appendix Part I.1.1.2. Figure A.2c). A peak of zooplankton energy occurred during late spring and early summer every year, about 100 days after the beginning of the experiment. Energy from macroinvertebrates was lower in 2014 for both small (< 5 mm) and large (> 5 mm) macroinvertebrates. Finally, a peak was observed for both small and large

macroinvertebrates during spring, 80-100 days after the beginning of the experiments, only in 2013.

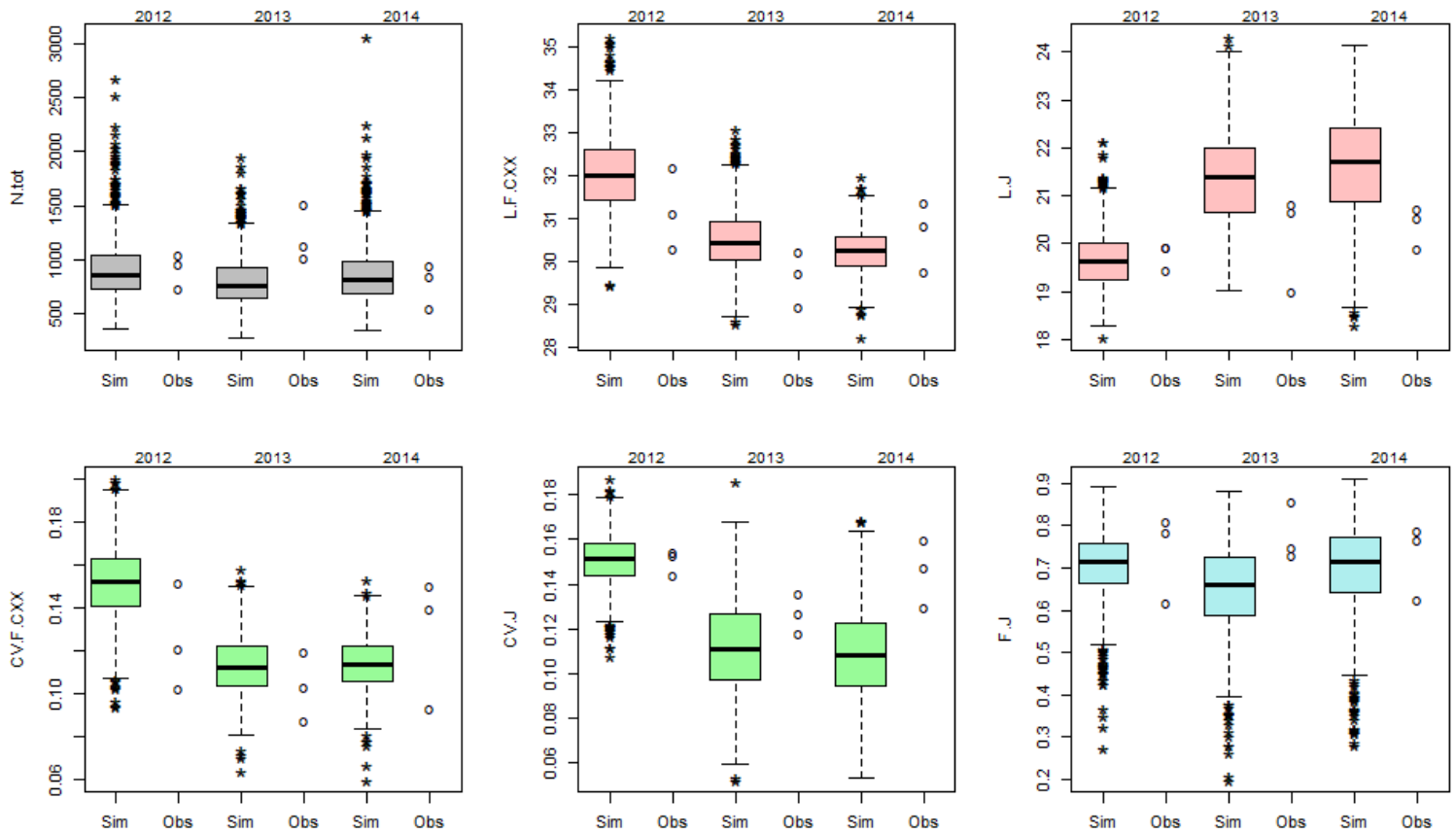


Figure 4. Predicted and observed stickleback population endpoints for each year of experiments. Boxplots represent the 1000 simulations and the points represent the observations in the control mesocosms.

The model gave overall good predictions of the population endpoints (Figures 4 and A.14). The model was able to reproduce differences in the population endpoints including inter-year variations between 2012, 2013 and 2014. Indeed, the observed endpoints were within the interval range of the predictions. However, mean lengths of the founders of 2012 were slightly overestimated and the frequency of mature males in 2013 were overestimated (Appendix Part II.6. Figure A.14). Furthermore, our DEB-IBM gave overall good predictions of the length distributions (Figure 5) as all observations were within the predicted interval and the medians followed the shape of the observed frequencies. In details, a shift of the juvenile frequency peak was however observed in 2014 (observed peak at 18 mm and simulated peak lower, at 22 mm) which could be explained by the last breeding events at the end of the breeding period occurring latter than predicted (Figure 5c).

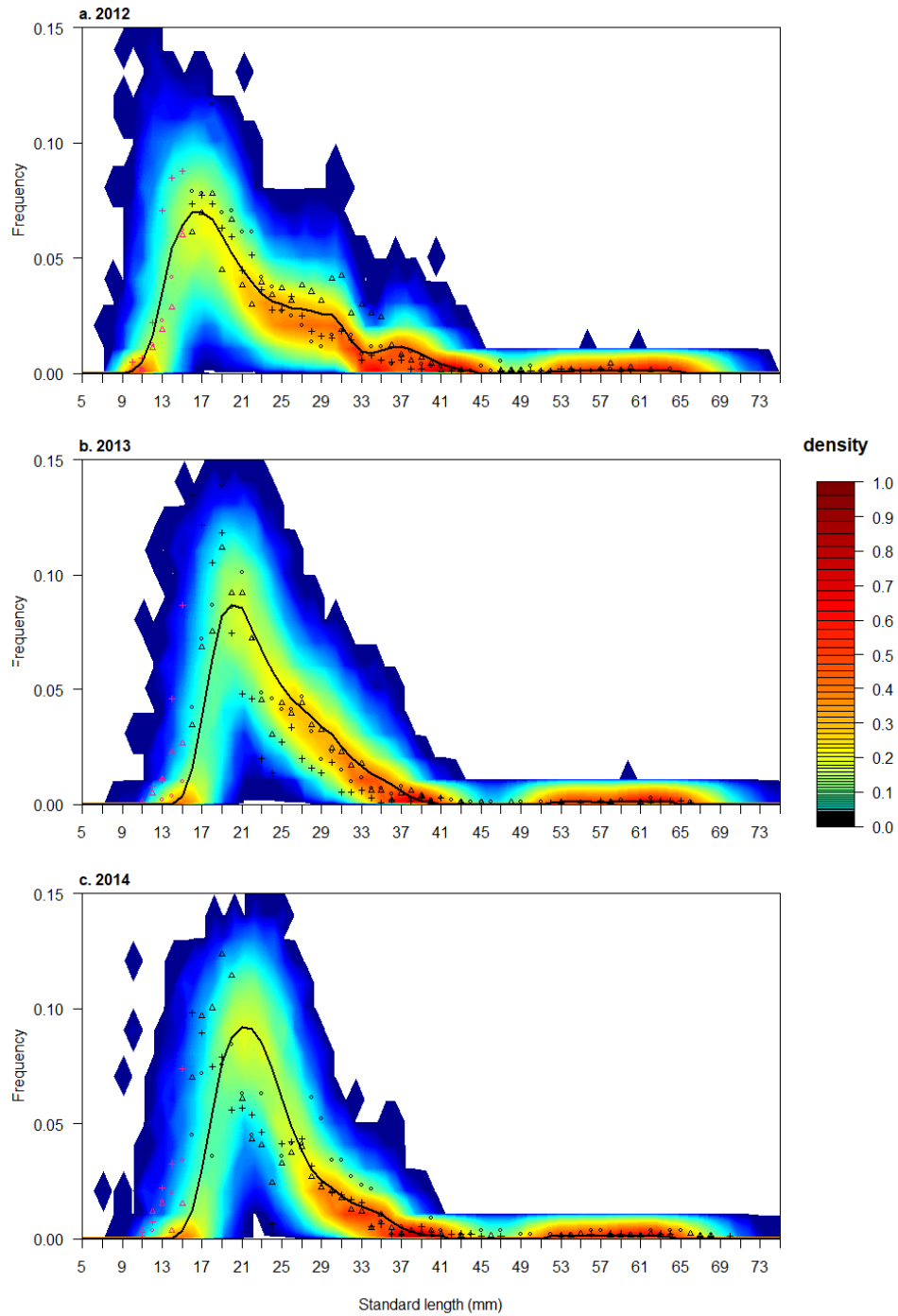


Figure 5. Probabilistic distributions of the length frequency predicted by the model length compared to frequency distributions observed in the control mesocosms for 2012 (a), 2013 (b) and 2014 (c). Circles, crosses and triangles represent the length frequency distributions of the three observed populations. Red points correspond to the class size that were excluded from the calibration process (individuals with a length smaller than 15 mm). Full black lines represent the median length frequency distributions of the simulated populations. Color level represents the frequency of simulated populations ($n = 1000$) having a given percentage of individuals for a given class length. Frequency inferior to $< 1e-04$ are represented in white.

3.4. Model application to analyze mesocosm experiment

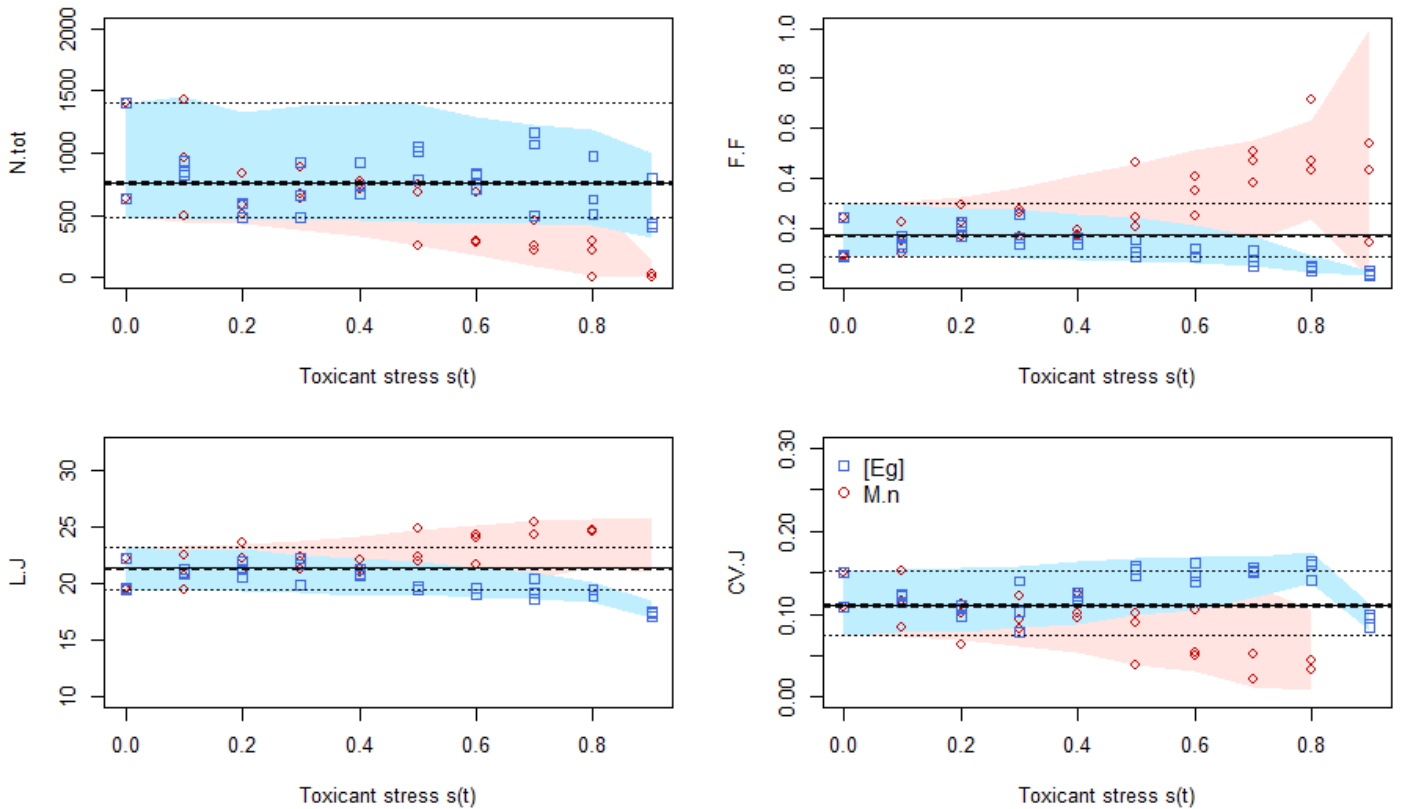


Figure 6. Effects of hypothetical toxicants with the two different tested modes of action and with 3 simulations. Red circles represent the simulations with the toxicant affecting the basal mortality and blue squares represent the simulations with the toxicant affecting the cost of synthesis of a unit of structure. Dashed grey lines represent the 95 % prediction interval of the median of the simulations in control conditions (1000 simulations) and dotted grey lines represent the 95 % prediction interval of the endpoints of the simulations in control conditions. Light red zone represents the 95 % prediction interval (1000 simulations) of the endpoints with the toxicant affecting the basal mortality and light blue zone represents the one from the toxicant affecting the cost of synthesis of a unit of structure.

Figures 6 and A.15 show predictions in an example of mesocosm experimental design (three simulated population dynamics), where stickleback populations were exposed to a hypothetical toxicant with increasing stress levels, as well as the 95 % prediction interval computed on 1000 model simulations in control conditions. Overall, the hypothetical toxicants impacted the population endpoints at stress levels greater than 60 %, the toxicant targeting the survival having greater impacts than the one targeting the cost of synthesis of a unit of structure (Figure 6). Figure 7 presents the comparison of the LOEC for the total abundance endpoint using the data in the three control replicates or using the estimation of the distribution of the abundance in control conditions, in the case of a toxicant targeting basal mortality. The mean LOEC assessed using the methodology based on the estimation of the control endpoint distribution by the model was lower (0.72) than using the classical methodology (0.80). Furthermore, in 26 % of the cases, the classical methodology would have

led us to conclude that there was no effect of the toxicant whereas there is one, whereas this occurred in 4.8 % of cases with the methodology presented here, based on the estimation of the control endpoint distributions. The results were the same for the other population endpoints (see Appendix Part III.2. Figures A.16 and A.17).

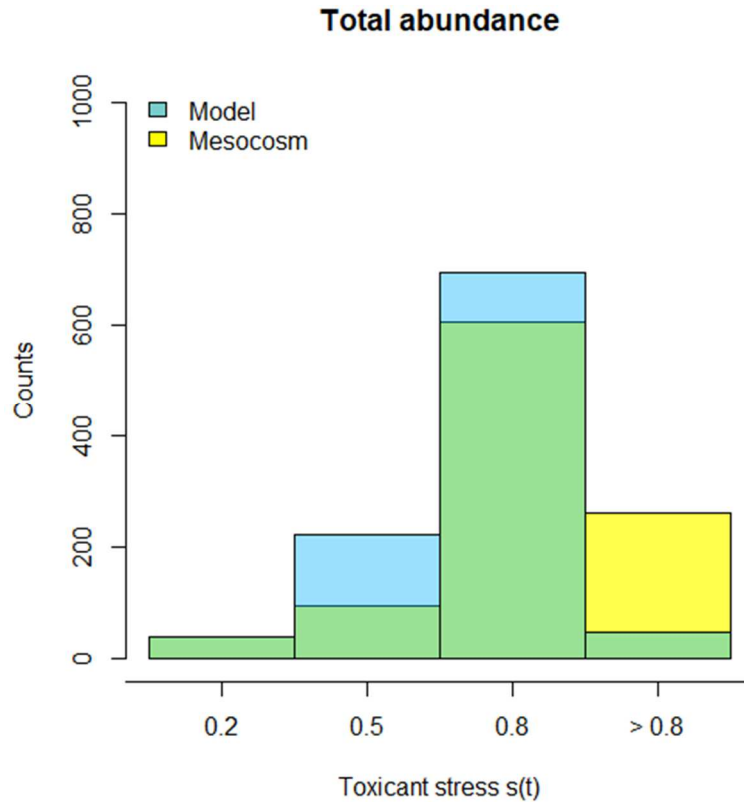


Figure 7. Comparison of the LOEC distributions calculated for the total abundance endpoint having a toxicant stress impacting the basal mortality. In yellow, the control was constituted by the three replicates available with the mesocosm experiment design. In blue, the distribution of the control endpoint was estimated by the model simulations (1000 simulations).

4. Discussion

The objective of this study was to develop a relevant tool to analyze data from mesocosm experiments and show its potential to better understand effects of hypothetical toxicants on population endpoints. For this purpose, we developed a DEB-IBM which describes stickleback population dynamics in mesocosms based on the DEB model developed by Leloutre et al. (2018) and evaluated for founders in mesocosm (David et al. 2018). This original modelling approach integrates some ecological factors (photoperiod, water temperature, and food availability) and their interactions with the physiological processes at the organism level. Consequently, our model can help us explore the interactions between

biotic, abiotic conditions as well as chemical exposure in mesocosm and improve the data analyze of these high tier ecotoxicological studies.

4.1. Model calibration

The DEB-IBM was calibrated on two independent datasets of population dynamics and was evaluated on three others. These datasets included data on stickleback population endpoints and the environmental conditions (climatic and physico-chemical conditions as well as data on the food webs communities) and were independent. Calibration of IBMs is not straightforward as they generally have many parameters with complex and interacting effects on outputs (Beaudouin et al., 2008; Grimm and Railsback, 2005) and using two datasets exhibiting different environmental conditions (high and low food level in 2010 and 2011 respectively, see Appendix Part I.1.1.1. Figure A.1) increases the difficulty of the calibration but avoids making the model too specific to some environmental conditions. To facilitate the calibration processes, we reduced the number of parameters to calibrate to twelve. The choice of parameters was based on the results of the sensitivity analyses and the level of knowledge of these parameters (Beaudouin et al., 2008; Grimm and Railsback, 2005). Thus, some parameters which appeared to be important in the sensitivity analyses were not recalibrated. For example, the optimal temperature was not refitted as it has been extensively studied and thus was well known (Hovel et al., 2015). Finally, the expected values of the endpoints of the calibration datasets were accurately predicted by our model. Furthermore, the inter-mesocosm variability of food density and mortality were calibrated and the overall variability of the endpoints resulting from inter-individual and inter-mesocosm variability was found to be realistic.

4.2. Density-dependent processes and inter-annual variability

Density-dependent mortality and growth were widely recognized as key mechanisms for fish population dynamics and were extensively studied (Hazlerigg et al., 2012; Lorenzen and Enberg, 2002; Webster, 2004). In our model, density-dependent mortality was calculated based on the total number of individuals in the environment whereas effects of density-dependence on growth were dependent on the fish biomass as suggested by Lorenzen and Enberg (2002) and Hazlerigg et al. (2012). It is also well documented that in fish populations, competitive interactions between size classes produce complex dynamics (Claessen et al., 2000; Persson, 1988; Persson et al., 2000; Webster, 2004). Especially, when attacking the same prey, power relationships are unequal between adult and juvenile sticklebacks (Gill and

Hart, 1996) as they do not have the same foraging capacities, which explains why larger sticklebacks could be more dominant during competition for food. Furthermore, intense intra-cohort competition may occur for juveniles because of their high density in mesocosms compared to the adult cohorts (Claessen et al., 2000), as observed for length frequencies (Figures 5 and A.11). To take into account these characteristics, a stronger density-dependent effect on juvenile growth was introduced compared to adults for a given population biomass.

In order to use the model in a regulatory context, robust validation is essential. However, by comparing data on stickleback populations over time, we observed that the mean lengths of the adult sticklebacks born in mesocosms decreased from 2010 to 2014 (see Appendix Part II.5. Figure A.13). This result could not be linked either to the food level, which was not particularly low in 2012, 2013 and 2014, or to the temperature scenarios, or to the founder lengths at the beginning of the experiment which were in the same range as 2011. To capture this process, as in several IBMs (Beaudouin et al., 2008; Cao et al., 2016; Kellner and Swihart, 2017), a year-dependent variation was integrated on one parameter (K_{dens} , level of density-dependence for growth) and this strongly improved the predictions of the model for 2012 to 2014. Indeed, as seen in figure 5, the model successfully captured the length frequencies of these years, meaning that the different cohorts of sticklebacks were well predicted. This parameter re-adjusted for each year is representative of the level of density-dependence for growth and thus, is indirectly linked to the environmental and biological conditions in which the sticklebacks evolved. Another solution could have been to readjust the DEB parameters influencing growth. For example, increasing the energetic cost per unit of structure would decrease the individual growth (Billoir et al., 2008). However, we did not keep this solution as individual growth data in mesocosms would be required to recalibrate the DEB model and the observed decrease in length might be reversible if the environment changes.

Another IBM for sticklebacks shows the same limits as our model regarding the difficulty of quantifying density-dependent growth for sticklebacks, as a readjustment of the IBM was required (Mintram et al., 2018). Several hypotheses could explain these inter-annual differences. First, the annual variability of the natural vegetation establishment or colonization of the preys (*e.g.* Chironomidae) and predators (*e.g.* Dytiscidae) in mesocosms probably resulted in inter-annual variability of the habitat complexity and heterogeneity as well as differences in the food availability. Secondly, as this decrease seems to be linear over time, another explanation could be an acclimatization of the reared stickleback strains used for the mesocosm experiments as sticklebacks are known to rapidly evolve depending on their

environment (Barrett et al., 2011; Crivelli and Britton, 1987; Mori and Takamura, 2004; Spence et al., 2013).

4.3. Model improvements

Globally, the mechanisms that contribute to population regulation are still not fully integrated in our DEB-IBM and represent a source of uncertainty. To improve the modeling, it would be interesting to acquire more information on population dynamics with different density levels in mesocosms as well as on genetic selective changes that could occur in captivity even when there is a new introduction of wild organisms (Ford, 2002) and on the phenomena of phenotypic plasticity (Via and Lande, 1985). In three-spined sticklebacks, it has been shown that both phenotypic plasticity and standing genetic variation could interact with traits related to the biomechanics of feeding showing a stronger genetic predisposition, whereas traits related to locomotion are mainly plastic (Lucek et al., 2014). Mori and Takamura (2004) also showed changes in stickleback body size but did not conclude about whether these morphological changes were related to adaptive phenotypic plasticity or to genetic divergence.

Other processes relative to food foraging and some reproduction processes could represent a source of uncertainty in the model. Indeed, the development of our model showed that modeling predation processes and stickleback foraging behavior was essential. As revealed by the sensitivity analyses, parameters related to food foraging had a strong influence on the outputs and exhibited strong interactions with other parameters. With increasing size, fish can become more explorative, exploiting different ecological niches and generally increase the mean size of prey that is eaten (Persson, 1988). Therefore, in our DEB-IBM, the size of the prey a stickleback can have access to varied linearly as a function of the mouth length of the stickleback as suggested by Gill and Hart (1994). Furthermore, as explained in David et al. (2018), we calculated the available food density each day and for each individual. Juveniles had a reduced predation distance as they tend to be hidden in the vegetation as a refuge from cannibalism and thus have a less bold and explorative behavior during foraging (Foster et al., 1988). Inversely, males were considered to be slightly bolder than females as they show greater exploration of their environment in a foraging context (King et al., 2013). Accordingly, the adult male lengths results from two opposing processes: greater boldness of males leading to a faster growth of the young males (*i.e.* males born in mesocosms had slighter higher mean lengths than females in all experiments) and the parental

cares leading to a lower growth for the active reproductive males (male founders in mesocosms).

Concerning the reproduction processes, egg production of females was described by the DEB model and the size of the clutch was estimated as a linear function of the female length fitted on laboratory data (Appendix Part I.3.1. Figure A.3 and Eq. (A.10)). However, female sticklebacks can retain their eggs for a short time if they do not find a nest to spawn. Afterward, they can spawn the clutch even if a male is not present or, occasionally, develop overripe eggs (Lam et al., 2011; Sokołowska, 2006; Wootton, 1984). For more realism, this phenomenon was introduced in the model. However, uncertainties on the process are important as it is still poorly understood. In particular, the length of time a female can keep the eggs in the ovarian cavity is not well known. Nevertheless, the sensitivity analyses of our model revealed that the length of time during which females can keep eggs had a low impact on the model outputs.

In comparison to females, stickleback males exhibit an important energy investment in reproductive behavior (Smith and Wootton, 1999; Van Iersel, 1953; Wootton, 1984). In our DEB-IBM, an approach to link the energy expenditure in reproductive behavior to the energy for reproduction predicted by the DEB model was developed. To do that, we extrapolated the amount of energy needed for the duration of one reproduction success based on the study of Smith and Wootton (1999) and Mori (1993) to use it as a threshold for males. Thus, males which do not have enough energy to accomplish one reproduction process would not acquire their reproductive behavior (*i.e.* get a territory, build a nest, harvest and take care of the eggs). Furthermore, males in the field need to be at least 1 or 2 years old to start the reproduction processes (Baker, 1994; Dufresne et al., 1990). This was consistent with the absence of sexual dimorphism observed in our mesocosm between young adult female and male sticklebacks (*i.e.* adults born in mesocosm) due to the absence of reproductive behavior during the first year in young males. In our modeling of their reproductive behavior, males born in mesocosms do not start the reproduction processes during their first spring. In addition, another interest of using the energy for reproduction predicted by the DEB model for both males and females is that the reproduction performances would depend on environmental conditions as widely described in literature (Borg, 1982; Hopkins et al., 2010; Wootton, 1973, 1984).

Although it has been shown that temperature and a photoperiod threshold seem to induce the beginning of the breeding period (Wootton, 1984), factors influencing the end of this period are still not well understood. As the breeding period typically takes place between late

March and early August (Sokołowska, 2006; Wootton, 1984), the duration of the breeding period was introduced as a parameter in the model to control reproduction. However, the understanding of the environmental causes influencing the end of the reproduction should be increased, because, as seen in the sensitivity analyses, the parameter Breeding.Period had a strong influence on the model outputs. Another factor controlling the end of the reproduction is the number of successful nests (Mori, 1993). The number of successful nests predicted by the model, between one and four for the mesocosm experiments of 2010 and 2011, is consistent with the observations of Mori (1993) in field (*i.e.* between one and three successful nests during the breeding period).

Finally, improving our DEB-IBM by modeling spatial variations of the environment in addition to the temporal variations of some variables would be highly interesting to account for specific interactions between individuals and their environment (nursery areas, refuge from predation, differential exploitation of the food patches, etc.). Spatially-explicit bioenergetics IBMs have already been developed for fish populations (Boyd et al., 2018; Politikos et al., 2015) and performed well in modelling the fish habitat as well as the movements towards favorable feeding areas. Furthermore, modelling fish distribution in response to an environmental change would be interesting in environmental management and risk assessment.

4.4. Model application to analyze mesocosm experiment

The predictions of our model in control conditions could represent a relevant baseline for determining magnitude and statistical significance of the effects in exposed populations and could help to better understand toxicant impacts on stickleback populations. Indeed, the small number of mesocosm replicates combined with the important variability due to the high levels of biological organization (EFSA, 2013; Sanderson, 2002) have been presented as a major drawback for detecting significant effects of chemicals in mesocosms as it is a source of false negative results (*i.e.* concluding a chemical has no effect when it really has) (Shaw et al., 1994; Beaudouin et al. 2008, EFSA, 2013).

Here, we illustrated an application of our DEB-IBM to mesocosm experiments by integrating effects of hypothetical toxicants having different modes of action (Galic et al., 2017; Martin et al., 2013). Overall, a toxicant which would affect the basal mortality as well as the cost of synthesis of a unit of structure would have strong effects on the population structure. By comparing the classical methodology to the methodology based on the estimation of the control endpoint distributions, we showed that the LOECs calculated with

the model simulations were lower than the ones calculated using the three replicates of the control. This highlights the interest of our approach which could improve environmental risk assessment by decreasing the risk of false negative results when analyzing data from mesocosms. Indeed, using IBMs to simulate the endpoint distributions of populations in mesocosms allows to estimate the descriptive variables of the populations (i.e. the shape, expectation and variance) compared to a simple estimation from the observed data from mesocosms (Beaudouin et al., 2012b). Furthermore, we assumed here only one type of effect by toxicants explaining why the populational effects have been mainly seen with a high stress level (Figure 5). However, toxicants could have multiple impacts (i.e. combined effects on survival and reproduction for example) which could increase the populational responses.

Finally, although the ecological realism of mesocosm experiments is strongly improved compared to laboratory tests, these aquatic model ecosystems are characterized by a reduction in size and complexity when compared to natural aquatic ecosystems (Caquet et al., 2000; EFSA, 2013) as they are designed to answer to a specific question. Consequently, other natural processes could occur in natural ecosystems, as for example competition between several fish species, which does not occur in our mesocosm experiments and thus, are not modelled in our IBM.

5. Conclusions

A model which accurately predicts population dynamics over time and takes into account relevant information on the environment, is of great interest for ecological management, long-term decision making and risk assessment. Here, we developed a DEB-IBM for predicting stickleback population dynamics in mesocosms taking into account the main environmental factors. The model was successfully calibrated and the predictions of the population dynamics in control conditions were accurate. Hence, as seen with the case study of hypothetical toxicants, the model can help extrapolate from individual mechanistic responses to the population level. The DEB-IBM should then help us to have a closer understanding of toxicant effects on stickleback population dynamics and improve environmental risk assessment by lowering the uncertainty of the toxic thresholds.

Acknowledgments

The authors wish to thank G. De Kermoisan and all the interns (Y. Guénand, P. Miguet, D. Georges, N. Torchaire, V. Martz, E. Phyron, H. Guillot, M. Palos-Ladeiro, M. Lonjaret,

M. Blachon, L. Roy and A. Bernard) who contributed to the success of the mesocosm experiments. This study was supported by the 190 program of the Ministry of Ecology and DOREMIPHARM, funded by ANSM (French National Agency for Medicines and Health Products Safety) as well as by the European Regional Development Fund (ERDF). The authors also thank the three anonymous reviewers for their helpful suggestions for improvement and their constructive remarks.

References

- Adams, S.M., 2002. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society.
- Baker, J.A., 1994. Life history variation in female threespine stickleback., in: Publications, O.S. (ed.), *The Evolutionary Biology of the Threespine Stickleback*, pp. 144–187.
- Barrett, R.D., Paccard, A., Healy, T.M., Bergek, S., Schulte, P.M., Schluter, D., Rogers, S.M., 2011. Rapid evolution of cold tolerance in stickleback. *Proc. Biol. Sci.* 278, 233-238.
- Beaudouin, R., Dias, V., Bonzom, J.M., Pery, A., 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., Ginot, V., Monod, G., 2012b. 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., Goussen, B., Piccini, B., Augustine, S., Devillers, J., Brion, F., Pery, A.R., 2015. An individual-based model of zebrafish population dynamics accounting for energy dynamics. *PLoS One* 10, e0125841.
- Beaudouin, R., Monod, G., Ginot, V., 2008. Selecting parameters for calibration via sensitivity analysis: An individual-based model of mosquitofish population dynamics. *Ecol. Modell.* 218, 29-48.
- Bell, A.M., Foster, S.A., 1994. Introduction to the evolutionary biology of the threespine stickleback. *The evolutionary biology of the threespine stickleback*, vol. Chapter 1. Oxford University Press, pp. 1-28.
- Billoir, E., Delignette-Muller, M.L., Pery, A.R., Geffard, O., Charles, S., 2008. Statistical cautions when estimating DEBtox parameters. *J. Theor. Biol.* 254, 55-64.
- Borg, B., 1982. Seasonal effects of photoperiod and temperature on spermatogenesis and male secondary sexual characters in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Can. J. Zool.* 60, 3377-3386.
- Boyd, R., Roy, S., Sibly, R., Thorpe, R., Hyder, K., 2018. A general approach to incorporating spatial and temporal variation in individual-based models of fish populations with application to Atlantic mackerel. *Ecol. Modell.* 382, 9-17.
- Cao, J., Guan, W., Truesdell, S., Chen, Y., Tian, S., 2016. An individual-based probabilistic model for simulating fisheries population dynamics. *Aquac. Fish.* 1, 34-40.
- Caquet, T., 2002. Use of aquatic mesocosms in ecotoxicology, state of the art and perspectives. *Radioprotection - Colloques* 37.
- Caquet, T., Lagadic, L., Sheffield, S.R., 2000. Mesocosms in ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 165, 1-38.
- Claessen, D., Roos, A.M.d., Persson, L., 2000. Dwarfs and Giants: Cannibalism and Competition in Size-Structured Populations. *Am. Nat.* 155, 219-237.
- Crivelli, A.J., Britton, R.H., 1987. Life history adaptations of *Gasterosteus aculeatus* in a Mediterranean wetland. *Environ. Biol. Fishes* 18, 109-125.
- David, V., Goussen, B., Tebby, C., Joachim, S., Porcher, J.M., Beaudouin, R., 2018. Modelling historical mesocosm data: Application of a fish bioenergetics model in semi-natural conditions. *Ecol. Freshw. Fish* 27, 1101-1113.

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

- de Kermoysan, G., 2013. Caractérisation de la dynamique de population de l'épinoche à trois épines, *Gasterosteus aculeatus*, dans un mésocosme lotique : Application à l'évaluation des effets du bisphénol A dans un contexte écosystémique. *AgroParisTeach*, p. 253.
- de Kermoysan, G., Joachim, S., Baudoin, P., Lonjaret, M., Tebby, C., Lesaulnier, F., Lestremay, F., Chatellier, C., Akrou, Z., Pheron, E., Porcher, J.M., Pery, A.R., Beaudouin, R., 2013a. Effects of bisphenol A on different trophic levels in a lotic experimental ecosystem. *Aquat. Toxicol.* 144-145, 186-198.
- de Kermoysan, G., Pery, A.R., Porcher, J.M., Beaudouin, R., 2013b. A non-invasive method based on head morphology to sex mature three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) in rearing conditions. *Math. Biosci.* 244, 148-153.
- Dufresne, F., FitzGerald, G.J., Lachance, S., 1990. Age and size-related differences in reproductive success and reproductive costs in threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Behav. Ecol.* 1, 140-147.
- EFSA, 2013. Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters. *EFSA Journal* 11, 3290.
- Forbes, V.E., Calow, P., Grimm, V., Hayashi, T.I., Jager, T., Katholm, A., Palmqvist, A., Pastorok, R., Salvito, D., Sibly, R., Spromberg, J., Stark, J., Stillman, R.A., 2011. Adding Value to Ecological Risk Assessment with Population Modeling. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 17, 287-299.
- Forbes, V.E., Salice, C.J., Birnir, B., Bruins, R.J.F., Calow, P., Ducrot, V., Galic, N., Garber, K., Harvey, B.C., Jager, H., Kanarek, A., Pastorok, R., Railsback, S.F., Rebarber, R., Thorbek, P., 2017. A Framework for Predicting Impacts on Ecosystem Services From (Sub)Organismal Responses to Chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* 36, 845-859.
- Ford, M.J., 2002. Selection in Captivity during Supportive Breeding May Reduce Fitness in the Wild. *Conserv. Biol.* 16, 815-825.
- Foster, S.A., Garcia, V.B., Town, M.Y., 1988. Cannibalism as the cause of an ontogenetic shift in habitat use by fry of the threespine stickleback. *Oecologia* 74, 577-585.
- Galic, N., Grimm, V., Forbes, V.E., 2017. Impaired ecosystem process despite little effects on populations: modeling combined effects of warming and toxicants. *Glob. Chang. Biol.* 23, 2973-2989.
- Galic, N., Hommen, U., Baveco, J.M., van den Brink, P.J., 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. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 6, 338-360.
- Gill, A.B., Hart, P.J.B., 1994. Feeding behaviour and prey choice of the threespine stickleback, the interacting effects of prey size, fish size and stomach full. *Anim. Behav.* 47.
- Gill, A.B., Hart, P.J.B., 1996. Unequal competition between three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, L., encountering sequential prey. *Anim. Behav.* 51, 689-698.
- Ginot, V., Gaba, S., Beaudouin, R., Aries, F., Monod, H., 2006. Combined use of local and ANOVA-based global sensitivity analyses for the investigation of a stochastic dynamic model: Application to the case study of an individual-based model of a fish population. *Ecol. Modell.* 193, 479-491.
- Grimm, V., Ayllón, D., F. Railsback, S., 2017. Next-Generation Individual-Based Models Integrate Biodiversity and Ecosystems: Yes We Can, and Yes We Must. *Ecosystems* 20, 229-236.
- Grimm, V., Berger, U., DeAngelis, D.L., Polhill, J.G., Giske, J., Railsback, S.F., 2010. The ODD protocol A review and first update. *Ecol. Modell.* 221, 2760-2768.
- Grimm, V., Railsback, S.F., 2005. *Individual-based Modeling and Ecology*, Princeton ed, New Jersey.
- Hazlerigg, C.R., Lorenzen, K., Thorbek, P., Wheeler, J.R., Tyler, C.R., 2012. Density-dependent processes in the life history of fishes: evidence from laboratory populations of zebrafish *Danio rerio*. *PLoS One* 7, e37550.
- Hopkins, K., Moss, B.R., Gill, A.B., 2010. Increased ambient temperature alters the parental care behaviour and reproductive success of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Environ. Biol. Fishes* 90, 121-129.
- Hovel, R.A., Beauchamp, D.A., Hansen, A.G., Sorel, M.H., 2015. Development of a Bioenergetics Model for the Threespine Stickleback. *Trans. Am. Fish. Soc.* 144, 1311-1321.
- Kellner, K.F., Swihart, R.K., 2017. Simulation of oak early life history and interactions with disturbance via an individual-based model, SOEL. *PLoS One* 12, e0179643.

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

- King, A.J., Fürtbauer, I., Mamuneas, D., James, C., Manica, A., 2013. Sex-Differences and Temporal Consistency in Stickleback Fish Boldness. *PLoS One* 8, e81116.
- Kooijman, S.A., 2010. *Dynamic Energy Budget for metabolic organization*, Third Edition ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kooijman, S.A.L.M., Van Der Hoeven, N., Van Der Werf, D.C., 1989. Population Consequences of a Physiological Model for Individuals. *Funct. Ecol.* 3, 325-336.
- Lam, T.J., Nagahama, Y., Chan, K., Hoar, W.S., 2011. Overripe eggs and postovulatory corpora lutea in the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L., form *trachurus*. *Can. J. Zool.* 56, 2029-2036.
- Leloutre, C., Péry, A.R.R., Porcher, J.-M., Beaudouin, R., 2018. A bioenergetics model of the entire life cycle of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Ecol. Freshw. Fish* 27, 116-127.
- Lorenzen, K., Enberg, K., 2002. Density-dependent growth as a key mechanism in the regulation of fish populations: evidence from among-population comparisons. *Proc. Biol. Sci.* 269, 49-54.
- Lucek, K., Sivasundar, A., Seehausen, O., 2014. Disentangling the role of phenotypic plasticity and genetic divergence in contemporary ecotype formation during a biological invasion. *Evolution* 68, 2619-2632.
- Martin, B.T., Jager, T., Nisbet, R.M., Preuss, T.G., Hammers-Wirtz, M., Grimm, V., 2013. Extrapolating ecotoxicological effects from individuals to populations: a generic approach based on Dynamic Energy Budget theory and individual-based modeling. *Ecotoxicology* 22, 574-583.
- Maunder, R.J., Matthiessen, P., Sumpter, J.P., Pottinger, T.G., 2007. Impaired reproduction in three-spined sticklebacks exposed to ethinyl estradiol as juveniles. *Biol. Reprod.* 77, 999-1006.
- Mintram, K.S., Brown, A.R., Maynard, S.K., Liu, C., Parker, S.-J., Tyler, C.R., Thorbek, P., 2018. Assessing population impacts of toxicant-induced disruption of breeding behaviours using an individual-based model for the three-spined stickleback. *Ecol. Modell.* 387, 107-117.
- Mori, S., 1993. The Breeding System of the 3-Spined Stickleback, *Gasterosteus-Aculeatus* (Forma-Leiura) with Reference to Spatial and Temporal Patterns of Nesting Activity. *Behaviour* 126, 97-124.
- Mori, S., Takamura, N., 2004. Changes in morphological characteristics of an introduced population of the threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* in Lake Towada, northern Japan. *Ichthyol. Res.* 51, 295-300.
- Morris, M.D., 1991. Factorial Sampling Plans for Preliminary Computational Experiments. *Technometrics* 33, 161-174.
- Naslund, J., Fick, J., Asker, N., Ekman, E., Larsson, D.G.J., Norrgren, L., 2017. Diclofenac affects kidney histology in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) at low mug/L concentrations. *Aquat. Toxicol.* 189, 87-96.
- OECD, 2006. Guidance document on simulated freshwater lentic field tests, in: OECD, Environment, Directorate (Eds.), Paris, p. 37.
- Persson, L., 1988. Asymmetries in Competitive and Predatory Interactions in Fish Populations, in: Ebenman, B., Persson, L. (Eds.), *Size-Structured Populations*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 203-218.
- Persson, L., Bystrom, P., Wahlstrom, E., 2000. Cannibalism and Competition in Eurasian Perch: Population Dynamics of an Ontogenetic Omnivore. *Ecology* 81, 1058-1071.
- Politikos, D., Somarakis, S., Tsiaras, K.P., Giannoulaki, M., Petihakis, G., Machias, A., Triantafyllou, G., 2015. Simulating anchovy's full life cycle in the northern Aegean Sea (eastern Mediterranean): A coupled hydro-biogeochemical-IBM model. *Prog. Oceanogr.* 138, 399-416.
- Roussel, H., Joachim, S., Lamothe, S., Palluel, O., Gauthier, L., Bonzom, J.M., 2007. A long-term copper exposure on freshwater ecosystem using lotic mesocosms: individual and population responses of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Aquat. Toxicol.* 82, 272-280.
- Ruden, C., Adams, J., Agerstrand, M., Brock, T.C., Poulsen, V., Schlekot, C.E., Wheeler, J.R., Henry, T.R., 2016. Assessing the relevance of ecotoxicological studies for regulatory decision making. *Integr. Environ. Assess. Manag.*
- Saltelli, A., Annoni, P., Azzini, I., Campolongo, F., Ratto, M., Tarantola, S., 2010. Variance based sensitivity analysis of model output. Design and estimator for the total sensitivity index. *Comput. Phys. Commun.* 181, 259-270.
- Sanderson, H., 2002. Pesticide studies. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 9, 429-435.

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

- Sibly, R.M., Grimm, V., Martin, B.T., Johnston, A.S.A., Kułakowska, K., Topping, C.J., Calow, P., Nabe-Nielsen, J., Thorbek, P., DeAngelis, D.L., 2013. Representing the acquisition and use of energy by individuals in agent-based models of animal populations. *Methods Ecol. Evol.* 4, 151-161.
- Smith, C., Wootton, R.J., 1999. Parental energy expenditure of the male three-spined stickleback. *J. Fish Biol.* 54, 1132-1136.
- Sobol', I.M., Tarantola, S., Gatelli, D., Kucherenko, S.S., Mauntz, W., 2007. Estimating the approximation error when fixing unessential factors in global sensitivity analysis. *Reliab. Eng. Syst. Safe.* 92, 957-960.
- Sokołowska, E.a.K., E., 2006. Annual reproductive cycle in two free living populations of three-spined stickleback, patterns of ovarian and testicular development. *Oceanologia* 48, 103-121.
- Spence, R., Wootton, R.J., Barber, I., Przybylski, M., Smith, C., 2013. Ecological causes of morphological evolution in the three-spined stickleback. *Ecol. Evol.* 3, 1717-1726.
- van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13, 57-149.
- Van Iersel, J.J.A., 1953. An Analysis of the Parental Behaviour of the Male Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.). *Behaviour. Supplement*, III-159.
- Via, S., Lande, R., 1985. Genotype-Environment Interaction and the Evolution of Phenotypic Plasticity. *Evolution* 39, 505-522.
- Webster, M.S., 2004. Density Dependence via Intercohort Competition in a Coral-Reef Fish. *Ecology* 85, 986-994.
- Wootton, R.J., 1973. The effect of size of food ration on egg production in the female three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *J. Fish Biol.* 5, 89-96.
- Wootton, R.J., 1984. *A Functional Biology of Sticklebacks*, Peter Calow, Department of Zoology ed, University of Sheffield, England.

II.2. Application du modèle sur des dynamiques de population originales : Exploration des limites du DEB-IBM

Dans la partie précédente, nous avons développé, calibré et évalué les prédictions du DEB-IBM en condition contrôle. L'objectif de cette partie est d'explorer les limites de celui-ci afin d'identifier ses principaux points d'amélioration. Pour cela, nous avons appliqué le DEB-IBM à des dynamiques de population fortement perturbées afin d'évaluer ses performances en dehors du domaine d'application dans lequel il a été développé. Ces dynamiques de population originales nous permettent notamment d'évaluer si le modèle prend bien en compte les phénomènes de régulation des populations.

En effet, les phénomènes de régulation des populations sont des concepts clés en écologie et en conservation des espèces, et ont ainsi fait l'objet de nombreuses études (Dajoz 2003). En particulier, en analyse du risque environnemental, les modèles doivent pouvoir appréhender les effets de densité-dépendance sur la globalité des processus physiologiques (croissance, survie, reproduction) pour prédire correctement la réponse à un toxique (Forbes et Calow 2002). Néanmoins, la compréhension de ces phénomènes vis-à-vis d'une population naturelle reste difficile à réaliser, en partie du fait de la forte incertitude associée aux mesures réalisées sur le terrain et au nombre limité de données (Rose et al. 2001).

Ainsi, nous présenterons ici deux cas d'application du modèle à des dynamiques de population originales et les limites identifiées de celui-ci seront discutées. Dans le premier cas d'application, nous disposons de deux jeux de données issus d'expériences en mésocosme. Le premier jeu de données correspond à une expérience réalisée en 2013 où du diclofénac avait été testé en trois concentrations (0,1, 1 et 10 µg/L) dans les mésocosmes tandis que le second jeu de données correspond à une expérience réalisée en 2014 pour tester de la carbamazépine (0,05, 0,5 et 5 µg/L). Lors de ces deux expériences, une mortalité anormale des fondateurs a été observée dans deux des trois réplicats des plus fortes concentrations. Cependant, l'objectif de ce premier cas d'étude n'est pas de s'intéresser aux effets du diclofénac et de la carbamazépine à proprement parler, mais plutôt d'évaluer si le modèle peut reproduire ces dynamiques de population fortement perturbées. En effet, les structures des populations d'épinoches à trois épines en fin d'expérience en mésocosme sont totalement différentes de celles en condition témoin (abondance très faible, croissance différente des cohortes).

Le second cas d'étude correspond à une expérience en mésocosme où une perturbation contrôlée a été réalisée en début d'expérience en manipulant le nombre et le sexe-ratio des poissons fondateurs (expérience réalisée en 2018). Ainsi, en plus des trois populations suivies dans des conditions quasi-normales (l'expérience était néanmoins plus courte), nous

disposons de quatre populations où un nombre plus faible de fondateurs a été introduit dans les mésocosmes. De plus, un sexe-ratio différent a été introduit dans deux de ces quatre mésocosmes.

II.2.1. Premier cas d'étude : Surmortalité des individus

a. Introduction

Ce premier cas d'étude se focalise sur les expériences en mésocosme de 2013 et 2014 où du diclofénac et de la carbamazépine ont été testés en trois concentrations. Pour les deux expériences, une très forte mortalité des fondateurs est observée après le début de la contamination dans deux des trois réplicats des plus fortes concentrations testées. Dans les troisièmes réplicats, la structure de la population en fin d'expérience est similaire à celle des témoins. Cette surmortalité est observée entre le 22 Mai et le 1^{er} juin pour l'expérience de 2013 (soit entre 78 et 88 jours après l'introduction des poissons) et entre le 22 Avril et le 7 mai pour l'expérience de 2014 (soit entre 49 et 64 jours après l'introduction des poissons). Dans les deux expériences, le nombre d'alevins dérivants est également significativement plus faible. Ainsi, en fin d'expérience, la structure des populations des deux réplicats concernés pour chacune des expériences diffère très fortement de la population du troisième réplicat et de celles dans les autres traitements.

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer cette surmortalité. Concernant l'expérience testant le diclofénac, il est tout d'abord possible que cette molécule pharmaceutique ait eu un effet direct sur les fondateurs entraînant une mortalité aigüe. Naslund et al. (2017) montrèrent par exemple une augmentation de la mortalité d'épinoches à trois épines après 20 jours d'exposition au diclofénac, néanmoins la concentration testée était nettement supérieure à celle dans les mésocosmes (271 µg/L). Des effets sur les tissus hépatiques ont en revanche été observés à toutes les concentrations (4,6, 22, 82 et 271 µg/L). Concernant la carbamazépine, Qiang et al. (2016) ont montré que celle-ci pouvait perturber la croissance et le développement d'embryons et d'alevins de poissons zèbres à faible concentration (1 µg/L). Le pourcentage d'éclosion, la taille des alevins et le taux d'absorption du sac vitellin étaient notamment significativement impactés.

De plus, pour les deux expériences, des effets indirects sur les poissons pourraient également expliquer la surmortalité observée dans les mésocosmes. En effet, un effondrement de la biomasse du cresson et de la callitriche a été observé dans les mésocosmes des plus forts traitements de diclofénac et carbamazépine (voir Annexe 3). Or, les macrophytes ont un rôle clé dans les écosystèmes. En effet, les macrophytes sont des producteurs primaires et

fournissent des habitats au périphyton, au zooplancton, aux macroinvertébrés et aux poissons (OECD 2006). Ils jouent également des fonctions clés dans les cycles biogéochimiques (Carpenter et Lodge 1986), ce qui peut expliquer que les paramètres physico-chimiques de l'eau aient également été impactés lors des expériences. En effet, l'oxygène dissous était significativement plus faible dans le plus fort traitement au diclofénac par rapport au contrôle. De même, pour l'expérience testant la carbamazépine, une diminution significative de l'oxygène dissous et du pH ainsi qu'une augmentation significative de la température de l'eau ont été observées dans le plus fort traitement (voir Annexe 3). Néanmoins, les impacts observés sur les conditions abiotiques et sur les macrophytes sont les mêmes dans les trois réplicats des plus fortes concentrations testées, ainsi ceci ne justifie pas que seulement deux des trois populations d'épinoches à trois épines aient été impactées.

Bien que les causes expliquant les structures de populations finales restent mal comprises, les jeux de données issus de ces deux expériences présentent néanmoins l'opportunité de tester les limites de notre DEB-IBM. En effet, la surmortalité des fondateurs a eu pour conséquence la mise en place de processus de régulation des populations différents puisque le nombre d'individus dans les mésocosmes était nettement plus faible que dans les populations. L'objectif de ce cas d'étude est donc de modéliser une surmortalité des poissons dans notre DEB-IBM afin d'évaluer les performances de celui-ci pour prédire les dynamiques de population originales observées en mésocosme. Cette surmortalité ne sera modélisée que pour les plus forts traitements de l'exposition au diclofénac et à la carbamazépine.

b. Matériel et méthodes

Expériences en mésocosme

Les deux expériences en mésocosme ont été réalisées dans les rivières artificielles de l'Ineris en 2013 et 2014 dans le cadre du projet DOREMIPHARM (financement ANSM). Le protocole de préparation des mésocosmes est entièrement décrit dans les articles 1 et 2 (chapitres II et III). Début mars, 15 femelles et 10 mâles épinoches ont été introduits dans chaque mésocosme. La contamination des mésocosmes a commencé début avril pour les deux expériences (le 15 avril 2013 et le 4 avril 2014), ce qui correspond à la période de construction des premiers nids et de la naissance des premiers alevins. Trois concentrations de diclofénac (0,1, 1 et 10 $\mu\text{g/L}$) en 2013 et de carbamazépine (0,05, 0,5 et 5 $\mu\text{g/L}$) en 2014 ont été testées en trois réplicats. Trois témoins ont été réalisés pour chacune des expériences. Le type de traitement pour chaque rivière artificielle étant choisi aléatoirement avant le début de la contamination, les mésocosmes traités aux plus fortes concentrations ne sont donc pas les

mêmes pour les deux expériences. Les deux expériences ont duré respectivement 217 et 215 jours pour 2013 et 2014. La température de l'eau a été mesurée toutes les 10 min à l'aide de capteurs placés à 5 et 15 m de l'arrivée d'eau (HOBO0257, Prosensor, Amanvilliers, France) et les proies des épinoches (zooplancton, *Gammarus pulex*, *Asellus aquaticus* et Chironomidae) ont été mesurées toutes les quatre semaines comme décrit dans l'article 1.

En aval des mésocosmes, une grille permet d'empêcher les épinoches de sortir du système expérimental. Néanmoins, les plus petits alevins peuvent parfois traverser la grille et ont donc été récupérés dans un bac de récupération. Ces bacs ont été vidés chaque jour, le nombre d'alevins vivants et morts a été noté avant de remettre les individus dans les rivières artificielles.

A la fin des expériences, toutes les épinoches à trois épines ont été récupérées puis sacrifiées par une forte dose de MS-222. Les poissons ont ensuite été mesurés et pesés. Pour les épinoches ayant une taille suffisante (≥ 26 mm), leur sexe a été déterminé par dissection en observant l'aspect des gonades. Les épinoches avec une taille plus faible (< 26 mm) ont été classées comme juvéniles. Comme dans l'article 2, les variables descriptives des populations en fin d'expérience sont l'abondance de la population (N.tot), le nombre de femelles et mâles fondateurs (N.F.C00, N.M.C00), les fréquences de femelles et juvéniles (F.F et F.J) et les tailles moyennes et les CV des tailles des fondateurs mâles et femelles (L.M.C00, L.F.C00, CV.M.C00, CV.F.C00), des mâles et femelles nés dans les mésocosmes (L.M.CXX, L.F.CXX, CV.M.CXX, CV.F.CXX) et des juvéniles (L.J, CV.J). Enfin, la fréquence des mâles matures parmi le nombre total de mâles (F.M.m) ainsi que la taille moyenne des mâles matures et le CV de leur taille (L.M.m et CV.M.m) sont aussi reportés.

Modélisation

Le DEB-IBM développé dans le chapitre III a été utilisé pour simuler les dynamiques attendues en conditions normales et lors des expositions de ces deux expériences en mésocosme. Les valeurs de paramètres du modèle pour les années 2013 et 2014 sont données dans l'article 2. Les entrées du modèle ont été changées pour correspondre à chaque traitement testé en mésocosme. En effet, les scénarios de nourriture ont été calculés en utilisant les abondances mesurées de macroinvertébrés et de zooplancton dans chaque traitement au diclofénac ou carbamazépine, qui ont ensuite été converties en données énergétiques et interpolées linéairement entre les dates d'échantillonnage (comme décrit dans l'article 1, chapitre II). Les scénarios de température n'ont pas été changés par rapport au contrôle pour l'expérience de 2013 puisque le diclofénac n'a pas impacté la température de

l'eau au cours du temps. En revanche, le scénario de température du plus fort traitement à la carbamazépine a été modifié puisque de faibles effets ont été observés à la plus forte concentration. Enfin, la taille des fondateurs a été initialisée à celle des individus introduits dans chaque mésocosme.

Afin d'évaluer la pertinence du modèle pour simuler les dynamiques originales retrouvées durant les expériences testant le diclofénac et la carbamazépine, nous avons modélisé des impacts sur la survie des fondateurs, celle des œufs et des larves pour le plus fort traitement de chaque expérience. En effet, quelques soient les causes de la mortalité, nous avons choisi de modéliser simplement une très forte mortalité des fondateurs à partir de la date ou celle-ci a été observée en mésocosme. Ainsi, nous avons fixé une probabilité de mourir journalière pour les fondateurs pour qu'au bout de deux jours après le début des observations de surmortalité, plus de 50 % des fondateurs soient morts. Pour reproduire les observations de surmortalité, cette surmortalité a été modélisée à partir de 78 jours pour l'expérience au diclofénac et à partir de 49 jours pour celle à la carbamazépine. De plus, au vu du très faible nombre d'individus retrouvé en fin d'expérience testant la carbamazépine (5 et 12 individus pour les deux réplicats concernés), nous avons diminué la probabilité de survie des œufs et larves pour les premiers nids réalisés dans le DEB-IBM pour obtenir un nombre d'individu similaire (celle-ci est alors fixée à 2 %). Similairement, nous avons également fixé la probabilité de survie des œufs et des larves à 2 % pour simuler l'expérience testant le diclofénac, mais au vu du nombre d'individus retrouvé en fin d'expérience (271 et 459 individus pour les deux réplicats concernés), nous avons considéré que les nids avant 78 jours (début surmortalité des fondateurs) n'étaient pas impactés.

Les prédictions des DEB-IBMs pour le diclofénac et la carbamazépine ont ensuite été comparées aux observations réalisées dans les mésocosmes en fin d'expérience pour chaque traitement. Ainsi, pour chaque traitement, nous avons simulé 1000 populations d'épinoches à trois épines sans intégrer les impacts sur la survie des fondateurs et des œufs et larves. De plus, pour le plus fort traitement de chaque expérience (10 µg/L pour le diclofénac et 5 µg/L de carbamazépine), nous avons simulé 1000 populations en intégrant les impacts sur la survie. Le nombre de simulations a été choisi pour prendre en compte la stochasticité du modèle (variabilité environnementale inter-mésocosme, variabilité de la performance inter-individuelle et processus stochastiques) et fournir une estimation précise des distributions des variables descriptives des populations.

c. Résultats pour le diclofénac

Simulations sans impact sur la survie

La Figure 26 présente les résultats pour les fréquences de taille sans intégrer d'effet sur la mortalité des fondateurs pour chaque traitement au diclofénac. Les prédictions sont cohérentes avec les observations pour le contrôle et les deux plus faibles traitements au diclofénac. Néanmoins, dans le plus fort traitement, seule une population d'épinoche est correctement prédite. Celle-ci correspond au réplicat pour lequel aucune mortalité anormale des fondateurs n'a été observée.

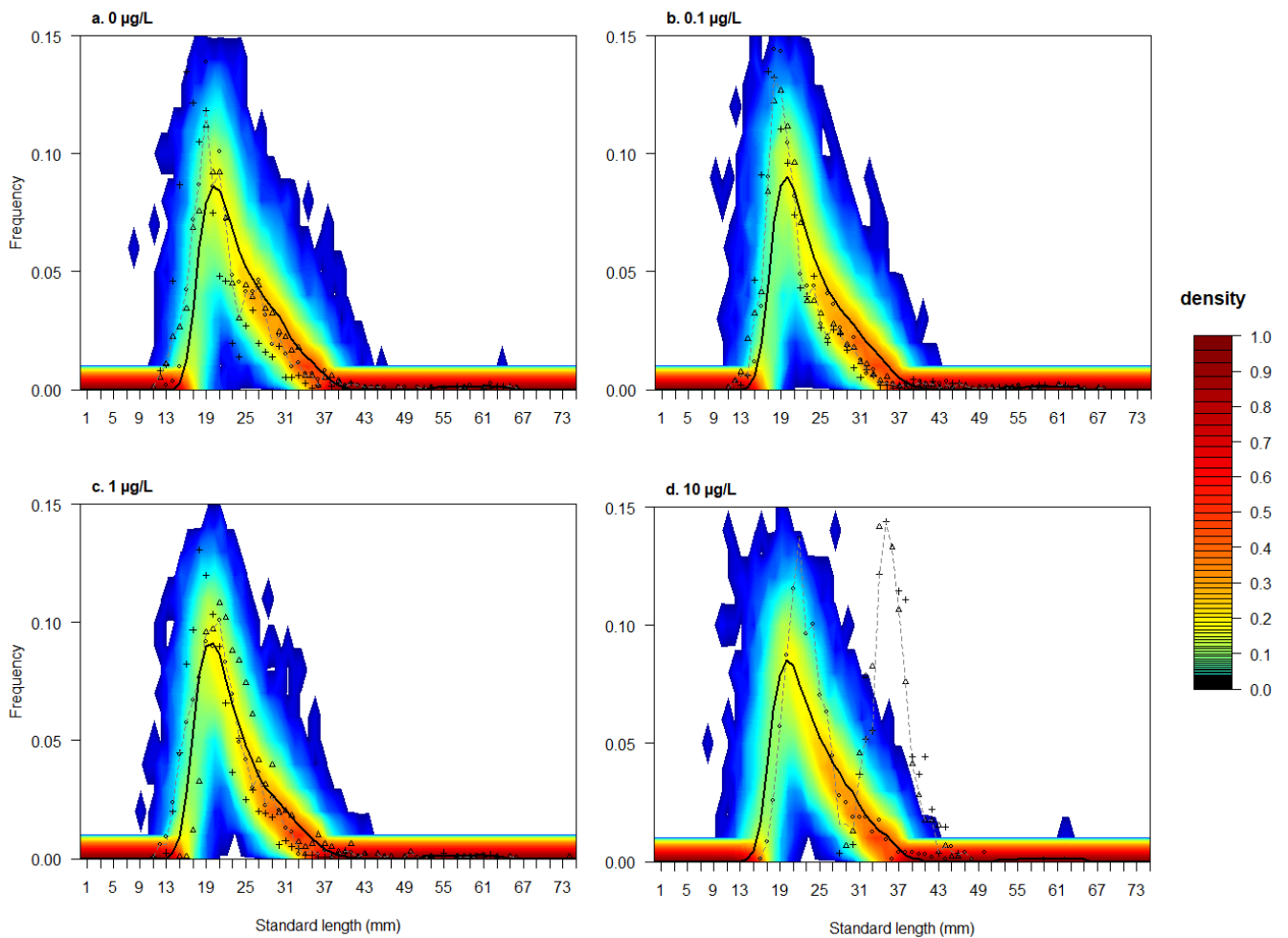


Figure 26. Distributions de la fréquence des tailles prédites par le modèle par rapport aux distributions de fréquences observées en fonction des différents traitements au diclofénac (0, 0.1, 1 ou 10 µg/L). Les différents types de points représentent les différentes populations observées. Les lignes noires pleines et grises en pointillés représentent les distributions de fréquence de taille médianes des populations simulées et observées, respectivement.

Simulations avec un impact sur la survie

Dans les mésocosmes, 11 et 16 fondateurs morts respectivement (44 % et 64 % de mortalité) ont été directement observés entre 78 et 88 jours d'expérience dans deux des trois mésocosmes du traitement testant 10 µg/L de diclofénac. Il est de plus fortement probable que les observations sous-estiment la mortalité réelle du fait de la dégradation rapide des individus morts et de la difficulté des observations en mésocosme. La Figure 27 représente la surmortalité simulée des fondateurs. Celle-ci est bien cohérente avec les observations puisque le nombre de fondateurs diminue très fortement entre 78 et 88 jours de simulations. Après 88 jours, le modèle prédit qu'il ne reste plus aucun fondateur en moyenne.

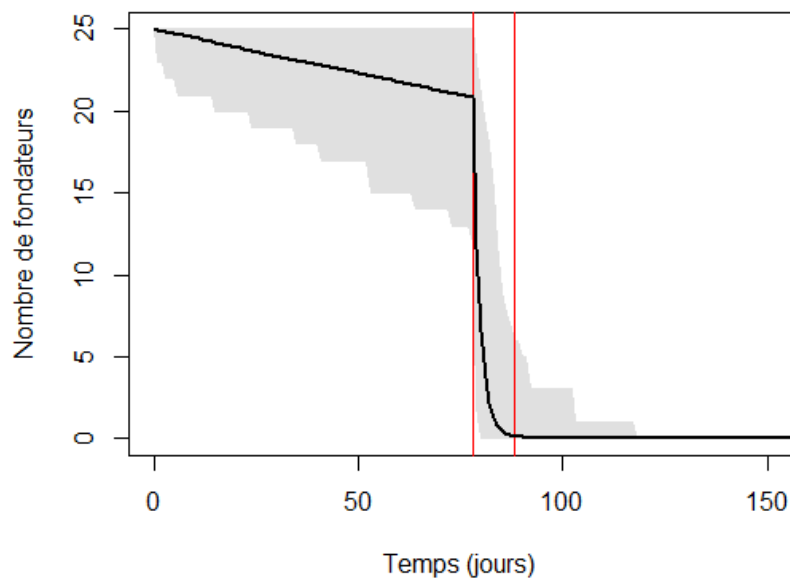


Figure 27. Nombre de fondateurs simulés au cours du temps. La ligne noire représente le nombre moyen de fondateurs, tandis que la zone grise représente l'étendue possible des simulations (minimum et maximum). Les lignes verticales rouges représentent la période durant laquelle une forte mortalité des fondateurs a été observée (entre 78 et 88 jours).

La Figure 28 présente les fréquences des tailles simulées et les observations dans les mésocosmes du plus fort traitement en intégrant les impacts sur la survie des fondateurs et des œufs et larves. Le modèle prédit correctement les fréquences des tailles observées dans les deux répliquats pour lesquels une forte mortalité a été observée, néanmoins le modèle n'a pas la capacité de prédire également la fréquence de taille observée dans le troisième répliquat.

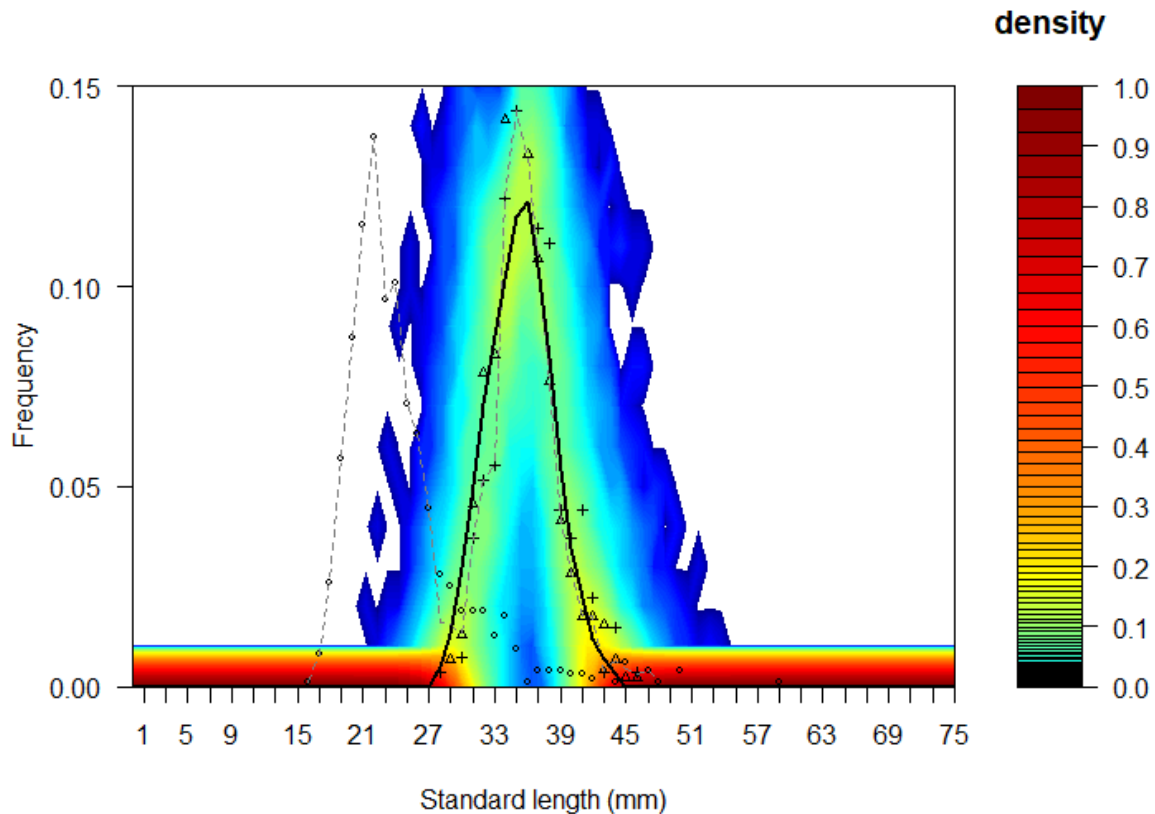


Figure 28. Distributions des fréquences des tailles prédites par le modèle par rapport aux distributions de fréquences observées avec 10 $\mu\text{g/L}$ de diclofénac. Les simulations ont été réalisées en intégrant une surmortalité des fondateurs. Les différents types de points représentent les différentes populations observées. Les lignes noire pleine et grise en pointillés représentent les médianes des distributions de fréquence de taille des populations simulées et observées, respectivement.

Les prédictions des variables descriptives des populations comparées aux observations pour les deux répliquats du plus fort traitement où une mortalité anormale des fondateurs a été observée sont présentées en Figure 29. Globalement, les prédictions sont cohérentes avec les observations puisque qu'elles présentent toutes un écart inférieur à 2 par rapport à la droite d'identité. Plus précisément, le DEB-IBM ne prédit aucun fondateur en fin d'expérience. De plus, dans 75 % des populations simulées, aucun juvénile n'est prédit, ce qui est cohérent avec les observations des deux populations des mésocosmes où il n'y avait que des adultes nés dans les mésocosmes présents. La taille moyenne ainsi que le CV des tailles des adultes nés dans les mésocosmes sont correctement alignés sur la droite d'identité (Figure 29) et sont ainsi cohérents avec les observations. En outre, le modèle prédit correctement une augmentation des tailles moyennes des mâles et femelles nés dans les mésocosmes en comparaison à celles dans le témoin (15,8 % et 18,3 % d'augmentations moyennes prédites pour les mâles et femelles respectivement contre 20,0 % et 21,0 % observées). Les variables descriptives concernant la maturité des mâles sont également bien prédites par le modèle (Figure 29).

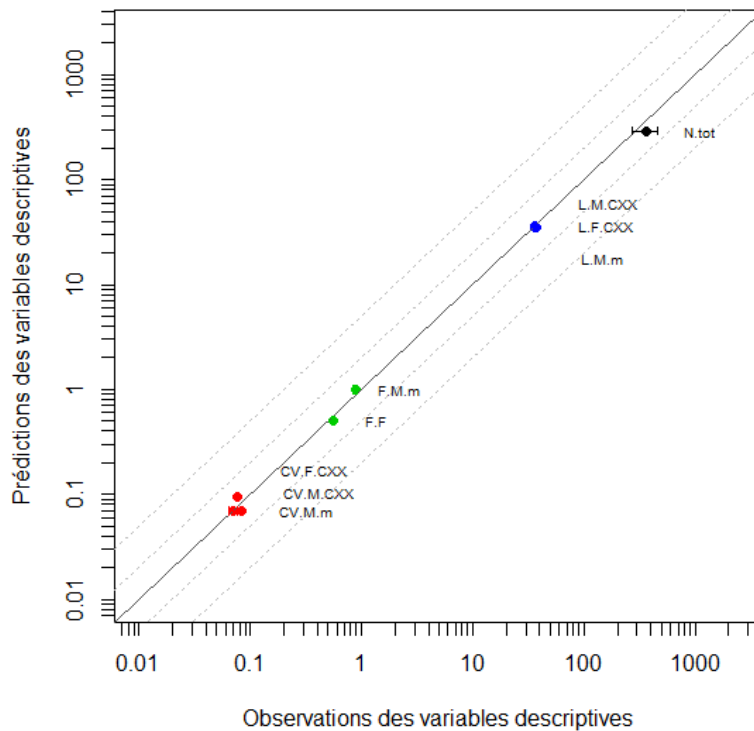


Figure 29. Comparaison des observations et des prédictions des variables descriptives des populations d'épinoches par le DEB-IBM pour les deux réplicats où une forte mortalité des fondateurs a été observée. La couleur des points représente le type de variable descriptive (noir : abondance totale, bleu : tailles moyennes, rouge : CVs des tailles, vert : fréquences). Les écarts-types représentent les intervalles à 95 % pour les moyennes des observations (à l'horizontale) et des prédictions (à la verticale). La droite en trait plein représente la droite d'identité $x : y$, tandis que les droites en pointillés représentent un écart de 2 ou 5 fois la valeur.

La Figure 30 présente le nombre d'alevins dérivants observé dans les trois réplicats du plus fort traitement au diclofénac (Figure 30a) ainsi que le nombre d'individus avec une taille inférieure à 10 mm prédit par le DEB-IBM avec ou sans effets intégrés sur la survie (Figure 30b,c). Les figures des observations de la dérive des alevins et des prédictions du modèle ne sont pas directement superposables, car seulement une petite partie des alevins vont dériver dans les mésocosmes et se retrouver dans les bacs de récupération disposés en aval des mésocosmes. Comme nous n'avons pas de connaissances sur la proportion d'alevins dérivants *a priori*, les prédictions représentent la totalité des individus présents dans les mésocosmes ayant une taille inférieure à 10 mm (~ taille maximale des individus dérivants). Néanmoins, la comparaison des figures nous permet de conclure que la période prédite pour la naissance des premiers individus est cohérente avec les observations. Pour les simulations sans effet sur la survie (Figure 30b), le nombre moyen d'alevins augmente dans les mésocosmes contrairement aux observations, mais s'explique par le fait que le modèle prédit l'accumulation des individus ayant une taille inférieure à 10 mm (ralentissement de la croissance du fait de la forte densité d'individus). De plus, après 100 jours de simulations

avec un effet sur la survie (Figure 30c), le nombre prédit d’alevins inférieurs à 10 mm est proche de zéro ce qui est cohérent avec les observations réalisées dans les réplicats où une surmortalité des fondateurs a été observée (points en rouge).

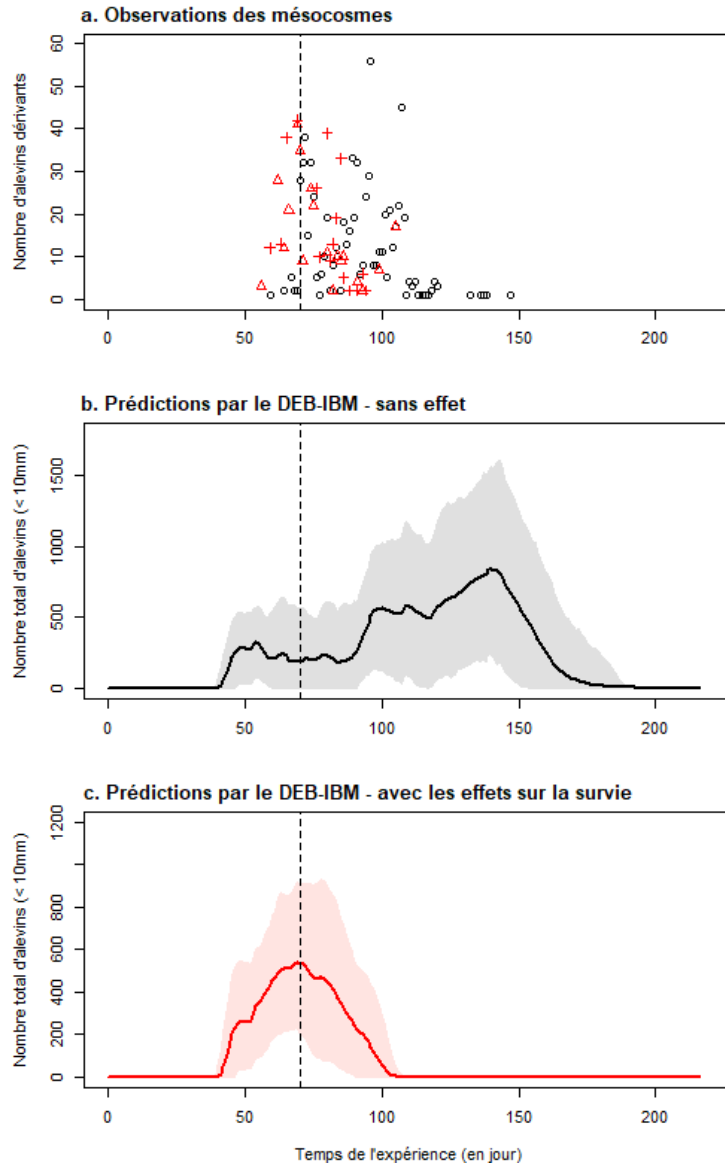


Figure 30. Comparaison du nombre observé d’alevins dérivants par jour en mésocosme dans les trois réplicats du plus fort traitement au diclofénac (a) avec les prédictions du nombre total d’alevins (< 10 mm) au cours du temps prédit par le DEB-IBM sans (b) ou avec (c) des effets intégrés sur la survie. Sur la figure (a), les points en rouge représentent les deux réplicats où une forte mortalité des fondateurs a été observée tandis que les points en noir représentent le mésocosme où la population en fin d’expérience était similaire à celles dans les témoins. Sur les figures (b) et (c), le trait plein représente la moyenne de 1000 simulations tandis que la zone colorée représente 95 % des prédictions.

d. Résultats pour la carbamazépine

Simulations sans impact sur la survie

La Figure 31 présente les résultats pour les fréquences de taille sans intégrer d'effet sur la mortalité des fondateurs. Pour le traitement à 5 µg/L de carbamazépine, seulement 5 et 12 individus ont été retrouvés dans deux des trois réplicats contre 977 individus dans le troisième où aucune surmortalité des fondateurs n'a été observée. Les prédictions du DEB-IBM en condition normale sont cohérentes avec les observations faites dans le contrôle et les plus faibles traitements ainsi que dans le réplicat du plus fort traitement pour lequel aucune mortalité anormale des fondateurs n'a été observée. Néanmoins, les deux populations pour lesquels un nombre très faible d'individus a été retrouvé ne sont pas prédites par le DEB-IBM.

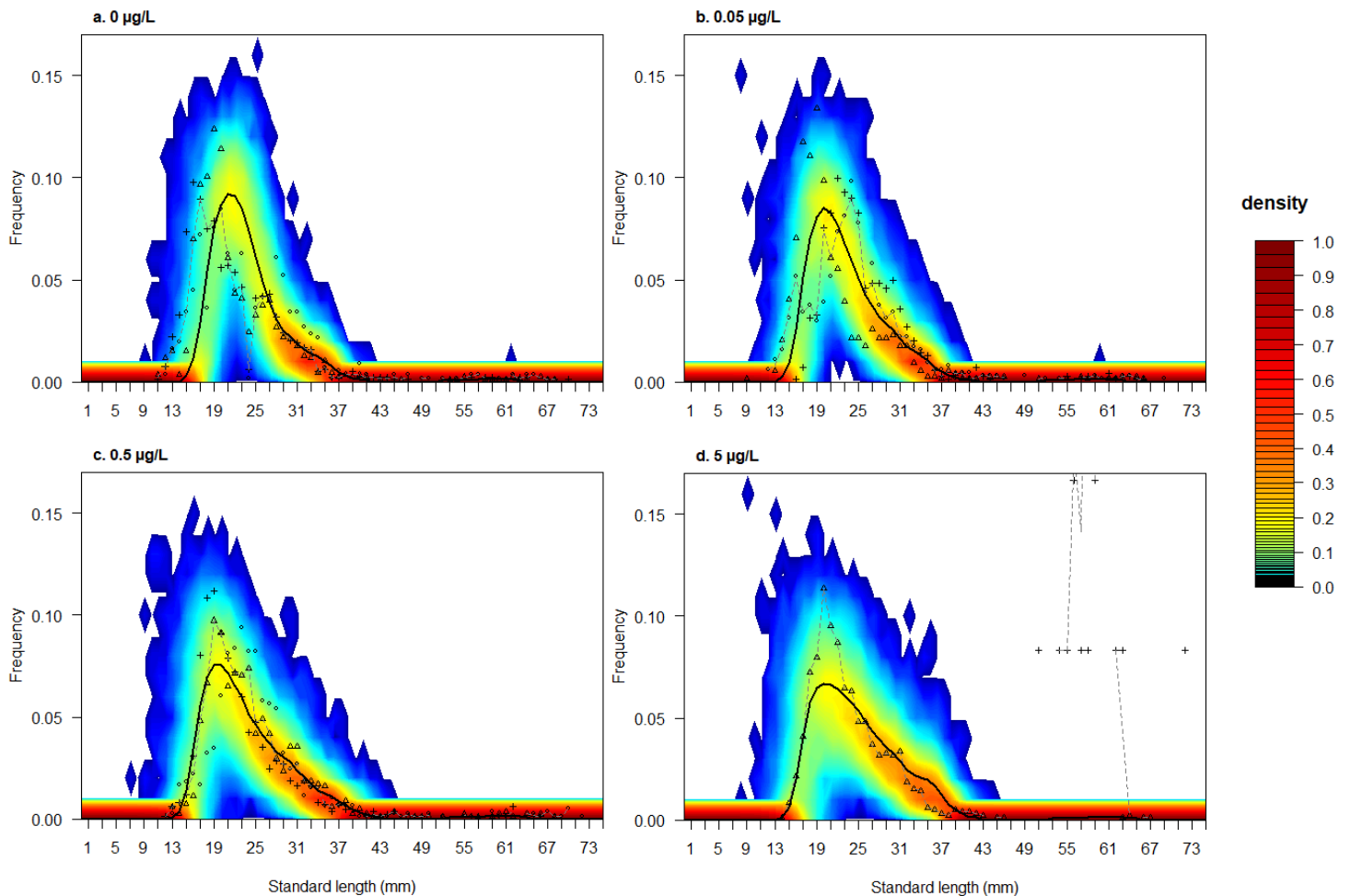


Figure 31. Distributions des fréquences des tailles prédites par le modèle par rapport aux distributions des fréquences observées en fonction des différents traitements à la carbamazépine (0, 0.05, 0.5 ou 5 µg/L). Les différents types de points représentent les différentes populations observées. Les lignes noires et grises représentent les distributions de fréquence de tailles médianes des populations simulées et observées, respectivement.

Simulations avec un impact sur la survie

Dans les mésocosmes, 15 et 18 fondateurs morts respectivement (60 % et 72 % de mortalité) ont été directement observés entre 49 et 64 jours d'expérience dans deux des trois mésocosmes du traitement testant 5 µg/L de carbamazépine. Ce nombre de fondateurs est probablement sous-estimé du fait de la dégradation rapide des individus morts et de la difficulté des observations en mésocosme.

De même que pour l'expérience de 2013, l'hypothèse faite sur la surmortalité des fondateurs est cohérente (Figure 32) puisque le nombre de fondateurs simulé diminue très fortement entre la période où la surmortalité des fondateurs a été observée (entre 49 et 64 jours).

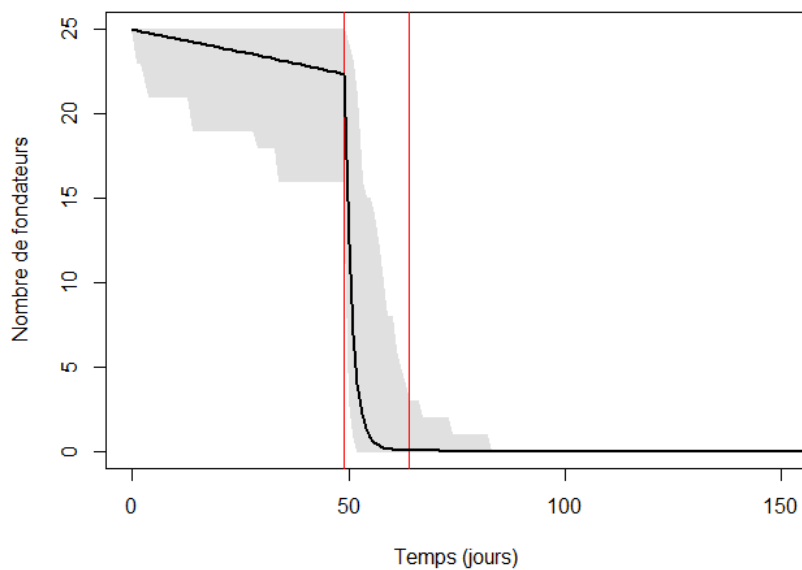


Figure 32. Nombre de fondateurs simulés au cours du temps. La ligne noire représente le nombre de fondateurs moyen, tandis que la zone grise représente l'étendue possible des simulations (minimum et maximum). Les lignes verticales rouges représentent la période durant laquelle une forte mortalité des fondateurs a été observée (entre 49 et 64 jours).

Les prédictions des variables descriptives des populations comparées aux observations pour les deux répliquats du plus fort traitement où une mortalité anormale des fondateurs a été observée sont présentées en Figure 33. Le nombre d'individus simulé en fin d'expérience varie de 0 à 14, avec une moyenne de $6,0 \pm 2,8$ ce qui est cohérent avec les observations (5 et 12 individus retrouvés dans les deux répliquats). Aucun juvénile et fondateur n'est prédit en fin d'expérience, ce qui correspond aux observations faites en mésocosme. De plus, les tailles moyennes prédites des femelles et mâles nés dans les mésocosmes sont également bien prédites (Figure 33). D'autre part, les observations montrent une taille moyenne des femelles ($59,37 \pm NA$ mm sur les deux répliquats) légèrement plus élevée que celle des mâles ($57,50 \pm 0,20$ mm). Les simulations prédisent également une taille moyenne des femelles plus élevée

($58,33 \pm 1,94$ mm sur 1000 simulations) que pour les mâles ($52,80 \pm 1,83$ mm), bien que la différence soit plus marquée. Les prédictions des CVs des tailles des adultes nés dans les mésocosmes sont également cohérentes même si elles pourraient être améliorées puisqu'une erreur de 100 % par rapport à la droite d'identité est observé (Figure 33). Enfin, les variables descriptives concernant la maturité des mâles sont également bien prédites par le modèle.

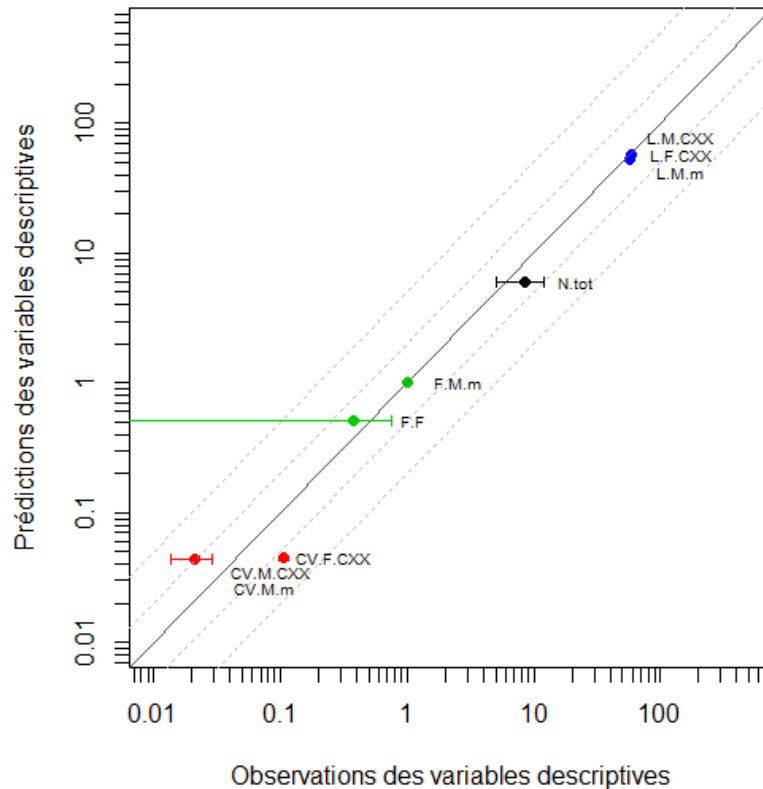


Figure 33. Comparaison des observations et des prédictions des variables descriptives des populations d'épinoches par le DEB-IBM pour les deux réplicats où une forte mortalité des fondateurs a été observée. La couleur des points représente le type de variable descriptive (noir : abondance totale, bleu : tailles moyennes, rouge : CVs des tailles, vert : fréquences). Les écarts-types représentent les intervalles à 95 % pour les moyennes des observations (à l'horizontale) et des prédictions (à la verticale). La droite en trait plein représente la droite d'identité $x : y$ tandis que les droites en pointillés représentent un écart de 2 ou 5 par rapport à la droite d'identité.

De même que pour l'expérience testant le diclofénac, la Figure 34 présente le nombre observé d'alevins dérivants dans les trois réplicats du plus fort traitement à la carbamazépine (Figure 34a) ainsi que le nombre d'individus avec une taille inférieure à 10 mm prédit par le DEB-IBM avec ou sans effet intégré sur la survie (Figure 34b,c). Tout d'abord, peu d'observations des alevins ont été faites dans ces mésocosmes. Néanmoins, la période à laquelle la naissance des premiers individus est prédite est cohérente avec les observations. De plus, pour le réplicat où aucun effet sur la survie des fondateurs n'a été observée (points en noir), des alevins ont dérivés entre 100 et 150 jours après le début de l'expérience, ce qui n'est

pas observé pour les deux autres réplicats. Les simulations sans effet sur la survie (Figure 34b) sont cohérentes avec ces observations puisque des individus avec une taille inférieure à 10 mm sont présents jusqu'à 150 jours de simulations. De plus, pour les simulations avec un effet sur la survie (Figure 34c), aucun individu avec une taille inférieure à 10 mm n'est prédit après 50 jours de simulations ce qui est observé expérimentalement.

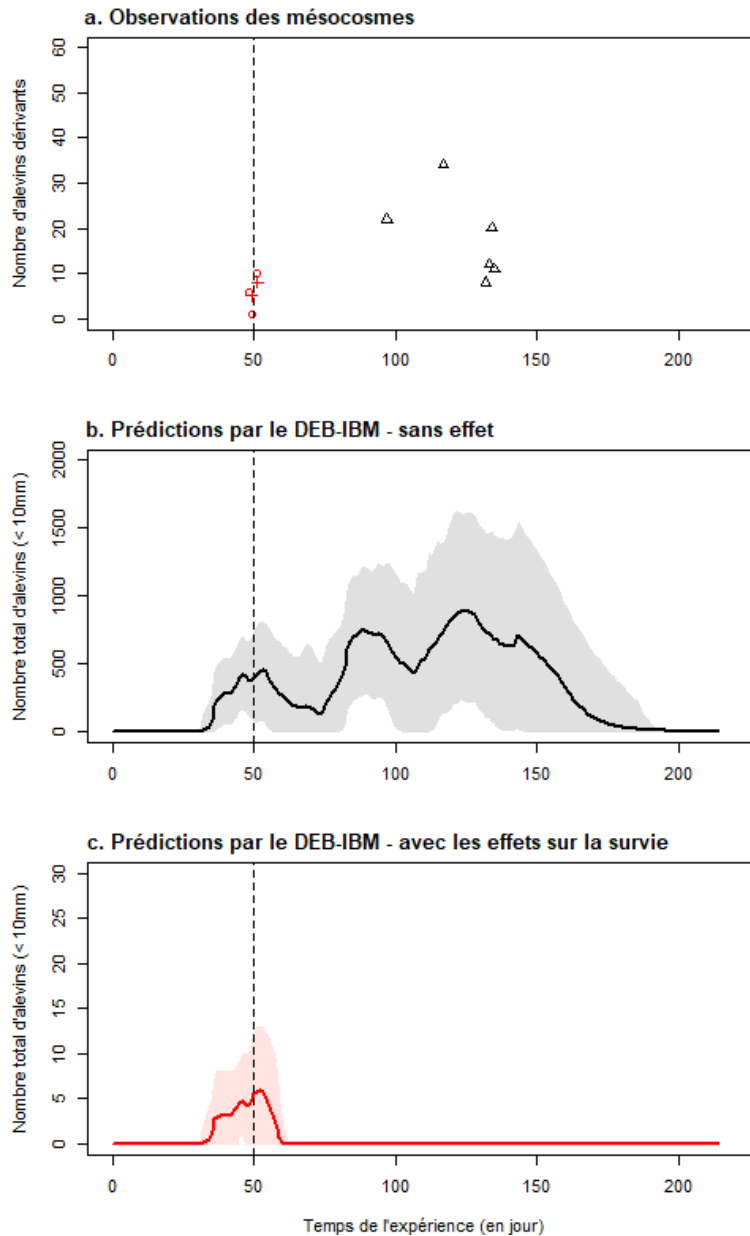


Figure 34. Comparaison du nombre d'alevins dérivants par jour en mésocosme dans les trois réplicats du plus fort traitement à la carbamazépine (a) avec les prédictions du nombre total d'alevins (< 10 mm) au cours du temps prédit par le DEB-IBM sans (b) ou avec (c) des effets intégrés sur la survie. Sur la figure (a), les points en rouge représentent les deux réplicats où une forte mortalité des fondateurs a été observée tandis que les points en noir représentent le mésocosme où la population en fin d'expérience était similaire à celle dans les témoins. Sur les figures (b) et (c), le trait plein représente la moyenne de 1000 simulations tandis que la zone colorée représente 95 % des prédictions.

e. Discussion

Afin d'augmenter l'acceptation des modèles de dynamique de population en analyse du risque environnemental, il est primordial de tester la pertinence de ces modèles dans des cas où la toxicité perturbe fortement la dynamique. Les deux jeux de données de mésocosmes (2013 et 2014) nous le permettent. En effet, ces expériences en mésocosme ont la particularité que deux des douze populations d'épinoches à trois épines ont présenté des structures très différentes. Néanmoins, bien que ces structures anormales de population puissent être corrélées à une surmortalité observée des fondateurs dans deux réplicats des plus fortes concentrations testées de diclofénac et carbamazépine, le fait que les trois réplicats de ces mêmes traitements ne réagissent pas de la même manière est difficile à expliquer. Ainsi, une réponse de type « tout ou rien » se serait mise en place sans que les causes puissent être vraiment élucidées.

Au vu du manque de connaissances sur la toxicité du diclofénac et de la carbamazépine, les hypothèses faites pour modéliser les dynamiques de population dans les plus forts traitements au diclofénac et à la carbamazépine sont relativement simples. Celles-ci ne permettent pas une meilleure compréhension des phénomènes de toxicité ayant pu impacter les populations d'épinoches à trois épines, néanmoins la modélisation de la dynamique de ces deux populations différentes dans chaque expérience a permis de vérifier plusieurs points essentiels du DEB-IBM.

Tout d'abord, les premières reproductions ainsi que la date à laquelle elles sont modélisées semblent bien prédites puisque qu'en modélisant une surmortalité des fondateurs et des œufs et larves à partir de la date observée en mésocosme, le nombre d'individus retrouvés en fin d'expérience est cohérent. Cela est notamment important pour l'expérience de 2013 puisque nous n'avons pas cherché à calibrer manuellement la valeur de la probabilité de survie des œufs et larves. Ces résultats vont également dans le sens de l'hypothèse supposant que les mâles doivent avoir 1 ou 2 ans avant de pouvoir adopter un comportement reproducteur (Dufresne et al. 1990, Bell et Foster 1994). En effet, le DEB-IBM prédit que les individus retrouvés en fin d'expérience sont tous issus des premières reproductions et ne se sont pas reproduits pendant les expériences en mésocosme. Ces prédictions sont cohérentes avec les observations des variables descriptives des populations en fin d'expérience ainsi qu'avec l'absence d'alevins dérivants au cours du temps dans les deux réplicats concernés de chaque expérience après le premier pic de reproduction. Toutefois, des effets directs du diclofénac ou de la carbamazépine sur les processus de reproduction des épinoches nées dans les

mésocosmes pourraient également expliquer qu'il n'y ait pas d'autres vagues de reproduction. Néanmoins, nous avons négligé de tels effets potentiels et cela semble être une hypothèse acceptable au vu des résultats de modélisation.

De plus, dans l'expérience testant le diclofénac, la surmortalité des fondateurs a été observée 29 jours plus tard que dans l'expérience testant la carbamazépine, ce qui peut s'expliquer en partie par le fait que la contamination a commencé 11 jours plus tard dans l'expérience testant le diclofénac. Par simulation, nous mettons en évidence que ce décalage de début d'effet a eu pour conséquence d'épargner les premiers nids et alevins nés dans les mésocosmes des effets du diclofénac contrairement à l'expérience testant la carbamazépine. Cette étude souligne donc l'importance de la période de contamination choisie pour l'expérience en mésocosme. En effet, dans le cas de toxicité aigüe, il pourrait être intéressant de contaminer les mésocosmes après le premier pic de reproduction afin d'évaluer les effets des toxiques à plusieurs stades du cycle de vie des individus nés dans les mésocosmes (œufs, alevins, juvéniles, adultes).

Les tailles moyennes des mâles et femelles nés dans les mésocosmes sont correctement prédites, ce qui signifie que la croissance ainsi que les phénomènes de compétition alimentaire ont bien été appréhendés par le modèle même pour ces dynamiques de population originales. En particulier, pour l'expérience de 2014, les adultes atteignent une taille moyenne proche de leur taille maximale ce qui n'arrive généralement jamais dans les populations standard en mésocosme. Ainsi, cela valide également l'hypothèse que les individus nés dans les mésocosmes en condition normale ne sont pas nourris *ad libitum* et présentent un taux de croissance relativement faible.

Ce premier cas d'étude nous permet ainsi de tester les prédictions du modèle dans le cas de mortalité aigüe des fondateurs. Globalement, toutes les prédictions du modèle sont relativement cohérentes avec les observations faites dans les mésocosmes. En revanche, le DEB-IBM n'est pas capable de prédire les trois réplicats à la fois sans doute car il ne prend pas correctement en compte les interactions entre la substance toxique et les facteurs biotiques de l'environnement (effondrement des macrophytes). Une solution simple pour modéliser ce type de réponse (réponse oui/non) serait d'introduire une condition pour laquelle les effets sur les poissons du diclofénac ou de la carbamazépine s'expriment, mais aucun élément biologique ne nous permet de justifier une telle hypothèse.

De plus, il est nécessaire de noter que les effets du diclofénac et de la carbamazépine sur d'autres traits d'histoire de vie des épinoches à trois épines comme la croissance et la reproduction ont été négligés. Cette hypothèse semble justifiée car au vu des résultats, il ne

semble pas y avoir d'impact sur les individus nés dans les mésocosmes même s'ils continuent d'être exposés. Néanmoins, il serait intéressant de tester les limites du modèle sur des dynamiques de populations anormales en éliminant les facteurs confondants possibles dû à la présence d'une substance chimique. Pour cela, une expérience en mésocosme avec une perturbation mécanique des populations a été réalisée et fera l'objet du second cas d'étude présenté dans la partie suivante.

II.2.2. Second cas d'étude : Introduction d'un nombre différent de fondateurs

a. Introduction

Dans le cas d'étude précédent, le DEB-IBM a été appliqué à des expériences en mésocosme où les dynamiques de population ont été fortement perturbées après introduction d'un toxique. Néanmoins, il existe des incertitudes sur les causes de la perturbation induisant les dynamiques de population anormales observées (facteurs confondants liés à la présence d'un toxique et aux conditions écologiques). Dans ce deuxième cas d'étude, les dynamiques de population ont donc été perturbées artificiellement afin de connaître précisément les causes induisant une régulation différente des populations.

Pour cela, le plan de l'expérience a été modifié et un nombre plus faible de fondateurs a été introduit en début d'expérience dans certains mésocosmes. De plus, nous avons également changé le sexe-ratio des fondateurs introduits dans deux mésocosmes afin d'évaluer l'impact de celui-ci sur la dynamique de population des épinoches à trois épines. Néanmoins, due à des contraintes expérimentales, nous avons dû réduire le temps de l'expérience. Ainsi, la durée de l'expérience a été raccourcie à quatre mois (d'avril à fin août) contrairement à six mois dans les expériences standards en mésocosme.

La capacité du modèle à prédire ces dynamiques de population particulières sera donc évaluée en comparant les prédictions du modèle avec les observations faites en mésocosme des variables descriptives des populations d'épinoches. Plusieurs hypothèses ont été testées pour mettre en évidence les points d'amélioration du DEB-IBM.

b. Matériel et méthodes

b.1. Expérience en mésocosme

Une expérience en mésocosme a été réalisée dans les rivières artificielles de l’Ineris en 2018. Les sédiments, macrophytes, zooplancton et macroinvertébrés ont été introduits progressivement d’octobre à décembre 2017 comme décrit dans le chapitre II.

Aucune substance chimique n’a été testée dans cette expérience en mésocosme, néanmoins deux traitements sont testés et sont caractérisés par un nombre plus faible d’épinoches à trois épines introduites dans les mésocosmes par rapport au témoin (recevant 15 femelles et 10 mâles) (Tableau 4). Le traitement appelé « Nb_Fond » est caractérisé par l’introduction de 6 femelles et 4 mâles, ainsi le sexe-ratio entre mâles et femelles est inchangé par rapport au témoin. Le traitement appelé « Sexe_Ratio » est caractérisé par l’introduction de 8 femelles et 4 mâles induisant un sexe-ratio de 0,5 entre mâles et femelles. Trois réplicats du témoin et 2 réplicats des traitements avec un nombre plus faible de fondateurs introduits (traitements Nb_Fond et Sexe_Ratio) sont réalisés (Tableau 4). Pour chaque mésocosme, le type de traitement est choisi aléatoirement.

Tableau 4. Sexe-ratio et nombre d’épinoches à trois épines introduites dans les mésocosmes et nombre de réplicats en fonction du traitement

Traitement	Témoin	Nb_Fond	Sexe_Ratio
Nombre de fondateurs	15 femelles	6 femelles	8 femelles
	10 mâles	4 mâles	4 mâles
Sexe-ratio	0,67	0,67	0,50
Nombre de réplicats	3	2	2

Les épinoches à trois épines ont été introduites dans les mésocosmes le 11 avril 2018. Les tailles standards moyennes des femelles et des mâles étaient de $42,2 \pm 4,0$ mm [min - max : 31,7 - 49,4 mm] et $45,4 \pm 3,5$ mm [min - max : 36,9 - 51,8 mm] respectivement.

Au cours de l’expérience, la température de l’eau a été mesurée toutes les 10 min à l’aide de capteurs placés à 5 et 15 m de l’arrivée d’eau (HOBO0257, Prosensor, Amanvilliers, France) et les proies des épinoches (zooplancton et macroinvertébrés) ont été mesurées toutes les quatre semaines comme décrit dans le chapitre II.

En aval des mésocosmes, les alevins pouvant traverser la grille ont été récupérés dans le bac de récupération. Ces bacs ont été vidés chaque jour et le nombre d’alevins vivants et morts a été noté avant de remettre les individus dans les rivières artificielles.

Les mésocosmes ont été vidés le 5 septembre 2018 (environ 30 jours avant la date standard), ainsi l'expérience n'a duré que 147 jours. Toutes les épinoches à trois épines ont alors été récupérées puis sacrifiées par une forte dose de MS-222. Les poissons ont ensuite été mesurés et pesés. Le sexe du poisson a été déterminé par dissection en observant l'aspect des gonades. Comme dans l'article 2, les variables descriptives des populations en fin d'expérience sont l'abondance de la population (N.tot), le nombre de femelles et mâles fondateurs (N.F.C00, N.M.C00), les fréquences de femelles et juvéniles (F.F et F.J) et les tailles moyennes et les CVs des tailles des fondateurs mâles et femelles (L.M.C00, L.F.C00, CV.M.C00, CV.F.C00), des mâles et femelles nés dans les mésocosmes (L.M.CXX, L.F.CXX, CV.M.CXX, CV.F.CXX) et des juvéniles (L.J, CV.J). Enfin, la fréquence des mâles matures parmi le nombre total de mâles (F.M.m) ainsi que la taille moyenne des mâles matures et le CV de leur taille (L.M.m et CV.M.m) ont aussi été déterminés.

b.2. Modélisation individu-centrée

Le DEB-IBM développé dans la partie II.2. a été utilisé pour simuler les résultats de cette expérience en mésocosme. Néanmoins, le paramètre donnant la durée de la période de reproduction (paramètre appelé *Breeding.Period*) a été calibré sur les données de population en condition témoin car la durée de l'expérience n'est pas la même que pour les expériences en mésocosme sur lequel le modèle a été développé. De même, le paramètre lié à la croissance densité-dépendante a été recalibré comme suggéré dans la partie II.2. (David et al. 2019).

Les scénarios de nourriture en entrées du modèle ont été changés pour correspondre à chaque traitement testé en mésocosme. Ceux-ci ont été calculés en utilisant les abondances des proies des épinoches à trois épines mesurées dans chaque traitement, qui ont ensuite été converties en données énergétiques et interpolées linéairement entre les dates d'échantillonnage (comme décrit dans le chapitre II, partie I). Les proies considérées dans le modèle sont *Gammarus fossarum*, *Asellus aquaticus*, Chirominidae et les espèces de zooplancton. Les scénarios de température correspondent à la température moyenne mesurées par les deux sondes pour chaque traitement. Enfin, le nombre et la taille des fondateurs ont été initialisés en fonction des individus introduits dans chaque mésocosme.

Afin d'évaluer la précision des prédictions du modèle, celles-ci ont été comparées aux observations faites dans les mésocosmes en fin d'expérience. 1000 simulations ont été effectuées pour chaque traitement pour prendre en compte la stochasticité du modèle

(variabilité environnementale inter-mésocosme, variabilité de la performance inter-individuelle et processus stochastiques).

De plus, pour permettre une meilleure compréhension du modèle dans ce nouveau cadre d'utilisation (protocole différent), une analyse de sensibilité locale a été réalisée en faisant varier de 5 % la valeur des paramètres du DEB-IBM selon la méthode décrite dans Ginot et al. (2006). Cette analyse de sensibilité locale permet d'évaluer les effets directs des paramètres sur les sorties du modèle. Les entrées utilisées pour les simulations sont celles du témoin.

A partir des résultats de cette analyse de sensibilité, plusieurs essais de modélisation ont été réalisés pour comprendre les résultats des traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio ». Au total, cinq hypothèses ont été testées indépendamment les unes des autres :

- Hyp. A Nous avons fait varier de $\pm 50\%$ le temps de développement des œufs puisque c'est un des paramètres importants mis en évidence par l'analyse de sensibilité. Ainsi, le temps de développement des œufs peut varier de 4 à 10 jours.
- Hyp. B La probabilité de survie des larves et œufs a été fixée à 100 %. En effet, les phénomènes de compensation pourraient induire une plus grande survie des œufs et larves lorsque la densité des fondateurs est plus faible.
- Hyp. C Le temps de récolte des œufs dans les nids des mâles n'a pas été pris en compte. Ainsi, l'arrêt de la récolte se fait lorsque le nombre d'œufs atteint le nombre d'œufs maximal que peut récolter le mâle (calculé en fonction de sa taille). Cette hypothèse repose sur l'idée que le nombre d'œufs dans les nids serait optimisé en augmentant le temps de collecte de ceux-ci.
- Hyp. D Augmentation de 50 % de la valeur du coefficient directeur a_{Rmax} de la droite affine estimant le nombre maximal d'œufs dans la ponte des femelles. Ainsi, les femelles auraient des pontes avec un nombre d'œufs plus important.
- Hyp. E Le nombre d'œufs dans les nids a été fixé au nombre maximal d'œufs que peut récolter les mâles. Le temps de récolte est laissé inchangé. Ainsi, les mâles optimiseraient le nombre d'œufs récoltés dans leur nid.

c. Résultats

c.1. Expérience en mésocosme

Aucun effet des traitements n’a été trouvé sur les proies des épinoches à trois épines (zooplancton et macroinvertébrés) (RM-ANOVA > 0,05).

La Figure 35 présente l’abondance cumulée par semaine des alevins vivants et morts dérivant en aval des mésocosmes. Le nombre d’alevins vivants dérivants est significativement plus faible par rapport au témoin pour les deux traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio » cinq semaines après l’introduction des fondateurs (Dunnet, p-value < 0,05). De plus, huit semaines après l’introduction des fondateurs, le nombre d’alevins vivants dérivants est également significativement différent entre le traitement « Nb_Fond » et le témoin (Dunnet, p-value < 0,05). Le nombre d’alevins morts dérivants est également significativement plus faible six semaines après introduction des fondateurs pour le traitement « Sexe_Ratio » et sept semaines après introduction des fondateurs pour le traitement « Nb_Fond » par rapport au témoin (Dunnet, p-value < 0,05).

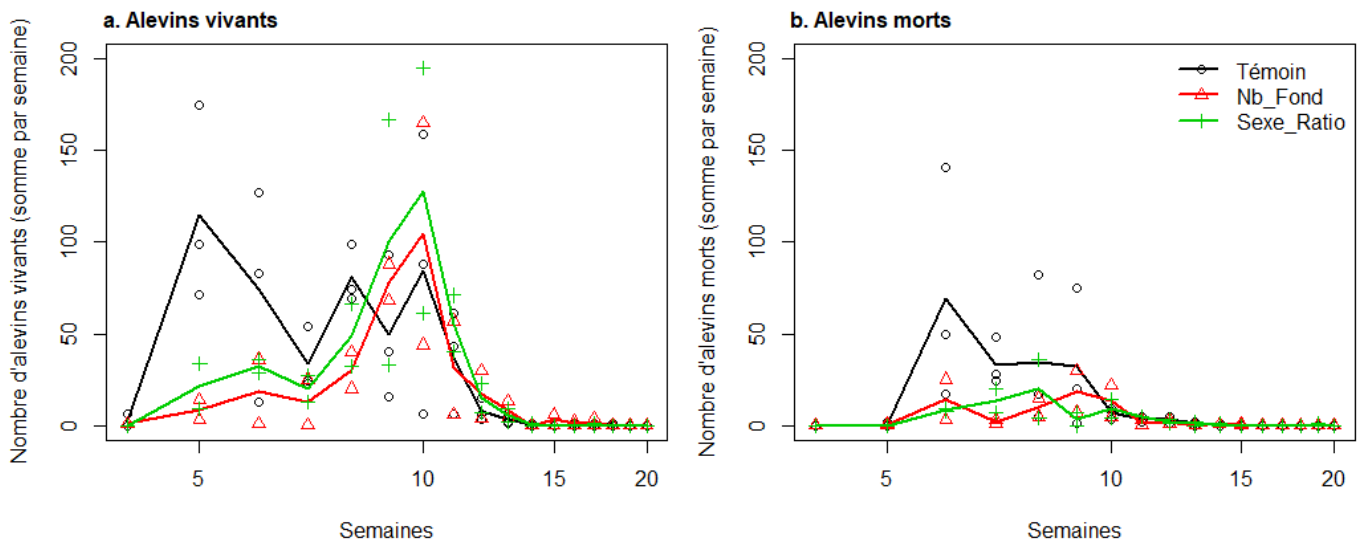


Figure 35. Comparaison du nombre d’alevins dérivants en mésocosme dans les trois traitements (noir : Témoin, rouge : «Nb_fond» et vert : «Sexe_Ratio»). La figure (a) représente le nombre d’alevins vivants dérivants totalisé par semaine tandis que la figure (b) représente le nombre d’alevins morts dérivants totalisé par semaine. Les points représentent les répliquats par traitement tandis que les lignes pleines représentent les médianes par traitement.

La Figure 36 présente les observations des variables descriptives pour chaque traitement qui concernent les nombres d’individus (total et nombre d’individus en fonction de la catégorie des individus à laquelle ils appartiennent). La Figure 37 présente les observations pour les autres types de variables descriptives de la population d’épinoches à trois épines. Le nombre de fondateurs femelles et mâles est significativement plus faible pour les traitements

« Nb_Fond » et « Sexe_Ratio » par rapport au témoin (Figure 36), ce qui induit des fréquences des fondateurs femelles et mâles également significativement plus faibles (Figure 37). De plus, la taille moyenne des mâles nés dans les mésocosmes est significativement plus élevée dans le traitement « Sexe_Ratio » par rapport au témoin. Aucune différence significative n'est trouvée pour les autres variables descriptives.

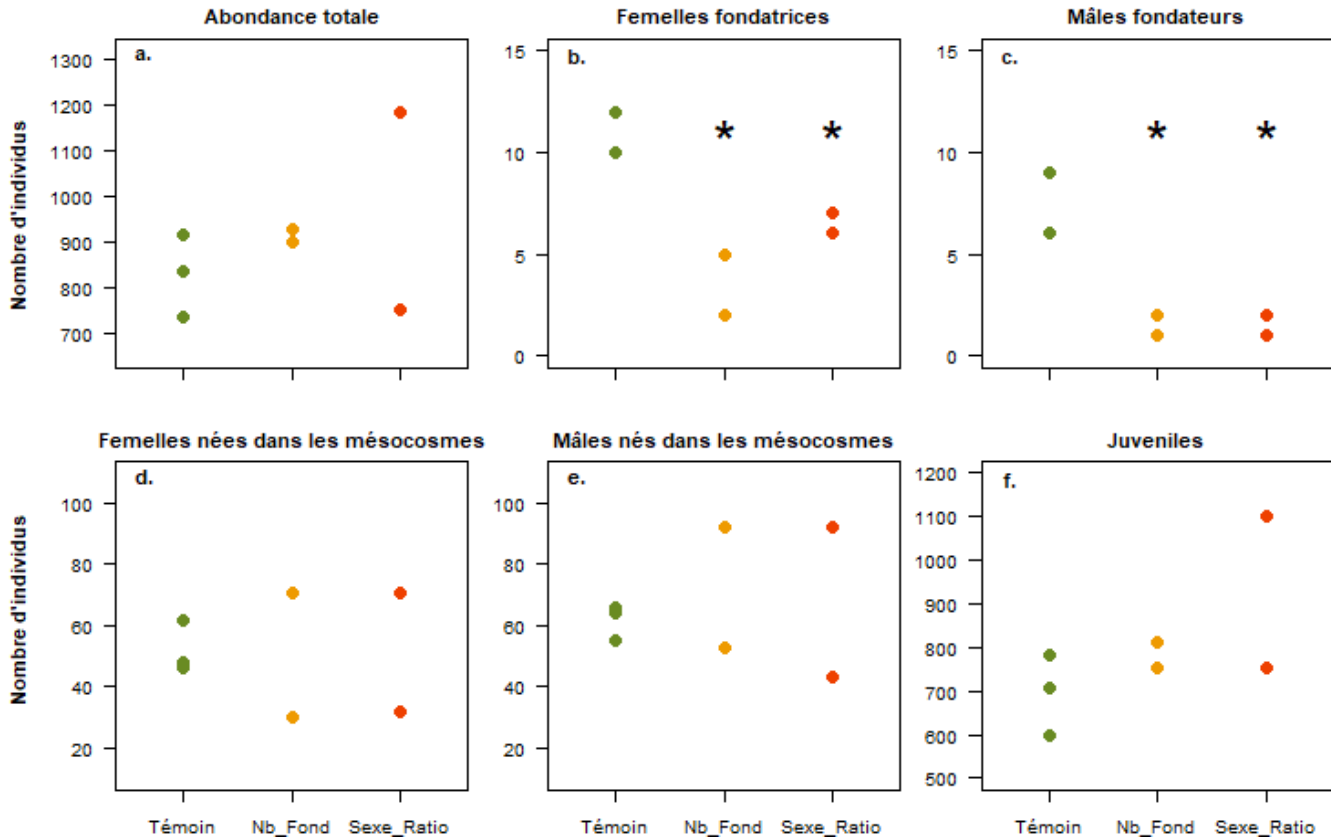


Figure 36. Observations des variables descriptives pour les trois traitements concernant le nombre d'individus total dans les mésocosmes et en fonction des catégories d'individus (vert : Témoin, orange : « Nb_Fond » et rouge : « Sexe_Ratio »). Les étoiles représentent les différences significatives avec le test de Dunnett (p-value < 0,05).

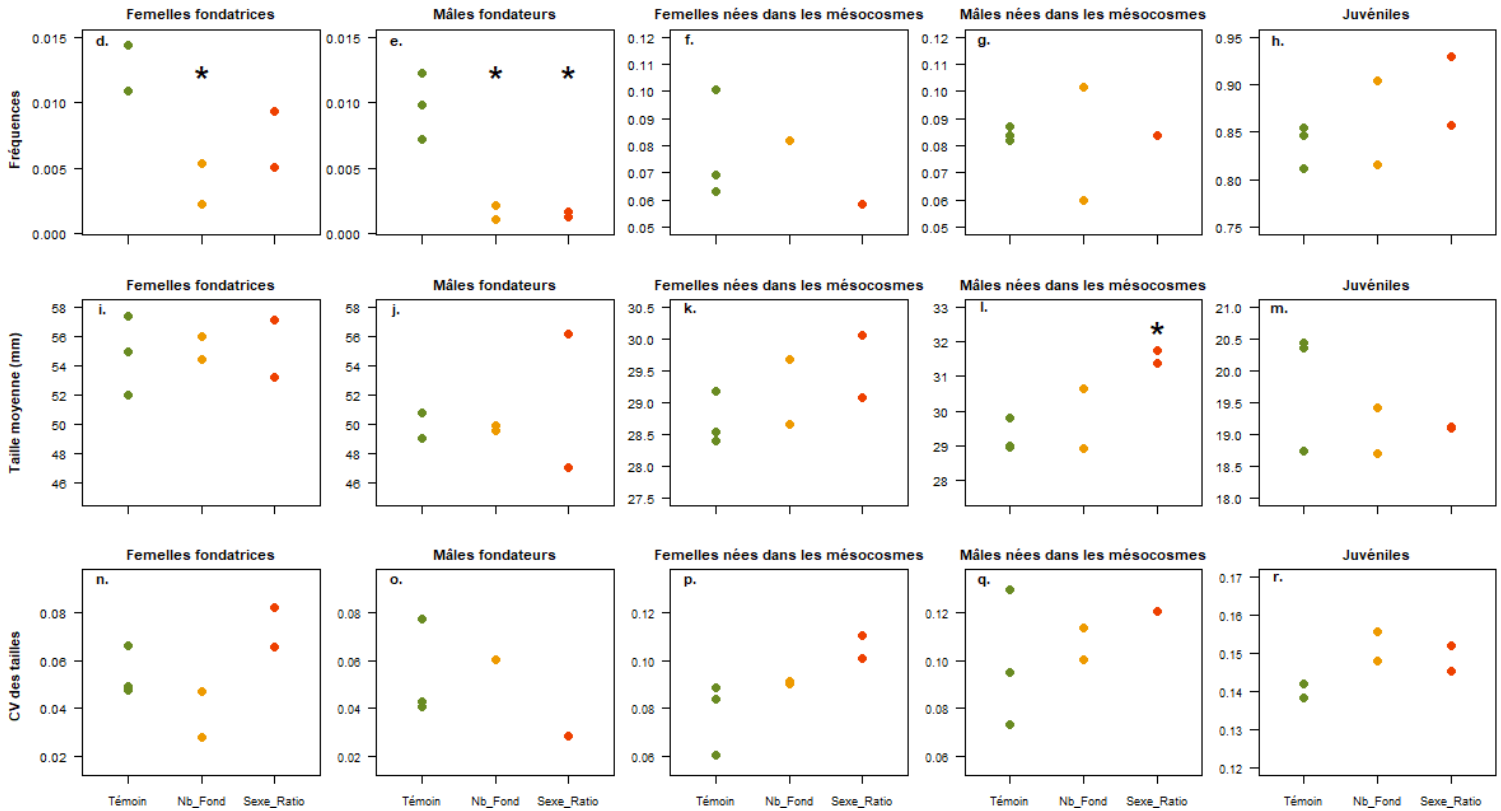


Figure 37. Observations des variables descriptives pour les trois traitements concernant les fréquences, les tailles moyennes et les CVs des tailles (vert : Témoin, orange : « Nb_Fond » et rouge : « Sexe_Ratio »). Les étoiles représentent les différences significatives avec le test de Dunnett (p -value $< 0,05$).

c.2. Modélisation individu-centrée

Tout d’abord, les valeurs de paramètres du modèle pour les témoins et notamment les résultats de calibration pour le paramètre donnant la durée de la période de reproduction (paramètre appelé *Breeding.Period*) sont donnés en Annexe 3. La valeur du paramètre *Breeding.Period* a été réduite de quatre semaines par rapport à celle du DEB-IBM présenté en partie I.2 (David et al. 2019).

La Figure 38 présente les résultats de l’analyse de sensibilité locale. Le paramètre concernant la durée de la période de reproduction suivi de la température optimale pour l’épinoche à trois épines (*Breeding.Period* et *CTO*) a le plus d’influence sur les sorties du DEB-IBM. Les paramètres en lien avec la croissance et la mortalité densité-dépendantes influencent également fortement les sorties (*K_dens* et *m_dens*). Enfin, l’influence des paramètres en lien avec la reproduction sur les sorties (*Time_Dvpt_Eggs* : Temps de développement des œufs, *P.OL* : Probabilité de survie des œufs et *Time_harvest_mean* : Temps moyen de la récolte des œufs) est également importante.

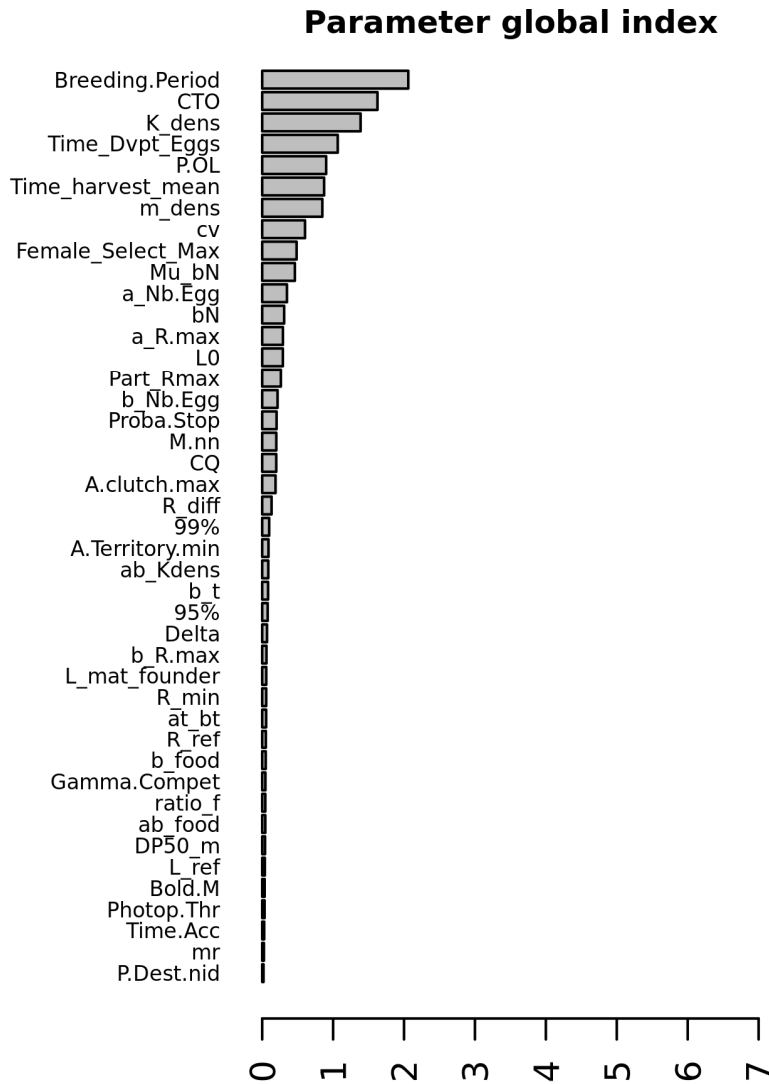


Figure 38. Analyse de sensibilité locale selon la méthode de Ginot et al. (2006). Une variation de 5 % est introduite sur la valeur des paramètres.

La Figure 39 présente les prédictions du modèle pour chaque traitement en comparaison avec les observations des variables descriptives des populations d'épinoches à trois épines faites en mésocosme. Le modèle prédit correctement les variables descriptives des populations témoins puisque les observations sont incluses dans la distribution prédite. Néanmoins, l'abondance totale est légèrement surestimée. Concernant les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio », le modèle prédit correctement le nombre de fondateurs retrouvé en fin d'expérience. L'abondance totale est en revanche légèrement surestimée et la fréquence des juvéniles est sous-estimée. De même, la taille moyenne des juvéniles est surestimée et les prédictions des tailles moyennes des mâles et femelles nés dans les mésocosmes pourraient être améliorées.

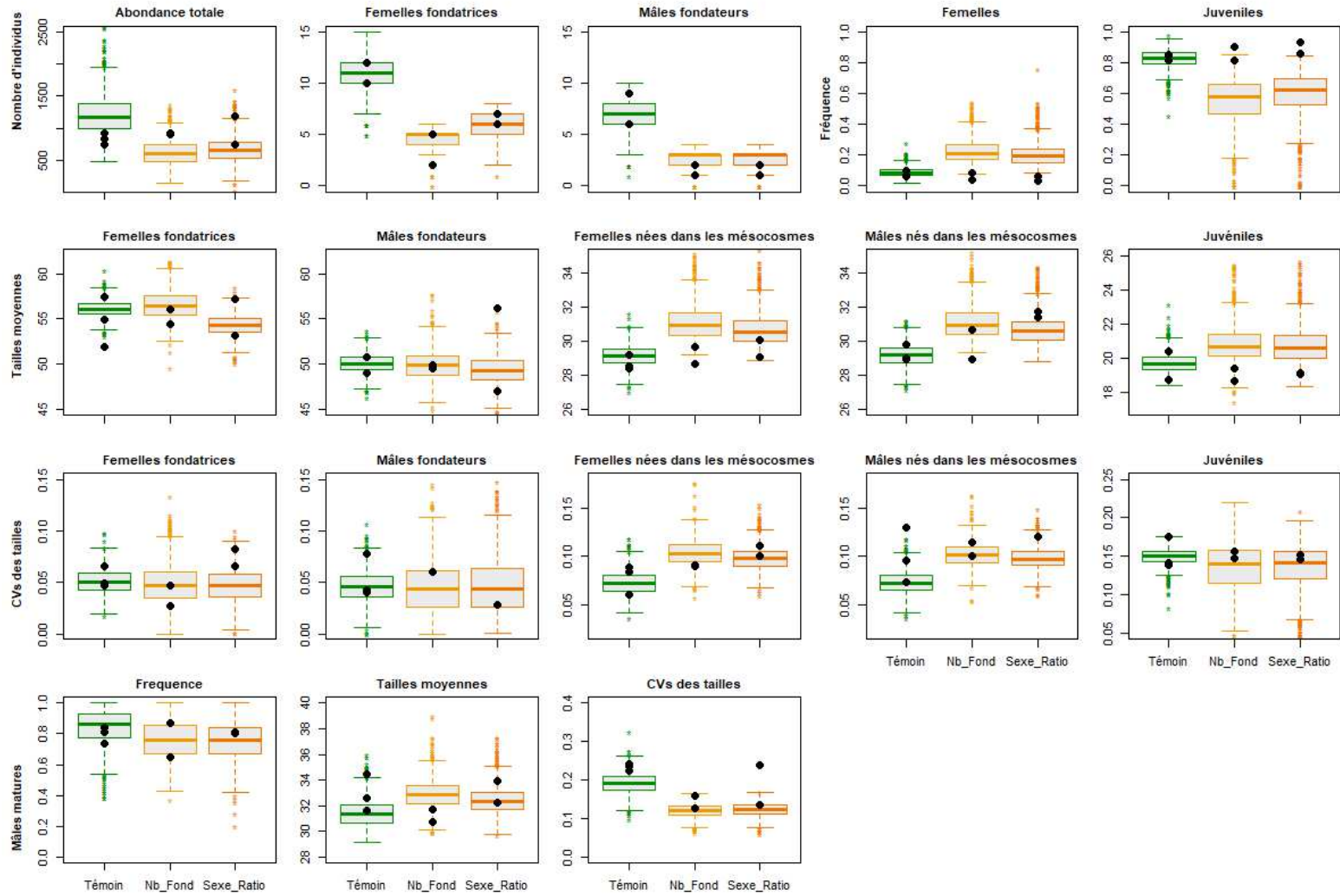


Figure 39. Comparaison des prédictions et des observations des variables descriptives des populations d'épinoches à trois épines. Les boxplots représentent les simulations du modèle (vert : Témoin, jaune : « Nb_Fond » et orange : « Sexe_Ratio ») et les points représentent les observations.

La Figure 40 présente les distributions des fréquences des tailles prédites par le modèle ou observées en mésocosme pour chaque traitement. Le DEB-IBM prédit correctement la distribution des fréquences de taille dans les témoins. En revanche, le pic de juvéniles (deuxième cohorte entre 9 et 25 mm) est sous-estimé dans les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio », ce qui induit à l'inverse une surestimation du premier pic d'individus (première cohorte entre 25 et 40 mm).

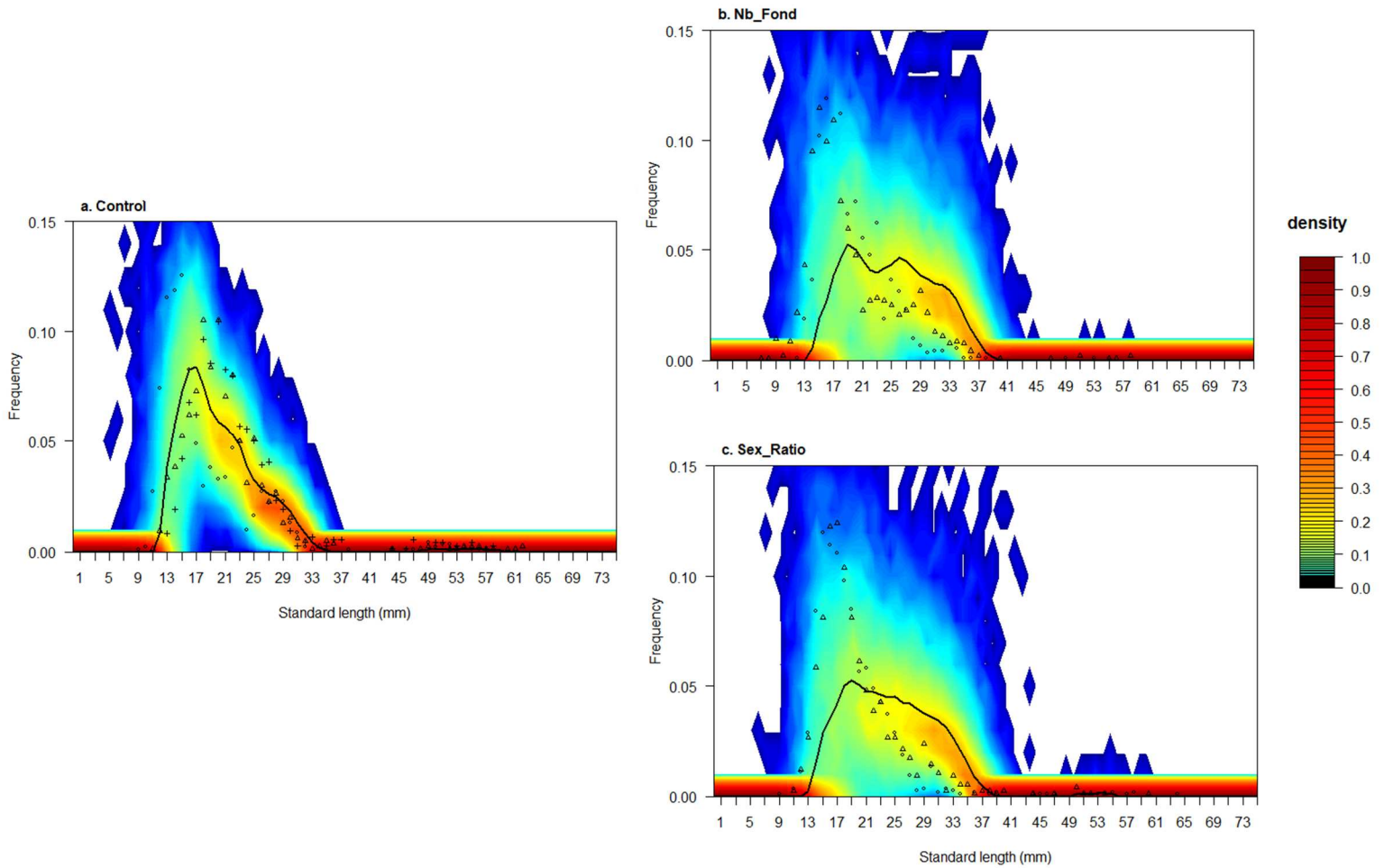


Figure 40. Distributions probabilistes de la fréquence des tailles prédites par le modèle par rapport aux distributions de fréquences observées dans les mésocosmes pour le témoin et les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio ». Les différents types de points représentent les distributions de fréquence de taille de chaque réplicat du traitement. Les lignes noires pleines représentent les distributions de fréquence des tailles médianes des populations simulées. Le niveau de couleur représente la fréquence des populations simulées ($n = 1000$) ayant un pourcentage donné d'individus pour une longueur de classe donnée. Les fréquences inférieures à $< 10^{-4}$ sont représentées en blanc.

Le Tableau 5 présente les différents essais réalisés pour comprendre les mécanismes de régulation des populations et mettre en évidence les limites du modèle. Le seul essai de modélisation donnant des résultats satisfaisants est celui où le nombre d'œufs dans les nids est fixé au nombre maximal d'œufs que peut récolter les mâles (hypothèse E). Les autres essais sous-estiment les fréquences de taille de la deuxième cohorte (entre 10 et 25 mm) et surestiment celles de la première cohorte (entre 25 et 40 mm).

Tableau 5. Essais réalisés afin de comprendre les mécanismes de régulation des populations dans les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio ». Les résultats ne sont présentés que pour « Nb_Fond » mais les mêmes résultats sont obtenus pour le traitement « Sexe_Ratio ».

Hypothèse	Changement testé	Résultats de modélisation
A	Augmentation de 50 % du temps de développement des œufs (paramètre ayant une forte influence sur les sorties d'après l'analyse de sensibilité locale) (Résultat équivalent pour une diminution)	
B	Probabilité de survie des larves et œufs fixée à 1	
C	Le temps de récolte n'est pas pris en compte. L'arrêt de la récolte se fait lorsque le nombre d'œufs atteint le nombre d'œufs maximal que peut récolter le mâle	
D	Augmentation de 50 % de la valeur du coefficient directeur a_Rmax de la droite affine estimant le nombre maximal d'œufs dans la ponte des femelles	
E	Nombre d'œufs dans les nids fixé au nombre maximal d'œufs que peut récolter les mâles (calculé en fonction de leur taille)	

d. Discussion

L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances du modèle avec un plan d'expérience en mésocosme légèrement modifié où des phénomènes différents de régulation des populations se sont mis en place. Tout d'abord, la durée de l'expérience en mésocosme a été raccourcie par rapport aux autres expériences en mésocosme (introduction des épinoches un mois plus tard et vidange des mésocosmes réalisée un mois plus tôt). En conséquence, les témoins de cette expérience ne sont pas directement comparables à ceux des autres années.

Ainsi, le paramètre représentant la durée de la période de reproduction a été calibré sur les données de populations des témoins de l'expérience. Avec cette calibration, la période de reproduction est réduite de quatre semaines ce qui correspond bien au fait que les fondateurs ont été introduits un mois après la date habituelle des autres expériences en mésocosme. Le modèle reproduit alors bien la structure des populations dans les témoins (Figure 40). Par conséquent, l'utilisation d'un paramètre représentant la période de reproduction est une solution efficace pour prendre en compte les différents facteurs environnementaux responsables de l'arrêt des processus de reproduction. De plus, la nouvelle valeur du paramètre *Breeding.Period* induit que la période de reproduction se termine début juillet, ce qui correspond à ce qui était trouvé pour les autres années d'expériences en mésocosme. Une fin de la période de reproduction estimée à début juillet est de plus cohérente avec les observations des nids de Mori (Figure 11). Une amélioration possible du modèle pourrait être de néanmoins utiliser une date de fin de reproduction plutôt qu'une durée, qui resterait ainsi inchangée dans le modèle quelle que soit la durée de l'expérience simulée (Figure 41).

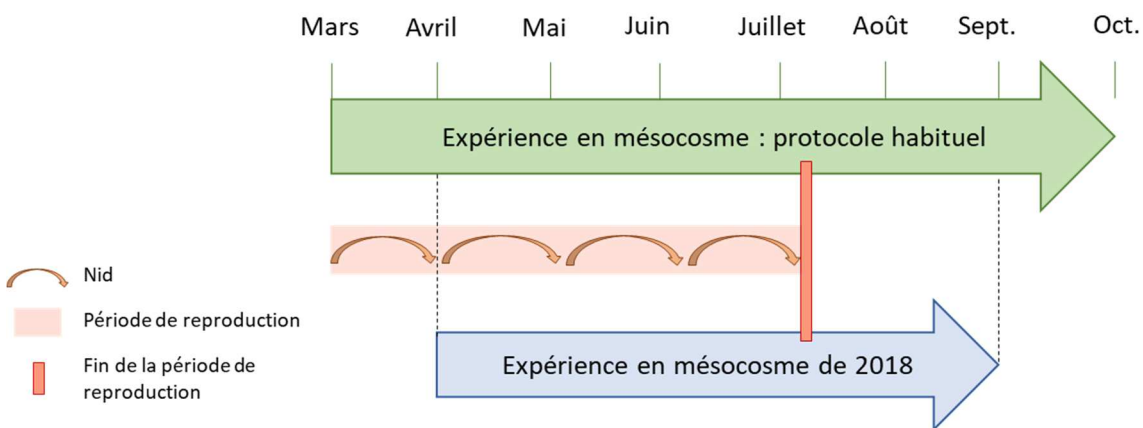


Figure 41. Représentation schématique de la période de reproduction dans les expériences en mésocosme ayant le protocole d'expérience habituel (flèche verte) ou le protocole particulier de 2018 (flèche bleue). La zone rose représente la période de reproduction et les flèches orange représentent les potentiels nids. Le rectangle rouge représente la date de fin de la période de reproduction.

D'autre part, les résultats de l'analyse de sensibilité locale mettent en avant une forte influence de plusieurs paramètres de reproduction sur les sorties du DEB-IBM. Ces paramètres ne ressortaient pas dans l'analyse du modèle en condition contrôle présentée en partie II.2 (David et al. 2019). Ceci s'explique par la durée de l'expérience qui est raccourcie. En effet, l'augmentation de l'importance des paramètres de reproduction en comparaison aux paramètres de croissance semble relativement cohérente puisque la fin de l'expérience (un mois plus tôt que lors des autres expériences en mésocosme) est plus proche de la période de reproduction. De plus, comme montré dans la partie II.2, la taille à la naissance des alevins a une influence plus importante sur les sorties du DEB-IBM lorsque les variables descriptives sont simulées en début de période de reproduction. Ici, les variables descriptives sont simulées en fin de période de reproduction et ce sont les paramètres liés à la durée de la période de reproduction, la récolte des œufs, ainsi qu'au développement et à la survie des œufs qui ont une forte influence. Ainsi, ces résultats mettent en évidence l'importance du temps de simulation considéré pour lequel les variables descriptives de la population sont prédites. En effet, la période où ces variables sont calculées va influencer sur le niveau de certitude nécessaire aux paramètres pour optimiser les prédictions du modèle.

De plus, la comparaison des mésocosmes témoins aux mésocosmes avec une perturbation mécanique a mis en évidence plusieurs éléments importants. En effet, le premier cas d'étude, basé sur les résultats des expériences de 2013 et 2014, a montré que lorsque seuls les premiers individus nés dans les mésocosmes survivent, leur croissance est prédite correctement par le modèle. En revanche, les effets de densité-dépendance sur la reproduction des fondateurs ne sont pas testés puisque que la perturbation de la dynamique de population arrive après la construction des premiers nids et entraîne une très forte mortalité des fondateurs. Dans ce deuxième cas d'étude, c'est bien l'ensemble de la dynamique de population qui est perturbée puisque le nombre de fondateurs est changé dès le début de l'expérience. Les effets sur la reproduction des fondateurs sont donc bien pris en compte.

L'analyse des résultats pour les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio » montre des différences significatives dans les observations de la dévalaison des alevins. Les périodes d'apparition sont les mêmes que pour les populations témoins, en revanche l'abondance relative à chaque pic de reproduction diffère. En effet, un premier pic de reproduction est caractérisé par une mortalité plus faible des alevins ainsi qu'un nombre plus faible de ces nouveaux individus par rapport aux témoins. Ce nombre plus faible d'alevins peut s'expliquer simplement par le fait que les fondateurs sont en plus faible nombre. En revanche, un

recrutement plus important d'alevins est observé lors de la deuxième phase de reproduction. Ainsi, le nombre plus faible d'alevins observé lors du premier pic de reproduction pourrait être compensé par un recrutement d'alevins plus important lors du deuxième pic de reproduction dans les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio ». Ainsi, les observations mettent en évidence que la modification du nombre de fondateurs entraîne une modification du recrutement des individus. En outre, les processus de mortalité densité-dépendante sont plus faibles dans les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio » que dans les témoins.

Le nombre de naissances lors du premier pic étant plus faible, la biomasse des individus dans les mésocosmes est également plus faible diminuant l'intensité des phénomènes de densité-dépendance sur la croissance. Ainsi, cela explique que la taille moyenne des mâles nés dans les mésocosmes (issus de la première cohorte) soit plus élevée par rapport aux témoins. Un même résultat est envisageable pour les femelles nées dans les mésocosmes même si la différence n'est ici pas significative dû probablement à la faible puissance statistique.

Cependant, les prédictions du DEB-IBM pour les fréquences de taille et certaines variables descriptives de la population (fréquences des femelles et juvéniles, abondance totale) des traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio » ne sont pas cohérentes avec les observations. En effet, ayant calibré et validé le modèle sur des jeux de données provenant de cinq expériences où 25 fondateurs ont été introduits (David et al. 2019), le modèle n'est ici pas adapté pour prendre en compte une plus faible mortalité densité-dépendante dans la population lorsque le nombre de fondateurs est plus faible. Plus généralement, les phénomènes de compensation apparaissent comme une problématique récurrente dans la compréhension des dynamiques de population (Rose et al. 2001). Ceux-ci auraient notamment un rôle de rétrocontrôle sur les populations visant à les stabiliser. En effet, les processus physiologiques tels que la croissance, la survie et la reproduction peuvent changer en fonction la densité de la population afin par exemple d'induire un plus faible taux de croissance de la population à haute densité ou une augmentation de l'abondance de la population à faible densité (Rose et al. 2001).

Plusieurs études mettent également en évidence que l'abondance des populations serait régulée au stade larvaire et œufs (van der Veer 1986, Jensen 1993, Cowan et al. 1999). Cette hypothèse serait en effet en adéquation avec les observations faites en mésocosme. On pourrait également supposer des effets densité-dépendants puissent impacter la fécondité des femelles. Néanmoins, d'après Rochet et al. (2000), les effets sur la fécondité serait principalement liés aux effets de la densité-dépendance sur la croissance des poissons, or aucun effet significatif sur la croissance des femelles fondatrices n'a été observé en mésocosme. De même, une plus faible disponibilité des ressources alimentaires pourrait

induire une plus faible fécondité des femelles fondatrices et un plus faible investissement dans la reproduction des mâles fondateurs. Néanmoins, il ne semble pas y avoir eu un appauvrissement de ces ressources dans les mésocosmes puisque la quantité énergétique provenant des proies des épinoches est même plus élevée dans le traitement « Nb_Fond » que dans le témoin (voir Annexe 3).

D'après les essais d'amélioration des prédictions réalisées (Tableau 5), il semble que le modèle ne prédise pas correctement les résultats car le nombre d'œufs modélisés dans les nids des mâles n'atteint pas le nombre maximal d'œufs pouvant être récoltés, notamment lors du deuxième pic de reproduction (hypothèse testée E). Dans cet exemple, le nombre d'œufs a été artificiellement augmenté dans les nids prédits par le modèle, il convient donc de comprendre les mécanismes expliquant que le nombre d'œufs modélisé dans les nids ne soit pas assez élevé. Pour cela, plusieurs hypothèses sont possibles. En effet, les femelles pourraient déposer dans les nids un plus grand nombre d'œufs viables, les mâles pourraient récupérer des œufs d'un plus grand nombre de ponte et la survie des œufs et des larves pourrait être plus élevée (effets densité-dépendants introduits sur le paramètre *P.OL*).

Dans le Tableau 5, ces hypothèses ont été testées séparément les unes des autres et les résultats n'étaient pas optimaux. Néanmoins, le plus probable est que l'amélioration du modèle pourrait être réalisée en prenant en compte une combinaison de ces différentes hypothèses. Ainsi, une recalibration plus approfondie de plusieurs paramètres en lien avec la reproduction devrait être testée. La Figure 42 présente les différents paramètres impliqués dans la récolte, le développement et la survie des œufs et pouvant nécessiter une recalibration. En particulier, les paramètres de l'équation affine donnant le nombre maximal d'œufs pouvant être récoltés par les mâles en fonction de leur taille ont été estimés à l'aide d'expériences en nasse placée en extérieur où le nombre de femelles était très important pouvant induire des forts effets densité-dépendants (environ 100 femelles dans un bac de 300 L d'eau) (de Kermoyan 2013). Ainsi, les valeurs de ces paramètres sont très incertaines.

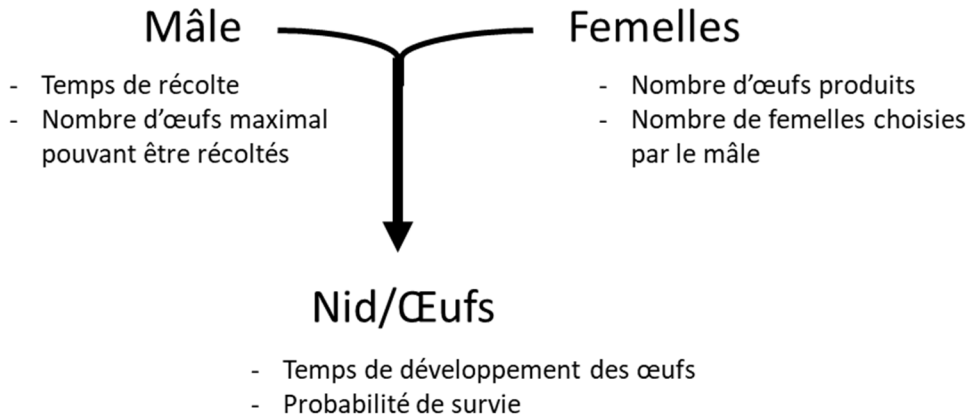


Figure 42. Paramètres impliqués dans la récolte, le développement et la survie des œufs dans le DEB-IBM.

D'autre part, les prédictions du DEB-IBM sous-estiment légèrement l'abondance totale dans les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio ». Plus généralement, la charge biologique maximale du milieu semble être de l'ordre de grandeur de 1000 individus dans les mésocosmes (abondance totale en fin d'expérience), que l'on introduise 10 fondateurs comme dans l'expérience présentée, 25 fondateurs comme dans le protocole de de Kermoyan (2013) ou 70 épinoches comme décrit dans Roussel et al. (2007). Dans le DEB-IBM, nous avons utilisé l'équation de Beverton et Holt (1957) pour modéliser la mortalité densité-dépendante. Néanmoins, dans cette équation, la mortalité basale est calculée à très faible abondance ($N = 0$). Or dans le DEB-IBM, la mortalité basale a été calculée par la méthode de Soubeyrand et al. (2007) sur les données initiales et finales des fondateurs des mésocosmes et prend donc en compte toute l'expérience en mésocosme et, notamment lorsque l'abondance totale est élevée en fin d'expérience ($N \sim 1000$). Pour reproduire ce phénomène, un paramètre dans l'équation de Beverton et Holt (1957) pourrait être rajouté afin d'obtenir une abondance constante en fin de simulation d'une expérience en mésocosme (~ 1000 individus). Ainsi, la relation entre la survie et le nombre d'individus en mésocosme pourrait par exemple être donné par l'équation suivante (Eq. 5) :

$$S = \frac{a}{(1 - b \times (N - N_{ref}))} \quad (\text{Eq. 5})$$

Avec a la survie à N_{ref} , b la mortalité dépendante de la densité, N l'abondance de la population et N_{ref} l'abondance de référence de la population.

De plus, les données de l'expérience en mésocosme de 2018 pourraient permettre de calibrer le paramètre N_{ref} , rajouté dans l'équation de Beverton et Holt (1957). L'introduction de ce paramètre devrait notamment diminuer l'effet densité-dépendant sur la mortalité et donc améliorer les prédictions du DEB-IBM de l'abondance totale en fin d'expérience pour les traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio ».

Enfin, la comparaison des résultats entre les traitements nous a permis de valider l'hypothèse supposant que les fondateurs ne sont pas impactés par la compétition alimentaire. En effet, les tailles moyennes des femelles et des mâles fondateurs ne sont pas significativement différentes entre les traitements.

D'autre part, la comparaison des résultats des deux traitements « Nb_Fond » et « Sexe_Ratio » n'a pas montré de différences dans les résultats. Ainsi, l'augmentation d'un nombre de femelles fondatrices par rapport aux mâles ne semble pas impacter la dynamique de population. Ce résultat est cohérent avec les hypothèses de Clutton-Brock et Vincent (1991) supposant que le sexe-ratio des populations d'épinoches à trois épines est biaisé en faveur des mâles car ceux-ci sont déterminants pour les processus de reproduction. Pour valider cette hypothèse, il serait néanmoins intéressant d'introduire un plus grand nombre de mâles que de femelles dans les mésocosmes afin d'évaluer les impacts sur la dynamique de population.

En conclusion, les données de cette expérience où une perturbation mécanique a été introduite sont d'un intérêt certain puisqu'elles permettent une connaissance plus fine des processus induisant la dynamique de population. De plus, nous avons mis en avant des pistes d'amélioration du modèle à explorer afin d'améliorer la prise en compte des phénomènes de compensation et de régulation de la population d'épinoches à trois épines en mésocosme.

II.3. Synthèse sur le développement du DEB-IBM en condition témoin

En conclusion, nous avons présenté le développement du DEB-IBM en condition témoin, sa calibration et son évaluation ainsi que deux cas d'études où nous avons évalué ses limites et ses perspectives d'amélioration. Le modèle s'est montré performant pour reproduire les dynamiques de populations des épinoches à trois épines en condition témoin. Ainsi, le modèle nous permet donc d'augmenter la connaissance sur la structure des populations d'épinoches à trois épines en condition témoin 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 des incertitudes plus faibles.

Il faut également noter que le modèle peut rendre compte de certaines limites expérimentales. En effet, lors de l'exploitation des résultats des expériences en mésocosme, deux pics distincts d'individus sont retrouvés dans les observations de fréquence de tailles pour plusieurs expériences en mésocosme (notamment pour 2010 et 2014). Or les prédictions du DEB-IBM ne semblent pas prédire une diminution de fréquence entre 24 et 26 mm comme observé expérimentalement. Or, les tailles au niveau desquelles est observé ce décalage (24-26 mm) correspondent à la limite à laquelle les poissons sont mesurés vivants ou après un stockage dans le formol. En effet, les juvéniles des mésocosmes en condition contrôle ont été mesurés vivants pour permettre le maintien d'un stock d'épinoches à trois épines et être gardés pour les expériences futures. La taille mesurée avec les poissons dans le formol a été alors corrigée pour correspondre à celle mesurée sur des poissons vivants (de Kermoyan 2013). Néanmoins, un biais expérimental a pu être introduit du fait de la précision de la mesure de taille des poissons vivants (plus faible précision de mesure que pour la mesure des poissons dans le formol).

Enfin, nous avons testé les limites de notre DEB-IBM sur plusieurs cas d'études. Notre modèle était pertinent pour prédire les dynamiques de population anormales des expériences en mésocosme de 2013 et 2014, ce qui n'était pas le cas pour l'expérience de 2018. Contrairement à celle de 2018, les expériences de 2013 et 2014 ont la particularité que les protocoles de ces expériences soient les mêmes que ceux sur lesquels a été calibré notre modèle (nombre identique de fondateurs introduits). Ainsi, comme première approximation, nous pouvons supposer que notre modèle est utilisable pour prédire des effets de substances chimiques pour des expériences ayant ce même protocole expérimental. Néanmoins, il reste possible que certaines substances chimiques entraînent des dynamiques de population que le modèle ne puisse pas reproduire comme pour l'expérience en mésocosme de 2018.

L'étape logique suivante est donc d'adapter ce modèle pour prendre en compte les effets de substances chimiques et simuler les dynamiques de populations perturbées par ce stress chimique. Pour cela, nous disposons de jeux de données d'expérience en mésocosme nous permettant de tester et de valider cette approche en restant dans le cadre dans lequel notre modèle reproduisait bien les dynamiques de population anormales.

Chapitre III.
Application du modèle individu-centré en
écotoxicologie

Actuellement, la majorité des études écotoxicologiques sont réalisées en laboratoire pour des substances testées seules et les effets sont mesurés sur les traits individuels (croissance, reproduction et mortalité) des organismes modèles (Adams 2002). En revanche, les études à des échelles d'organisation biologique supérieures (population, communauté, écosystème) restent relativement rares. L'évaluation des impacts sur la viabilité des populations et les fonctions écologiques des écosystèmes est pourtant nécessaire pour une prise de décision stratégique induisant une meilleure gestion de l'environnement. Ainsi, l'extrapolation de ces effets au niveau de la population est donc une des problématiques majeures des évaluations des risques des substances chimiques actuelles.

Dans ce contexte, nous avons proposé deux approches principales basées sur l'utilisation du DEB-IBM développé en condition contrôle pour améliorer l'évaluation des effets des substances chimiques au niveau de la population. La première approche a pour objectif d'améliorer l'analyse et la compréhension des résultats des expériences en mésocosme. Pour cela, nous avons cherché à appliquer la méthode statistique présentée dans le chapitre précédent et qui consiste à comparer les observations des variables descriptives des populations exposées aux simulations des variables descriptives des populations témoins. De plus, la modélisation des effets des substances chimiques au niveau des processus individuels permet de faire émerger une dynamique de population en condition exposée et de tester plusieurs modes d'action des toxiques afin d'améliorer la compréhension des mécanismes de toxicité des substances chimiques testées.

La deuxième approche proposée consiste à prédire les effets des substances chimiques au niveau de la population à partir des données de toxicité de ces substances mesurées à l'échelle individuelle. Cette approche est notamment essentielle si l'on souhaite extrapoler les mesures réalisées sur les traits d'histoire de vie des organismes en laboratoire aux effets des toxiques en mésocosme.

Pour valider ces deux approches, nous nous sommes basés sur deux expériences en mésocosme. L'objectif à long terme est de permettre l'acceptation des DEB-IBMs en évaluation des risques environnementaux. La première expérience en mésocosme a été réalisée en 2017 dans le cadre d'un projet européen nommé « Développement d'une approche intégrée pour le diagnostic de la qualité des eaux de la Meuse » (projet Interreg DIADeM). Dans ce projet, un mélange de cinq pharmaceutiques a été testé dans les rivières artificielles et nous avons cherché à combiner plusieurs façons d'analyser les impacts de ce mélange (analyse de biomarqueurs, analyse des données de population et modélisation) pour permettre un meilleur diagnostic de l'état écologique des cours d'eau. Ainsi, dans ce cas, le DEB-IBM a

été utilisé dans le but d'améliorer l'analyse et la compréhension globale des effets du mélange sur la dynamique de population des épinoches à trois épines en rivières artificielles.

De plus, nous avons appliqué le DEB-IBM à une seconde expérience en mésocosme testant les effets du BPA (de Kermoyan et al. 2013). Les résultats de cette expérience nous ont permis de tester les deux approches proposées ci-dessus. En effet, le DEB-IBM a tout d'abord été utilisé dans le but d'améliorer l'analyse des résultats de l'expérience en mésocosme en améliorant notamment la puissance statistique de celle-ci et la compréhension des mécanismes de toxicité du BPA. Mais nous avons également cherché à évaluer les capacités prédictives du DEB-IBM pour extrapoler à l'échelle de la population des données de toxicité mesurées au niveau individuel et provenant d'expériences réalisées en laboratoire (données de littérature sur les effets du BPA). Cette évaluation est en effet essentielle pour tester la pertinence du DEB-IBM à extrapoler des données de littérature sur les effets des substances chimiques. Ce second cas d'étude nous a permis d'identifier les limites du modèle à prédire les effets écotoxiques à l'échelle de la population.

I. Approche combinée d'analyse de biomarqueurs, de données de population et de modélisation pour un diagnostic de l'état écologique des cours d'eau (Article 3)

I.1. Introduction

Cette étude s'intègre dans le projet européen nommé « Développement d'une approche intégrée pour le diagnostic de la qualité des eaux de la Meuse » (projet DIADeM). Ce projet est issu du programme de coopération territoriale européenne Interreg France-Wallonie-Vlaanderen qui regroupe quatre régions frontalières (les Régions Hauts-de-France et Grand Est en France, la Wallonie, la Flandre occidentale et orientale en Belgique). Ce programme a pour objectif d'associer les compétences des régions concernées pour répondre à des thématiques allant de la recherche et l'innovation, à la gestion du patrimoine, des ressources naturelles et la santé des populations.

Dans ce contexte, le projet DIADeM propose 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. De plus, le projet se focalise notamment sur les conséquences des rejets des eaux traitées de stations d'épuration sur les écosystèmes. Plus spécifiquement, notre étude s'intègre

dans les quatrième et cinquième modules du projet DIADeM. Ces modules sont dédiés à l'analyse des réponses biologiques des organismes à une contamination chimique par l'utilisation de biomarqueurs, des réponses populationnelles en rivière artificielle et de la modélisation.

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 durant cette thèse. 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. 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.

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 au cours de cette thèse 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 seront 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* », soumis prochainement à *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.

Résumé : 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. Ici, nous avons mené une expérience en mésocosme en testant un mélange de cinq substances pharmaceutiques (diclofénac, carbamazépine, irbésartan, acétaminophène et naproxène) sur un poisson, l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*). Les concentrations dans le mélange étaient basées sur les concentrations mesurées de ces substances pharmaceutiques dans des rivières du nord de la France. Les concentrations testées correspondent à celles retrouvées dans l'environnement (Mx1), puis 10 et 100 fois ces concentrations du mélange (Mx10 et Mx100).

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. En simulant les dynamiques de population d'épinoches en mésocosme avec le DEB-IBM, nous avons conclu que les populations d'épinoches à trois épines étaient résilientes à l'exposition chronique du mélange composé des cinq substances pharmaceutiques souvent détectées dans les rivières du nord de la France. En effet, la survie des poissons semble compensée par des mécanismes de régulation interne de la population permettant ainsi de minimiser les effets du mélange en mésocosme. Néanmoins, une sélection des individus les plus résistants a pu également se produire, et avoir des conséquences sur la diversité génétique.

I.2. Article 3

Effects of chronic exposure to a pharmaceutical mixture on the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) population dynamics in lotic mesocosms

Viviane David^{1,2}, Audrey Catteau², Sandrine Joachim², Katherine Nott³, Christelle Robert⁴, Nathalie Gillart⁴, Anne Bado-Nilles², Edith Chadili², Olivier Palluel², Naïs Julian^{1,2}, Julie Castiglione², Alain Geffard⁵, Jean-Marc Porcher², Rémy Beaudouin^{1,2}

¹Unité METO (Modèles pour l'Ecotoxicologie et la Toxicologie), UMR-I 02 SEBIO, INERIS, 60550 Verneuil en Halatte, France. Tel: +33344618238; e-mail: remy.beaudouin@ineris.fr

²Unité ECOT (Ecotoxicologie in vitro et in vivo), UMR-I 02 SEBIO, INERIS, Parc ALATA, BP2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France

³Société wallonne des eaux (SWDE), 6220 Fleurus, Belgique.

⁴CER groupe, Health Department, 6900 Marloie, Belgique.

⁵Université de Reims Champagne-Ardenne (URCA), UMR-I 02 SEBIO, Moulin de la Housse, Reims, France

Abstract. Pharmaceutical substances are ubiquitous in the environment and their concentration levels typically range from ng/L to up to several µg/L. Furthermore, as those compounds are designed to be biologically active, assessing their impacts on the non-target organisms is highly required. Here, we conducted a mesocosm experiment testing a mixture of five pharmaceuticals (diclofenac, carbamazepine, irbesartan, acetaminophen and naproxen) on the fish top-species in those mesocosms, the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). The concentrations in the mixture were based on the actual composition of the rivers in the North of France. Three nominal concentrations of the mixture were tested, the mixture with the environmental relevant concentrations (Mx1) and then 10 and 100 times this mixture composition. Although no impact on the stickleback prey were observed, the mixture significantly impaired the survival of the females introduced in the mesocosms at the highest treatment without other major differences on the fish population structure. Impacts on the condition factors of adults and juveniles were also observed both at individual and population level. Using a modeling approach with an individual-based model coupled to a bioenergetic model (DEB-IBM), we concluded that chronic exposure to environmentally relevant concentrations of five pharmaceuticals often detected in French rivers did not appear to strongly affect the three-spined stickleback populations as mechanisms of population regulation may have countered the mixture impacts in mesocosms. However, a selection of the most resistant individuals could have also occurred.

Key-words. Mesocosms, Pharmaceuticals, Mixture, Three-spined stickleback, Individual-based model

INTRODUCTION

Pharmaceuticals are intensively used in human and veterinary medicine (Backhaus 2014). Complex pharmaceutical mixtures have been detected in the aquatic environment: in sewage treatment plant (STP) effluents, surface waters, seawaters, groundwater and some drinking waters (Fent et al. 2006, Zhang et al. 2008). Specifically, in both waste water treatment effluent and surface waters, pharmaceuticals were found at concentrations ranging from a few ng/L to several µg/L (Corcoran et al. 2010, Loos et al. 2013). These pharmaceutical compounds present different modes of action as nonsteroidal anti-inflammatory drugs, anti-depressants, estrogens and antibiotics were among the detected substances in freshwater (Cleuvers 2003, Corcoran et al. 2010). Consequently, because pharmaceutical compounds are designed to be biologically active, they may also impact non-target organisms and the analysis of effects of pharmaceuticals is of a major importance.

Several studies have explored the impacts of these molecules on the aquatic organisms. Indeed, Cleuvers (2003) analyzed the toxicity of nine pharmaceuticals alone on *D. magna* and algae (*D. subspicatus* and *Lemna minor*) and found that their toxicity was very heterogeneous as their EC50s ranged from 5.8 mg/L for the propranolol to > 320 mg/L for the naproxen, metformin and metoprolol. Pharmaceuticals could also impact several life historical traits of fish. For example, the impacts of an estrogen on reproduction, the ethinylestradiol, have been widely studied (Aris et al. 2014) and Kidd et al. (2007) have shown that this substance impacted the sustainability of a wild fish population at very low concentrations (5-6 ng/L). Impacts on fish growth (Corcoran et al. 2010), feeding rate (Corcoran et al. 2010, Brodin et al. 2014), fish behavior (activity, sociality, aggression, reproductive behavior) (Brodin et al. 2014) were also demonstrated at concentrations ranging from few µg/L to mg/L.

Ecotoxicological studies mainly focus on the individual level and are generally made in standardized conditions. Hence, there is a lack of information on the impacts of pharmaceutical compounds at the population level (Corcoran et al. 2010). Furthermore, only single pharmaceutical are tested and the mixture studies are still scarce which may underestimate the environmental risk (Backhaus and Faust 2012). Studies focusing on the mixture effects of the pharmaceuticals present in aquatic ecosystems are then required (EFSA 2013). Furthermore, to increase the relevance of the laboratory studies, mesocosm experiments provide more ecological realistic conditions for the evaluation of the effects of

chemicals at many different levels of biological organization. These experiments allows to simultaneously identify direct and indirect effects of toxicants and provide a better understanding of environmentally relevant effects of chemicals (Caquet et al. 2000). Therefore, combining the mesocosm ecotoxicological approach with the assessment of the impacts of a pharmaceutical mixture commonly found in freshwater is highly interesting.

Among pharmaceuticals, the naproxen (NPX), acetaminophen (ACE), diclofenac (DIC), carbamazepine (CBZ) and irbesartan (IRB) were frequently detected and amongst the most abundant pharmaceutical residues in surface waters along the Meuse River in Belgium between February 2015 and July 2016 (Imhotep 2013–2017). These pharmaceuticals exhibit different modes of action as the NPX, ACE and DIC belong to the family of analgesics, anti-pyretic and anti-inflammatory whereas IRB is an antihypertensive and CBZ an antiepileptic. In laboratory, one study have already tested a mixture composed of these pharmaceuticals at the individual level on the reproductive traits of female rainbow trouts exposed during 42 days (Schmitz et al. 2018). Especially, this study highlighted that combined occurrence of these pharmaceutical chemicals present in surface water environments may act as endocrine-disrupting compounds in rainbow trout.

In the work we present here, the long-term effects of the same five-pharmaceutical mixture (NPX, ACE, DIC, CBZ and IRB) than in Schmitz et al. (2018) were studied with an increased ecological realism in an aquatic mesocosm experiment. Especially, we focused our study on the individual and population responses of the three-spined sticklebacks to the mixture using an experimental design well-tried (Roussel et al. 2007, de Kermoisan et al. 2013, David et al. 2019). Furthermore, in order to better understand the fish population dynamics in mesocosms under the mixture exposure, a data analysis based on an individual-based model was performed (David et al. 2019). To do that, we tested different potential mixture impacts considering the mesocosm observations and we integrated them in the model to conclude on the mixture toxicity. We also made extrapolations of the mixture impacts on a long-term in order to assess the population resilience.

MATERIAL AND METHODS

Preliminary laboratory experiment

Before the mesocosm experiment, we made a laboratory experiment during 21 days with the same mixture with the same concentrations. All material and methods and results of this experiment are given in SI and thus would not be detailed here. A larger battery of biomarkers related to the innate immune responses, antioxidant system, oxidative damages,

biotransformation, synaptic transmission, reproductive system and digestive enzymes was analyzed with the three-spined sticklebacks from this laboratory experiment. Based on these results, we selected some biomarkers that were analyzed on the sticklebacks from mesocosms.

Mesocosm experiment

The experiment was performed using 12 lotic artificial streams (mesocosms) located in the North of France (INERIS, Verneuil-en-Halatte, France). A detailed description of the mesocosms is provided in de Kermoysan et al. (2013). Briefly, each mesocosm is 20-m length and 1-m width. They are divided into three sections: the upper section (0 – 9 m), the slope (9 – 10 m) and the lower section (11 – 20 m). Each mesocosm received denitrified and dechlorinated tap water at a flow rate of 0.8 m³/h. A 0.25-mm mesh was placed at the outlet of the mesocosms to avoid any drift of macroinvertebrates and fish. Before the experiment, mesocosms were set up with sediments composed of 80% of sand and 20% of clay.

Then, in October 2016, three species of macrophytes were introduced; the water starwort (*Callitriche platycarpa*), the dense Pondweed (*Groenlandia densa*) and the watercress (*Nasturtium officinale*). In November 2016, zooplankton and periphyton were introduced in each mesocosm by sieving with a mesh of 50 µm 36 L of water collected from an unpolluted artificial pond located in the vicinity of the mesocosm platform. Finally, gastropod species (*Radix peregra*, *Planorbis planorbis* and *P. antipodarum*), crustacean species (*Asellus aquaticus* and *Gammarus pulex*), two species of leeches (*Glossiphonia* sp. and *Erpobdella* sp.) and species of *Heteroptera*, *Notonecta* sp. were introduced. For each macroinvertebrate, the quantity introduced per mesocosm is given in Supplementary Information (SI) (Table S1). In addition, during the experiment, the natural hazard of colonization will contribute to the complexification of the macroinvertebrate populations. The mesocosms were then left to settle until March 2017.

On March 5th 2017, the three-spined sticklebacks were introduced in the mesocosms. For each mesocosm, the initial populations were composed of 15 mature females and 10 mature males (after called the founders). Fish were selected to have similar lengths and their sex was determined according to the method developed by de Kermoysan et al. (2013). Mean female lengths was 47.3 ± 5.9 mm and ranged from 34.3 to 61.5 mm (n = 180). Mean male lengths was 46.0 ± 4.4 mm and ranged from 37.2 to 56.9 mm (n = 120). Length did not differ significantly between treatments (ANOVA, p > 0.05). The experiment lasted until October 3rd, 2017. At the end of the experiment, all the fish of each population were recovered and killed by an overdose of MS-222. Then, 20 fish per mesocosms were used directly for

physiological and chemical analyses after being measured, weighted and sexed. The other fish were stored in 4 % formalin before being measured, weighted and sexed.

From March to October, temperature was monitored every 10 min with two temperature sensors in each mesocosm (HOBO0257, Prosensor, Amanvilliers, France). Conductivity, pH and dissolved oxygen were measured every 15 minutes using an Aquaprobe AP-2000 and Aqualogger-7000 (Aquaread Ltd., UK). Biological measurements were also made during the experiment. Zooplankton and macroinvertebrates were sampled every 4 weeks and the methodology is described in de Kermoyan et al. (2013).

Exposure to the mixture in mesocosms

The mixture was composed of carbamazepine (CAS: 298-46-4, purity 98 %, Acros Organics), 4-acetamidophenol (CAS: 103-90-2, purity 98 %, Acros Organics), diclofenac sodium salt (CAS: 15307-79-6, purity 98 % Interchim), naproxen sodium (CAS: 26159-34-2, purity 98 %, Alfa Aesar) and irbesartan (CAS: 138402-11-6, purity 98 %, Sigma Alderich). These components were chosen as they were amongst the most abundant pharmaceutical residues that have been identified in the Walloon part of the Meuse river (Nott et al. 2018). Based on the median of the measured concentrations, a mixture at the environmental concentrations was determined (called Mx1). This mixture was composed of 25 ng/L for CBZ, DIC, and NPX, 50 ng/L for IRB and 100 ng/L for ACE.

Then two other treatments (called Mx10 and Mx100) represented respectively 10 and 100 times the concentrations found in the Mx1 exposure treatment. Treatment began on the 20th of April 2017 (46 days after introduction of the founders) and ended on the 2nd of October 2017 (211 days after introduction of the founders). This contamination is carried out by an automatic system which delivered a continuous contamination of the mesocosms. The system of contamination is fully described in SI (see Table S2).

Water concentrations of the mixture in each of the exposed mesocosms were monitored every month at different locations (0, 5 and 19 m from the inlet of the water) to measure actual exposure concentrations. In addition, samples were also taken from the control mesocosms at 10 m. For the control, the Mx1 and Mx10 treatments, the samples (250 mL) were stabilized with sodium thiosulphate and filtered on fiberglass filters with a 1 µm porosity. Prior to solid phase extraction using an automatic extractor (Smartprep from Horizon Technologies), an internal standard was added for each studied molecule (homologues labeled with heavy isotopes, deuterium or carbon-13). The samples were deposited on OASIS HLB cartridge and after rinsing with water and aqueous methanol, the

molecules were eluted with acetonitrile. The extract was evaporated and reconstituted in a solvent suitable for its analysis by high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (Agilent Technologies LC-MS / MS 6490). In this analysis, the molecules were separated on a reverse phase chromatography column then detected and identified by tandem mass spectrometry with positive ionization. For the Mx100 treatment, given the high concentrations of these samples, no extraction prior to their injection into LC-MS / MS were made and the internal standards were added to this injection. Finally, concentrations were determined using an external calibration curve corrected by internal standards. Blanks (extraction, solvents, LC-MS / MS) were performed as well as quality controls (extraction of reconstituted samples at 1, 4, 12 and 50 ng/L).

Stickleback endpoints in mesocosms

Bioaccumulation

At the end of the experiment, between 4 and 13 individuals (49.71 ± 8.31 mm) were taken at the end of the experiment to have at least 5 g of fish to determine the internal concentration of each mixture component in whole fish as well as component metabolites (See SI for the component references). To do that, homogenized sample were placed in a 50-mL polypropylene centrifuge tube and spiked with 50 μ L IS solution. The mixture was allowed to stand for 15 min. Twenty mL of acetonitrile was used to extract drug residues and precipitate proteins. The sample was then thoroughly shaken at room temperature for 15 min and centrifuged at $4,650 \times g$ for 5 min. Then, the extract was collected and loaded on an Oasis HLB cartridge (preconditioned with 3 mL of methanol and 3 mL of water) under vacuum to obtain a flow rate of about 1 mL/min). The cartridges were then rinsed with 3 mL ultra-pure water and vacuum-dried to remove excess water. Finally, the retained components were eluted with 3 mL of methanol. The eluate was evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen in a water bath set at 40°C. Then, the pellet was resuspended in 1 mL ACN/water (10:90, v/v). The extract was centrifuged at $11,500 \times g$ for 5 min at 20°C. The clear supernatant was transferred to a vial prior to UHPLC-MS/MS analysis.

Analyses were performed using an Acquity UHPLC system (Waters, Milford, MA, USA) and chromatographic separations were done by injecting 20 μ L of sample on an Acquity UPLC HSS T3 column (150×2.1 mm, 1.7 μ m particle size, Waters). Detection was carried out with a Waters Acquity TQ mass spectrometer (Waters, Manchester, UK) equipped with an electrospray ionization source operating in the positive (ESI+) ionization mode. More details on the analytical method can be found in SI.

Biomarkers: individual endpoints

At the end of the mesocosm experiment, 10 males and 10 females (32.93 ± 3.03 mm) per mesocosm were kept for analyzing biomarker responses. Each fish was sacrificed by cervical dislocation after anesthesia with tricaine methanesulfonate MS222 (70 mg. L⁻¹, SIGMA-ALDRICH, France), then measured and weighed. As described by Janssen et al. (1995), the condition factor (CF) was calculated as $[100 \times \text{body weight (g)}]/(\text{length})^3$ (cm). The liver somatic index (LSI) was calculated as $[100 \times \text{liver wet weight (g)}]/\text{total body weight (g)}$ (Slooff et al. 1983). The gonadal somatic index (GSI) was calculated as $[100 \times \text{gonad weight (g)}]/\text{fish weight (g)}$ (Lofts et al. 1966). Then, for digestive enzyme activities, the whole digestive tract was removed on ice, rinsed with cold Tris-HCl buffer (0.01 M, pH 7, SIGMA-ALDRICH, France) and stored at -80°C until analysis. Finally, the spleen was sampled for immunomarker analysis.

Each whole digestive tract was homogenized with ceramic (3 mm Ø) and glass (1 mm Ø) beads in cold Tris-HCl buffer (0.01 M, pH7), using PRECELLYS241 homogenizer (BERTIN TECHNOLOGIES, France), at 5,500 rpm (2x10 sec), and centrifuged at 15,000 x g for 30 min at 4°C (Hani et al. 2018). Measurements of amylase and intestinal alkaline phosphatase (IAP) activity levels according to Junge et al. (2001) and Panteghini and Bais (2008), respectively, were performed with adapted methods, using Thermo-Scientific Gallery ready-to-use reagents. Trypsin activity measurements were performed according to the García-Carreño and Haard (1993) method, using N-benzoyl-DL-arginine 4-nitroanilide hydrochloride (BAPNA, 3 mM) as a substrate. All enzymatic assays were adapted on the Gallery™ Automated Photometric Analyzer (Thermo Fisher Scientific Oy) and performed at 37°C, by kinetic colorimetric assay at 405 nm. Results are reported in U.g⁻¹ of gut tissue.

Concerning the immunomarkers splenic leucocyte isolation was made following protocols described previously by Bado-Nilles et al. (2013). Then analyses were carried out on whole leucocytes, using a Cyan™ADP flow cytometer (Beckman Coulter). For each leucocyte sample, 10,000 cells were counted. Leucocyte distribution, cellular mortality (apoptotic and necrotic leucocytes), leucocyte respiratory burst (Bado-Nilles et al. 2014), lysosomal presence (Bado-Nilles et al. 2013) and phagocytosis activity (Bado-Nilles et al. 2011) were performed.

Populational endpoints

During the mesocosm experiment, each day, drifting larvae were recovered in acrylic glass containers placed at the outlet of each mesocosm. The total number of larvae was recorded

with a distinction between dead and alive individuals. All of the larvae were then replaced in each mesocosm. Results were expressed as total number of larvae per day and per mesocosm. At the end of the experiment, fish were measured and weighed and individuals with a length inferior at 26 mm were assumed to be immature and thus classified as juveniles (de Kermoyan et al. 2013). Sexes of fish with a length superior at 26 mm were determined. From these measurements, descriptive variables of the populations were determined: the population abundance (N.tot) the number of female and male founders at the end of the mesocosm experiment (N.F.0, N.M.0), female and juvenile frequencies (F.F and F.J) and the mean lengths and the coefficients of variation of the lengths of five categories of individuals: male and female founders (L.M.0, L.F.0, CV.M.0, CV.F.0), males and females born in the mesocosms (L.M.X, L.F.X, CV.M.X, CV.F.X) and juveniles (L.J, CV.J). Finally, observations of gonad maturity of males (immature vs mature) were also made and the frequency of mature males among the total number of males (F.M.m) was calculated as well as the mean length of mature males and the coefficient of variation of their lengths (L.M.m and CV.M.m). Mean weight and condition factors were also determined as described by Janssen et al. (1995) for each category of individuals.

Analysis of the stickleback endpoints in mesocosms based on population dynamics modelling

The DEB-IBM used in the present study was developed for predicting the three-spined stickleback population dynamics in mesocosms without toxicant stress (David et al. 2019), the entire ODD (Overview, Design concepts, and Details) description (Grimm et al. 2010) of the model is thus provided there. Briefly, the model includes relevant information of the environment such as temperature, photoperiod and prey density over time. The stickleback preys considered in the model are the zooplankton, higher crustacea (*Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus*) and a diptera family (*Chirominae*). The model was calibrated on two datasets from mesocosm experiments and was successfully evaluated on three others (David et al. 2019). The accuracy of the distributions of each population endpoint without toxicant stress was validated for the control mesocosms made in this experiment. Parameter values and descriptions can be found in SI Table S4. The inputs of the model for the simulations were the daily mean water temperature, photoperiod and food density in mesocosms as well as the lengths of the 15 female and 10 male founders that were introduced in the mesocosm experiments. The time step of the model was set to 1 day and the simulation runs lasted the

same amount of time as the real experiments (212 days for the experiment). The model outputs were the endpoints which were monitored in the real populations.

First, for each mixture treatment, the temperature and food scenarios (food density per day) were calculated based on the samplings of macroinvertebrates and zooplankton made in the mesocosms as described in David et al. (2018).

Secondly, to reproduce the effects observed in mesocosms for the Mx100 treatment, a chronic mortality induced by the mixture was introduced in the model. First, the basal mortality (M.n) was calculated for each fish with Eq.1 (e.g. normal mortality rate in control conditions) as in the DEB-IBM without toxicant stress. Then, the effect of the mixture was modelled as causing an excess mortality M.ex (Eq. 2).

$$M.n = M.u \times W_{(t)}^b \quad \text{Eq. 5}$$

$$M.tox = M.n + M.ex_{(t)} \quad \text{Eq. 6}$$

With M.n the basal mortality in normal conditions, M.u the natural mortality rate per unit weight, $W_{(t)}$ the fish weight (in g) at time t and b the allometric scaling factor. In Eq.2, M.ex_(t) is the excess mortality at time t and M.tox the global fish mortality including the mixture effect.

Excess mortality was modelled using a dose-response defined by a Hill equation (Eq. 2). Hill model coefficients were fitted on all population data observed in mesocosms using the DEB-IBM and a genetic algorithm as in David et al. (2019) (See SI for more details).

$$M.ex_{(t)} = \frac{C_{(t)}^{n_{tox}}}{EC_{50}^{n_{tox}} + C_{(t)}^{n_{tox}}} \quad \text{Eq. 7}$$

With $C_{(t)}$ the exposure concentration (given as a proportionally factor x M) at time t, EC_{50} the concentration leading to 50 % of effect, n_{tox} the Hill coefficient and $s_{(t)}$ the stress level at time t.

In order to model impacts on the condition factors due to changing individual weights, we increased the individual weight of the adults and decreased the individual weight of the juveniles using the same magnitude for the stress level $s(t)$ (Eqs. 3 and 4). The condition factors were then calculated for each fish as $[100 \times \text{body weight (g)}]/(\text{length})^3 \text{ (cm)}$.

$$W_{adult}(t) = W_{adult}(t) \times (1 + s(t)) \quad \text{Eq. 8}$$

$$W_{juvenile}(t) = W_{juvenile}(t) \times (1 - s(t)) \quad \text{Eq. 9}$$

With $W_{adult}(t)$ and $W_{juvenile}(t)$ the individual weight of the adults or juveniles at time t and $s(t)$ the stress level induced by the mixture.

The stress level was calibrated on the observed population data of the condition factors (See SI for more details).

Simulated endpoints of the populations were compared to the observations made in mesocosms for each treatment. To do that, 1000 simulations of the DEB-IBM were performed to account for the stochasticity of the model (inter-mesocosm environmental variability, inter-individual performance variability and stochastic processes). Simulations were made with or without integrated the dose-response curve of the mortality to assess the improvement of the predictions. The relative errors (RE) between the model simulations and the observations for the control and each treatment were calculated to conclude on the model predictions.

Finally, the population resilience to the mixture treatment was assessed by extrapolating the impacts of the mixture for a treatment between $Mx100$ and $Mx10^7$ keeping the temperature and food scenarios unchanged from the control. For each simulated concentration, 1000 simulations were made.

Statistical analysis

For the observations made in mesocosms, all statistical analyzes were performed using R version 3.4.3 software. The level of significance for all the analyses was 5 %. First, to assess the LOECs for each endpoint, ANOVA was performed to identify significant effects on the observed endpoints and a Dunnett's post hoc test was then used to compare each treatment to the control. For analyzing the larvae drift, repeated measures ANOVA (RM-ANOVA) were performed which take into account the correlation between sampling dates. Furthermore, the minimal detectable differences (MDD) (EFSA 2013, Brock et al. 2015) were calculated for each population endpoints. The MDD defines the difference between the means of a treatment and the control that must exist to detect a statistically significant effect. Secondly, these LOECs were re-calculated comparing the distribution of the control endpoints estimated by the DEB-IBM to the observations made in the exposed mesocosms using a Kolmogorov-Smirnov test and the methodology described in David et al. (2019).

RESULTS

Concentrations in water and sticklebacks

Table 1 gives the percentage of difference between the nominal and average measured concentrations and figures S1 and S2 shows the measured concentrations over time and in function of the distance from the inlet of water. Overall, the measured concentrations at each sampling point for each substance in the mesocosms were less than $\pm 25\%$ different from the nominal concentration, except for ACE, which is only found at 50 % of the nominal concentration in all treatments (Figure S1). In addition, a higher concentration than the nominal one at one time of measure was found for CBZ and IRB for the Mx1 treatment. For ACE, DIC and NPX, the measured concentrations significantly decreased with the distance from the inlet of water (RM-ANOVA or p-value < 0.05). The time had also a significant impact for the concentrations of CBZ, ACE, NPX (RM-ANOVA).

Table 1. Nominal concentrations and average measured concentrations *in situ* for each pharmaceuticals and mixture treatment (CBZ: carbamazepine, IRB: irbesartan, DIC: diclofenac, NPX: naproxen et ACE: acetaminophen).

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

Concerning the physico-chemistry of the environment, figure S3 presents the measurements per weeks of the pH, temperature, conductivity and dissolved oxygen. No significant difference in temperature was observed between the different treatments (RM-ANOVA, p-value > 0.05). Similarly, no significant effect was found for the pH, conductivity and dissolved oxygen (RM-ANOVA, p-value > 0.05).

The statistical analyses (presented in SI) showed no important mixture impacts on the different taxonomic groups of macroinvertebrates and zooplankton (Figures S4, S5 and S6).

Three-spined stickleback endpoints

Individual responses

The measured concentration in whole fish are given in Table 2. No mixture component was bioaccumulated in the control and the Mx1 treatment (results under the limit of detection). In the Mx10 and Mx100 treatments, IRB, DIC and a metabolite of CBZ, the carbamazepine-10,11-epoxide (CBZ-EP) were detected. No CBZ was measured in the Mx10 treatment whereas it was found with the Mx100 treatment. No ACE nor NPX were measured in the Mx10 and Mx100 treatments. The corresponding BCF were < 1 for IRB and DIC for the Mx10 treatment. For the Mx100 treatment, the BCF was < 1 for CBZ and IRB and equaled to 3.63 ± 2.20 for DIC.

Table 1: Measured concentrations of the mixture component in whole fish (CBZ: carbamazepine, CBZ-EP: carbamazepine-10,11-epoxide, IRB: irbesartan, DIC: diclofenac, NPX: naproxen et ACE: acetaminophen).

Substances	Mx1	Mx10	Mx100
Mixture	[measured] in $\mu\text{g}/\text{kg}$	[measured] in $\mu\text{g}/\text{kg}$	[measured] in $\mu\text{g}/\text{kg}$
CBZ	0	0	1.25 ± 0.36
CBZ-EP	0	0.48 ± 0.32	6.02 ± 0.25
IRB	0	0.42 ± 0.28	3.47 ± 0.41
DIC	0	0.87 ± 1.23	6.17 ± 3.74
ACE	0	0	0
NPX	0	0	0

In the preliminary laboratory experiment, a significant effect on a digestive enzyme level, the alkaline phosphatase (PAL), at the highest treatment was found (21 d-controlled exposure). The impacts by the mixture on the other biomarkers were negligible. All results can be found in SI.

In mesocosms, all mixture treatments had significant impacts on the individual weight and the condition factor of the fish sampled at the end of the experiment (ANOVA, p -value < 0.05) (Figure 1). The highest treatment also significantly impacted the digestive enzyme alkaline phosphatase (ANOVA, p -value < 0.05) (Figure S7). For the GSI, the oxidative burst, phagocytosis capacity and efficacy as well as the length, significant effects were observed at the lowest concentration or intermediate mixture treatments with no clear dose-response suggesting a false positive result. Indeed, 20 biomarkers were analyzed with an alpha risk equaled to 5 % thus, from 0 to 3 false positive results are expected to be produced by the

statistical analysis. Hence, globally, no significant impacts were found for the 17 other biomarkers (Figure S7).

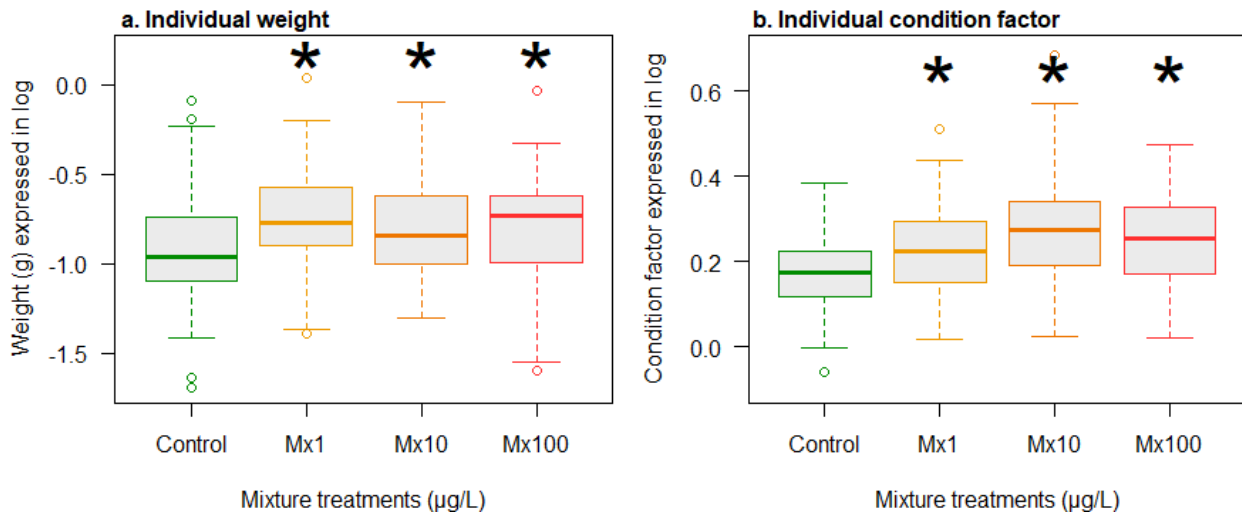


Figure 1. Individual weight (a) and condition factor (b) expressed in log of the sticklebacks sampled at the end of the experiment in the mesocosms for each treatment (Control, Mx1, Mx10 and Mx100). Significant differences between treatments and control are marked by a star (p-value < 0.05).

Populational responses

Table S3 gives the mean, CV and MDD for each population endpoints and each treatment. Globally, the CV of the outputs ranged between 0.17 for the mean length of immature males to 59.6 % for the frequency of immature males. Similarly, the MDD ranged between 1.2 % for the mean length of immature males to 57.9 % for the number of male founders.

Furthermore, we calibrated the parameters related to the mixture potential impacts on fish mortality and condition factors. The parameters of the dose-response curve of the fish mortality were calibrated to -0.194 ± 0.004 and 38.33 ± 0.289 for n_{tox} and EC_{50} respectively (Eq. 3). Similarly, the stress level for the condition factors was calibrated to 0.096 ± 0.005 .

Observed larvae drift

Based on the mesocosm observations, no significant difference between the control and treatments was found on the total number, dead and alive drifted fry during the experiment (Figure 2) (RM-ANOVA, p-value > 0.05).

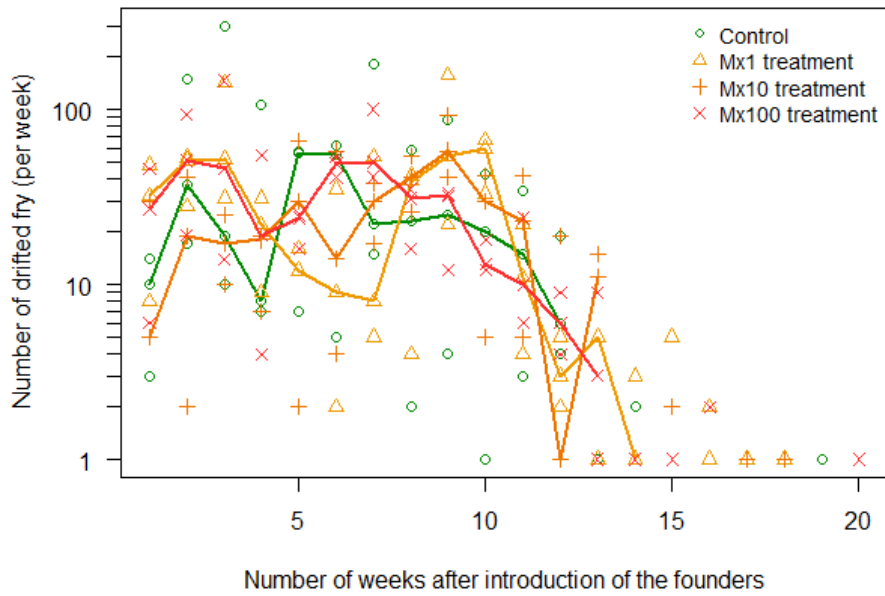


Figure 2. Cumulated number of drifted fry per week observed in mesocosms in function of the mixture treatment (control, Mx1, Mx10 and Mx100). Points represent the observations made in mesocosms, and the lines represent the median per treatment.

Total abundance

When comparing the observed mesocosm data, the mixture treatments had no effect on the total abundance of fish at the end of the experiment (ANOVA, p -value > 0.05). The mean total abundance was 989.83 ± 192.96 individuals per populations (Figure 3).

However, by modelling, we showed that when integrating the dose-responses curve for the fish mortality and condition factors, the total abundance was simulated to be slightly lower in the Mx100 treatment (725.5 fish were predicted in median in the Mx100 treatment against 828.5 for the controls).

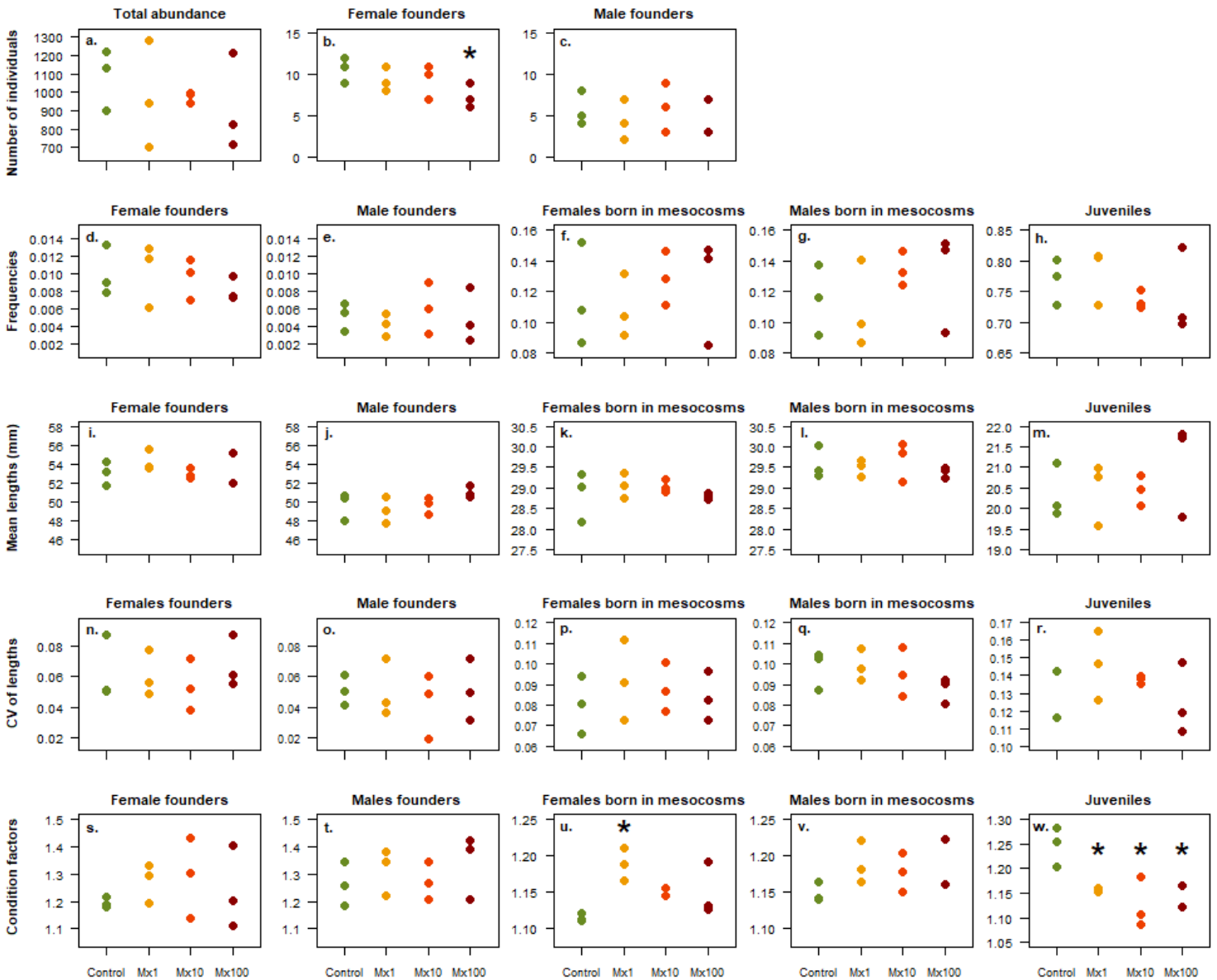


Figure 3. Observations of the descriptive variables of the population in function of the mixture treatment (control, Mx1, Mx10 and Mx100). Significant difference between treatments and control are marked by a star (p -value < 0.05).

Number of founders

Using the observed data in mesocosms, a significant decrease of the number of female founders was found in the highest treatment Mx100 (ANOVA, p -value < 0.05). On the contrary, no statistical difference was found on the number of founder males (Figure 3).

By modelling, we first show that, using the distribution of the control endpoints estimated by our model as references for the statistical Kolmogorov-Smirnov test when comparing the observations made in the mixture treatments to the control, we also found significant impact

on the number of female founders (see Tables S5 and S6). However, we also found a significant increase of the mean length of male founders at the Mx100 treatment.

With the dose-response curves for the fish mortality and condition factors integrated in the DEB-IBM, the predictions of the number of female and male founders were improved, especially for the Mx100 treatment (Figure 4). Indeed, the REs were respectively 3.40 % and 0.43 % when integrating the dose-response curves against 29.11 % and 26.21 % when no impact was integrated in the DEB-IBM. Especially, the number of male founders was also predicted to be impacted by the Mx100 treatment (4 males were predicted in median in the Mx100 treatment against 5 for the controls).

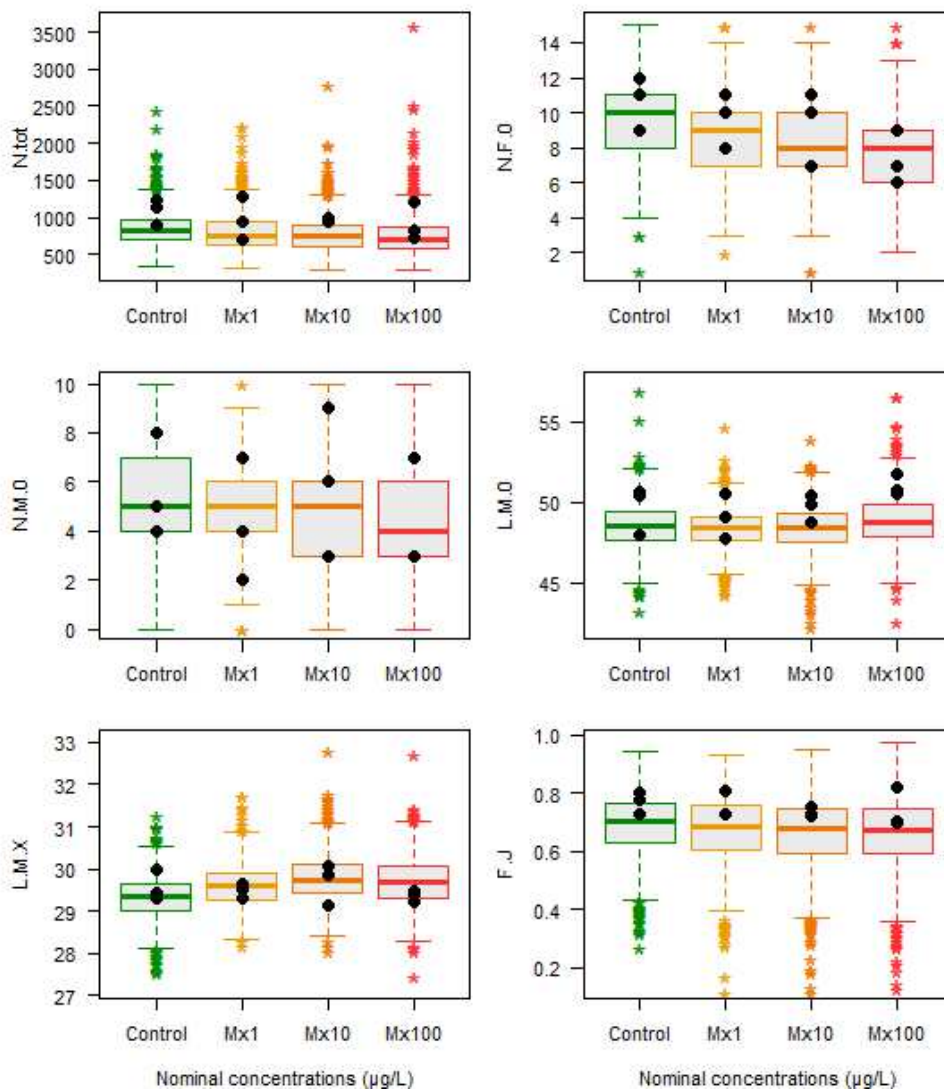


Figure 4. Simulated and observed population endpoints in function of the mixture treatments (Mx0, Mx1, Mx10 and Mx100) with a chronic mortality effect on all fish. Boxplots represent the simulations of the model (n=1,000 per treatment) whereas the points represent the observations made in mesocosms. Population endpoints were observed or simulated at the end of the experiment (N.tot: total abundance of fish, N.F.0: number of the female founders, N.M.0: number of the male founders, L.M.0: mean length of the male founders, L.M.X: mean length of the males born in mesocosms and F.J: frequency of juveniles).

Condition factors

With the observed mesocosm data, the mean condition factor of females was significantly higher with the Mx1 treatment and significantly lower for juveniles for all mixture treatments (ANOVA, p -value < 0.05) (Figure 3).

Figure 5 presents the predictions of the condition factors for the juveniles and females born in mesocosms integrating an effect of the mixture on the weight. The results for the female founders, male founders and males born in mesocosms are given in Figure S12. Integrating a thinning effect of the mixture for the juveniles and an obesogenic impact of the same magnitude for the adults gave good predictions of the condition factors. Especially, the model reproduced well the difference of impacts on the condition factors for the juveniles and females born in mesocosms (Figure 5).

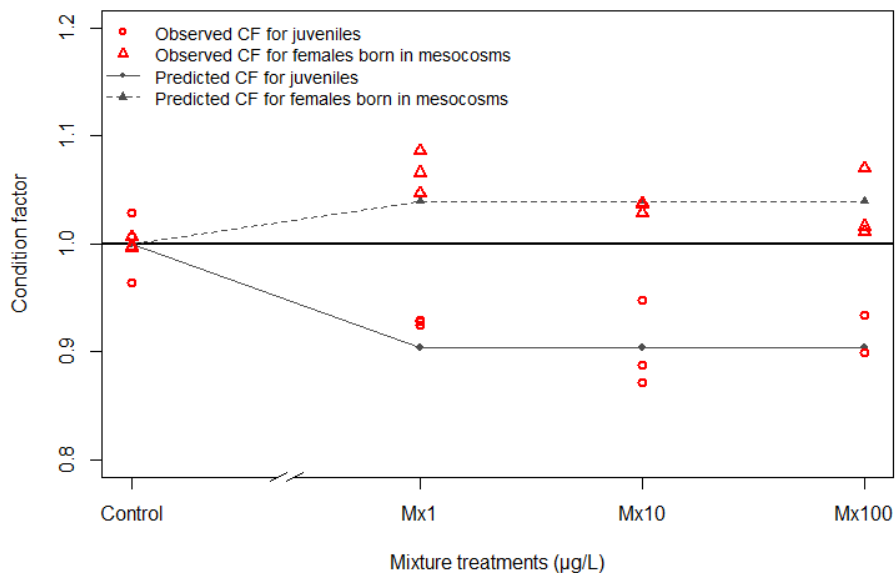


Figure 5. Simulated and observed mean condition factors for the juveniles and females born in mesocosms for the different mixture treatments. The lines represent the predictions for the juveniles (full line) and females born in mesocosms (dashed line) whereas the red points represent the observations (circles for juveniles and triangles for females born in mesocosms). CF: Condition factor.

Other population endpoints

With the observations and the model simulations, no significant differences were found for the other population endpoints: the mean length frequencies, the mean lengths, the mean weights and the CV of lengths of the different categories of individuals (Figure 3 and S8). Similarly, no impact of the mixture treatments was found for the frequencies, mean length, CV of lengths, weight and condition factors of the mature and immature males as well as the total fish biomass at the end of the experiment (Figures S8 to S11).

Length frequency

Observed mean length frequency distributions in control and exposed treatments are presented in Figure 6a. In the control, a major part of the population (from 75 % to 81 %) had standard lengths between 5 and 26 mm. Above 45 mm, only founders were observed. The same population structure was observed in the Mx1 and Mx10 mixture treatments. Indeed, the populations in the control or exposed to the Mx1 and Mx10 mixture treatments presented a maximum frequency at 19-20 mm (5.6 to 13 % of the populations). At the Mx100 treatment, the populations presented a maximum frequency at 22-23 mm (11 % of the populations), consequently the population structure was slightly shifted to the right with this highest mixture treatment.

By modelling, the length frequencies of the control and Mx100 treatment were also well predicted for each treatment when integrating the dose-response curves for the mortality and the condition factors. Indeed, all points were inside the predictive interval (Figures 6b,c).

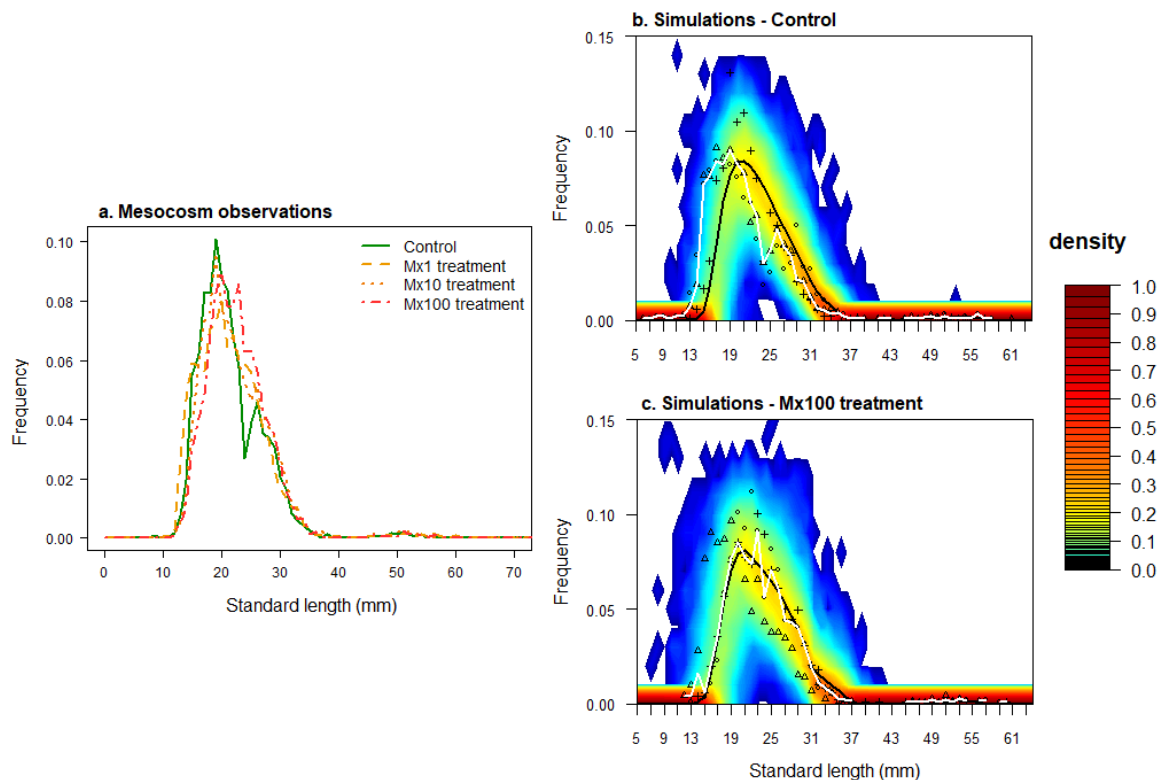


Figure 6. Observed probabilistic distributions of the length frequency in the mesocosms (a) and predicted by the model the control (b) and Mx100 (c) mixture treatment. On figure a, length frequency distributions are the mean of the 3 populations observed in each treatment. The green full line represents the mean length frequency in the control whereas for the Mx1, Mx10 and Mx100 treatments are represented by the yellow dashed line, orange dotted line and red dot-dashed line respectively. For the figures b and c, different point types represent the observed length frequency distributions in mesocosms. Full black and white lines represent the median length frequency distributions of the simulated and observed populations respectively. Color level represents the frequency of simulated populations ($n = 1000$) having a given percentage of individuals for a given class length. Frequency inferior to $< 1e-04$ are represented in white.

Long-term predictions

Without integrating an effect of the mixture on the stickleback prey abundance, the fish population was predicted to be highly resilient to a direct effect on fish survival of the mixture as the model extrapolation showed that at least 8000 times the environmental mixture (Mx1) would be required to have 80 % of the distribution of the total abundance shifted towards lower abundances compared to the control distribution (Figure 7).

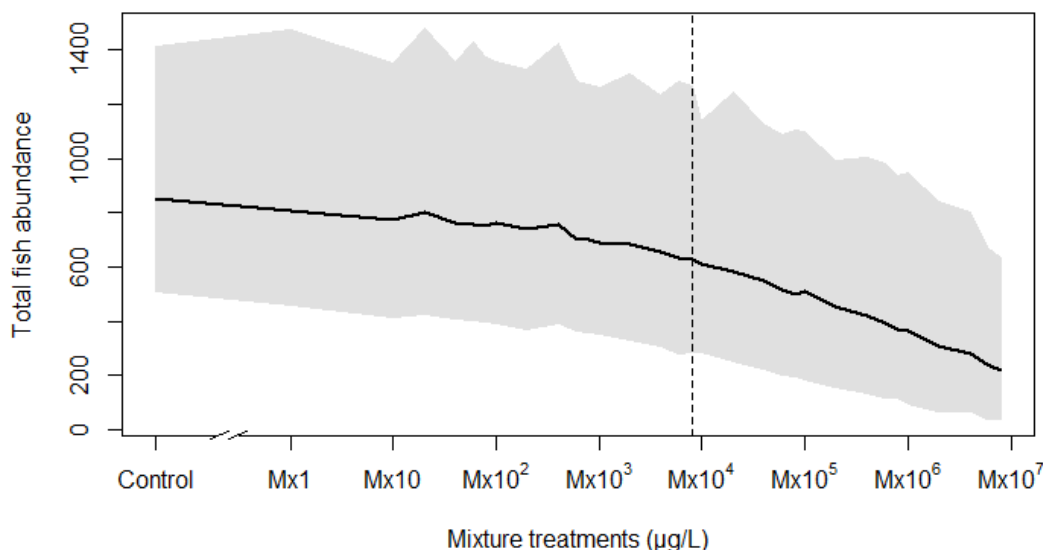


Figure 7. Population abundance with concentrations extrapolated from Mx10² to Mx10⁷. The black line represents the median of the simulations and the grey zone represents the 95 % prediction interval. The grey zone represents the 95 % prediction interval of the simulations. The dotted lines represent the first extrapolated mixture concentration where 80 % of the distribution of the total abundance shifted towards to the lower abundances compared to the control distribution.

DISCUSSION

To better characterize the hazard of environmental mixture of pharmaceuticals with an increased ecological realism, a risk assessment of a mixture of five pharmaceuticals were conducted using aquatic mesocosms. The five pharmaceuticals (ACE, CBZ, DIC, IRB and NPX) were chosen as they are amongst the most abundant pharmaceutical residues in the Walloon part of the Meuse river (Nott et al. 2018). The direct ecotoxicological effects of the pharmaceutical mixture were assessed using a whole-mixture approaches in mesocosms and the mixture was analyzed as if it were a single chemical (Backhaus 2014). In addition to the mesocosm experiment, a modelling approach using a stickleback population dynamic model developed by David et al. (2019) was used to analyze in depth the experimental data. Indeed,

ecological modelling was suggested to be a useful solution to increase the understanding of population dynamics (Forbes et al. 2010, Beaudouin et al. 2012, Forbes et al. 2017).

Occurrence of pharmaceuticals in mesocosms and fish

Concerning the mixture components, Kim and Tanaka (2009) classified the NPX, ACE and CBZ as slowly-degrading pharmaceuticals whereas the DIC was classified as easily-degraded pharmaceuticals by photolysis. Indeed, phototransformation has been identified as the main elimination process of DIC (Poiger et al. 2001, Tixier et al. 2003, Zhang et al. 2008, Yan and Song 2014). Concerning IRB, few studies have focused on its fate in aquatic environment. However, Bayer et al. (2014) suggested that this pharmaceutical could be degraded due to its functional structure. Here, the measured concentrations of IRB, DIC, NPZ and CBZ were close to their nominal concentrations, suggesting that the possible biodegradation may be countered by the continuous contamination of the mesocosms. However, we found that the ACE was less persistent in mesocosms as its concentrations were half the nominal concentrations for all treatments. One explanation is that this molecule could have been biodegraded by microorganisms (Wu et al. 2012). Indeed, Yu et al. (2006) showed that ACE presented fast biotransformation rates and a nearly complete biotransformation within 14 days of incubation in a wastewater treatment plant.

Concerning the internal concentrations of the mixture components in sticklebacks, CBZ and CBZ-EP were detected in the whole fish for the Mx10 and Mx100 treatments. This was consistent with the literature as CBZ was detected in tissues of fish collected in the US water at 2.3 ng/g (Ramirez et al. 2009). The presence of CBZ-EP could be due to the CBZ metabolism in liver (Kerr et al. 1994, Zhang et al. 2008) or could come from several biotic and abiotic degradation reactions of CBZ in water possibly leading to CBZ-EP (Daniele et al. 2017). Here, the bioconcentration factors for CBZ and its metabolite were very low in fish ($BCF < 1$). Valdés et al. (2016) and Gasca-Pérez et al. (2019) measured CBZ in several fish tissues and showed that CBZ was preferentially concentrated in the brain and liver, confirming a low propensity to bioconcentrate in the whole body compared to other specific organ tissues. Concerning the DIC, Naslund et al. (2017) reviewed several studies and concluded that the bioconcentration factor of DIC in fish varying from almost zero up to 2,732 in various organs. For three-spined sticklebacks, they showed that the bioconcentration factor was between 0.2 and 0.4. Here, the BCF were slightly higher for sticklebacks (equal to 3.63 ± 2.20) which was consistent with the fact that it is very irregular in fish. IRB was also detected in fish at the Mx10 and Mx100 treatments, however the two other mixture

components (ACE and NPX) were not found in fish tissues. Consequently, these pharmaceutical substances did not show bioconcentrative properties as found for female rainbow trouts with the same mixture and the same concentrations (Schmitz et al. 2018) under notably different experimental conditions. Indeed, an explanation for the low BCFs that we found is that, compared to laboratory studies, the pharmaceuticals may have been accumulated in other environmental compartments.

Whole-mixture approaches, as used in this mesocosm experiment, could be limited when it comes to establishing causal links between impacts and individual mixture components (Backhaus 2014). Hence, as only DIC, IRB, CBZ and its CBZ-EP metabolite were detected in fish, we could assume that those chemicals were mainly responsible of the observed impacts in sticklebacks. However, the whole-mixture approach could not allow us to investigate the possible antagonistic or synergistic mechanisms which may have modulate the impacts of each pharmaceutical substance.

Mixture impacts on three-spined sticklebacks

As no impact was found with the observed data on the physico-chemical characteristics of the environment or on the stickleback prey abundances, indirect impacts of the pharmaceutical mixture on sticklebacks could be negligible compared to the direct impacts. This hypothesis seemed to be consistent with the predictions of the IBM. Indeed, by integrating mixture impacts only on the stickleback physiological processes, we reproduced well their population dynamics in mesocosms.

For the sticklebacks, the toxicity of the whole mixture was assessed at both individual and population level in mesocosms. At the individual level, we analyzed several biomarkers as they have been extensively used to connect the contaminant exposure and the effects in organisms (Kroon et al. 2017). However, we did not observe strong impacts on the biomarkers, except an effect on a digestive enzyme level, the alkaline phosphatase (PAL), at the highest treatment. The same result was found in the complementary experiment made in laboratory on sticklebacks during 21 days and testing the same mixture (data shown in SI). The PAL is an enzyme of the intestinal brush border involved in the last phase of digestion, including dephosphorylation (Moss 1992) and nutrient uptake (i.e. calcium and phosphate) (Eguchi 1995). Here, we observed a decrease of the PAL in both laboratory and mesocosm experiments, as there was no significant impact of the mixture on the food availability (see Figure S4), this could be representative of a disruption of the absorption of certain nutrients such as lipids (Hani et al. 2018).

Furthermore, contrary to the literature, we did not find impacts on the reproductive biomarkers in laboratory. Indeed, several studies have shown reprotoxic impacts of the mixture components on fish (Hong et al. 2007, Galus et al. 2013, Gröner et al. 2017, Schmitz et al. 2018). Especially, the same mixture with the same concentrations had impacts on biomarkers related to several reproductive traits of female rainbow trouts such as the plasma levels of sex-steroid hormones, especially the 11-ketotestosterone, and the expression of genes encoding key proteins involved in ovarian development and in the maintenance of the ovary (Schmitz et al. 2018). However, this experiment was made in laboratory and the fish were exposed during a shorter period of time (42 days). Consequently, we could assume that the complexity of the artificial ecosystems could have modulate the impacts of the mixture on sticklebacks. Another hypothesis is that there is an inter-species variability of the response on the reproductive biomarkers suggesting that the three-spined sticklebacks would be less sensitive to the mixture.

In addition, no significant impact was found on the larvae drift suggesting that they were no impact on the quantity of juveniles born in mesocosms. More generally, we showed by modelling that the main impacts of the mixture on the stickleback population dynamics seemed to affect the fish mortality and their condition factors. Indeed, integrating these hypotheses on the mixture impacts, the DEB-IBM predicted well all population endpoints in the Mx100 treatment. These hypotheses were based on the mesocosm observations as we found a significant decreased of the observed number of the female founders at the highest treatment. This increased mortality of the female founders could play a major role in the population dynamics of sticklebacks. Furthermore, as no acute mortality was observed at the beginning of the contamination, we could assume that the mixture induced a chronical mortality of the female founders.

In literature, direct mortality was found at 100 µg/L of DIC for juvenile trout (Schwarz et al. 2017) and 80 µg/L of DIC for juvenile three-spined sticklebacks (Naslund et al. 2017) in laboratory. The eggs viability of *Danio rerio* were also significantly impaired by CBZ at 10 and 10,000 µg/L (da Silva Santos et al. 2018) and 10 µg/L of ACE induced a higher mortality rate and developmental abnormalities for *Danio rerio* embryos (Galus et al. 2013). Finally, high concentration of NPX (500 µg/L) significantly impacted the survival of juvenile in medaka fish (Kwak et al. 2018). Furthermore, CBZ-EP which was detected in whole fish could also induce a mortality as it was suggested to be potentially more toxic than CBZ itself because of its anticonvulsant and neurotoxic properties (Donner et al. 2013). Consequently,

the impact on survival could be due to the different pharmaceutical components of the mixture.

Furthermore, the simulations showed a decrease of the number of male founders at the end of the experiment which could not be seen with only the mesocosm observations. Indeed, the CVs for this output based on the mesocosm observations were high for each mixture treatment (> 50%) as well as the MDD (> 50%) (Table S3), thus a basic statistical evaluation would be difficult to perform (EFSA 2013, Brock et al. 2015). The model also predicted a slight decrease of the total abundance without consequences on the frequencies of adults and juveniles. Hence, the populations were resilient to the pharmaceutical mixture as a low fish mortality did not strongly impact the population dynamics. Consequently, compensation mechanisms may have occurred in the mesocosms (Rose et al. 2001). Indeed, effects of the density-dependence on the mortality was widely studied in fish and is assumed to be one of the main factors regulating the population dynamics (Lorenzen 2005, Hazlerigg et al. 2012). Furthermore, a selection of the most resistant phenotypes of sticklebacks could have occurred in the mesocosms, but an analysis of the population genetics should be necessary to conclude.

Other significant impacts were observed on fish condition factors. Indeed, the individual weight and condition factors of the adult fish sampled in mesocosms at the end of the experiment were significantly higher for all treatments. At the population level, the results were significant only for the Mx1 treatment for the females born in mesocosms. However, the inverse observed pattern was found for juveniles as their condition factors significantly decreased for all treatments. Furthermore, from the data at the individual level, the increased condition factors for the adults could be explained by a significant increase of the fish weight with all mixture treatments.

To better understand the experimental results, we introduced a thinning impact for the juveniles and an obesogenic impact for the adults in the DEB-IBM. However, it should be noted that in case of substances that impact the weight but not the length, our DEB model presented some limits. Indeed, the allometric relationship between the weight and the length, and consequently the assumption of isomorphism, were no longer valid. Thus, we only introduced one parameter which modulate the fish weight independently of the length to take into account the impact of the mixture. Nevertheless, the model reproduced well the observations made in mesocosms. Furthermore, we considered that the dose-response curves of the condition factors already reached the asymptotic value of the stress level at the Mx1 treatment which seemed to be a relevant assumption. Globally, these results suggested that the impact on the condition factors may be linked to inter-cohort competition rather than a direct

effect of the mixture. Indeed, mixture treatments could have disrupted the fish population regulation factors, resulting for example in more competitor adults for food. Consequently, juveniles would have a lower access to food than adults and thus accumulate less energy.

Finally, the population was modelled to be highly resistant and resilient to an effect of the mixture on survival. Indeed, at least a Mx8000 treatment would be required to have 80 % of the distribution of the total abundance shifted toward lower abundances compared to the control distribution (Figure 7). The nominal concentrations of the mixture would be 0.2 mg/L for CBZ, DIC, NPX, 0.4 mg/L for IRB and 0.8 mg/L for ACE. However, these results are based on a strong hypothesis which is that the mixture had no impacts on the macrophytes, zooplankton and macroinvertebrates in the mesocosms between Mx100 and Mx8000. Consequently, the fish population may collapse at a lower mixture concentration if the lower trophic level would become impacted by the mixture. In addition, it should be noted that the exposure conditions were not the same for all fish in mesocosms. Indeed, founders were exposed at the adult stage whereas the other fish born after the beginning the contamination were exposed during all their life cycle. In addition, fish were not born at the same time in mesocosms, thus the time of exposure is different for all fish. Consequently, the responses may differ between the individuals.

CONCLUSION

This study presented an aquatic mesocosm experiment where the effects of a pharmaceutical mixture at environmental realistic concentrations were assessed. Although no impact was found on the other trophic levels, individual and populational impacts were found for the three-spined sticklebacks. A significant mortality of the females and males introduced in mesocosms was detected without strong disturbance of the overall population dynamics. Furthermore, individual and populational impacts on the condition factors of adults and juveniles were probably due to a stronger inter-cohort competition for food resulting of a direct obesogenic effect of the mixture on adults. Thus, this study highlights the importance of assessing toxicant impacts at high level of biological organization as complex interactions may occur between the individuals and their environment. Here, compensatory mechanisms seemed to have happened increasing the resilience of the fish population to the pharmaceutical mixture.

ACKNOWLEDGMENT

The authors wish to thank all people who contributed to the mesocosm experiment. The authors also thank the European Regional Development Fund (ERDF).

REFERENCES

- Aris, A. Z., Shamsuddin, A. S. and Praveena, S. M. (2014). Occurrence of 17 α -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. *Environment International*, 69, 104-119. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.011>.
- Backhaus, T. (2014). Medicines, shaken and stirred: a critical review on the ecotoxicology of pharmaceutical mixtures. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369. doi: 10.1098/rstb.2013.0585.
- Backhaus, T. and Faust, M. (2012). Predictive environmental risk assessment of chemical mixtures: a conceptual framework. *Environ Sci Technol*, 46, 2564-2573. doi: 10.1021/es2034125.
- Bado-Nilles, A., Betoulle, S., Geffard, A., Porcher, J.-M., Gagnaire, B. and Sanchez, W. (2013). Flow cytometry detection of lysosomal presence and lysosomal membrane integrity in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) immune cells: applications in environmental aquatic immunotoxicology. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 2692-2704. doi: 10.1007/s11356-012-1410-2.
- Bado-Nilles, A., Jolly, S., Porcher, J.-M., Palluel, O., Geffard, A., Gagnaire, B., Betoulle, S. and Sanchez, W. (2014). Applications in environmental risk assessment of leucocyte apoptosis, necrosis and respiratory burst analysis on the European bullhead, *Cottus* sp. *Environmental Pollution*, 184, 9-17. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.07.049>.
- Bado-Nilles, A., Quentel, C., Mazurais, D., Zambonino-Infante, J. L., Auffret, M., Thomas-Guyon, H. and Le Floch, S. (2011). In vivo effects of the soluble fraction of light cycle oil on immune functions in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linné). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 1896-1904. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.06.021>.
- Bayer, A., Asner, R., Schussler, W., Kopf, W., Weiss, K., Sengl, M. and Letzel, M. (2014). Behavior of sartans (antihypertensive drugs) in wastewater treatment plants, their occurrence and risk for the aquatic environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 10830-10839. doi: 10.1007/s11356-014-3060-z.
- Beaudouin, R., Ginot, V. and Monod, G. (2012). Improving mesocosm data analysis through individual-based modelling of control population dynamics: a case study with mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Ecotoxicology*, 21, 155-164. doi: 10.1007/s10646-011-0775-1.
- Brock, T. C. M., Hammers-Wirtz, M., Hommen, U., Preuss, T. G., Ratte, H. T., Roessink, I., Strauss, T. and Van den Brink, P. J. (2015). The minimum detectable difference (MDD) and the interpretation of treatment-related effects of pesticides in experimental ecosystems. *Environ Sci Pollut Res Int*, 22, 1160-1174. doi: 10.1007/s11356-014-3398-2.
- Brodin, T., Piovano, S., Fick, J., Klaminder, J., Heynen, M. and Jonsson, M. (2014). Ecological effects of pharmaceuticals in aquatic systems—impacts through behavioural alterations. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369, 20130580. doi: 10.1098/rstb.2013.0580.
- Caquet, T., Lagadic, L. and Sheffield, S. R. (2000). Mesocosms in ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 165, 1-38.
- Cleuvers, M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters*, 142, 185-194. doi: [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(03\)00068-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(03)00068-7).
- Corcoran, J., Winter, M. J. and Tyler, C. R. (2010). Pharmaceuticals in the aquatic environment: A critical review of the evidence for health effects in fish. *Critical Reviews in Toxicology*, 40, 287-304. doi: 10.3109/10408440903373590.
- da Silva Santos, N., Oliveira, R., Lisboa, C. A., Mona e Pinto, J., Sousa-Moura, D., Camargo, N. S., Perillo, V., Oliveira, M., Grisolia, C. K. and Domingues, I. (2018). Chronic effects of carbamazepine on zebrafish: Behavioral, reproductive and biochemical endpoints. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 164, 297-304. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.015>.
- Daniele, G., Fieu, M., Joachim, S., Bado-Nilles, A., Beaudouin, R., Baudoin, P., James-Casas, A., Andres, S., Bonnard, M., Bonnard, I., Geffard, A. and Vulliet, E. (2017). Determination of carbamazepine and 12 degradation products in various compartments of an outdoor aquatic mesocosm by reliable analytical methods based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 16893-16904. doi: 10.1007/s11356-017-9297-6.

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

- David, V., Goussen, B., Tebby, C., Joachim, S., Porcher, J. M. and Beaudouin, R. (2018). Modelling historical mesocosm data: Application of a fish bioenergetics model in semi-natural conditions. *Ecology of Freshwater Fish*, 27, 1101-1113. doi: 10.1111/eff.12418.
- David, V., Joachim, S., Tebby, C., Porcher, J.-M. and Beaudouin, R. (2019). Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model. *Ecological Modelling*, 398, 55-66. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.02.008>.
- de Kermoisan, G., Joachim, S., Baudoin, P., Lonjaret, M., Tebby, C., Lesaulnier, F., Lestremau, F., Chatellier, C., Akrou, Z., Pheron, E., Porcher, J. M., Pery, A. R. and Beaudouin, R. (2013). Effects of bisphenol A on different trophic levels in a lotic experimental ecosystem. *Aquatic toxicology*, 144-145, 186-198. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.09.034.
- de Kermoisan, G., Pery, A. R., Porcher, J. M. and Beaudouin, R. (2013). A non-invasive method based on head morphology to sex mature three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) in rearing conditions. *Mathematical biosciences*, 244, 148-153. doi: 10.1016/j.mbs.2013.05.001.
- Donner, E., Kosjek, T., Qualmann, S., Kusk, K. O., Heath, E., Revitt, D. M., Ledin, A. and Andersen, H. R. (2013). Ecotoxicity of carbamazepine and its UV photolysis transformation products. *Science of the Total Environment*, 443, 870-876. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.059>.
- EFSA (2013). Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters. *EFSA Journal*, 11, 3290. doi: 10.2903/j.efsa.2013.3290.
- Eguchi, M. (1995). Alkaline phosphatase isozymes in insects and comparison with mammalian enzyme. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 111, 151-162. doi: [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(94\)00248-S](https://doi.org/10.1016/0305-0491(94)00248-S).
- Fent, K., Weston, A. A. and Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic toxicology*, 76, 122-159. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.009>.
- Forbes, V. E., Calow, P., Grimm, V., Hayashi, T., Jager, T., Palmqvist, A., Pastorok, R., Salvito, D., Sibly, R., Spromberg, J., Stark, J. and Stillman, R. A. (2010). Integrating population modeling into ecological risk assessment. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 6, 191-193. doi: 10.1002/ieam.25.
- Forbes, V. E., Salice, C. J., Birmir, B., Bruins, R. J. F., Calow, P., Ducrot, V., Galic, N., Garber, K., Harvey, B. C., Jager, H., Kanarek, A., Pastorok, R., Railsback, S. F., Rebarber, R. and Thorbek, P. (2017). A Framework for Predicting Impacts on Ecosystem Services From (Sub)Organismal Responses to Chemicals. *Environmental toxicology and chemistry*, 36, 845-859. doi: 10.1002/etc.3720.
- Galus, M., Kirischian, N., Higgins, S., Purdy, J., Chow, J., Rangaranjan, S., Li, H., Metcalfe, C. and Wilson, J. Y. (2013). Chronic, low concentration exposure to pharmaceuticals impacts multiple organ systems in zebrafish. *Aquat Toxicol*, 132-133, 200-211. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.12.021.
- García-Carreño, F. L. and Haard, N. F. (1993). Characterization of Proteinase Classes in Langostilla (*Pleuroncodes Planipes*) and Crayfish (*Pacifastacus Astacus*) Extracts. *Journal of Food Biochemistry*, 17, 97-113. doi: 10.1111/j.1745-4514.1993.tb00864.x.
- Gasca-Pérez, E., Galar-Martínez, M., García-Medina, S., Pérez-Coyotl, I. A., Ruiz-Lara, K., Cano-Viveros, S., Pérez-Pastén Borja, R. and Gómez-Oliván, L. M. (2019). Short-term exposure to carbamazepine causes oxidative stress on common carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 66, 96-103. doi: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.12.017>.
- Grimm, V., Berger, U., DeAngelis, D. L., Polhill, J. G., Giske, J. and Railsback, S. F. (2010). The ODD protocol A review and first update. *Ecological Modelling*, 221, 2760-2768. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2010.08.019.
- Gröner, F., Höhne, C., Kleiner, W. and Kloas, W. (2017). Chronic diclofenac exposure affects gill integrity and pituitary gene expression and displays estrogenic activity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Chemosphere*, 166, 473-481. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.116>.
- Hani, Y. M. I., Marchand, A., Turies, C., Kerambrun, E., Palluel, O., Bado-Nilles, A., Beaudouin, R., Porcher, J. M., Geffard, A. and Dedourge-Geffard, O. (2018). Digestive enzymes and gut morphometric parameters of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): Influence of body size and temperature. *PLoS One*, 13. doi: 10.1371/journal.pone.0194932.
- Hani, Y. M. I., Turies, C., Palluel, O., Delahaut, L., Gaillet, V., Bado-Nilles, A., Porcher, J. M., Geffard, A. and Dedourge-Geffard, O. (2018). Effects of chronic exposure to cadmium and temperature, alone or combined, on the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): Interest of digestive enzymes as biomarkers. *Aquat Toxicol*, 199, 252-262. doi: 10.1016/j.aquatox.2018.04.006.

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

- Hazlerigg, C. R., Lorenzen, K., Thorbek, P., Wheeler, J. R. and Tyler, C. R. (2012). Density-dependent processes in the life history of fishes: evidence from laboratory populations of zebrafish *Danio rerio*. *PLoS One*, 7, e37550. doi: 10.1371/journal.pone.0037550.
- Hong, H. N., Kim, H. N., Park, K. S., Lee, S.-K. and Gu, M. B. (2007). Analysis of the effects diclofenac has on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) using real-time PCR. *Chemosphere*, 67, 2115-2121. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.090>.
- Imhotep (2013–2017). Inventaire des matières hormonales et organiques en traces dans les eaux patrimoniales et potabilisables. p. Parlement de Wallonie and I. France-Wallonnie-Vlaanderen.
- Janssen, P. A. H., Lambert, J. G. D. and Goos, H. J. T. (1995). The annual ovarian cycle and the influence of pollution on vitellogenesis in the flounder, *Pleuronectes flesus*. *Journal of Fish Biology*, 47, 509–523.
- Junge, W., Wortmann, W., Wilke, B., Waldenström, J., Kurrel-Weittenhiller, A., Finke, J. and Klein, G. (2001). Development and evaluation of assays for the determination of total and pancreatic amylase at 37°C according to the principle recommended by the IFCC. *Clinical Biochemistry*, 34, 607-615. doi: [https://doi.org/10.1016/S0009-9120\(01\)00278-8](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(01)00278-8).
- Kerr, B. M., Thummel, K. E., Wurden, C. J., Klein, S. M., Kroetz, D. L., Gonzalez, F. J. and Levy, R. (1994). Human liver carbamazepine metabolism: Role of CYP3A4 and CYP2C8 in 10,11-epoxide formation. *Biochemical Pharmacology*, 47, 1969-1979. doi: [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(94\)90071-X](https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90071-X).
- Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M. and Flick, R. W. (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 8897. doi: 10.1073/pnas.0609568104.
- Kim, I. and Tanaka, H. (2009). Photodegradation characteristics of PPCPs in water with UV treatment. *Environment International*, 35, 793-802. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.01.003>.
- Kroon, F., Streten, C. and Harries, S. (2017). A protocol for identifying suitable biomarkers to assess fish health: A systematic review. *PLoS One*, 12, e0174762-e0174762. doi: 10.1371/journal.pone.0174762.
- Kwak, K., Ji, K., Kho, Y., Kim, P., Lee, J., Ryu, J. and Choi, K. (2018). Chronic toxicity and endocrine disruption of naproxen in freshwater waterfleas and fish, and steroidogenic alteration using H295R cell assay. *Chemosphere*, 204, 156-162. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.035>.
- Lofts, B., Pickford, G. E. and Atz, J. W. (1966). Effects of methyl testosterone on the testes of a hypophysectomized cyprinodont fish, *Fundulus heteroclitus*. *General and Comparative Endocrinology*, 6, 74-88. doi: [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(66\)90109-2](https://doi.org/10.1016/0016-6480(66)90109-2).
- Loos, R., Carvalho, R., António, D. C., Comero, S., Locoro, G., Tavazzi, S., Paracchini, B., Ghiani, M., Lettieri, T., Blaha, L., Jarosova, B., Voorspoels, S., Servaes, K., Haglund, P., Fick, J., Lindberg, R. H., Schwesig, D. and Gawlik, B. M. (2013). EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Research*, 47, 6475-6487. doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.08.024>.
- Lorenzen, K. (2005). Population dynamics and potential of fisheries stock enhancement: practical theory for assessment and policy analysis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 360, 171-189. doi: 10.1098/rstb.2004.1570.
- Moss, D. W. (1992). Perspectives in alkaline phosphatase research. *Clinical Chemistry*, 38, 2486.
- Naslund, J., Fick, J., Asker, N., Ekman, E., Larsson, D. G. J. and Norrgren, L. (2017). Diclofenac affects kidney histology in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) at low µg/L concentrations. *Aquatic toxicology*, 189, 87-96. doi: 10.1016/j.aquatox.2017.05.017.
- Nott, K., Gillet, M., Carboneille, P., Fripiat, C., Moutier, M., Ronkart, S., F., D. and V., B. (2018). Recherche des substances émergentes dans les eaux et intéressant la santé publique et l'environnement. Rapport final. P. d. R. I. I. d. M. H. e. O. e. T. d. les and E. P. e. Potabilisables): 409 p. + 406 annexes. .
- Panteghini, M. M. D. and Bais, R. (2008). *Ezymes*. Burtis. A. C.A., E.R., B.D.E.M, D., Tietz Fundamentals of Clinical Chemistr. Saunders Elsevier: 317–336.
- Poiger, T., Buser, H.-R. and Müller, M. D. (2001). Photodegradation of the pharmaceutical drug diclofenac in a lake: Pathway, field measurements, and mathematical modeling. *Environmental toxicology and chemistry*, 20, 256-263. doi: 10.1002/etc.5620200205.
- Ramirez, A. J., Brain, R. A., Usenko, S., Mottaleb, M. A., O'Donnell, J. G., Stahl, L. L., Wathen, J. B., Snyder, B. D., Pitt, J. L., Perez-Hurtado, P., Dobbins, L. L., Brooks, B. W. and Chambliss, C. K. (2009). Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in fish: Results of a national pilot study in the united states. *Environmental toxicology and chemistry*, 28, 2587-2597. doi: 10.1897/08-561.1.

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

- Rose, K. A., Cowan Jr, J. H., Winemiller, K. O., Myers, R. A. and Hilborn, R. (2001). Compensatory density dependence in fish populations: importance, controversy, understanding and prognosis. *Fish and Fisheries*, 2, 293-327. doi: 10.1046/j.1467-2960.2001.00056.x.
- Roussel, H., Joachim, S., Lamothe, S., Palluel, O., Gauthier, L. and Bonzom, J. M. (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. doi: 10.1016/j.aquatox.2007.02.018.
- Schmitz, M., Beghin, M., Mandiki, S. N. M., Nott, K., Gillet, M., Ronkart, S., Robert, C., Baekelandt, S. and Kestemont, P. (2018). Environmentally-relevant mixture of pharmaceutical drugs stimulates sex-steroid hormone production and modulates the expression of candidate genes in the ovary of juvenile female rainbow trout. *Aquatic toxicology*, 205, 89-99. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.10.006>.
- Schwarz, S., Schmiege, H., Scheurer, M., Köhler, H.-R. and Triebkorn, R. (2017). Impact of the NSAID diclofenac on survival, development, behaviour and health of embryonic and juvenile stages of brown trout, *Salmo trutta f. fario*. *Science of the Total Environment*, 607-608, 1026-1036. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.042>.
- Slooff, W., Van Kreijl, C. F. and Baars, A. J. (1983). Relative liver weights and xenobiotic-metabolizing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlands. *Aquatic toxicology*, 4, 1-14. doi: [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(83\)90057-7](https://doi.org/10.1016/0166-445X(83)90057-7).
- Tixier, C., Singer, H. P., Oellers, S. and Müller, S. R. (2003). Occurrence and Fate of Carbamazepine, Clofibric Acid, Diclofenac, Ibuprofen, Ketoprofen, and Naproxen in Surface Waters. *Environmental Science & Technology*, 37, 1061-1068. doi: 10.1021/es025834r.
- Valdés, M. E., Huerta, B., Wunderlin, D. A., Bistoni, M. A., Barceló, D. and Rodriguez-Mozaz, S. (2016). Bioaccumulation and bioconcentration of carbamazepine and other pharmaceuticals in fish under field and controlled laboratory experiments. Evidences of carbamazepine metabolism by fish. *Science of the Total Environment*, 557-558, 58-67. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.045>.
- Wu, S., Zhang, L. and Chen, J. (2012). Paracetamol in the environment and its degradation by microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96, 875-884. doi: 10.1007/s00253-012-4414-4.
- Yan, S. and Song, W. (2014). Photo-transformation of pharmaceutically active compounds in the aqueous environment: a review. *Environ Sci Process Impacts*, 16, 697-720. doi: 10.1039/c3em00502j.
- Yu, J. T., Bouwer, E. J. and Coelhan, M. (2006). Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent. *Agricultural Water Management*, 86, 72-80. doi: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2006.06.015>.
- Zhang, Y., Geißen, S.-U. and Gal, C. (2008). Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 73, 1151-1161. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.07.086>.

I.3. Synthèse sur la compréhension des effets d'un mélange par expérimentation et modélisation

Dans le cadre du projet DIADeM, 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. En effet, bien que relativement peu d'effets du mélange pharmaceutique testé aient été observés sur les autres niveaux trophiques, quelques effets ont été observés au niveau de l'individu et des impacts ont également été mis en évidence au niveau de la population. En revanche, nous n'avons pas observé d'effets significatifs sur les biomarqueurs, autre que sur l'enzyme digestive, la phosphatase alcaline.

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 avons appliqué plusieurs méthodes expérimentales et de modélisation pour améliorer la compréhension sur le long terme des effets écotoxiques des rejets des eaux traitées de stations d'épuration sur les écosystèmes. Cependant, nous n'avons pas totalement répondu à un des objectifs du projet DIADeM puisque nous n'avons pas établi 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.

II. Modélisation des effets du bisphénol A sur la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en mésocosme (Article 4)

II.1. Introduction

Une des problématiques actuelles en écotoxicologie est l'impact des perturbateurs endocriniens sur les organismes et les écosystèmes. En effet, il existe une grande diversité de substances chimiques présentant potentiellement des activités de perturbation du système endocrinien. Parmi elles, le BPA est une substance chimique qui était utilisée dans de nombreux produits d'usage courant puisqu'il s'agissait d'un des constituants des plastiques rigides tels que le polycarbonate. Reconnu comme perturbateur endocrinien, son utilisation est maintenant interdite dans un grand nombre de produits (Beausoleil et al. 2018).

Afin d'évaluer les effets du BPA sur les organismes aquatiques, une expérience dans les rivières artificielles de l'Ineris a été réalisée en 2012 testant trois concentrations de BPA (1, 10 et 100 µg/L) (de Kermoysan et al. 2013). Lors de cette expérience, des impacts au niveau individuel et populationnel sur les épinoches à trois épines ont été observés à la plus forte concentration testée mais les causes expliquant ces effets n'ont pas été précisément élucidées. En revanche, les jeux de données issus de cette expérience peuvent permettre de tester les deux approches basées sur l'utilisation du DEB-IBM (amélioration de la compréhension et de la prédiction des effets).

En effet, la comparaison des simulations du modèle aux observations peut nous permettre de valider que le DEB-IBM pourrait améliorer l'analyse et la compréhension des effets observés en mésocosme. Pour cela, nous avons comparé statistiquement les observations faites dans les mésocosmes exposés aux simulations du DEB-IBM en condition témoin en utilisant le test de Kolmogorov-Smirnov. Ainsi, notre objectif est d'estimer les LOECs pour chaque variable descriptive de la population avec une incertitude plus faible que celle obtenue avec les méthodes statistiques habituellement utilisée en écotoxicologie. De plus, nous avons utilisé le DEB-IBM dans le but d'améliorer la compréhension des mécanismes de toxicité du BPA sur les épinoches à trois épines. Pour cela, nous avons testé plusieurs modes d'action possibles du BPA (effets directs du BPA sur les épinoches) en prenant également en compte les effets sur l'environnement dans lequel vivent et se reproduisent celles-ci.

Par ailleurs, les données de mésocosmes peuvent présenter une occasion d'évaluer les performances du modèle dans un cadre prédictif des effets dans le but d'une utilisation future en réglementation. En effet, 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 avec le DEB-IBM les données de littérature mesurées au niveau individuel et qui concernent les impacts du BPA sur les processus physiologiques des poissons puis comparé les prédictions du modèle au niveau populationnel aux observations faites en mésocosme.

Cette étude a été valorisée par un article intitulé « *Modelling BPA effects on three-spined stickleback population dynamics in mesocosms to improve the understanding of population effects* », publié dans la revue *Science of the Total Environment* en 2019 (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.274>). Le matériel supplémentaire est disponible en Annexe 5.

Résumé : Le BPA, une substance chimique perturbatrice du système endocrinien bien connue, est omniprésent dans les milieux aquatiques. Ses impacts au niveau de la population sur les épinoches à trois épines ont été étudiés en rivière artificielle à faible concentration en BPA. Les causes expliquant les effets observés sont restées mal comprises. Ici, nous avons utilisé notre DEB-IBM pour (i) évaluer le potentiel de ce modèle pour prédire les impacts au niveau de la population à l'aide de données écotoxicologiques issues de la littérature et pour (ii) mieux comprendre les mécanismes de toxicité du BPA dans ces mésocosmes. Pour cela, les effets directs et indirects du BPA sur les épinoches à trois épines ont été intégrés dans le modèle. Les effets directs du BPA sur les poissons ont été identifiés à partir des données de la littérature tandis que les effets indirects sur les épinoches ont été pris en compte à partir des données d'échantillonnage des proies provenant des rivières artificielles exposées au BPA.

Les résultats de modélisation ont montré que l'utilisation du modèle pour extrapoler les données de toxicité mesurées en laboratoire de l'échelle individuelle à l'échelle populationnelle semblait prometteuse puisque celui-ci prédisait correctement les variables descriptives des populations d'épinoches à trois épines en fin d'expérience. De plus, le DEB-IBM nous a permis de mettre en évidence quatre modes d'action principaux du BPA sur les épinoches. En effet, les effets directs du BPA sur les poissons (impact sur la formation des gonades, la croissance, le comportement reproducteur des mâles, la survie des œufs et des larves) expliquaient principalement la structure de la population d'épinoches à trois épines en fin d'expérience en mésocosme. Enfin, par modélisation, la LOEC la plus basse pour les variables descriptives des populations d'épinoches à trois épines a été estimée à 10 µg/L de BPA.

Ainsi, la modélisation individu-centrée est un outil prometteur pour permettre une meilleure évaluation des effets des substances chimiques à l'échelle de la population.

II.2. Article 4

Modelling BPA effects on three-spined stickleback population dynamics in mesocosms to improve the understanding of population effects

Viviane David^{1,2}, Sandrine Joachim², Jean-Marc Porcher², Rémy Beaudouin^{1,2}

¹ Unit of Models for Ecotoxicology and Toxicology (METO), INERIS, 60550 Verneuil en Halatte, France. Tel: +33344618238; e-mail: remy.beaudouin@ineris.fr

² UMR-I 02 SEBIO, INERIS, Parc ALATA, BP2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France

Abstract. Bisphenol A (BPA), a well-known endocrine-disrupting chemical, is ubiquitously present in the aquatic environment. Its impacts at the population level on three-spined sticklebacks have been studied in artificial streams with low-dose BPA concentrations. The causes explaining the observed effects remained unclear. Here, we used an individual-based model coupled to a Dynamic Energy Budget model to (i) assess the potential of modelling to predict impacts at the population level using individual level laboratory ecotoxicological endpoints and (ii) provide insight on the mechanisms of BPA toxicity in these mesocosms. To do that, both direct and indirect effects of BPA on three-spined sticklebacks were incorporated in the model. Indeed, direct BPA effects on fish have been identified based on literature data whereas indirect effects on sticklebacks have been taken into account using sampling data of their prey from the exposed artificial streams. Results of the modelling showed that direct BPA effects on fish (impacts on gonad formation, growth, male reproductive behavior, eggs and larvae survival) mainly explained the three-spined stickleback population structure in the mesocosms, but indirect effects were not negligible. Hence, this study showed the potential of modelling in risk assessment to predict the impacts on fish population viability from behavioural and physiological effects measured on organisms.

Keywords: bisphenol A, individual-based model, risk assessment, mesocosms, three-spined sticklebacks

1. Introduction

Bisphenol A (BPA) is of a scientific and public interest due to its potential adverse effects on exposed organisms and its ubiquity in the environment (Flint et al. 2012, Im and Löffler 2016). This chemical is mainly used for the synthesis of polycarbonate and epoxy resins (Beausoleil et al. 2018). Furthermore, BPA is one of the most investigated substances for its endocrine disruptor properties and the regulatory consideration of this substance has been a challenge during the last decades (Beausoleil et al. 2018).

Many studies have shown that BPA can impact different aquatic organisms as effects on growth, reproduction and survival were observed for macrophytes, mollusks, crustaceans, insects, zooplankton and amphibians (Flint et al. 2012, Canesi and Fabbri 2015). Furthermore, BPA can also impact different fish species as shown by several studies at the individual level (Flint et al. 2012, Canesi and Fabbri 2015). More specifically, BPA induces synthesis of vitellogenin at concentrations ranging from 10 to 1360 µg/L depending on the fish species (Ishibashi et al. 2001, Hatef et al. 2012, Mihaich et al. 2012, Villeneuve et al. 2012, Allner et al. 2016, Negintaji et al. 2018) and fish gonads could also present abnormal structure starting from 1 µg/L (Mandich et al. 2007, Molina et al. 2013, Chen et al. 2017). Effects on eggs and embryos were observed such as hatching delay, embryo mortality, embryo abnormality and disruption of the hatching success starting from 10 µg/L (Shioda and Wakabayashi 2000, Aluru et al. 2010, Staples et al. 2011, Bhandari et al. 2015, Fan et al. 2018). Other impacts on physiological processes, such as growth, development and general metabolism, were also shown in fish (Flint et al. 2012, Canesi and Fabbri 2015).

In a long-term experiment, effects of BPA on three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) population dynamics have been tested in artificial streams (*i.e.* mesocosms) using environmentally realistic exposure conditions (1, 10 and 100 µg/L) (de Kermoysan et al. 2013). Mesocosm experiments have the advantage to test a chemical in relevant environmental conditions and investigate the effects at different levels of biological organization (Caquet et al. 2000, EFSA 2013). In de Kermoysan et al. (2013), both individual and population level effects on three-spined sticklebacks were observed. Indeed, gonad morphology of females and males was impacted respectively at 1 µg/L and 10 µg/L respectively. Concerning population level endpoints, the fish length frequencies distribution shifted to higher lengths compared to the control at the 100 µg/L BPA treatment. However, the causes leading to the observed population effects remained unclear. Hence, to improve environmental risk assessment, it is essential to provide a robust understanding of ecosystem

functioning and population dynamics under toxicant stress, which is one of the challenges of ecological modelling (Goussen et al. 2016, Forbes et al. 2017).

Individual-based models (IBMs) allow to extrapolate ecotoxicological effects from individuals to populations (Forbes et al. 2008). Furthermore, coupling an IBM to a Dynamic Energy Budget (DEB) model offers great flexibility for integrating individual impacts on bioenergetic processes such as growth and reproduction (Beaudouin et al. 2012, Martin et al. 2013). A DEB-IBM has been developed to describe three-spined stickleback population dynamics in mesocosms under control conditions (David et al. 2019). The mesocosm experimental design considered in the model was the same as the one used in de Kermoisan et al. (2013). Thus, this model can be adapted to predict a toxicant exposure and the potential impacts on the biotic and abiotic compartments in order to improve the understanding of the population responses found in the artificial streams. Hence, this would help to validate the modelling approach for predicting toxicant effects which is increasingly needed in risk assessment (Galic et al. 2010, Hommen et al. 2010, Forbes et al. 2017)

Accordingly, we aimed at integrating BPA effects in the DEB-IBM developed by David et al. (2019) to (i) assess the potential of modelling to predict impacts on population viability using individual level ecotoxicological endpoints and (ii) provide insights on the mechanisms of BPA toxicity during the artificial stream experiment. Thus, both direct and indirect effects of BPA on three-spined sticklebacks were incorporated in the model. Direct effects were integrated via dose-response curves on physiological processes of fish whereas indirect effects were integrated by using prey abundances measured in the exposed artificial streams. Finally, the model predictions were compared to the experimental fish population data observed in the mesocosm experiment in order to assess the accuracy of the predictions and conclude on BPA impacts at the population level.

2. Material and methods

2.1. Mesocosm experiment

A complete detailed description of the experimental design and the data is given in de Kermoisan et al. (2013). Briefly, the experiment was performed using twelve artificial streams of 20-m long and 1-m wide, locating in the North of France (INERIS, Verneuil-en-Halatte, France). Three nominal concentrations of BPA were tested (1, 10 and 100 µg/L) with 3 replicates as well as three controls. Before exposure, each mesocosm was set up with sediments, macrophytes and macroinvertebrates between October and December 2011. On March 5th, 2012, 15 female and 10 male sticklebacks (after called the founders) with similar

length were introduced in each artificial stream (mean lengths of 42.95 ± 1.40 mm and 44.36 ± 2.50 mm, respectively for females and males). Exposure began on April 15th, 2012 and ended on September 28th, 2012. Treatment for each mesocosm was randomly chosen. BPA water concentrations were monitored every month at different locations (0, 5 and 19 m from the inlet of water). Water temperature was measured every 10 minutes using temperature sensors (HOBO0257, Prosensor, Amanvilliers, France). Abundance and diversity of macroinvertebrates and zooplankton communities were sampled every four weeks (details on the methods used for temperature measurements and prey samplings are provided in David et al. (2018)).

Mesocosms were emptied on October 1st, 2012 and, all the fish of the 12 populations were recovered, measured and weighed. Fish with a length inferior to 26 mm were assumed to be immature and thus classified as juveniles. Sexes of fish with a length superior to 26 mm were determined by visual observations of the gonads. Descriptive variables of the populations were the population abundance (N.tot), the number of female and male founders at the end of the experiment (N.F.C00, N.M.C00), female and juvenile frequencies (F.F and F.J) and mean lengths and the coefficients of variation of the lengths of five categories of individuals: male (L.M.C00 and CV.M.C00) and female founders (L.F.C00 and CV.F.C00), males (L.M.CXX and CV.M.CXX) and females born in the mesocosms (L.F.CXX and CV.F.CXX) and juveniles (L.J, CV.J). Finally, observations of the maturity of male gonads (immature vs mature) were also made and the frequency of mature males (F.M.m) was calculated as well as the mean length of mature males and the coefficient of variation of their lengths (L.M.m and CV.M.m).

2.2. Model description

The DEB-IBM predicting the population dynamics of three-spined sticklebacks in mesocosms in control conditions was already published in David et al. (2019). Thus, a full detailed description of the model according to the ODD protocol (Grimm et al. 2010) is provided there. However, all parameter values of the DEB-IBM in control conditions can be found in the supplementary Information (SI) (Table S1). The model in control conditions was calibrated on two mesocosm experiment datasets and was successfully evaluated on three others: all the prediction evaluations and datasets are detailed in David et al. (2019). In particular, the control populations of the BPA mesocosm experiment were amongst the validation datasets.

Here, we adapted the model in control conditions to predict the stickleback population dynamics in the BPA mesocosm experiments by integrating the exposure scenarios and BPA direct and indirect impacts on sticklebacks. Briefly, the model includes relevant information of the environment such as temperature, photoperiod and prey density over time. The stickleback preys considered in the model are zooplankton, higher crustacea (*Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus*) and a diptera family (Chirominidae). The inputs of the model for the simulations are the water temperature, the photoperiod and the food scenarios (given per day) as well as the lengths of the 15 female and 10 male founders that were introduced in each artificial stream. The time step of the model was set to 1 day and the simulation runs lasted the same amount of time as the real BPA experiment (211 days). The model outputs were the endpoints which were determined for the experimental populations. The model was implemented under NetLogo 6.0.2 (language Logo). The script of the DEB-IBM is provided in SI.

2.3. Integration of the BPA exposure and ecological scenarios

Mean BPA concentrations for each treatment and sampling date were calculated using the measured concentrations made at the three sampling locations. Then, the daily BPA concentrations were linearly interpolated between the sampling dates. Thus, three BPA concentration scenarios were estimated, one for each BPA treatment (1, 10 and 100 µg/L) which gave the daily BPA concentration in water. These BPA scenarios were used as an additional input in the DEB-IBM.

The food scenarios were calculated using the measured abundance of macroinvertebrates and zooplankton monitored in each BPA treatment (averaged on the replicates), which was then converted into energy data and linearly interpolated between the sampling dates as described in David et al. (2018). Thus, changing the food scenario input of the model allowed to assess the indirect BPA effects on the prey density.

As no difference of the daily mean water temperature was found between the BPA treatments (de Kermoyan et al. 2013), the temperature scenarios were not changed in the DEB-IBM between the BPA treatments and the control.

2.4. Integration of the direct BPA impacts on sticklebacks

Direct effects of BPA on the physiological processes of three-spined sticklebacks were integrated in the model using dose-response equations. To do that, BPA effects on fish were identified at the individual level by reviewing the literature (See table S2 in SI). Only the

studies using an exposure via water and reporting measured concentrations in water were kept. Only one article was kept even if the measured concentrations were not provided as this study provided toxicological information directly measured on three-spined sticklebacks (Jolly et al. 2009).

Based on literature and the available data, four physiological processes of fish were impaired by BPA exposure: growth, gonad maturity, eggs and embryo survival and male reproductive behavior.

As shown in Lindholm et al. (2003), the kinetics in the organism of BPA proceeds very fast and the steady state is reached within 24 h for zebrafish and rainbow trout. Consequently, we directly linked the BPA concentration in water to the effects on sticklebacks in the model as the internal concentration was assumed to be proportional to the external concentration.

Finally, as the end of the BPA exposure was very close to the emptying date of the mesocosms (three days difference), we did not introduce delayed effects of BPA between the end of the BPA exposure and the emptying date.

2.4.1. Growth inhibition

Several studies showed that BPA could affect growth of the F0 and F1 generations of several fish species such as medaka, fathead minnow, sheepshead minnow and rainbow trout (Sohoni et al. 2001, Warner Kara and Jenkins Jeffrey 2009, Yokota et al. 2009, Sadoul et al. 2017). Two dose-response curves were calculated: the first one for individuals exposed only at the adult stage such as the founders fish and the second for individuals that were exposed during their entire life cycle. BPA impacts on growth were introduced by decreasing the energy conductance \dot{v} in the DEB model leading to a reduction of the amount of reserves mobilized as suggested by Sadoul et al. (2019).

2.4.2. Embryo and larvae mortality

First, we supposed that BPA had no impact on the number of produced eggs by the founder females. Indeed, BPA concentrations from 1.75 to 5.00 $\mu\text{g/L}$ delayed ovulation in brown trout but had no effect on the quality of eggs (egg mass and fertility) (Lahnsteiner et al. 2005). Furthermore, in a long-term experiment (444 days), Staples et al. (2011) showed that the number of eggs per female and per day was impacted at BPA concentrations higher than 640 $\mu\text{g/L}$ for both F0 and F1 fathead minnow reproducing adults. In another long-term experiment (164 days), no statistically significant changes in number of eggs and spawns were found for adult fathead minnow at BPA concentrations ranging from 1 to 640 $\mu\text{g/L}$ (Mihaich et al.

2012) although induction of vitellogenin was found for both males and females starting from 64 µg/L. Finally, Sohoni et al. (2001) found a statistical decrease of the total number of eggs spawned per female fathead minnows after 164 days of exposure for a BPA concentration of at least 1280 µg/L.

Nevertheless, BPA can impact the percentage of viable eggs and larvae when eggs and embryos were directly exposed to BPA as shown for zebrafish (Saili et al. 2012). Furthermore, the percentage of viable eggs and larvae can also be impacted by BPA when only adults were exposed (not the eggs directly) from 20 µg/L as shown for *Gobiocypris rarus* and zebrafish (Fan et al. 2018, Guo et al. 2019). Finally, in two long-term experiments where fathead minnow reproducing adults and offsprings were both exposed to BPA, the hatching success was reduced at 160 µg/L (Staples et al. 2011) and 640 µg/L (Sohoni et al. 2001). Here, only studies where adults and offsprings were both exposed to BPA, as in our mesocosms, were kept. We modeled this impact by decreasing the number of eggs and larvae leaving the nest.

2.4.3. Male reproductive behavior

One study on three-spined sticklebacks showed an inhibition of the spiggin production (Jolly et al. 2009) for BPA concentrations ranging from 2.5 pg/L to 250 µg/L. Indeed, in natural conditions, this protein is only secreted during the breeding season by male sticklebacks to use it as a glue during nest building (Wootton 1984). As the DEB-IBM does not directly model the spiggin production, we extrapolated this BPA effect by reducing the length of the breeding period. Thus, the number of built nests will decrease as males will stop reproductive processes sooner.

2.4.4. Gonad malformations

In the mesocosm experiment, malformations of the gonads (decrease of the ratio between the length of the gonads and the standard fish length) were observed for both male and female sticklebacks (de Kermoisan et al. 2013). A decrease of the gonadosomatic index (GSI) due to BPA exposure for both males and females have also been found in two studies (Sohoni et al. 2001, Mihaich et al. 2012). We introduced this effect on the energy allocated to sexual maturity and reproduction (predicted by the DEB model). However, we did not integrate this effect for the founders as they already had mature gonads.

2.5. Calibration of the dose-response parameters

The stress level for each type of effect integrated in the DEB-IBM was determined with a Hill equation (Eq. 1).

$$s(t) = \frac{C(t)^{n_{tox}}}{EC_{50}^{n_{tox}} + C(t)^{n_{tox}}} \quad (\text{Eq. 10})$$

With $C(t)$ the exposure concentration at time t , EC_{50} the concentration leading to 50 % of effect, n_{tox} the Hill coefficient and $s(t)$ the stress level at time t . n_{tox} and EC_{50} values are specific to the type of BPA effect integrated in the model.

First, these dose-response parameters were fitted on the literature data using the R package “drc” (Ritz et al. 2016).

Second, to assess if the main BPA impacts were integrated in the DEB-IBM, the dose-response parameters were recalibrated on the observed experimental population data with an iterative process using a genetic algorithm available within the software BehaviorSearch. The distance to minimize was the weighted sum of least squares (WLS) between the predictions and the observations of the endpoints of the population (Eq. 1).

$$WLS = \sum_{i=1}^n \frac{(Sim_i - \mu_{obs_i})^2}{\sigma_{obs_i}^2} \quad (\text{Eq. 11})$$

With n the number of observed outputs, Sim_i the value of the simulated output i , μ_{obs_i} the mean of the observed output i and σ_{obs_i} the standard deviation of the observed output i .

2.6. Sensitivity analyses of the dose-response parameters

Sensitivity analysis by using the variance-based Sobol’ method (Sobol’ et al. 2007, Saltelli et al. 2010) were performed on the dose-response parameters varying 10 % of their values for the highest exposure scenario. The Sobol’s method identifies the contribution of each parameter (First order index) as well as the interactions between parameters (Total index). To assess the impacts of parameter variations over time of the experiment, three sensitivity analyses were made at different time of simulations: during the beginning of the breeding period (70 days), during the end of the breeding period (140 days) and at the end of the experiment (211 days). The sensitivity analyses were made with the “sobol2007” function implemented in the R package “sensitivity” (Iooss et al. 2012) which uses the Mauntz estimators recommended for small first-order and total indices.

2.7. Model simulations

2.7.1. Predictive capacity of the model using the dose-responses fitted on literature data

To assess the predictive capacity of the model, population endpoints were simulated with the DEB-IBM using the individual dose-responses fitted on literature data for each BPA treatment. 1000 simulations were performed to account for the stochasticity of the model: inter-mesocosm environmental variability, inter-individual performance variability, and stochastic processes (for example survival). Simulation results were then compared to the observed experimental data. The relative errors (RE) and normalized root-mean-square deviations (NRMSD) between the simulations and the observations in the artificial streams were calculated to conclude on the predictive capacity of the model.

2.7.2. Explanation of the observed effects at the population level

Before integrating BPA effects into the model, population endpoint data from each treatment were compared to the simulated or observed control endpoints. The LOECs were calculated in two different ways using the methodology described in David et al. (2019). First, they were calculated using the observed control endpoints in the artificial streams as a reference and a Dunnett's post hoc test as in de Kermoyan et al. (2013). Second, they were estimated comparing the distribution of the control endpoints estimated by the DEB-IBM to the observations made in the exposed mesocosms using a Kolmogorov–Smirnov test. The level of significance for all tests was 5 %. To estimate the distribution of the control endpoints, 1000 simulations of the DEB-IBM were performed.

Then, in order to gain more knowledge on the observed BPA impacts, 1000 simulations of the DEB-IBM were made for each BPA treatment with the recalibrated dose-responses on the observed population data in the artificial streams. The simulation results were compared to the simulations using the dose-responses fitted on literature data to evaluate the added value of this recalibration by calculating the RE and NRMSD between the simulations and the observations in the mesocosms.

Finally, the contribution of either direct or indirect BPA effects was assessed with the DEB-IBM with the recalibrated dose-response curves. Four types of simulations were made for the 100 µg/L BPA treatment: (i) without any BPA effects, (ii) integrating only indirect effects of BPA, (iii) integrating only the direct effects of BPA on fish and finally, (iv) integrating both direct and indirect effects. The RE and NRMSD for each type of simulation were compared to conclude on the contribution of direct and indirect effects. Furthermore, the

ratios between the root-mean-square deviations of the simulations with the different BPA effects and the simulations without BPA effects for each output were calculated to conclude on the added benefit of the models.

2.7.3. Populational dose-response curves

Population dose-response curves were extrapolated between the 0 and 100 $\mu\text{g/L}$ BPA treatments. To do that, the food scenarios were linearly interpolated between the actual tested BPA concentrations. The chosen extrapolated concentrations were 0.5, 1.5 and 2 $\mu\text{g/L}$ and from 5 to 70 $\mu\text{g/L}$ with a step of 5 $\mu\text{g/L}$. 1000 model simulations were made for each extrapolated concentration. The population dose-response curves were calculated by linearly interpolated between the median of the simulations per concentrations. They were then compared to the ones calculated on the observed data using a Hill model available in the R package “drc” (Ritz et al. 2016).

3. Results

3.1. BPA exposure and ecological scenarios

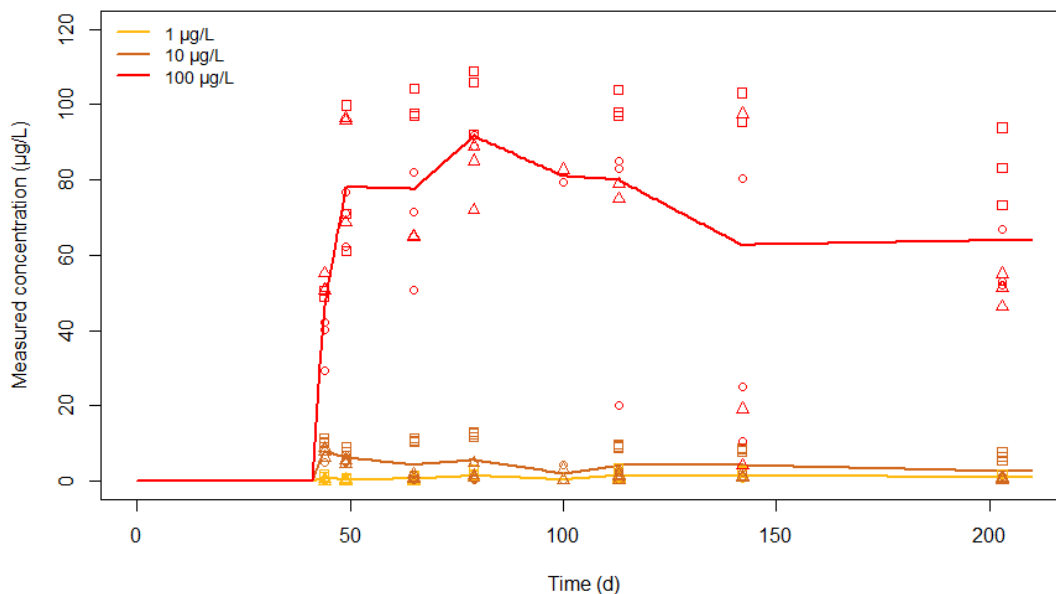


Figure 1. BPA exposure scenarios based on the measured concentrations made in the mesocosms for the three treatments (yellow: 1 $\mu\text{g/L}$, orange: 10 $\mu\text{g/L}$ and red: 100 $\mu\text{g/L}$). Squares, circles and triangles represent respectively the measured BPA concentrations in the three replicate mesocosms at 0, 5 and 19 m from the inlet of the water. Full lines represent the extrapolated scenarios for each BPA treatment.

The mean concentration throughout the experiment for each treatment were 0.97, 4.53 and 76.6 $\mu\text{g/L}$ respectively for the 1, 10 and 100 $\mu\text{g/L}$ BPA treatments. Figure 1 presents the three BPA exposure scenarios for the different treatments. Globally, BPA concentrations in water

were lower than expected for the 10 and 100 $\mu\text{g/L}$ treatments (between 46.5 and 91.8 % of the expected concentration for the 100 $\mu\text{g/L}$ treatment and between 19.5 and 80.0 % for the 10 $\mu\text{g/L}$ treatment). For the 1 $\mu\text{g/L}$ treatment, concentrations were either lower or higher than the expected values (between 39.7 and 148.9 %).

Concerning the food scenarios, Figure 2 presents the total energy calculated using all stickleback preys considered in the model and Figure S1 in SI presents the energy for each prey type. The peak of total energy (around 110 days of the experiment) of prey observed in the control and the 1 $\mu\text{g/L}$ BPA treatment was lower in the 10 $\mu\text{g/L}$ treatment and did not occurred in the 100 $\mu\text{g/L}$ BPA treatment (Figure 2). As shown in Figure S1, this result was mainly due to the dynamics of the macroinvertebrates.

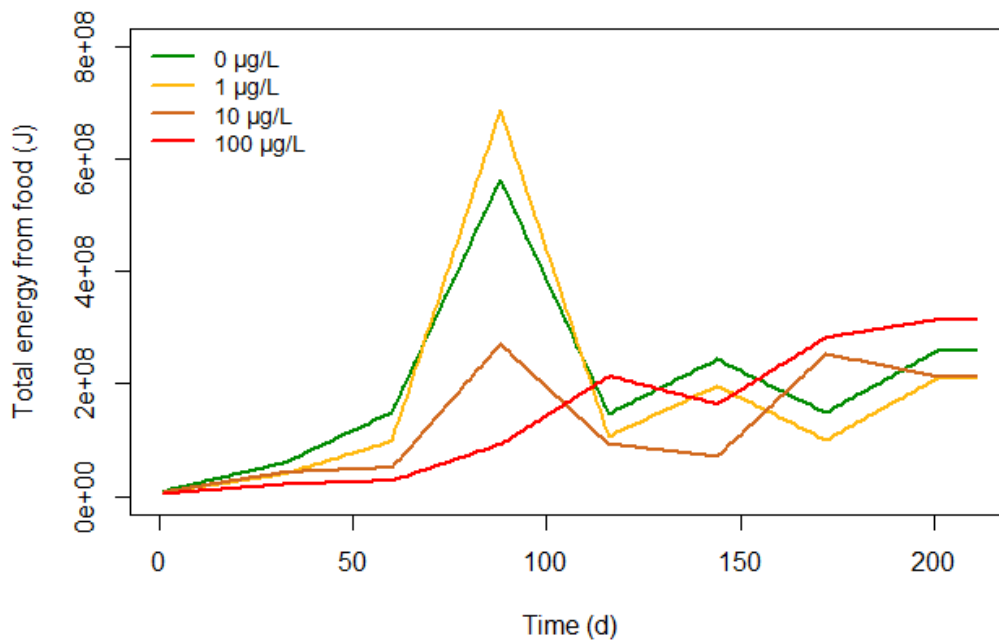


Figure 2. Food scenarios throughout time for each BPA treatment (green: 0 $\mu\text{g/L}$, yellow: 1 $\mu\text{g/L}$, orange: 10 $\mu\text{g/L}$, red: 100 $\mu\text{g/L}$) calculated using the results of zooplankton and macroinvertebrates samples.

3.2. Integration of the direct BPA effects and sensitivity analyses

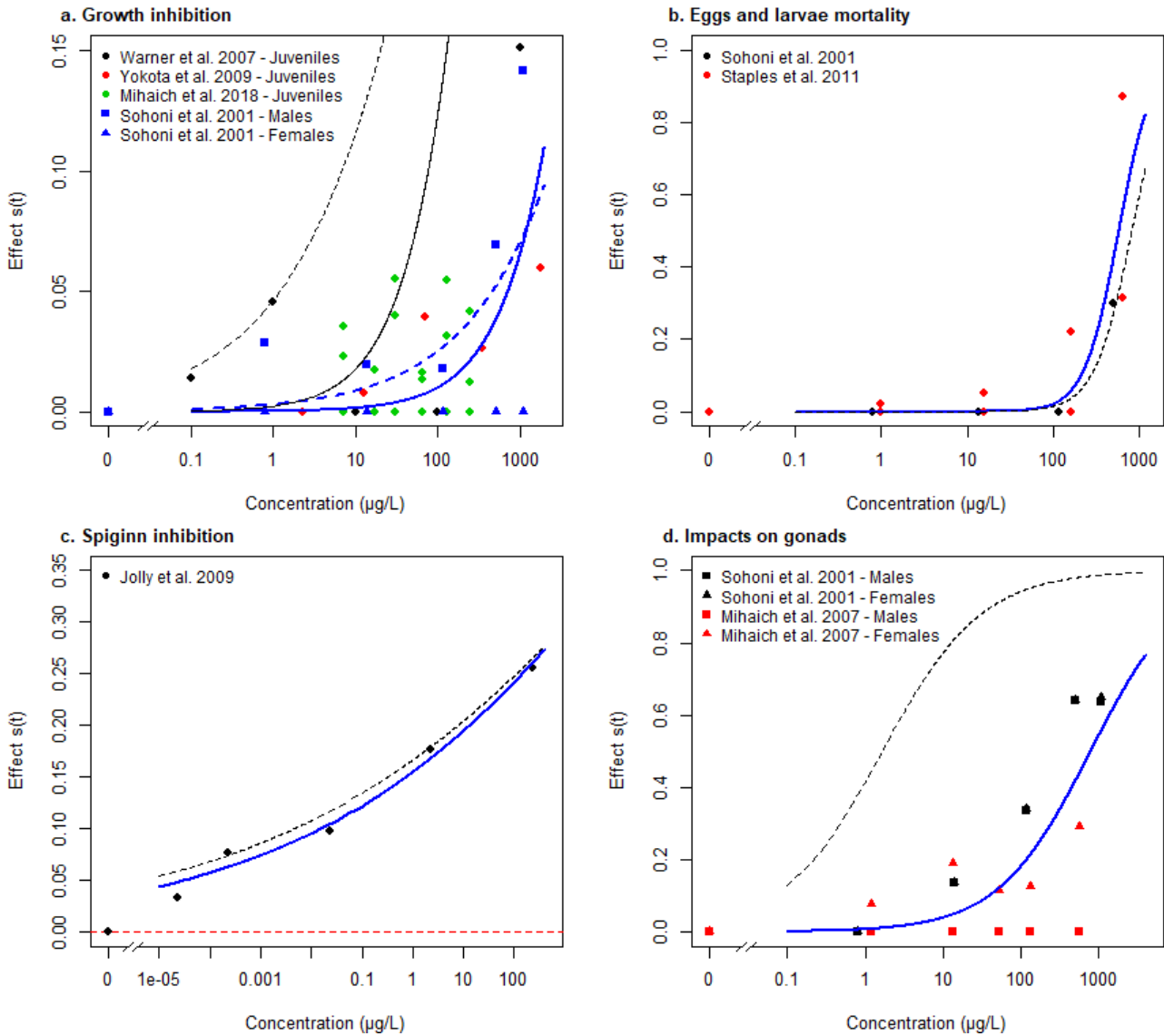


Figure 3. Dose-responses of the effects of BPA on growth (a), egg and larvae mortality (b), spiginn production (c) and gonads (d). Points represent data from literature, the blue lines represent the dose-responses fitted on the data points. The black lines represent the recalibrated dose-response curves on the artificial stream population data. For growth inhibition, the full lines represent the dose-responses for adults (males and females) whereas the dashed lines represent the dose-response for juveniles.

Figure 3 presents the dose-responses fitted on literature data or on population observed data in the artificial streams for the four integrated BPA impacts in the DEB-IBM and Table 1 presents the dose-response parameter values. Furthermore, the dose-response curve fitted on literature data for the number of produced eggs by females showed no effect of BPA at 100 µg/L (Figure S9). Thus our assumption of neglecting this effect sounds justified. Figure 4

shows the results of the Sobol sensitivity analysis of the different types of outputs: female frequency, frequency of mature males, mean length of founder females and juveniles. The results for the other outputs can be found in SI Figure S4. Overall, the Sobol’s total indices were important meaning that the interactions between the toxic parameters were strong.

Table 1. Description and parameter values of the dose-response relationships fitted on literature data or recalibrated on stickleback population observations in the mesocosms (artificial streams).

Parameter	Description	Unit	Recalibrated	Fitted on literature	IC 95%
EC50_B.Period	Concentration leading to 50 % of effect on the duration of the breeding period	µg/L	14.8	14.1	[12.7 ; 15.6]
n_B.Period	Hill coefficient for the effect on the duration of the breeding period	-	0.11	0.12	[0.10 ; 0.13]
EC50_P.OL	Concentration leading to 50 % of effect on the mortality of eggs and larvae	µg/L	6.71	6.38	[5.74 ; 7.01]
n_P.OL	Hill coefficient for the effect on the mortality of eggs and larvae	-	2.00	2.17	[1.95 ; 2.38]
EC50_R	Concentration leading to 50 % of effect on the energy allocated to maturity and reproduction	µg/L	0.50	6.67	[0 ; 8.00]
n_R	Hill coefficient for the effect on the energy allocated to maturity and reproduction	-	0.68	0.73	[0.58 ; 0.87]
EC50_gr.NF	Concentration leading to 50 % of effect on the growth for non founders	µg/L	7.02	12.5	[8.72 ; 16.19]
n_gr.NF	Hill coefficient for the effect on the growth for non founders	-	0.43	0.47	[0.37 ; 0.56]
EC50_gr.F	Concentration leading to 50 % of effect on the growth for founders	µg/L	6.80	10.1	[6.00 ; 13.00]
n_gr.F	Hill coefficient for the effect on the growth for founders	-	0.89	0.84	[0.70 ; 1.04]

The EC50 parameters of the effect on the duration of the breeding period had strong effects on the female frequency (Figure 4a). However, for the frequency of mature males, the parameter that had the most influence was the EC50 of the effect on the growth of non-founder fish (Figure 4b). Similarly, the juvenile mean length was strongly impacted by a variation of the EC50 and the Hill coefficient parameter values relative to the duration of the breeding period (Figure 4d). However, the parameters relative to growth of founders strongly impacted the mean length of founder females (Figure 4c). Thus, globally all toxic parameters had strong influence on all outputs, except the parameters relative to the effect on egg survival which had low impacts (Figures 4 and S4).

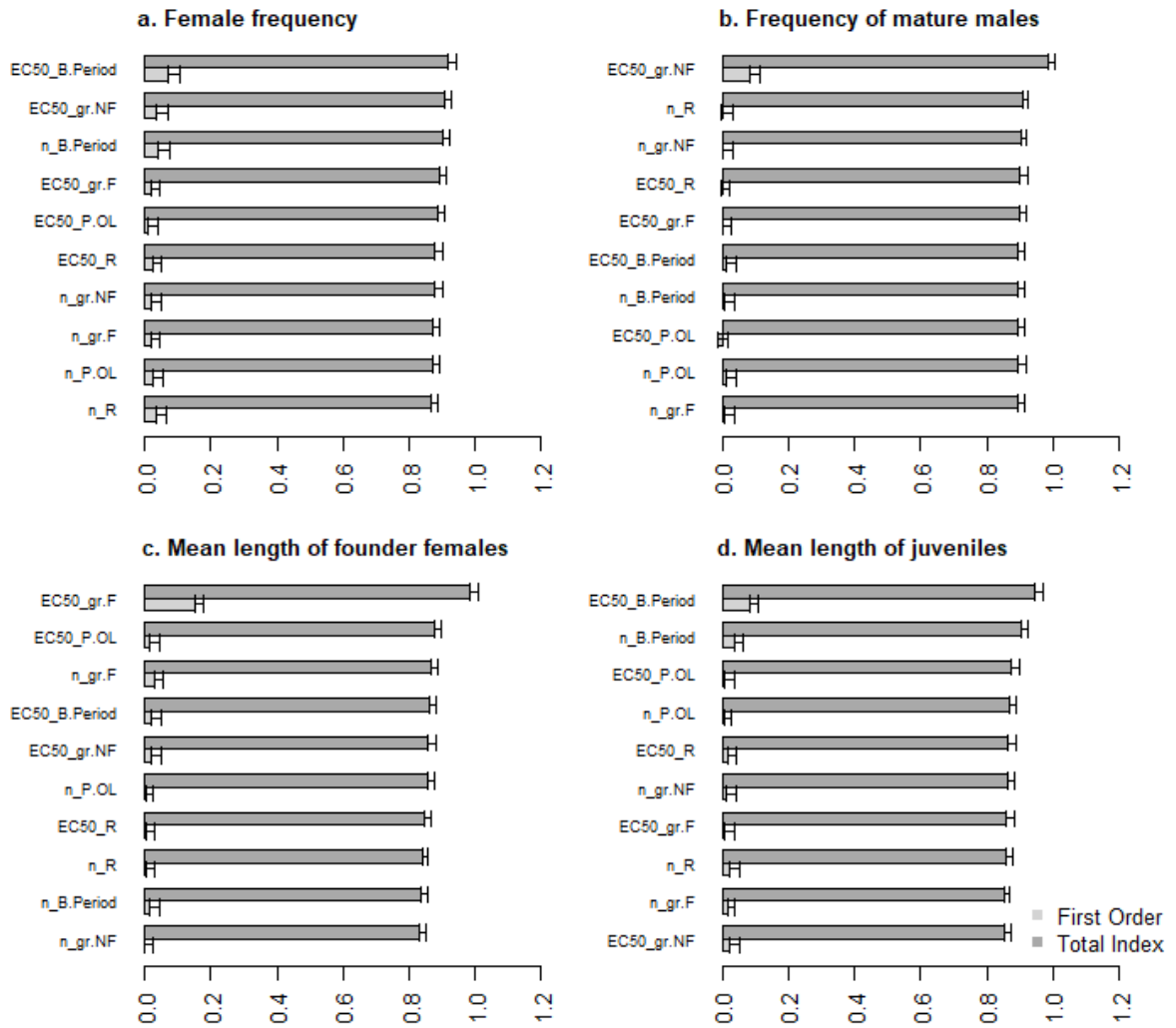


Figure 4. Results of the Sobol sensitivity analysis for the female frequency (a), the frequency of mature males (b), the mean length of founder females (c) and the mean length of juveniles (d). The first order (light grey) and total index (dark grey) were represented on each graph.

Furthermore, the influence of the parameters was dependent on the simulation time (Figure S5). For example, the parameters related to effects on growth strongly influenced the mean length of juveniles at the beginning and middle of the experiment (at 70 and 140 days) whereas those related to a reduction of the duration of the breeding period had more influence at the end of the experiment.

3.3. Model predictive capacity

The comparison of the model simulations using the dose-response curve fitted on literature data with the mesocosms observations for each BPA treatment can be found in Figure S2. The model gave relatively good predictions of the observed population endpoints (RE = 26 % and NRMSD = 0.31 for all endpoints in the 100 µg/L BPA treatment). Nevertheless, the decrease of the frequency of mature males in the 100 µg/L BPA treatment was not predicted.

Furthermore, the mean length of females and males born in the mesocosms were slightly overestimated. For the other endpoints, the model predicted well the population dynamics under BPA stress. Concerning the length frequencies, the model gave good predictions for the control and the 1 µg/L treatment (Figure S3a,b). However, the DEB-IBM overestimated the length frequencies of the fish for the first cohorts for the 10 µg/L and 100 µg/L treatments at the end of the experiment (Figure S3c,d).

3.4. Explanation of the observed effects at the population level

Table S3 presents the comparison of the LOECs using the observed control endpoints in the artificial streams or using the distribution of the control endpoints estimated by our model as references for the statistical tests. Both approaches identified a LOEC at 100 µg/L for the juvenile mean length and the CV of their lengths. The LOEC for the frequency of mature males (F.M.m) was decreased to 10 µg/L and LOECs equal to 10 or 100 µg/L were found for four other endpoints (L.F.C00, L.F.CXX, L.M.CXX and CV.F.CXX) using the distribution of the control endpoints estimated by our model. All other endpoints had a LOEC above 100 µg/L. Consequently, our model showed that seven endpoints were found to have a LOEC at 10 or 100 µg/L compared to three using only the observed mesocosm data.

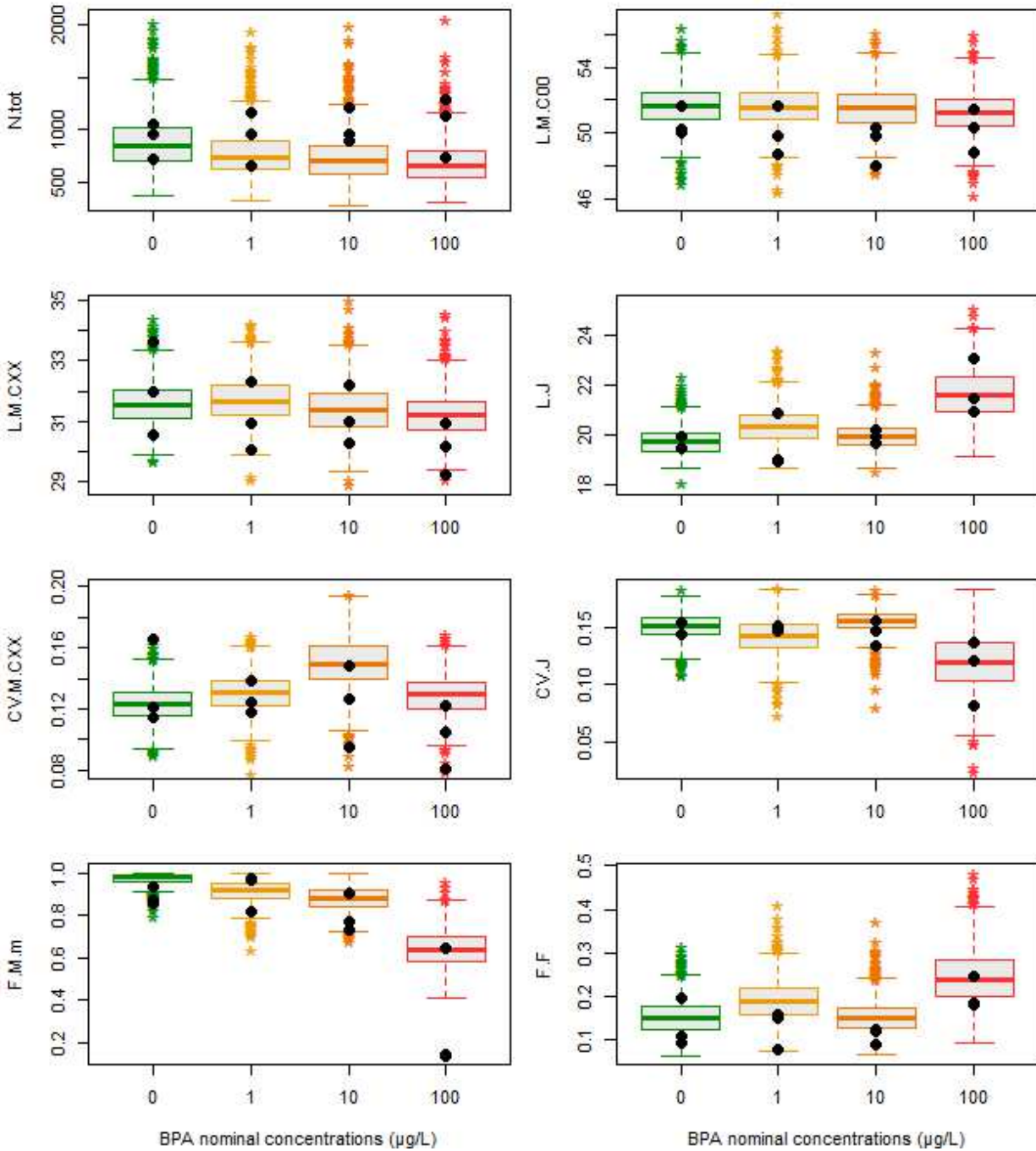


Figure 5. Simulation of the toxicity of BPA using calibrated dose-responses on physiological processes of sticklebacks. Boxplot represent the model predictions for each BPA treatment (green: 0 µg/L, yellow: 1 µg/L, orange: 10 µg/L and red: 100 µg/L) and the different population endpoints (N.tot: Total abundance, L.M.C00: Mean length of the founder males, L.M.CXX: Mean length of the males born in mesocosm, L.J: Mean length of juveniles, CV.M.CXX: CV of lengths of males born in mesocosms, CV.J: CV of lengths of juveniles, F.M.m: Frequency of mature males, F.F: Frequency of females). Black points represent the observations made in the mesocosms.

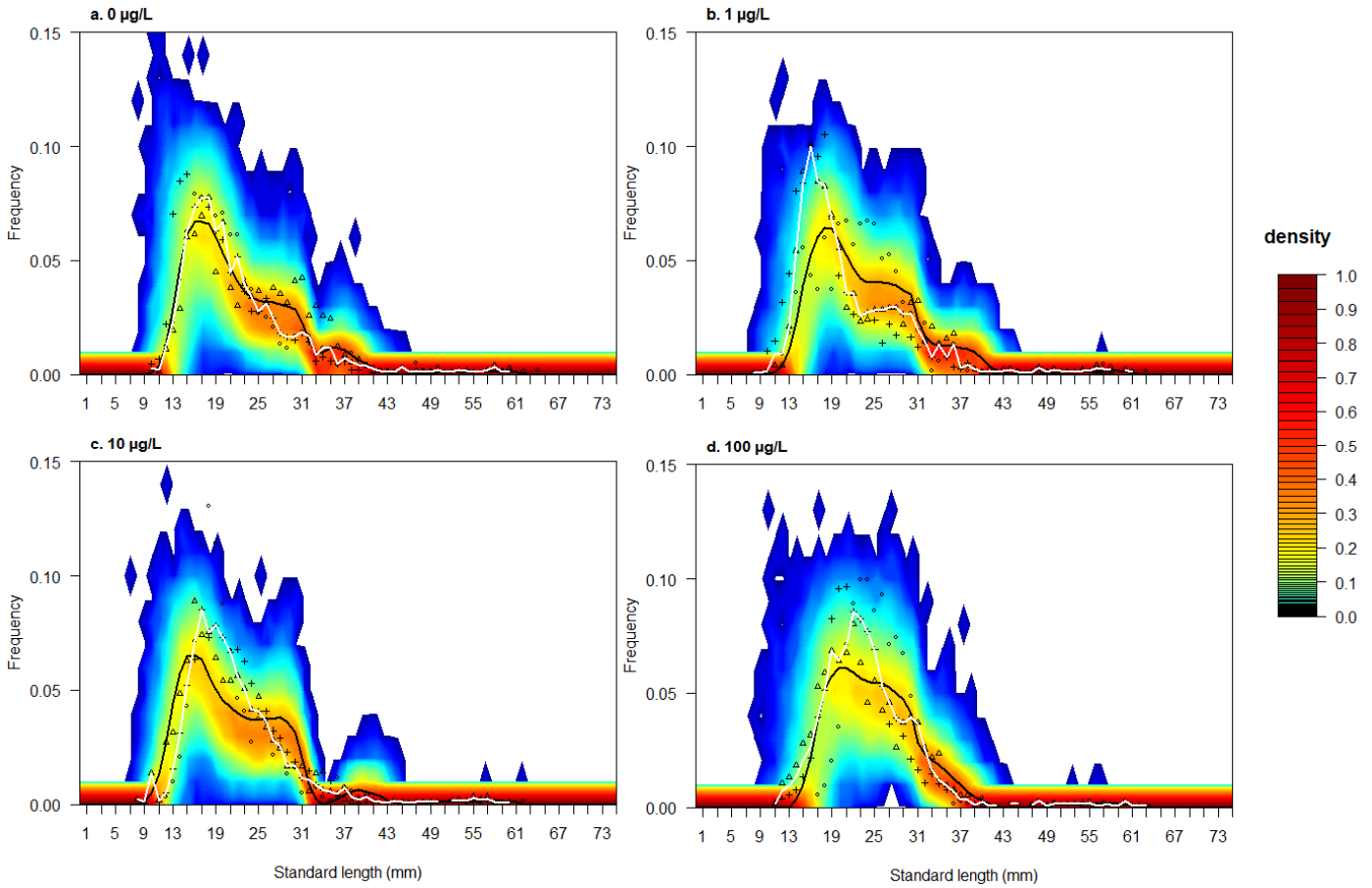


Figure 6. Probabilistic distributions of the length frequency predicted by the model compared to the length frequency distribution observed for each BPA treatment: 0 µg/L (a), 1 µg/L (b), 10 µg/L (c) or 100 µg/L (d) after recalibration of the dose-response parameters on the artificial stream population data. Different point types represent the length frequency distributions of the different observed populations. Full black and white lines represent the median length frequency distributions of the simulated and observed populations respectively. Color level represents the frequency of simulated populations ($n = 1000$) having a given percentage of individuals for a given class length. Frequency inferior to $< 1e-04$ are represented in white.

After recalibration of the toxic parameters (see Table 1), the dose-response curves for the growth and the effects on gonads were shifted to the right which implies an increase of the BPA stress levels at the studied concentrations (Figure 3). No major differences were found for the effects on eggs and larvae survival and spiggin inhibition. This recalibration improved all the predictions of the endpoints ($RE = 14\%$ and $NRMSD = 0.22$ for all endpoints in the 100 µg/L BPA treatment) (Figure 5), and especially the one concerning the frequency of mature males. Finally, the length frequencies were still well predicted for the control and 1 µg/L treatment (Figure 6a,b) and were strongly improved for the 100 µg/L BPA treatment (Figure 6d). However, predictions for the 10 µg/L BPA treatment could still be improved as fish lengths of the first cohort were still slightly overestimated (Figure 6c).

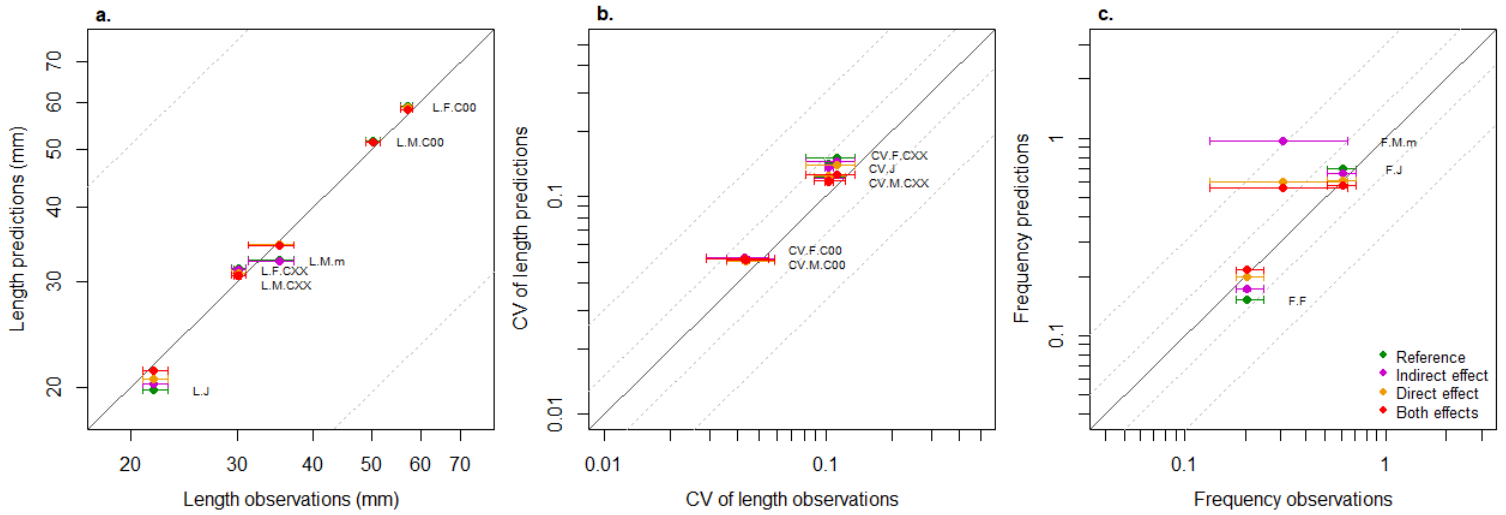


Figure 7. Predictions of the mean length of each category of individuals (a), the CV of their lengths (b) and the frequencies (c) compared to the observations made in the 100 $\mu\text{g/L}$ BPA treatment. The green points represent the mean of the simulations of the model with direct and/or indirect BPA effects. The purple points represent the mean of the simulations of the model integrating only indirect BPA effects on the physiological processes of sticklebacks. The orange points represent the mean of the simulations of the model integrating only the direct BPA effects. The red points represent the mean of the simulations integrating both direct and indirect effects. The error bars represent the 95 % confidence interval of the simulations and observations. Dotted lines represent the 1.5-fold and 3-fold changes and the full line represents the 1:1 line.

Figure 7 shows the comparison between the model predictions including either direct and/or indirect effects of BPA for the 100 $\mu\text{g/L}$ treatment. Integrating only indirect effects improved the model predictions for some endpoints like the juvenile mean length (RE = 27 % and NRMSD = 0.32 for all endpoints in the 100 $\mu\text{g/L}$ BPA treatment) compared to the predictions of the model without BPA effects (RE = 29 % and NRMSD = 0.34). Furthermore, considering only direct effects of BPA on the physiological processes of sticklebacks improved other population endpoints like the mean length of founders or the frequency of mature males (RE = 16 % and NRMSD = 0.24). Finally, including both direct and indirect effects in the model strongly improved the predictions of all population endpoints (RE = 14 % and NRMSD = 0.22).

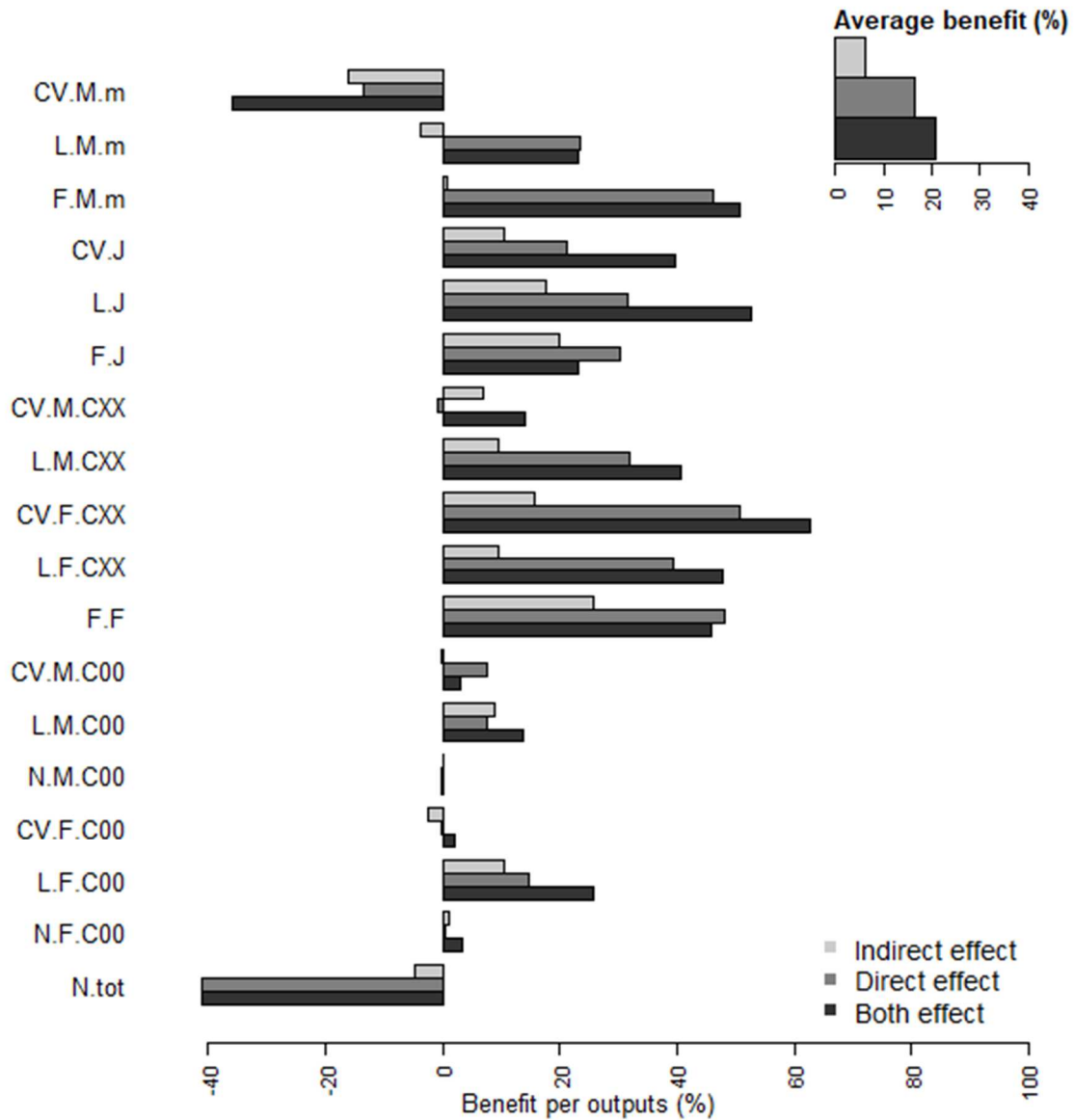


Figure 8. Added benefit of the models considering the indirect BPA effects alone (light grey), the direct BPA effects alone (medium grey) or both direct and indirect effects (dark grey) to predict the different descriptive variables of the stickleback population. The results are represented in term of ratios between the RMSE of these different models and the RMSE of the model without considering the BPA effects for each output. The average benefit on all the outputs is given on the top right position.

Figure 8 presents the benefit of the model considering the indirect and/or direct BPA effects compared to the one without BPA effects. First, the average benefit on all the population endpoints is 20.7 % with the model using both type of BPA effects against 16.5 % and 6.1 % for the model using direct or indirect effects alone respectively. Indeed, the benefit of the model using indirect effects alone was lower than the one using direct effects alone for most endpoints. For example, almost no indirect effects could explain the frequency of mature males (0.86 %) whereas for other endpoints like the female frequency, the benefit of the model considering the indirect effect alone was not negligible (25.8 %). Finally, the benefit of

the model, regardless of the BPA effects, were negative for two endpoints (total abundance and the CV of the length of mature males).

3.5. Population dose-response curves

Figure S6 in SI presents the extrapolated food scenarios and Figure 9 the extrapolated dose-response curves at the population level with the DEB-IBM compared to the dose-responses calculated on the observed data for the number of female founders, the CV of the length of the males born in artificial streams and the frequency of mature males. Figure S7 presents the results for all population endpoints. First, the model showed no impacts on total abundance and the number of male and female founders at the end of the experiment whereas the dose-responses fitted on the observed data suggested an effect (Figure 9a and S7). On the contrary, no effect on the juvenile frequency was shown with the dose-responses fitted on the observed data whereas the model showed one (Figure S7). For the juvenile mean length and the frequency of mature males, the shape of the extrapolated dose-response curves with the DEB-IBM showed a less noticeable effect between the 10 and 100 $\mu\text{g/L}$ treatments compared to the dose-responses calculated on the observed data (Figure 9b and S7). Furthermore, dose-response curves having a slope which changed direction within the range of the tested treatments (*i.e.* non-monotonic dose-responses) were found for the CV of the lengths of both males and females born in mesocosms as well as the CV of the lengths of the mature males (Figure 9c and S7). Finally, for the other endpoints, the extrapolated dose-responses with the DEB-IBM presented the same shape than the ones calculated on the observed data (Figure S7).

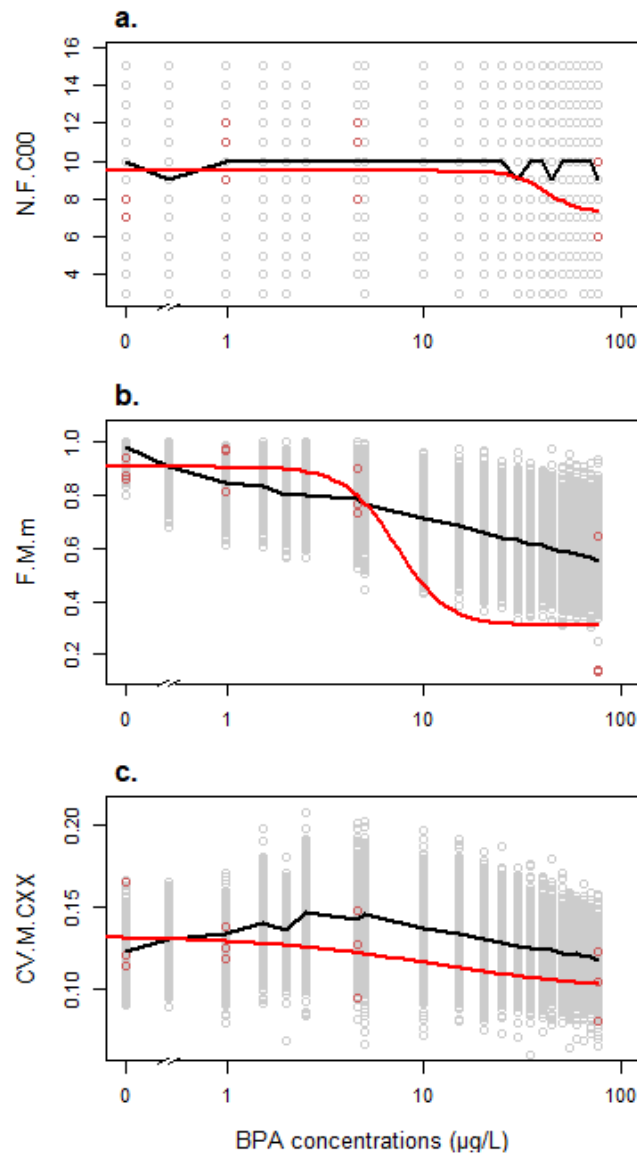


Figure 9. Dose-response curves at the population level for the number of female founders (a), the frequency of mature males (b) and the CV of lengths of the males born in the artificial streams (c). The red circles represent the real observations in the mesocosms for each BPA treatment and the red line the dose-response curve fitted on the observed data using a Hill model. The grey points represent the simulated endpoints with the DEB-IBM and the black line the extrapolated dose-response curves using the simulated data.

4. Discussion

Population modelling in risk assessment was suggested to be a powerful tool to gain more knowledge on the mechanisms of chemical toxicity on populations (Forbes et al. 2011) and to extrapolate from ecotoxicological observations to relevant ecological effects (Forbes et al. 2008). Hence, it would help to improve decision-making and ecological management (Goussen et al. 2016). Here, we proposed a DEB-IBM to predict BPA effects on the population dynamics of three-spined sticklebacks in artificial streams. This model was based

on a DEB-IBM previously developed for predicting population dynamics of three-spined sticklebacks without toxicant stress (David et al. 2019).

4.1. Integration of the direct BPA effects on sticklebacks

The development of the individual dose-responses describing BPA effects was not straightforward to handle due to the heterogeneity of the literature studies (different studied species and exposure design). The exposure route via food was neglected in our model, while some studies have showed an accumulation of BPA in invertebrates (Nurulnadia et al. 2014) suggesting that this exposure route could be possible for sticklebacks. However, the only study on fish that tested the effects of contaminated food with BPA (Drastichová et al. 2005) showed effects at higher concentrations than those studied in the mesocosm experiment, thus the results were not considered.

From literature, four main BPA effects on fish appeared to be interesting to include in the model (effects on growth, gonad maturity, eggs and embryo survival and male reproductive behavior). However, the BPA effects on the reproductive behavior of males were more complex to incorporate as very scarce literature data was available on the mating behavior of fish. One study showed a decrease of male locomotion and behavior during courtship in zebrafish (Li et al. 2017) at a low-dose BPA concentration but, to our knowledge the measured concentrations in water were not available. We thus extrapolated this effect by using the study on three-spined sticklebacks which showed an inhibition of the spiggin, protein used for nest building (Jolly et al. 2009). In the model, spiggin was correlated to the breeding period (inhibition of spiggin implies a reduction in the duration of the breeding season) which would thus decrease the success rate of the reproductive processes of males (in particular a decrease of the number of nests) (Mori 1993). Other DEB-IBM parameters could have been impacted instead of the duration of the breeding period, like the nest mortality or the probability of stopping the reproduction processes. However, impacting the breeding period allows to take in account different possible physiological and behavioral effects such as a reduction of the overall courtship and nest building. Furthermore, this parameter influenced the most the outputs of the model as shown in David et al. (2019).

Globally, the DEB-IBM with the toxic parameters fitted on literature data at the individual level gave overall good predictions of the population endpoints, especially for the mean length and CV of the lengths of juveniles as well as the female frequency. Hence, this supports the idea that individual-based modelling may be a sound approach for predicting

toxicant effects at the population level from the toxicological data recorded at the individual level (Galic et al. 2010, Hommen et al. 2010, Forbes et al. 2017).

4.2. Explanation of the observed effects at the population level

The sensitivity analyses made for the 100 µg/L BPA treatment revealed that the influence of the toxic parameters was strongly dependent on the studied outputs and the time of the simulation (Figures 4, S4 and S5). First, the mean length of juveniles was mostly impacted by the variations of the parameter values relative to a reduction of the duration of the breeding period whereas the male and female mean lengths were most sensitive to changes in the toxic parameters related to growth. Furthermore, the female and juvenile frequencies and the total fish abundance (Figures 4a and S4 a,b) were mostly impacted by a variation of the toxic parameters related to a reduction of the duration of the breeding season. Indeed, as the last reproductive events were inhibited, less juveniles were present in the artificial streams at the end of the experiment which directly impacted the juvenile frequency as well as the mean length of the juveniles. Shortened reproductive season was already shown to impact cohort abundances with another IBM for zebrafish (Hazlerigg et al. 2014) and the duration of the breeding period was already one of the critical parameter for the DEB-IBM developed without toxicant stress (David et al. 2019). Finally, the sensitivity of the population endpoints was clearly dependent on the type of BPA effects. Thus, it was necessary to include multiple BPA effects to accurately predict all population endpoints which highlights the complexity of mechanisms of toxicity that could have occurred in the mesocosm experiment.

The DEB-IBM simulations of the descriptive variables of the stickleback populations for each BPA treatment with the recalibrated dose-response curves on population data were close to the observed endpoints. Thus, this suggests that all main BPA effects have been integrated in the model and explained the population structure found in the 100 µg/L treatment. However, some predictions, such as the length frequency of the fish of the first cohort, could still be improved, especially for the 10 µg/L BPA treatment, suggesting that other effects could have happened in the artificial streams, and consequently decreased the growth rate of the first cohort. For example, BPA was shown to have complex neurobehavioral effects. Indeed, it altered the locomotion and can induce hypoactivity as shown on fish larvae at concentrations between 2 and 200 µg/L (Inagaki et al. 2016, Guo et al. 2019). BPA was also shown to reduce the aggressive behavior of adult zebrafish as well as induce a weaker adaptability to new environments (Wang et al. 2015). On the contrary, Saili et al. (2012) showed that low-dose BPA exposure levels led to early zebrafish life-stage hyperactivity and

adults exhibited learning deficits. Thus, BPA effects on fish locomotion and activity are not fully understood but could impact the predation processes and growth density-dependence driven by fish interactions.

4.3. Contribution of the indirect and direct BPA effects

The comparison of the DEB-IBM simulations integrating direct and/or indirect effects showed that we obtained simulations closer to the observed endpoints when both direct and indirect impacts were taken into account for the 100 µg/L BPA treatment (Figure 7). Indeed, as seen in Figure 2, total energy of stickleback preys was lower at this treatment. This result was not surprising as BPA impacts on invertebrates have been widely described (Flint et al. 2012, Canesi and Fabbri 2015). In particular for the stickleback main preys, BPA was shown to affect growth and feeding of *Asellus aquaticus* during acute and chronic exposures to high BPA concentrations (Plahuta et al. 2015). Reproduction and mortality of *Gammarus fossarum* was also impacted starting from 5 µg/L of BPA (Ladewig et al. 2006, Schirling et al. 2006). Developmental inhibition induced by BPA exposure was observed at very low exposure concentrations (10 ng/L) on *Chironomus riparius* larvae (Watts et al. 2003). Finally, zooplankton species such copepods were also impacted at low BPA concentrations at 1 and 10 µg/L (Marcial et al. 2003).

Assessing the impacts of species loss in an ecosystem requires to understand the processes that occur across trophic levels in order to consider possible cascading effects (Duffy et al. 2007, O'Connor et al. 2013). Here, as explained in de Kermoysan et al. (2013), indirect effects could explain the shift of the population structure towards higher lengths at the 100 µg/L BPA treatment. The model predictions of the mean length of juveniles were for example improved when including only the food scenario for the 100 µg/L treatment (Figure 7). The growth of the individuals could be reduced as less food was available leading to a larger number of fish in the length class of [20; 26 mm[that did not reach the adult stage. Another explanation is that density-dependent mechanisms for growth were lower as the decrease of the food resource indirectly also reduced fish reproduction. As seen in Figure 8, the benefit of the model including indirect effects alone was 17.7 % which was not negligible compared to the benefit including direct effects alone (31.5 %).

On the contrary, the decrease of the frequency of mature males is mainly explained by direct BPA effects (Figure 8). Indeed, the decrease of the food resource in the environment could have explained a decrease of the maturity as described in the DEB model (Kooijman 2010) but the results showed that it was clearly not sufficient to explain the observed effect.

Concerning total abundance (Figure 8), the benefits of the models including the different types of BPA effects were negative. However, the large coefficient of variation of the observations (26.7 % for the 100 µg/L treatment) induces great uncertainty and then, the benefit may probably be smaller than the noise. Indeed, as seen in Figure 5, it is not possible to conclude on the relevance of the model predictions for total abundance as the three replicates were in the predictive interval of the simulations for the 100 µg/L treatment.

Globally, the combination of both direct and indirect effects gave better predictions (Figures 7 and 8), highlighting the complex interactions between the trophic levels. Thus, this BPA case study highlights that modelling food availability as well as the effects on the physiology of the organisms would help to provide relevant chemical exposure–response relationships at the population level which is necessary for ecological risk assessment (Forbes et al. 2017).

4.4. Extrapolation of the ecotoxicological effects at the population level

In risk assessment, the use of the DEB theory (Kooijman 2010) coupled to an IBM was suggested to be a convenient approach to extrapolate the effect of toxicants measured on the individual life history traits to effects at higher levels of biological organization (Beaudouin et al. 2012, Martin et al. 2013).

However, as the literature data concerned different fish species exposed to BPA with diverse experimental designs, this study gives an example of different extrapolation issues that could happen. More specifically, extrapolating effects between species adds uncertainties in predictions. Here, the comparison of the calibrated dose-response curves on population responses in artificial streams and the dose-response curves fitted on literature data showed that the BPA effects on growth and gonad maturity were stronger than assumed by literature data. Furthermore, the assumption of the extrapolations between literature data and the way of integrating the effect in the DEB-IBM could also induce a discrepancy between the stress level calculated on the dose-response curve and the population observed responses. For example, the effect of BPA on the male reproductive behavior was extrapolated from the response of spiggin, an androgen and antiandrogen biomarker (Katsiadaki et al. 2002). Nevertheless, we found that the recalibration of the dose-response parameters did not strongly change the dose-response curve of the spiggin inhibition on sticklebacks suggesting that including this effect on the duration of the breeding season was a relatively acceptable extrapolation. In addition, the extrapolation of populational effects from the spiggin inhibition using the stickleback DEB-IBM could be included in a quantitative adverse outcome pathway

(qAOP) as we modelled key event relationships linking a molecular initiating event to an adverse outcome (Conolly et al. 2017). Indeed, the inhibition of the spiggin production could occur if a chemical occupies the androgen receptor without activating it, and this molecular initiating event, as shown in the present study, could induce adverse outcomes at the organism level (disruptions of the male capacities during reproduction) and at the population level (increase of the mean length of the juveniles, decrease of the juvenile frequency). The qAOP is a concept with increasing interest as it provides quantitative, dose-response, and time-course predictions that can support regulatory decision-making (Conolly et al. 2017). Finally, to go further on the modelling of the exposure, the population model could be coupled to toxicokinetic models that provide a quantitative mechanistic framework to predict the time-course of the concentration of chemicals in an organism (Grech et al. 2019).

The predictive capacity of our model was assessed on one reproductive season and thus, should be also evaluated for more than one season. To do that, the ecological scenarios would need to be extrapolated. This could be done by including a specific model of the aquatic food webs describing the dynamics over time. Furthermore, BPA effects on reproduction can be supposed to be long lasting or even irreversible as seen for example with the alterations of the gonadotroph cells in zebrafish at BPA concentrations of 100 and 1000 µg/L (Molina et al. 2018). In a study on rainbow trout egg exposed to BPA, Sadoul et al. (2017) also showed long-term effects on growth and gene expressions related to metabolism. Consequently, to make long-term predictions of BPA effects, it would be highly interesting to consider long-lasting effects of BPA on stickleback growth as well as on gonad maturity. However, according to the parsimonious principle, as the end of the mesocosm experiment was really close to the end of the exposure, the BPA long-lasting effects were neglected in our model.

To go further, integrating landscape characteristics (*e.g.* habitat, vegetation patches) in addition to species interactions and environmental conditions (*e.g.*, temperature, food availability) in the ecological scenarios could be interesting as they may also be impacted by toxicants (Rico et al. 2016). Furthermore, other ecological responses, like, for example, a shift of diet to other available species in response to the absence of the preys (Allen and Wootton 1984) was not considered although this could minimize the indirect BPA effects.

4.5. Added value of ecological modelling to estimate toxicant thresholds

We here analyzed the power of modelling to estimate toxicant thresholds. First, the model without including toxicant effects was used to assess the LOECs (methods presented in the part 2.7.1) and showed that 39 % of the monitored population endpoints had a LOEC at 10 or

100 µg/L (only 17 % based on simple statistical comparisons (de Kermoisan et al. 2013)) (see Table S3). Moreover, the minimum LOEC value was estimated at 100 µg/L in de Kermoisan et al. (2013), whereas it was lowered to 10 µg/L using data analysis based on population dynamics modelling. Consequently, our approach improved environmental risk assessment by decreasing the risk of false negative results when analyzing data from artificial streams.

Furthermore, our study offers the opportunity to compare dose-responses at the population level extrapolated by the DEB-IBM to the dose-responses calculated on the observed data with a Hill model (Figure 9 and S7). We found that in most cases, the extrapolated dose-response curves found with the model were consistent with the ones fitted on the observed data. However, the model helped to refine the shape of the dose-responses between the tested concentrations. For example, the dose-response estimated by the model showed a slower decrease of the frequency of mature males. Furthermore, the model showed non-monotonic dose-response relationships, as frequently found for endocrine disruptors (Vandenberg et al. 2013). This was specially the case for the CV of the lengths of females and males born in the mesocosms and the mature males. Such unconventional dose-responses represents a challenge to current risk assessment (Lagarde et al. 2015). Hence, population models could add value to ecological risk assessment, extrapolating dose-responses at population level, which is essential for improving decision-making and protection of ecosystems (Forbes et al. 2008, Galic et al. 2010, Forbes et al. 2011).

5. Conclusions

The predictive capacity of our DEB-IBM in context of risk assessment of chemicals was assessed on stickleback population data from a mesocosm experiment where the artificial streams were exposed to BPA. We showed that including BPA effects on stickleback gonad formation, growth, male reproductive behavior and eggs and larvae survival gave us a relevant predictive model of the effects at the population level. Recalibration of the dose-response curves of the BPA effects on fish on experimental population data showed that the main BPA effects were integrated in the model. Indirect effects were not negligible and participated to the stickleback population structure observed in the 100 µg/L BPA treatment. Therefore, ecological models, such as ours, have a strong potential for improving environmental risk assessment.

Acknowledgment

The authors wish to thank G. De Kermoysan who contributed to the success of the mesocosm experiments and C. Tebby for her suggestions of improvement. We also would like to thank the three anonymous reviewers for their helpful comments and suggestions of improvements. The study was supported by the French Ministry in charge of Ecology and Sustainable Development for this study, within 190 program and the European Regional Development Fund (ERDF).

References

- Allen, J. R. M. and Wootton, R. J. (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. doi: 10.1111/j.1365-2427.1984.tb00158.x.
- Allner, B., Hennies, M., Lerche, C. F., Schmidt, T., Schneider, K., Willner, M. and Stahlschmidt-Allner, P. (2016). Kinetic determination of vitellogenin induction in the epidermis of cyprinid and perciform fishes: Evaluation of sensitive enzyme-linked immunosorbent assays. *Environ Toxicol Chem*, 35, 2916-2930. doi: 10.1002/etc.3475.
- Aluru, N., Leatherland, J. F. and Vijayan, M. M. (2010). Bisphenol A in oocytes leads to growth suppression and altered stress performance in juvenile rainbow trout. *PLoS One*, 5, e10741. doi: 10.1371/journal.pone.0010741.
- Beaudouin, R., Dias, V., Bonzom, J. M. and Pery, A. (2012). Individual-based model of *Chironomus riparius* population dynamics over several generations to explore adaptation following exposure to uranium-spiked sediments. *Ecotoxicology*, 21, 1225-1239. doi: 10.1007/s10646-012-0877-4.
- Beausoleil, C., Emond, C., Cravedi, J.-P., Antignac, J.-P., Applanat, M., Appenzeller, B. R., Beaudouin, R., Belzunces, L. P., Canivenc-Lavier, M.-C., Chevalier, N., Chevrier, C., Elefant, E., Eustache, F., Habert, R., Kolf-Clauw, M., Le Magueresse-Battistoni, B., Mhaouty-Kodja, S., Minier, C., Multigner, L., Schroeder, H., Thonneau, P., Viguié, C., Pouzaud, F., Ormsby, J.-N., Rousselle, C., Verines-Jouin, L., Pasquier, E. and Michel, C. (2018). Regulatory identification of BPA as an endocrine disruptor: Context and methodology. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 475, 4-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.02.001>.
- Bhandari, R. K., vom Saal, F. S. and Tillitt, D. E. (2015). Transgenerational effects from early developmental exposures to bisphenol A or 17 α -ethinylestradiol in medaka, *Oryzias latipes*. *Scientific reports*, 5, 9303. doi: 10.1038/srep09303
- Canesi, L. and Fabbri, E. (2015). Environmental Effects of BPA: Focus on Aquatic Species. *Dose-Response*, 13, 1559325815598304. doi: 10.1177/1559325815598304.
- Caquet, T., Lagadic, L. and Sheffield, S. R. (2000). Mesocosms in ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 165, 1-38.
- Chen, W., Lau, S.-W., Fan, Y., Wu, R. S. S. and Ge, W. (2017). Juvenile exposure to bisphenol A promotes ovarian differentiation but suppresses its growth – Potential involvement of pituitary follicle-stimulating hormone. *Aquatic toxicology*, 193, 111-121. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.008>.
- Conolly, R. B., Ankley, G. T., Cheng, W., Mayo, M. L., Miller, D. H., Perkins, E. J., Villeneuve, D. L. and Watanabe, K. H. (2017). Quantitative Adverse Outcome Pathways and Their Application to Predictive Toxicology. *Environmental Science & Technology*, 51, 4661-4672. doi: 10.1021/acs.est.6b06230.
- David, V., Goussen, B., Tebby, C., Joachim, S., Porcher, J. M. and Beaudouin, R. (2018). Modelling historical mesocosm data: Application of a fish bioenergetics model in semi-natural conditions. *Ecology of Freshwater Fish*, 27, 1101-1113. doi: 10.1111/eff.12418.
- David, V., Joachim, S., Tebby, C., Porcher, J.-M. and Beaudouin, R. (2019). Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model. *Ecological Modelling*, 398, 55-66. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.02.008>.
- de Kermoysan, G., Joachim, S., Baudoin, P., Lonjaret, M., Tebby, C., Lesaulnier, F., Lestremau, F., Chatellier, C., Akrou, Z., Pheron, E., Porcher, J. M., Pery, A. R. and Beaudouin, R. (2013). Effects of bisphenol A on different trophic levels in a lotic experimental ecosystem. *Aquatic toxicology*, 144-145, 186-198. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.09.034.

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

- Drastichová, J., Svobodová, Z., Dobíková, R., Ílábek, V., Weissová, D. and Szotkowská, M. (2005). Effect of Exposure to Bisphenol A and 17 β -estradiol on the Sex Differentiation in Zebrafish (*Danio rerio*).
- Duffy, J. E., Cardinale, B. J., France, K. E., McIntyre, P. B., Thébault, E. and Loreau, M. (2007). The functional role of biodiversity in ecosystems: incorporating trophic complexity. *Ecology Letters*, 10, 522-538. doi: 10.1111/j.1461-0248.2007.01037.x.
- EFSA (2013). Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters. *EFSA Journal*, 11, 3290. doi: 10.2903/j.efsa.2013.3290.
- Fan, X., Wu, L., Hou, T., He, J., Wang, C., Liu, Y. and Wang, Z. (2018). Maternal Bisphenol A exposure impaired endochondral ossification in craniofacial cartilage of rare minnow (*Gobiocypris rarus*) offspring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163, 514-520. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.100>.
- Flint, S., Markle, T., Thompson, S. and Wallace, E. (2012). Bisphenol A exposure, effects, and policy: A wildlife perspective. *Journal of environmental management*, 104, 19-34. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.03.021>.
- Forbes, V. E., Calow, P., Grimm, V., Hayashi, T. I., Jager, T., Katholm, A., Palmqvist, A., Pastorok, R., Salvito, D., Sibly, R., Spromberg, J., Stark, J. and Stillman, R. A. (2011). Adding Value to Ecological Risk Assessment with Population Modeling. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 17, 287-299. doi: 10.1080/10807039.2011.552391.
- Forbes, V. E., Calow, P. and Sibly, R. M. (2008). The extrapolation problem and how population modeling can help. *Environmental toxicology and chemistry*, 27, 1987-1994. doi: Doi 10.1897/08-029.1.
- Forbes, V. E., Salice, C. J., Birnir, B., Bruins, R. J. F., Calow, P., Ducrot, V., Galic, N., Garber, K., Harvey, B. C., Jager, H., Kanarek, A., Pastorok, R., Railsback, S. F., Rebarber, R. and Thorbek, P. (2017). A Framework for Predicting Impacts on Ecosystem Services From (Sub)Organismal Responses to Chemicals. *Environmental toxicology and chemistry*, 36, 845-859. doi: 10.1002/etc.3720.
- Galic, N., Hommen, U., Baveco, J. M. and van den Brink, P. J. (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. doi: 10.1002/ieam.68.
- Goussen, B., Price, O. R., Rendal, C. and Ashauer, R. (2016). Integrated presentation of ecological risk from multiple stressors. *Scientific reports*, 6, 36004. doi: 10.1038/srep36004.
- Grech, A., Tebby, C., Brochot, C., Bois, F. Y., Bado-Nilles, A., Dorne, J.-L., Quignot, N. and Beaudouin, R. (2019). Generic physiologically-based toxicokinetic modelling for fish: Integration of environmental factors and species variability. *Science of the Total Environment*, 651, 516-531. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.163>.
- Grimm, V., Berger, U., DeAngelis, D. L., Polhill, J. G., Giske, J. and Railsback, S. F. (2010). The ODD protocol A review and first update. *Ecological Modelling*, 221, 2760-2768. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2010.08.019.
- Guo, Y., Chen, L., Wu, J., Hua, J., Yang, L., Wang, Q., Zhang, W., Lee, J.-S. and Zhou, B. (2019). Parental co-exposure to bisphenol A and nano-TiO₂ causes thyroid endocrine disruption and developmental neurotoxicity in zebrafish offspring. *Science of the Total Environment*, 650, 557-565. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.007>.
- Hatef, A., Zare, A., Alavi Sayyed Mohammad, H., Habibi Hamid, R. and Linhart, O. (2012). Modulations in androgen and estrogen mediating genes and testicular response in male goldfish exposed to bisphenol A. *Environmental toxicology and chemistry*, 31, 2069-2077. doi: 10.1002/etc.1919.
- Hazlerigg, C. R. E., Tyler, C. R., Lorenzen, K., Wheeler, J. R. and Thorbek, P. (2014). Population relevance of toxicant mediated changes in sex ratio in fish: An assessment using an individual-based zebrafish (*Danio rerio*) model. *Ecological Modelling*, 280, 76-88. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2013.12.016>.
- Hommen, U., Baveco, J. M., Galic, N. and van den Brink, P. J. (2010). Potential application of ecological models in the European environmental risk assessment of chemicals. I. Review of protection goals in EU directives and regulations. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 6, 325-337. doi: 10.1002/ieam.69.
- Im, J. and Löffler, F. E. (2016). Fate of Bisphenol A in Terrestrial and Aquatic Environments. *Environmental Science & Technology*, 50, 8403-8416. doi: 10.1021/acs.est.6b00877.
- Inagaki, T., Smith, N., Lee, E. K. and Ramakrishnan, S. (2016). Low dose exposure to Bisphenol A alters development of gonadotropin-releasing hormone 3 neurons and larval locomotor behavior in Japanese Medaka. *NeuroToxicology*, 52, 188-197. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2015.12.003>.
- Iooss, B., Janon, A. and Pujol, G. (2012). Global Sensitivity Analysis of Model Outputs: R package ‘sensitivity’.

- Ishibashi, H., Tachibana, K., Tsuchimoto, M., Soyano, K., Ishibashi, Y., Nagae, M., Kohra, S., Takao, Y., Tominaga, N. and Arizono, K. (2001). In Vivo Testing System for Determining the Estrogenic Activity of Endocrine-Disrupting Chemicals (EDCs) in Goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Health Science*, 47, 213-218. doi: 10.1248/jhs.47.213.
- Jolly, C., Katsiadaki, I., Morris, S., Le Belle, N., Dufour, S., Mayer, I., Pottinger, T. G. and Scott, A. P. (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. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.02.006>.
- Katsiadaki, I., Scott, A. P. and Mayer, I. (2002). The potential of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a combined biomarker for oestrogens and androgens in European waters. *Marine Environmental Research*, 54, 725-728. doi: [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(02\)00110-1](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(02)00110-1).
- Kooijman, S. A. (2010). *Dynamic Energy Budget for metabolic organization*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Ladewig, V., Jungmann, D., Köhler, H. R., Licht, O., Ludwichowski, K. U., Schirling, M., Triebskorn, R. and Nagel, R. (2006). Effects of bisphenol A on *Gammarus fossarum* and *Lumbriculus variegatus* in artificial indoor streams. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 88, 649-664. doi: 10.1080/02772240600834539.
- Lagarde, F., Beausoleil, C., Belcher, S. M., Belzunces, L. P., Emond, C., Guerbet, M. and Rousselle, C. (2015). Non-monotonic dose-response relationships and endocrine disruptors: a qualitative method of assessment. *Environmental health : a global access science source*, 14, 13-13. doi: 10.1186/1476-069X-14-13.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Kletzl, M. and Weismann, T. (2005). Effect of bisphenol A on maturation and quality of semen and eggs in the brown trout, *Salmo trutta f. fario*. *Aquatic toxicology*, 75, 213-224. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.08.004>.
- Li, X., Guo, J.-Y., Li, X., Zhou, H.-J., Zhang, S.-H., Liu, X.-D., Chen, D.-Y., Fang, Y.-C. and Feng, X.-Z. (2017). Behavioural effect of low-dose BPA on male zebrafish: Tuning of male mating competition and female mating preference during courtship process. *Chemosphere*, 169, 40-52. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.053>.
- Lindholm, C., Wynne, P. M., Marriott, P., Pedersen, S. N. and Bjerregaard, P. (2003). Metabolism of bisphenol A in zebrafish (*Danio rerio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to estrogenic response. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 135, 169-177. doi: [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(03\)00088-7](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(03)00088-7).
- Mandich, A., Bottero, S., Benfenati, E., Cevasco, A., Erratico, C., Maggioni, S., Massari, A., Pedemonte, F. and Viganò, L. (2007). In vivo exposure of carp to graded concentrations of bisphenol A. *General and Comparative Endocrinology*, 153, 15-24. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.01.004>.
- Marcial, H. S., Hagiwara, A. and Snell, T. W. (2003). Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *Environmental toxicology and chemistry*, 22, 3025-3030. doi: 10.1897/02-622.
- Martin, B. T., Jager, T., Nisbet, R. M., Preuss, T. G., Hammers-Wirtz, M. and Grimm, V. (2013). Extrapolating ecotoxicological effects from individuals to populations: a generic approach based on Dynamic Energy Budget theory and individual-based modeling. *Ecotoxicology*, 22, 574-583. doi: 10.1007/s10646-013-1049-x.
- Mihaich, E., Rhodes, J., Wolf, J., van der Hoeven, N., Dietrich, D., Hall, A. T., Caspers, N., Ortego, L., Staples, C., Dimond, S. and Hentges, S. (2012). Adult fathead minnow, *Pimephales promelas*, partial life-cycle reproductive and gonadal histopathology study with bisphenol A. *Environmental toxicology and chemistry*, 31, 2525-2535. doi: 10.1002/etc.1976.
- Molina, A., Abril, N., Morales-Prieto, N., Monterde, J., Ayala, N., Lora, A. and Moyano, R. (2018). Hypothalamic-pituitary-ovarian axis perturbation in the basis of bisphenol A (BPA) reproductive toxicity in female zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 116-124. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.029>.
- Molina, A. M., Lora, A. J., Blanco, A., Monterde, J. G., Ayala, N. and Moyano, R. (2013). Endocrine-active compound evaluation: Qualitative and quantitative histomorphological assessment of zebrafish gonads after bisphenol-A exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 88, 155-162. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.11.010>.
- Mori, S. (1993). The Breeding System of the 3-Spined Stickleback, *Gasterosteus-Aculeatus* (Forma-Leiura) with Reference to Spatial and Temporal Patterns of Nesting Activity. *Behaviour*, 126, 97-124. doi: 10.1163/156853993x00362.
- Negintaji, A., Safahieh, A., Zolgharnein, H. and Matroodi, S. (2018). Short-term induction of vitellogenesis in the immature male yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) exposed to bisphenol A and 17 β -estradiol. *Toxicology and Industrial Health*, 34, 119-127. doi: 10.1177/0748233717748099.
- Nurulnadia, M. Y., Koyama, J., Uno, S., Kito, A., Kokushi, E., Bacolod, E. T., Ito, K. and Chuman, Y. (2014). Accumulation of endocrine disrupting chemicals (EDCs) in the polychaete *Paraprionospio* sp. from the Yodo River mouth, Osaka Bay, Japan. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186, 1453-1463. doi: 10.1007/s10661-013-3466-y.

- O'Connor, N. E., Emmerson, M. C., Crowe, T. P. and Donohue, I. (2013). Distinguishing between direct and indirect effects of predators in complex ecosystems. *Journal of Animal Ecology*, 82, 438-448. doi: 10.1111/1365-2656.12001.
- Plahuta, M., Tišler, T., Pintar, A. and Toman, M. J. (2015). Adverse effects of bisphenol A on water louse (*Asellus aquaticus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 117, 81-88. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.03.031>.
- Rico, A., Van den Brink, P. J., Gylstra, R., Focks, A. and Brock, T. C. (2016). Developing ecological scenarios for the prospective aquatic risk assessment of pesticides. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 12, 510-521. doi: 10.1002/ieam.1718.
- Ritz, C., Baty, F., Streibig, J. C. and Gerhard, D. (2016). Dose-Response Analysis Using R. *PLoS One*, 10, e0146021. doi: 10.1371/journal.pone.0146021.
- Sadoul, B., Augustine, S., Zimmer, E., Bégout, M. L. and Vijayan, M. M. (2019). Prediction of long-term variation in offspring metabolism due to BPA in eggs in rainbow trout using the DEB model. *Journal of Sea Research*, 143, 222-230. doi: <https://doi.org/10.1016/j.seares.2018.05.011>.
- Sadoul, B., Birceanu, O., Aluru, N., Thomas, J. K. and Vijayan, M. M. (2017). Bisphenol A in eggs causes development-specific liver molecular reprogramming in two generations of rainbow trout. *Scientific reports*, 7, 14131. doi: 10.1038/s41598-017-13301-7.
- Saili, K. S., Corvi, M. M., Weber, D. N., Patel, A. U., Das, S. R., Przybyla, J., Anderson, K. A. and Tanguay, R. L. (2012). Neurodevelopmental Low-dose Bisphenol A Exposure Leads to Early Life-stage Hyperactivity and Learning Deficits in Adult Zebrafish. *Toxicology*, 291, 83-92. doi: 10.1016/j.tox.2011.11.001.
- Saltelli, A., Annoni, P., Azzini, I., Campolongo, F., Ratto, M. and Tarantola, S. (2010). Variance based sensitivity analysis of model output. Design and estimator for the total sensitivity index. *Computer Physics Communications*, 181, 259-270. doi: 10.1016/j.cpc.2009.09.018.
- Schirling, M., Jungmann, D., Ladewig, V., Ludwichowski, K.-U., Nagel, R., Köhler, H.-R. and Triebkorn, R. (2006). Bisphenol A in Artificial Indoor Streams: II. Stress Response and Gonad Histology in *Gammarus fossarum* (Amphipoda). *Ecotoxicology*, 15, 143-156. doi: 10.1007/s10646-005-0044-2.
- Shioda, T. and Wakabayashi, M. (2000). Effect of certain chemicals on the reproduction of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 40, 239-243. doi: [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00235-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00235-0).
- Sobol', I. M., Tarantola, S., Gatelli, D., Kucherenko, S. S. and Mauntz, W. (2007). Estimating the approximation error when fixing unessential factors in global sensitivity analysis. *Reliability Engineering & System Safety*, 92, 957-960. doi: 10.1016/j.res.2006.07.001.
- Sohoni, P., Tyler, C. R., Hurd, K., Caunter, J., Hetheridge, M., Williams, T., Woods, C., Evans, M., Toy, R., Gargas, M. and Sumpter, J. P. (2001). Reproductive Effects of Long-Term Exposure to Bisphenol A in the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Science & Technology*, 35, 2917-2925. doi: 10.1021/es000198n.
- Staples, C. A., Tilghman Hall, A., Friederich, U., Caspers, N. and Klecka, G. M. (2011). Early life-stage and multigeneration toxicity study with bisphenol A and fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 1548-1557. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.05.010>.
- Vandenberg, L. N., Colborn, T., Hayes, T. B., Heindel, J. J., Jacobs, D. R., Lee, D.-H., Myers, J. P., Shioda, T., Soto, A. M., vom Saal, F. S., Welshons, W. V. and Zoeller, R. T. (2013). Regulatory decisions on endocrine disrupting chemicals should be based on the principles of endocrinology. *Reproductive Toxicology*, 38, 1-15. doi: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.02.002>.
- Villeneuve, D. L., Garcia-Reyero, N., Escalon, B. L., Jensen, K. M., Cavallin, J. E., Makynen, E. A., Durhan, E. J., Kahl, M. D., Thomas, L. M., Perkins, E. J. and Ankley, G. T. (2012). Ecotoxicogenomics to Support Ecological Risk Assessment: A Case Study with Bisphenol A in Fish. *Environmental Science & Technology*, 46, 51-59. doi: 10.1021/es201150a.
- Wang, J., Wang, X., Xiong, C., Liu, J., Hu, B. and Zheng, L. (2015). Chronic bisphenol A exposure alters behaviors of zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, 206, 275-281. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.07.015>.
- Warner Kara, E. and Jenkins Jeffrey, J. (2009). Effects of 17 α -ethinylestradiol and bisphenol a on vertebral development in the fathead minnow (*Pimephales Promelas*). *Environmental toxicology and chemistry*, 26, 732-737. doi: 10.1897/06-482R.1.
- Watts, M. M., Pascoe, D. and Carroll, K. (2003). Exposure to 17 α -ethinylestradiol and bisphenol A—effects on larval moulting and mouthpart structure of *Chironomus riparius*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54, 207-215. doi: [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00029-5](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00029-5).
- Wootton, R. J. (1984). *A Functional Biology of Sticklebacks*. University of Sheffield, England.

Yokota, H., Tsuruda, Y., Maeda, M., Oshima, Y., Tadokoro, H., Nakazono, A., Honjo, T. and Kobayashi, K. (2009). Effect of bisphenol a on the early life stage in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental toxicology and chemistry*, 19, 1925-1930. doi: 10.1002/etc.5620190730.

II.3. Synthèse sur l'application du DEB-IBM pour comprendre et prédire les effets du BPA

Cette étude a montré que les données de la littérature concernant les effets du BPA sur les poissons pouvaient être utilisées pour extrapoler les effets à l'échelle de la population puisque les prédictions du DEB-IBM étaient cohérentes avec les observations faites en mésocosme. Il existe néanmoins quelques limites dans l'extrapolation qui sont principalement dues à la variabilité inter-espèce pour la sensibilité au BPA. En effet, les études en laboratoire s'intéressant aux effets du BPA sur les épinoches à trois épines sont relativement rares. De plus, le BPA a été l'objet de nombreuses études en laboratoire à l'échelle de l'individu, ce qui nous a permis d'avoir les données nécessaires pour réaliser cette extrapolation. Néanmoins, la possibilité d'avoir accès à autant de données pour une même molécule chimique est assez rare, ce qui représente un frein à l'utilisation du DEB-IBM pour extrapoler les effets de substances chimiques moins étudiées en laboratoire. Lorsque les données sont disponibles, l'application du DEB-IBM pour extrapoler les effets individuels observés à l'échelle populationnel reste cependant prometteuse et pourrait ainsi permettre une amélioration de l'évaluation et de la gestion des risques environnementaux des substances chimiques.

L'utilisation du modèle a permis une meilleure compréhension des mécanismes de toxicité du BPA sur la dynamique de population en mésocosme. En particulier, la plus faible LOEC estimée pour les variables descriptives des populations a été abaissée à 10 µg/L avec le DEB-IBM contre 100 µg/L avec l'analyse classique utilisée en écotoxicologie (test de Dunnett). De plus, nous avons identifié les principaux modes d'action du BPA sur les épinoches en mésocosme et nous avons évalué la contribution des effets directs sur les traits d'histoire de vie des épinoches et indirects sur leurs proies pour chacune des variables descriptives des populations d'épinoches. D'autre part, nous avons également proposé une démarche pour extrapoler des courbes dose-réponses à l'échelle de la population dans le but d'estimer des valeurs seuils de toxicité (telles que les concentrations entraînant x % d'effet, EC_x).

En conclusion, notre DEB-IBM semble être une solution avantageuse pour améliorer l'analyse et la compréhension des modes d'action des toxiques sur les épinoches à trois épines en mésocosme mais également pour prédire les effets des substances chimiques sur la

Chapitre III – Application du modèle individu-centré en écotoxicologie

dynamique de population à partir des connaissances en laboratoire. Cette étude représente donc une première étape justifiant l'acceptation des modèles en analyse du risque environnemental.

Chapitre IV.

Discussion générale et perspectives

La prise de décision liée aux questions environnementales est cruciale et pourtant difficile à réaliser étant donné que les conséquences des choix faits ne sont pas immédiates mais arrivent sur le long terme. De ce fait, tout l'enjeu est de prévoir ces conséquences afin de permettre une meilleure gestion de l'environnement, la protection de la biodiversité et des fonctions écologiques des écosystèmes. Dans ce contexte, les mésocosmes sont des outils particulièrement intéressants puisqu'ils visent à évaluer les effets à long terme des substances chimiques sur les écosystèmes chroniquement exposés (Thybaud et al. 1999, Caquet 2002). De plus, la modélisation s'est également imposée comme une solution prometteuse pour évaluer les impacts d'un ou plusieurs stress anthropiques sur les écosystèmes et les rendre compréhensibles à l'ensemble de la communauté scientifique et des décideurs (Forbes et al. 2009, Goussen et al. 2016). Ainsi, lors de cette thèse, nous avons cherché à combiner les approches expérimentales en mésocosme et celles de modélisation pour améliorer l'évaluation des effets des substances chimiques sur les écosystèmes aquatiques.

Dans ce but, nous avons développé et utilisé un modèle individu-centré couplé à un modèle bioénergétique qui représente de manière simplifiée les principaux processus de la dynamique de population des épinoches ayant lieu dans les rivières artificielles de l'Ineris. Ce modèle a deux objectifs principaux : améliorer la compréhension et l'analyse des effets des différentes substances chimiques testées en mésocosme et prédire les impacts des substances chimiques (testées ou non en mésocosme) sur le long terme sur la dynamique de population de poissons. Pour atteindre ces objectifs, nous avons découpé le développement du DEB-IBM en 3 phases principales : (i) développer le modèle pour prédire les trajectoires normales de la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en mésocosme et évaluer ses performances, (ii) l'appliquer à différents cas d'étude pour améliorer l'analyse des données en mésocosme et (iii) tester les capacités prédictives de ce modèle à l'aide de ces mêmes cas d'étude.

Ainsi, dans la première partie de cette thèse, nous avons développé, calibré et évalué notre modèle simulant toutes les populations possibles d'épinoches à trois épines en mésocosme en condition contrôle. Ce modèle reproduit notamment la variabilité inhérente aux populations provenant des phénotypes individuels, de la variabilité des conditions biotiques et abiotiques de l'environnement et de la stochasticité de certains processus comme la mortalité.

Lors de la seconde partie de cette thèse, nous avons appliqué notre modèle dans le cadre d'une évaluation des effets de plusieurs contaminants testés en mésocosme (un mélange de substances pharmaceutiques et le BPA). Les différentes études de cas présentées dans cette thèse nous ont permis de mettre en évidence l'apport de la modélisation pour analyser les données écotoxicologiques issues des expériences en mésocosme (amélioration de la

puissance statistique) et comprendre les mécanismes de toxicité impactant la dynamique de population des épinoches à trois épines. Enfin, nous avons évalué la pertinence et les limites de notre DEB-IBM à prédire les effets des substances chimiques sur la dynamique de population des épinoches en mésocosme. En effet, pouvoir extrapoler des données de toxicité à l'échelle de l'individu à des niveaux d'organisation biologique supérieures est d'un intérêt majeur pour les évaluations de risque des substances chimiques.

Dans ce chapitre, nous discuterons tout d'abord de notre système d'étude afin notamment d'évoquer les principales limites expérimentales que nous avons pu rencontrer. Par la suite, nous reviendrons sur les deux phases principales de développement de notre modèle et nous discuterons de ses principales contributions mais également de ses limites et des points d'amélioration possibles. De plus, nous évoquerons les perspectives de ce travail en évaluation des effets des substances chimiques sur les écosystèmes aquatiques

I. Les mésocosmes, des systèmes expérimentaux utiles en écotoxicologie mais présentant des limites

Les mésocosmes de l'Ineris reconstituent des petits cours d'eau peu profonds au débit modéré. Les principaux éléments de l'environnement propices au développement des épinoches à trois épines et à leur dynamique de population sont intégrés dans ces mésocosmes. De plus, les épinoches à trois épines se situent au plus haut échelon de la chaîne trophique de ces systèmes aquatiques. Ainsi, l'étude des effets des substances chimiques sur leur dynamique de population permet d'intégrer à la fois les effets directs sur cette espèce et également les perturbations des conditions biotiques et abiotiques. Ces mésocosmes permettent donc de réaliser des tests écotoxicologiques sur les épinoches avec un réalisme écologique élevé (Caquet et al. 1996, Caquet 2002). Le choix de cette espèce de poisson est aussi intéressant puisque de nombreuses données sur ses traits d'histoire de vie, sa biologie et son comportement sont disponibles (Wootton 1976, Wootton 1984, Bell et Foster 1994). De plus, c'est une espèce endémique de la région des Hauts-de-France dans laquelle sont situées les rivières artificielles, et qui répond aux critères énoncés par l'OCDE (2006) pour les études en mésocosme.

Néanmoins, l'utilisation de l'épinoche à trois épines comme modèle biologique présente quelques désavantages. Tout d'abord, l'introduction des épinoches à trois épines se faisant en mars, c'est-à-dire hors période de reproduction, le dimorphisme sexuel (notamment la

coloration des mâles) n'est pas encore apparent. Ainsi, une première difficulté réside dans le fait que pour s'assurer d'introduire le même sexe-ratio (15 femelles et 10 mâles) dans chaque mésocosme, il est nécessaire de mettre en place une méthode robuste pour déterminer le sexe de chaque fondateur. Pour cela, de Kermoysan et al. (2013) ont développé la méthode non-invasive basée sur la morphologie de la tête des épinoches à trois épines actuellement utilisée pour distinguer les femelles des mâles. Néanmoins, cette méthode peut introduire quelques biais dans l'expérimentation puisque des erreurs de détermination du sexe des individus ont été mises en évidence (environ 5 % pour 2011). De plus, la morphologie des épinoches à trois épines pouvant évoluer très rapidement (Wootton 1984), nous avons observé que l'utilisation du modèle ces dernières années donnait un taux d'erreur de détermination du sexe plus élevé que celui attendu. Une recalibration du modèle avant chaque expérimentation a donc été nécessaire pour minimiser ces erreurs. Néanmoins, cela nécessite de sacrifier un certain nombre d'individus pour connaître par dissection leur sexe tous les ans, ce qui ne va pas dans le sens de la règle des 3R en expérimentation animale qui vise à réduire le nombre d'animaux testés.

Pour pallier ce problème, d'autres méthodes de sexage existent dans la littérature comme les méthodes de sexage moléculaire qui donnent des résultats rapides et fiables pour les épinoches à trois épines (Griffiths et al. 2000, Peichel et al. 2004, Toli et al. 2016, Bakker et al. 2017). Ainsi, la mise en place de telles méthodes à l'Ineris (actuellement en cours) pourrait faciliter la préparation des expériences en mésocosme et limiter les erreurs de sexage des fondateurs.

En revanche, les résultats de l'expérience de 2018 montrent qu'un changement de sexe-ratio avec un nombre de femelles plus important ne semble pas entraîner de fortes modifications de la dynamique de population. Le choix du sexe-ratio biaisé en faveur des femelles pour les expériences en mésocosme (15 femelles et 10 mâles) a été fait pour maximiser le nombre de mâles reproducteurs seulement la moitié des mâles avaient construit des nids, contre près de 100% dans des expériences avec un sexe-ratio biaisé en faveur des femelles. De plus, dans les expériences avec sexe-ratio biaisé en faveur des femelles, les mâles construisaient leur nid plus tôt et avaient un comportement plus agressif alors que les mâles dans les expériences avec un sexe-ratio biaisé en faveur des mâles étaient plus susceptibles d'abandonner ou de détruire leur nid. Ainsi, comme suggéré par Clutton-Brock et Vincent (1991), les mâles ayant un plus fort investissement dans la reproduction que les femelles, nous pouvons supposer que le sexe-ratio considéré opérationnel, qui correspond au sexe-ratio parmi les individus sexuellement matures, est biaisé en faveur des mâles chez les

épinoches à trois épines. Par conséquent, des erreurs de détermination du sexe des fondateurs induisant un plus grand nombre de mâles par rapport aux femelles pourraient avoir des conséquences non négligeables sur la dynamique de population des épinoches à trois épines. Ainsi, il aurait été intéressant de tester les impacts d'un sexe-ratio biaisé en faveur des mâles lors de l'expérience en mésocosme de 2018.

L'épinoche à trois épines a de plus cette caractéristique qui est de pouvoir s'adapter rapidement à un environnement (Taylor et al. 2006). En effet, celle-ci pourrait expliquer la décroissante observée des tailles moyennes des individus nés dans les mésocosmes en fonction des années d'expérience (voir partie II.2., article 2). Une telle décroissance a déjà été observée avec des populations naturelles introduites dans un nouvel environnement par Mori et Takamura (2004) et pourrait être liée à une divergence génétique ou à une plasticité phénotypique (Baker et al. 2015, Brock et al. 2017, Weber et al. 2017). De plus, Lavin et McPhail (1986) suggèrent que la divergence des populations d'épinoches pourrait être liée à une adaptation aux types de proies présentes dans le milieu. Cette adaptation pose néanmoins problème en écotoxicologie puisque l'obtention d'individus de plus en plus petits rend difficile l'analyse des biomarqueurs. En effet, celle-ci nécessite une masse minimale de tissus biologiques pour pouvoir étudier une large batterie de biomarqueurs. Cela a notamment limité l'analyse des biomarqueurs pour les épinoches de l'expérience de 2017 où un mélange de substances pharmaceutiques a été testé.

Ainsi, pour pallier ce problème, une solution est de rester homogène par rapport à la population dans laquelle les épinoches à trois épines des mésocosmes ont été initialement prélevées. Cette population initiale est présente dans une rivière proche de l'Ineris (Houdancourt, France). Pour cela, introduire régulièrement des épinoches prélevées dans cette rivière permet d'introduire un flux continu de gènes (Möbrand et al. 2005). Néanmoins, des incertitudes existent quant au succès de la reproduction entre ces deux écotypes différents (épinoches sauvages et de captivité). En effet, il n'existe pas de consensus dans la littérature puisque certaines études ont montré que la reproduction entre des épinoches de deux écotypes différents pouvait se dérouler facilement (Brown et al. 2008) alors que d'autres ont mis en évidence qu'il existait de multiples obstacles à leur reproduction pouvant conduire à l'isolement des écotypes (Raeymaekers et al. 2010, Räsänen et Hendry 2014). Ainsi, une attention particulière devra être portée quant au succès de reproduction entre les épinoches de captivité de l'Ineris et celles provenant de la rivière d'origine (Houdancourt, France).

Pour progresser dans la compréhension globale des écosystèmes expérimentaux, les perspectives d'amélioration concernent principalement les observations faites durant l'expérience puisque l'expérimentateur n'intervient pas dans la gestion du mésocosme. Concernant l'analyse de la dynamique de population de l'épinoche à trois épines, un suivi de la dynamique des nids plus rigoureux a par exemple commencé à être mis en place lors des dernières expériences réalisées. Ce suivi des nids reste néanmoins limité par la végétation, la turbidité de l'eau et par les conditions climatiques. En particulier, dans la partie amont des mésocosmes où la couverture végétale des macrophytes est très importante, il est en pratique très difficile d'observer les nids. Néanmoins, un suivi des nids plus rigoureux peut nous apporter des connaissances cruciales sur la reproduction, et notamment sur les dates de mise en place des premiers et derniers nids.

Le suivi visuel des populations peut aussi permettre d'avoir une idée de l'apparition des cohortes, de la mortalité et de la croissance des individus (de Kermoisan 2013). Néanmoins, il est très difficile de quantifier le nombre d'individus dans les mésocosmes par simple observation visuelle. De plus, le dénombrement du nombre d'individus morts est limité par la biodégradation rapide de ceux-ci. Parmi les techniques de suivi des populations utilisées en milieu naturel, le suivi par vidéo rotative s'est montré efficace (Pelletier et al. 2016). En revanche, bien que l'utilisation de ces vidéos pourrait nous apporter des informations qualitatives intéressantes sur les rivières artificielles en général et sur le comportement des individus, il semble difficile d'avoir des données quantitatives fiables sur le nombre d'individus. En effet, une des principales limites est l'impossibilité de distinguer individuellement les poissons et de visualiser l'ensemble du mésocosme.

D'autre part, la technique de capture-marquage-recapture (CMR), souvent utilisée en milieu naturelle, a été appliquée aux mésocosmes de l'Ineris pour évaluer l'abondance des populations mais l'incertitude des résultats est élevée (de Kermoisan 2013). En outre, une limite de cette technique est que la manipulation des poissons des mésocosmes peut entraîner une variabilité supplémentaire du fait du stress causé par l'expérimentateur. La technique de pêche reste également à optimiser afin que l'échantillon de poisson prélevé soit représentatif de la population des mésocosmes. Ainsi, l'amélioration du protocole de CMR permettant d'augmenter la certitude des résultats peut nous apporter des éléments essentiels de compréhension de la dynamique de population.

Enfin, l'effort d'uniformisation du protocole des expériences en mésocosme mis en place durant la thèse de de Kermoisan (2013) a permis de minimiser autant que possible la variabilité en début des expériences en rivière artificielle. Néanmoins, celle-ci reste élevée en

fin d'expérience en mésocosme. En effet, cette variabilité peut être supérieure à 40 % pour certaines variables descriptives (celles concernant les fondateurs notamment) (Figure 43) (Beaudouin 2019).

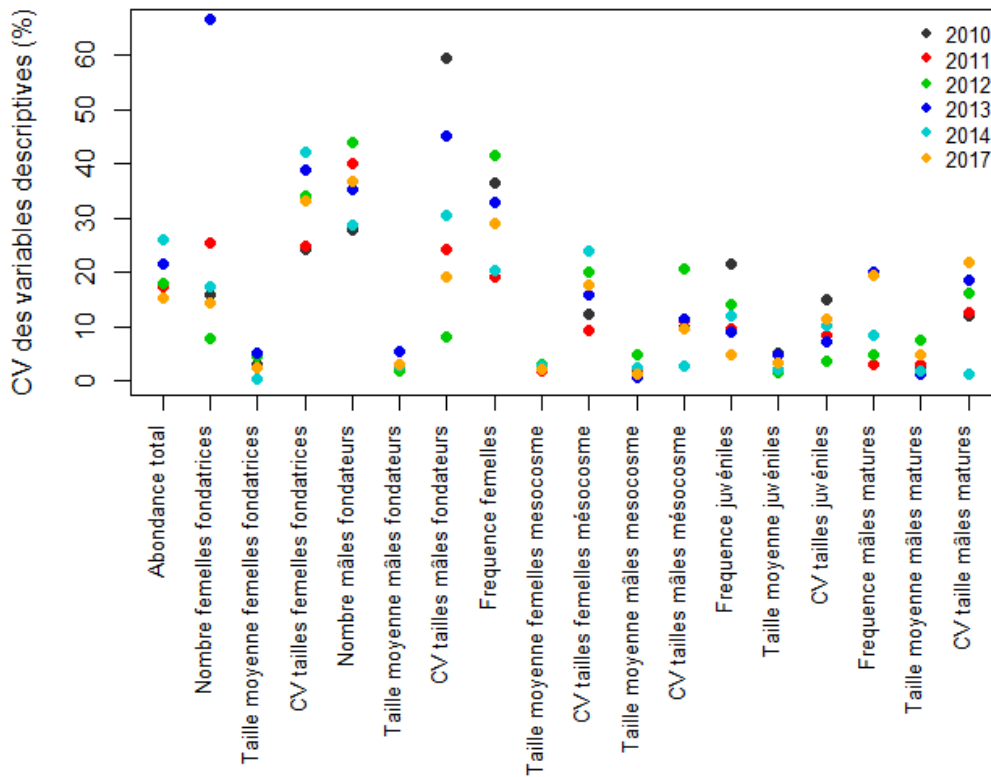


Figure 43. Coefficients de variation (%) des variables descriptives des populations d'épinoches à trois épines dans les mésocosmes de l'Ineris pour les expériences de 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 et 2017. Les expériences sont distinguées par la couleur des points. CV signifie coefficient de variation.

Par conséquent, les effets significatifs mis en évidence statistiquement ne concernaient que des impacts relativement importants (MDD (*Minimal Dectable Différence*) élevé, voir l'état de l'art, partie I.3.) sur la dynamique de population. Par exemple, seuls les impacts du bisphénol A sur la maturité des gonades (de Kermoisan et al. 2013) ou ceux du mélange pharmaceutique sur la survie des femelles fondatrices (article 3) ont été mis en évidence. Le développement d'un modèle individu-centré permettant une meilleure analyse des résultats de ces expériences (Beaudouin et al. 2012) semble donc nécessaire à une exploitation complète des données produites.

II. Vers un outil de modélisation pertinent combinée à une approche par mésocosmes

Le DEB-IBM que nous avons développé durant cette thèse représente la dynamique de population de l'épinoche à trois épines dans un mésocosme de l'Ineris. Il vise à répondre à un objectif précis de modélisation, c'est-à-dire celui de comprendre et de prédire les effets des substances chimiques sur la dynamique de population des épinoches à trois épines en mésocosme. Pour cela, il prend en compte les principales caractéristiques de l'environnement (nourriture, photopériode et température de l'eau) permettant de décrire cette dynamique de population. La démarche que nous avons adoptée dans cette thèse est de d'abord développer le DEB-IBM en condition contrôle afin de connaître précisément les lois de distribution des variables descriptives de la population d'épinoches à trois épines en l'absence d'un stress toxique.

Pour développer un tel modèle, nous avons eu besoin d'une très bonne connaissance de notre système d'étude. En effet, alors que l'écophysiologie de l'épinoche à trois épines peut être étudiable en laboratoire et prédit par un modèle DEB au niveau de l'individu (Leloutre et al. 2018), comprendre le déterminisme des comportements individuels (éthologie des épinoches) et appréhender les phénomènes impliqués dans la dynamique de population se déroulant en mésocosme (par exemple, les effets de la densité sur les processus physiologiques) est plus difficile à réaliser. De plus, comme il est impossible d'intégrer tous les éléments possibles présents dans les rivières expérimentales, nous avons dû choisir quels étaient les processus clés à inclure et ceux à ignorer (Evans 2012). En se basant sur le principe de parcimonie, nous avons notamment fait le choix de négliger la profondeur et la végétation dans le modèle bien que ceux-ci puissent avoir une importance sur la distribution des épinoches dans les mésocosmes. En effet, plusieurs études ont mis en évidence le rôle de protection et d'habitat de la végétation pour les épinoches à trois épines, notamment pour les juvéniles inférieur à 15 mm (Foster et al. 1988, Ajemian et al. 2014). Par opposition, les adultes recherchaient préférentiellement leur proies dans des espaces avec peu de végétation (Foster et al. 1988).

Dans l'ensemble, construire notre modèle individu-centré a été couteux en temps. Néanmoins, la phase la plus longue a été la calibration de celui-ci. En effet, pour que celle-ci soit optimale, nous avons testé successivement plusieurs façons de modéliser certains processus ou sous-modèles en les complexifiant ou au contraire en les simplifiant tout en

cherchant à respecter le principe de parcimonie. Ainsi, cette démarche se rapproche du concept de POM (Grimm et Railsback 2005, Topping et al. 2010). De plus, les méthodes de calibration des IBMs restant actuellement encore peu développées, diviser la calibration de ceux-ci par partie (calibration des différents sous-modèles) reste une des meilleures alternatives (Grimm et Berger 2016). En effet, l'utilisation du sous-modèle standardisé au niveau de l'individu (modèle DEB) et calibré indépendamment de l'IBM a permis de faciliter le développement de ce dernier (Jusup et al. 2017, Beaudouin 2019).

Par ailleurs, pour faciliter la calibration des IBMs, la réduction du nombre de paramètres à calibrer a été une étape cruciale impliquant une bonne compréhension de notre modèle. Ainsi, nous avons réalisé différents types d'analyses de sensibilité nous permettant de hiérarchiser les paramètres en fonction de leur influence sur les sorties (Morris 1991, Sobol' 2001, Ginot et al. 2006, Sobol' et al. 2007, Beaudouin et al. 2008). Ces analyses de sensibilité ont mis en évidence l'importance des paramètres modélisant les processus en lien avec l'alimentation des poissons (taille des proies, distance de prédation) et la densité-dépendance (compétition alimentaire et mortalité densité-dépendante) (partie II.2., article 2).

D'autre part, l'utilisation de la plateforme NetLogo, permettant de tester et analyser les IBMs, nous a également facilité la démarche de construction de notre modèle. Un autre avantage à l'utilisation de Netlogo est l'existence du module BehaviorSearch qui nous a permis de calibrer notre DEB-IBM à l'aide d'un algorithme génétique. Au cours de cette thèse, nous avons néanmoins essayé d'appliquer des méthodes de calibration alternatives comme les méthodes ABC (*Approximate Bayesian Computation*), décrites en état de l'art (partie III.3.2.), à l'aide du package « *EasyABC* » disponible sous R (Jabot et al. 2015). Néanmoins, nous nous sommes heurtés à des problèmes computationnels que nous n'avons pas su résoudre. Cependant, il serait intéressant de continuer à explorer l'utilisation des méthodes ABC pour les IBMs puisque celles-ci ont été suggérées comme pouvant être des outils précieux au développement des IBMs (Jabot et Chave 2011, Jabot et al. 2013, Lagarrigues et al. 2015, van der Vaart et al. 2015). D'une manière générale, la calibration des modèles de population tels que notre DEB-IBM reste un des éléments clés à améliorer pour permettre le développement rapide de modèles utilisables en analyse du risque environnemental.

Afin d'avoir un modèle pertinent pour une utilisation en évaluation du risque environnemental des substances chimiques, il est nécessaire de tester le modèle sur plusieurs cas d'étude et d'éventuellement réviser les processus modélisés pour une meilleure prise en compte des phénomènes écologiques. Il est par exemple important de noter que nous avons

effectué la calibration de notre DEB-IBM sur les données de mésocosmes représentant la structure des populations à un instant précis, c'est-à-dire à la fin des expériences en mésocosme. A cette période, ce sont principalement les paramètres de croissance qui prédominent puisque la période de reproduction est terminée. Or, comme vu en partie II.2., l'influence des paramètres dépend du temps auquel les variables sont calculées. Ainsi, d'autres paramètres pourraient être à calibrer. L'analyse de sensibilité locale réalisée pour le DEB-IBM reproduisant l'expérience en mésocosme de 2018 (expérience terminée un mois plus tôt) a mis en évidence l'importance des paramètres liés à la reproduction. Cette dernière expérience en mésocosme nous a de plus apporté des données cruciales sur les processus de régulation et de compensation des populations d'épinoches. Ainsi, les données de cette expérience pourraient servir à recalibrer le modèle et améliorer la prise en compte des processus densité-dépendants sur les œufs et larves ainsi qu'optimiser les valeurs des paramètres liés à la reproduction.

De plus, les incertitudes sur certains processus pris en compte dans le modèle restent importantes comme par exemple pour les processus liés à l'alimentation et la survie. En effet, nous avons supposés que les épinoches nées dans les mésocosmes peuvent avoir un accès limité à la nourriture. Néanmoins, la plausibilité des hypothèses faites sur l'accès à la nourriture (distance de prédation, taille des proies) dans l'IBM est très difficile à vérifier alors que les paramètres en lien avec la nourriture de l'IBM ont une influence très forte sur les sorties du modèle, comme montré par les analyses de sensibilité réalisées (voir partie II.2., article 2). En particulier, les individus n'étant pas nourris dans les mésocosmes, il n'est *a priori* pas possible de connaître précisément leur niveau de satiété, ce qui est une variable d'entrée de la théorie DEB. L'échantillonnage des zooplanctons et macroinvertébrés nous permet d'avoir une idée des proies présentes dans les mésocosmes et de quantifier leur abondance (voir partie II.1., article 1). Néanmoins, plusieurs incertitudes existent quant à l'utilisation de ces données comme données énergétiques d'entrée du modèle DEB. En effet, les incertitudes liées à l'échantillonnage restent relativement élevées bien que les données soient moyennées sur les répliqués de mésocosmes (voir annexe 1). De même, il existe des incertitudes liées aux choix des proies considérées et à la conversion des données d'abondance en données énergétiques. Par propagation des erreurs, cela entraîne donc des incertitudes sur le calcul de la réponse fonctionnelle et donc sur les prédictions du modèle DEB. De plus, à ces incertitudes s'ajoute également la variabilité naturelle qu'il n'est pas possible de distinguer de ces dernières. Néanmoins, l'analyse des prédictions du modèle DEB a montré que celui-ci prédisait correctement les principaux processus énergétiques des

épinoches à trois épines (croissance, reproduction et maintenance) (David et al. 2018, Leloutre et al. 2018).

Par ailleurs, la survie n'étant pas prédite par le modèle DEB standard, celle-ci a dû être rajoutée dans un sous-modèle de l'IBM. En effet, bien que le modèle DEB puisse être adapté pour relier l'âge de l'individu et son taux de survie (Kooijman 2010), la méthode de Soubeyrand et al. (2007) s'est montrée efficace pour décrire la probabilité de survie journalière en fonction de la masse des individus. Néanmoins, la calibration de la probabilité de survie journalière a été principalement réalisée à partir des données de fondateurs. En effet, l'application de la méthode de Soubeyrand et al. (2007) nécessite de connaître précisément le nombre d'individu initial et final après un temps défini (ici, la durée de l'expérience en mésocosme). Or, ces connaissances ne sont pas possibles pour les poissons nés dans les mésocosmes. Ainsi, des incertitudes quant à la survie basale des juvéniles subsistent et il serait intéressant d'acquérir des données spécifiques pour évaluer les prédictions de leur probabilité de survie journalière.

Les juvéniles sont également plus impactés par les processus de mortalité densité-dépendante que les adultes (Rose et al. 2001, Hazlerigg et al. 2012). Plusieurs études supposent d'ailleurs que l'abondance de la population serait régulée aux premiers stades de développement, c'est-à-dire au stade larvaire ou jeune juvénile (van der Veer 1986, Myers et Cadigan 1993, Hazlerigg et al. 2012). Ces hypothèses vont dans le sens de nos observations faites en mésocosme. En effet, au vu des observations faites sur la dérive des alevins durant l'expérience de 2018 où un nombre plus faible de fondateurs a été introduit dans les mésocosmes, nous avons observé des différences significatives sur l'abondance des alevins vivants et morts entre les populations témoins et les populations ayant un nombre de fondateurs plus faible. En revanche, bien que la mortalité densité-dépendante pour les juvéniles soit prise en compte dans le DEB-IBM, celle sur les larves n'est pas modélisée. Il semble donc important d'améliorer le modèle pour prendre en compte cet élément.

Un autre point d'amélioration du modèle est lié au fait que la comparaison des données d'abondance des populations des différentes expériences en mésocosme (Roussel et al. 2007, de Kermoisan et al. 2013, Joachim 2013, Joachim 2014) a mis en évidence que quel que soit le nombre de fondateurs introduits en mésocosme (10, 25 ou 70), le nombre d'individus retrouvés en fin d'expérience reste relativement stable (entre 800 et 1200 individus environ). Ainsi, pour améliorer les prédictions du modèle, nous avons vu avec l'application du DEB-IBM à l'expérience de 2018, que modifier l'équation donnant la mortalité densité-dépendante afin d'améliorer les prédictions de l'abondance totale pourrait être une solution intéressante.

De plus, les résultats de cette expérience suggèrent qu'introduire une dizaine d'épinoches à trois épines dans les mésocosmes suffit à atteindre la capacité de charge du milieu.

Concernant les fondateurs, nous avons supposé qu'ils n'étaient pas impactés par les phénomènes de compétition alimentaire dans les mésocosmes. En effet, ceux-ci dominent les autres poissons dû à leur importante taille. De plus, les fondateurs étant introduits à l'âge adulte, ils ont un faible taux de croissance durant l'expérience en mésocosme expliquant qu'ils soient également peu sujets aux effets de compétition alimentaire. Cette hypothèse semble validée par les résultats de l'expérience de 2018 où il n'y a pas de différence de tailles moyennes des fondateurs entre les populations contrôles et les populations où un nombre plus faible de fondateurs a été introduit.

Enfin, le modèle n'est pas capable de prendre en compte la variabilité inter-année de la taille moyenne des épinoches nées dans les mésocosmes. L'intégration d'un paramètre recalibré sur les populations contrôles de chaque expérience en mésocosmes permet de corriger les effets densité-dépendants impactant la croissance des individus nés dans les mésocosmes. Avec ce paramètre, les phénomènes de compétition alimentaire semblent correctement modélisés. En effet, les données provenant des expériences de 2013 et 2014 testant le diclofénac et la carbamazépine vont notamment dans le sens de cette hypothèse, puisque la taille moyenne des épinoches nées dans les mésocosmes est plus grande lorsque la densité d'individu est plus faible (résultats correspondant aux deux répliqués de chaque expérience où une dynamique de population anormale s'est mise en place).

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer la variabilité inter-année de la taille moyenne des individus nés dans les mésocosmes. Comme expliqué précédemment, l'adaptation des populations à son environnement peut avoir induit une décroissance de la taille des épinoches au cours du temps. Néanmoins, on peut également supposer que la variabilité inter-année dans le développement du couvert végétal dans les mésocosmes puissent également induire des variations dans l'abondance des proies et des épinoches. Pour améliorer la compréhension des causes induisant cette variabilité inter-année, l'introduction d'épinoches provenant de la population initiale (Houdancourt, France) devrait nous permettre de conclure sur le caractère adaptif de la taille des épinoches. En revanche, en l'absence d'une meilleure compréhension de ce phénomène, la recalibration par expérience sur les populations contrôles du paramètre lié aux effets de croissance densité-dépendante reste pour l'instant la solution la plus pratique.

III. Pertinence de notre modèle pour l'évaluation des effets des substances chimiques

Pour l'évaluation des effets des substances chimiques, l'échelle d'organisation biologique que l'on souhaite protéger se situe au niveau de la population, des communautés et de l'écosystème. En revanche, étant donné que les analyses actuelles du risque environnemental sont principalement réalisées au niveau moléculaire ou individuel, il est nécessaire de développer des méthodes robustes pour permettre d'améliorer les évaluations des effets des substances chimiques (Forbes et al. 2008, Forbes et al. 2017). Au cours de cette thèse, nous avons appliqué le modèle développé en condition témoin pour simuler les dynamiques de populations des épinoches à trois épines exposées à des substances chimiques en mésocosme. Par conséquent, nous discuterons de la pertinence de notre modèle pour améliorer les évaluations des effets des substances chimiques à l'échelle de la population.

Tout d'abord, nous avons mis en évidence le gain statistique à l'utilisation de notre DEB-IBM pour analyser les données des expériences en mésocosme par l'exemple théorique présenté en article 2 où nous avons simulé les effets d'un toxique hypothétique (David et al. 2019). Dans ce but, nous avons comparé la méthode statistique utilisée habituellement en écotoxicologie (test post'hoc de Dunnett) à une méthode basée sur la modélisation (test de Kolmogorov–Smirnov). Nous avons mis en évidence que la méthodologie classique nous aurait conduit à avoir 26 % de faux négatifs tandis que l'utilisation du modèle nous permettait de réduire ce taux à 4,8 % des cas (diminution de la valeur de la LOEC). Par conséquent, ce cas d'application théorique confirme les résultats de Beaudouin et al. (2012) qui montraient que l'utilisation d'un IBM améliorerait la puissance statistique des expériences en mésocosme. Cela représente ainsi une illustration de l'intérêt de notre DEB-IBM pour améliorer l'analyse des effets des substances chimiques sur la dynamique de population des épinoches à trois épines en mésocosme. De plus, les LOECs font actuellement partie des valeurs seuils couramment utilisées en écotoxicologie. Augmenter la certitude de ces valeurs est donc d'une importance fondamentale pour améliorer les évaluations du risque environnemental actuelles.

Pour obtenir d'autres valeurs seuils utilisables en évaluation du risque des substances chimiques telles que les concentrations entraînant x % d'effet (ECx) par modélisation, il convient de simuler les dynamiques de populations impactées par des substances chimiques. Celles-ci pouvant avoir des trajectoires très différentes de celles des populations témoins, nous avons tout d'abord évalué la pertinence de notre modèle pour prédire des dynamiques de population très fortement perturbées. En effet, l'application de notre DEB-IBM aux jeux de

données issus des expériences testant le diclofénac et la carbamazépine nous a permis de valider l'utilisation de notre modèle sur deux cas extrêmes de toxicité (forte mortalité des fondateurs) (partie II.2.1). En revanche, lorsque les conditions initiales étaient changées comme dans l'expérience de 2018 (changement du nombre de fondateurs et temps de l'expérience), le modèle n'était pas dans la capacité de prédire correctement les résultats d'expérience (partie II.2.2). Nous avons donc utilisé le modèle sur des expériences en mésocosme ayant le même protocole expérimental que celui des expériences sur lesquelles le modèle a été calibré. Néanmoins, il faut noter qu'il est toujours possible qu'il y ait des cas de toxicité que le modèle ne puisse pas reproduire, même si le protocole expérimental est respecté.

Nous avons donc appliqué notre DEB-IBM aux expériences en mésocosme testant un mélange pharmaceutique ou le BPA (de Kermoyan et al. 2013) (articles 3 et 4). A partir des prédictions du DEB-IBM, nous avons cherché à établir des seuils de toxicité, comme les ECx (article 4). Néanmoins, cela nécessite d'extrapoler toute la courbe dose-réponse de chaque variable descriptive des populations d'épinoches à trois épines en mésocosme, ce qui est difficilement réalisable. Avec l'exemple du BPA, nous avons facilement réalisé cette extrapolation entre les concentrations testées en mésocosme (article 4), néanmoins l'extrapolation à des concentrations plus élevées que celle maximale testée en mésocosme entraîne des incertitudes plus importantes. 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). Avec l'exemple d'application du DEB-IBM à l'expérience en mésocosme testant le mélange pharmaceutique (projet DIADeM), nous avons fait le choix de négliger les impacts sur les proies des épinoches (article 3). Néanmoins, cela pourrait conduire à une forte sous-estimation du risque environnemental des substances chimiques.

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 LOECs recensées dans la littérature. Mais une deuxième 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 et 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.

Une autre solution pour remédier à ce problème d'extrapolation des courbes dose-réponses est d'utiliser le critère BMD-zSD (Larras et al. 2018). Le critère BMD-zSD met en évidence la concentration entraînant un changement « critique » par rapport au contrôle en prenant en compte la variabilité des données autour de la courbe modélisée. La BMD-zSD est définie par l'équation suivante (Eq. 6) :

$$BMD-zSD = y_0 \pm z x SD \quad (\text{Eq. 7})$$

Où y_0 est la réponse moyenne du contrôle, SD est l'écart type standard de la courbe dose-réponse considérée et z est le facteur de SD . Larras et al. (2018) proposèrent de fixer $z = 2$ (contre $z = 1$ proposé par l'EFSA (2017)) pour définir ce changement « critique » par rapport au contrôle. L'application de ce critère aux dose-réponses extrapolées par le modèle pourrait donc constituer une alternative intéressante.

Cependant, bien que le calcul de valeurs seuils à partir des résultats de modélisation soit à améliorer, le modèle nous a permis de mettre en évidence les effets et comprendre les modes d'action des toxiques. En effet, comprendre les modes d'action toxique est un enjeu majeur en écotoxicologie mais est en pratique difficile à réaliser (Vasseur 2017). En calibrant les paramètres des courbes dose-réponses intégrées dans le DEB-IBM sur les données de population des épinoches observées en mésocosme pour les deux expériences présentées en chapitre III (mélange pharmaceutique et BPA), nous avons mis en évidence que les hypothèses faites sur les modes d'action des substances chimiques étaient correctes puisque le DEB-IBM s'est montré performant pour simuler les dynamiques des populations exposées à ces substances. Nous avons notamment pu distinguer les effets directs des substances sur les traits d'histoire de vie des poissons des effets indirects sur leurs proies comme pour le BPA (article 4) ou des effets liés à des mécanismes de régulation interne des populations comme pour le mélange pharmaceutique (article 3).

En outre, les données issues de l'expérience en mésocosme testant le BPA (de Kermoyan et al. 2013) nous ont permis de valider l'approche par modélisation pour extrapoler les données de toxicité mesurées sur les traits individuels en laboratoire à l'échelle de la population. En effet, cette extrapolation est cruciale pour les évaluations des effets des substances chimiques puisque la majorité des études écotoxicologiques se focalisent sur leurs

effets impactant des traits d'histoire de vie spécifiques des individus de laboratoire (Adams 2002, Forbes et Calow 2002, Forbes et al. 2008). Néanmoins, il est important de noter que différentes limites d'extrapolation peuvent induire des incertitudes sur les prédictions du DEB-IBM. En particulier, les études en laboratoire étant rarement réalisées sur des épinoches à trois épines, il existe une variabilité inter-espèce à prendre en compte dans les prédictions du modèle. Celle-ci peut être liée à des changements de niveaux de sensibilité entre les espèces à une substance chimique donnée ou à des caractéristiques du cycle de vie induisant des différences dans les effets des substances chimiques (Forbes et Calow 2002). Dans notre étude, nous avons par exemple mis en évidence des différences inter-espèces sur les impacts aux niveaux des gonades du BPA (article 4). En effet, la morphologie des gonades des épinoches à trois épines était impactée à plus faible concentration de BPA (1 µg/L) (de Kermoyan et al. 2013) que celles reportées dans la littérature (Sohoni et al. 2001, Mihaich et al. 2012).

De plus, 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. En effet, les biomarqueurs étant de plus en plus utilisés en écotoxicologie (Forbes et al. 2006), établir le lien entre un effet mis en évidence au niveau moléculaire et les impacts au niveau populationnel est primordial mais n'est pas trivial (Conolly et al. 2017). Dans notre étude, 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). Pour réaliser cette extrapolation, il a fallu réfléchir à la façon de corréler les observations faites au niveau des biomarqueurs aux performances des individus (ici, le comportement du mâle lors de la reproduction). Dans le cadre de notre étude, l'extrapolation que nous avons réalisée est relativement simple. En revanche, 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.

Plus généralement, le développement de modèles est en croissant développement en écotoxicologie (modèles QSAR, qAOP, PBTK, DEB et IBM) ainsi que des modèles modélisant le devenir des contaminants dans l'environnement. En particulier, un modèle toxico-cinétiques à base physiologique (PBTK) a été développé pour l'épinoche à trois épines (Grech et al. 2019) et pourrait être couplé à notre DEB-IBM pour obtenir un modèle prédictif des effets des substances chimiques sur trois niveaux d'échelle biologique (tissu, individu, population) (Figure 44). En effet, dans notre DEB-IBM, les impacts sur les processus des épinoches à trois épines sont calculés directement à partir de la concentration externe à l'organisme de la substance chimique considérée, c'est-à-dire sa concentration dans l'environnement aquatique. Ainsi, nous supposons que la concentration interne de l'organisme est directement proportionnelle à la concentration externe et considérons l'organisme comme une entité globale. En revanche, les modèles PBTKs permettent d'évaluer les concentrations internes d'une substance chimique dans les différents organes de l'organisme au cours du temps. Ils décrivent de plus le devenir d'un toxique au cours du temps dans l'organisme depuis son absorption jusqu'à son élimination (Grech et al. 2017). Par conséquent, le couplage de notre DEB-IBM au modèle PBTK développé pour l'épinoche à trois épines (Grech et al. 2019) pourrait permettre de faire le lien entre les concentrations externes d'une substance chimique, les concentrations internes et les effets biologiques au niveau de l'organe, de l'individu et de la population (Figure 44).

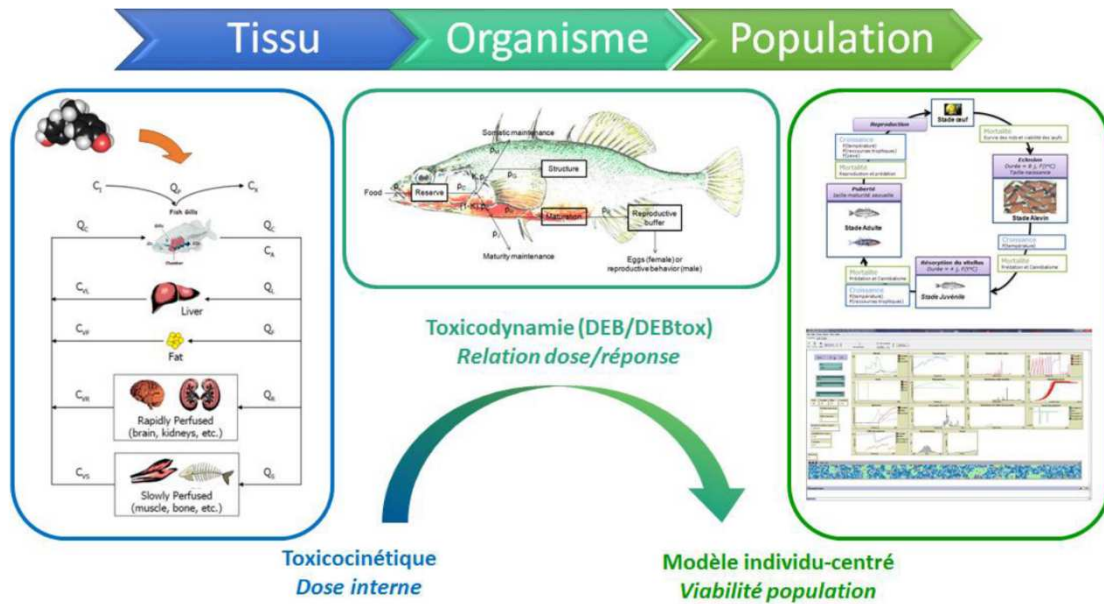


Figure 44. Représentation schématique du couplage des différents types de modèles s’intéressant à une échelle biologique particulière (tissu, organisme ou population) pour l’épinoche à trois épines. Source : Beaudouin (2019).

En résumé, des modèles individu-centrés appliqués en écotoxicologie avaient déjà été développés (Beaudouin et al. 2012, Martin et al. 2013). Notre DEB-IBM pose une nouvelle pierre à l’édifice puisque nous avons pu évaluer nos prédictions avec des données concrètes provenant d’expériences ayant un réalisme écologique élevé. De plus, il faut noter que l’utilisation de modèles mathématiques pour prédire les effets des substances chimiques sur les organismes permet de répondre à l’un des objectifs de la règle des 3R en expérimentation animale en lien avec la réduction du nombre d’individus testés. En effet, la validation de notre DEB-IBM dans un cadre prédictif des effets des toxiques sur la dynamique de population d’épinoches à trois épines est une première étape justifiant l’utilisation du modèle sans s’appuyer sur des résultats d’expérience en mésocosme. Néanmoins, il existe encore plusieurs points d’amélioration évoqués précédemment qui permettrait d’obtenir un outil complètement pertinent et efficace pour répondre aux besoins actuels des évaluations des effets des substances chimiques à l’échelle de la population.

IV. Vers un outil utilisable pour simuler un écosystème naturel ?

Le DEB-IBM présenté durant cette thèse est relativement complexe et a été développé dans un objectif bien précis, celui de modéliser la dynamique de population des épinoches à

trois épines dans les mésocosmes de l'Ineris afin de permettre une meilleure évaluation des effets des substances chimiques testées dans ces systèmes expérimentaux. Envisager d'utiliser ce modèle pour prédire les effets des substances chimiques dans un écosystème naturel est pertinent mais soulève néanmoins plusieurs questions.

Tout d'abord, le modèle ayant été construit pour les mésocosmes, les valeurs des paramètres sont spécifiques à ce système. Il est par exemple hautement probable que le protocole de l'expérience induit des processus densité-dépendants très forts. En effet, les poissons sont cantonnés à un système fermé puisque que même les alevins se retrouvant dans les bacs de récupération en aval des mésocosmes sont remis chaque jour dans ceux-ci. Ainsi, la mortalité densité-dépendante est probablement plus élevée qu'en rivière naturelle où l'espace est ouvert. Il en est de même pour la compétition alimentaire, où en rivière naturelle, les poissons pourront explorer de plus grandes surfaces pour leur recherche de nourriture (Ward et al. 2006). En outre, la dynamique de population des épinoches à trois épines n'a pas atteint un état d'équilibre à la fin de l'expérience en mésocosme puisque la population est encore en croissance. Or, sans variation du milieu, le taux d'accroissement des populations naturelles est généralement plus faible puisque celles-ci sont plus proches de l'état d'équilibre (population stationnaire) (Dajoz 2003).

Le modèle est également très spécifique à l'espèce étudiée, l'épinoche à trois épines. Bien que le modèle DEB standard puisse être facilement adapté à une autre espèce en changeant les valeurs des paramètres (Kooijman 2010, Jusup et al. 2017), la modélisation du comportement de l'épinoche à trois épines, et notamment pour les poissons, les processus de reproduction présentent une grande diversité (Wootton 1999). Ainsi, toutes ces caractéristiques compliquent la modélisation et dans l'objectif d'avoir un modèle générique, il serait par exemple intéressant de distinguer ces différents modes de reproduction dans le DEB-IBM. Néanmoins, même si notre DEB-IBM n'est pas directement transposable au milieu naturel, nous pouvons quand même supposer que la structure globale ne devrait pas changer, à l'exception des processus modélisés trop spécifiques aux épinoches à trois épines en mésocosme.

D'autre part, pour une application en milieu naturel, il est nécessaire d'induire un sous-modèle de dynamique des proies puisqu'il est plus compliqué d'obtenir des données d'abondance de macroinvertébrés et zooplancton issues du milieu naturel pour extrapoler les scénarios de nourriture (actuellement en entrée du modèle). L'intégration de sous-modèles simulant la structure de l'environnement pourrait également permettre de prendre en compte

les impacts des substances chimiques sur l'habitat des poissons et augmenter le réalisme écologique du DEB-IBM.

Néanmoins, si l'objectif est d'obtenir un modèle générique relativement simple pour une utilisation en évaluation des effets des substances chimiques, il faut noter que développer un tel modèle pour les écosystèmes naturels va de pair avec une augmentation de l'incertitude des processus modélisés et une diminution de la précision des prédictions. En effet, au même titre que complexifier des modèles peut amener à des outils couteux en temps de simulations, difficiles à calibrer et donc moins performants pour répondre à une question précise, la trop forte simplification du système modélisé peut induire des modèles inefficaces pour capter l'essence des dynamiques de populations et les réponses engendrées par des stress biotiques, abiotiques et/ou chimiques. Ainsi, l'enjeu est de trouver la juste balance entre la nécessaire complexité et les éléments non importants pouvant être ignorés dans le modèle. De plus, la validation des modèles d'écosystèmes naturels est souvent limitée par le manque de données de terrain. Or, toute incertitude sur les résultats de modélisation peut réduire la confiance des utilisateurs du modèle et leur acceptation en réglementation (Cartwright et al. 2016).

Néanmoins, l'application des IBMs pour reproduire des écosystèmes naturels est en forte demande et plusieurs études ont proposé des méthodologies pour développer ces modèles dans le but d'améliorer la gestion de l'environnement et la prise de décision (Topping et al. 2003, Forbes et al. 2017, Topping et Luttik 2017). Par conséquent, l'application de notre DEB-IBM pour le milieu naturel n'est actuellement pas encore envisagée mais pourrait représenter une question pertinente pour les années à venir.

Conclusions générales

En conclusion, prédire les impacts à long terme des activités anthropiques sur les écosystèmes reste actuellement l'un des enjeux majeurs pour permettre une meilleure gestion de l'environnement et une prise de décision optimale. Dans ce contexte, cette thèse constitue une étape supplémentaire à l'utilisation et l'acceptation d'outils de modélisation en évaluation des effets des substances chimiques sur la viabilité des populations. Ces travaux de thèse se sont basés sur différents jeux de données provenant d'expériences en rivière artificielle. Nous avons cherché à améliorer l'analyse des résultats de ces expériences afin de mettre en évidence des impacts potentiels des substances chimiques sur la dynamique de population des épinoches à trois épines en mésocosme. Pour cela, nous avons (i) développer un modèle individu-centré basé sur un modèle bioénergétique pour simuler la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en condition contrôle. Ensuite, nous avons (ii) appliquer ce modèle à deux cas d'étude afin d'améliorer la compréhension et la prédiction des effets des substances chimiques sur cette dynamique de population.

Le développement du modèle en condition contrôle a été relativement coûteux en temps. En effet, la calibration de modèles complexes n'est pas triviale et a constitué une étape cruciale de cette thèse. Par la suite, les résultats d'application du modèle se sont montrés prometteurs puisque nous avons pu améliorer la compréhension des modes d'action des toxiques en discriminant notamment les effets directs des effets indirects sur les épinoches. De plus, l'utilisation de données d'écotoxicité du BPA mesurées en laboratoire sur les traits des individus nous a permis de correctement prédire les impacts de cette substance chimie au niveau de la population. Néanmoins, l'évaluation des prédictions de notre modèle sur des dynamiques de population originales en mésocosme a mis en évidence certaines limites de celui-ci. Ainsi, les étapes suivantes seraient de réviser le modèle afin de prendre en compte les points d'amélioration évoqués durant cette thèse pour optimiser les capacités du modèle à évaluer les effets des substances chimiques. Enfin, ce modèle pourrait être utilisé pour prédire les effets de substances chimiques non testées en mésocosme sur la dynamique de population des épinoches à trois épines.

Références

- Adams, S. M. (2002). *Biological indicators of aquatic ecosystem stress*, American Fisheries Society.
- Adams, S. M. (2002). Introduction and overview. *Biological indicator of aquatic ecosystem stress*. S. M. Adams, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Ajemian, M. J., S. Sohel et J. Mattila (2014). "Effects of turbidity and habitat complexity on antipredator behavior of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*)." *Environ. Biol. Fishes* 98(1): 45-55.
- Allen, J. R. M. et R. J. Wootton (1982). "Age, growth and rate of food consumption in an upland population of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*." *J. Fish Biol.*(21): 95-105.
- Allen, J. R. M. et R. J. Wootton (1982). "The effect of ration and temperature on the growth of the three-spined stickleback." *J. Fish Biol.* 20: 409-422.
- Allen, J. R. M. et 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." *Freshw. Biol.* 14(4): 335-346.
- Augusiak, J., P. J. Van den Brink et V. Grimm (2014). "Merging validation and evaluation of ecological models to 'evaluation': A review of terminology and a practical approach." *Ecol. Modell.* 280: 117-128.
- Baker, J. A., M. A. Wund, D. C. Heins, R. W. King, M. L. Reyes et S. A. Foster (2015). "Life-history plasticity in female threespine stickleback." *Heredity (Edinb)* 115(4): 322-334.
- Bakker, T. C. M., T. Giger, J. G. Frommen et C. R. Largiadèr (2017). "Rapid molecular sexing of three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* L., based on large Y-chromosomal insertions." *Journal of Applied Genetics* 58(3): 401-407.
- Beaudouin, R. (2007). *Modélisation individu-centrée pour aider à la détection et à l'interprétation des effets des polluants chimiques sur la dynamique de population d'un poisson, la gambusie, en écosystème expérimental*, Université de Rennes.
- Beaudouin, R. (2019). *Modélisation du lien organisme – population en appui à l'évaluation du risque environnemental*, Université de Reims Champagne-Ardenne.
- Beaudouin, R., F. Brion, J. Devillers, E. Mombelli et A. Péry (2014). Modélisation intégrée de la perturbation endocrinienne à différents niveaux d'organisation biologique chez le poisson zèbre (MOZAIC). P. N. d. R. s. l. P. Endocriniens: 67.
- Beaudouin, R., R. Coulaud, J. Devillers, G. Dur, C. Pelosi, A. Péry et S. Souissi (2017). Le changement d'échelle de l'individu à la population. *Les effets écotoxicologiques de la molécule à la population*. I. éditions. 1: 242.
- Beaudouin, R., V. Dias, J. M. Bonzom et A. Pery (2012). "Individual-based model of *Chironomus riparius* population dynamics over several generations to explore adaptation following exposure to uranium-spiked sediments." *Ecotoxicology* 21(4): 1225-1239.
- Beaudouin, R., V. Ginot et G. Monod (2012). "Improving mesocosm data analysis through individual-based modelling of control population dynamics: a case study with mosquitofish (*Gambusia holbrooki*)." *Ecotoxicology* 21(1): 155-164.
- Beaudouin, R., B. Goussen, B. Piccini, S. Augustine, J. Devillers, F. Brion et A. R. Pery (2015). "An individual-based model of zebrafish population dynamics accounting for energy dynamics." *PLoS One* 10(5): e0125841.
- Beaudouin, R., G. Monod et V. Ginot (2008). "Selecting parameters for calibration via sensitivity analysis: An individual-based model of mosquitofish population dynamics." *Ecol. Modell.* 218(1): 29-48.

- Beaumont, M. A. (2010). "Approximate Bayesian Computation in Evolution and Ecology." *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 41(1): 379-406.
- Beausoleil, C., C. Emond, J.-P. Cravedi, J.-P. Antignac, M. Applanat, B. R. Appenzeller, R. Beaudouin, L. P. Belzunces, M.-C. Canivenc-Lavier, N. Chevalier, C. Chevrier, E. Elefant, F. Eustache, R. Habert, M. Kolf-Clauw, B. Le Magueresse-Battistoni, S. Mhaouty-Kodja, C. Minier, L. Multigner, H. Schroeder, P. Thonneau, C. Viguié, F. Pouzaud, J.-N. Ormsby, C. Rousselle, L. Verines-Jouin, E. Pasquier et C. Michel (2018). "Regulatory identification of BPA as an endocrine disruptor: Context and methodology." *Molecular and Cellular Endocrinology* 475: 4-9.
- Bell, A. M. et S. A. Foster (1994). Introduction to the evolutionary biology of the threespine stickleback. The evolutionary biology of the threespine stickleback, Oxford University Press. Chapter 1: 1-28.
- Berner, D., M. Ammann, E. Spencer, A. Ruegg, D. Luscher et D. Moser (2017). "Sexual isolation promotes divergence between parapatric lake and stream stickleback." *J Evol Biol* 30(2): 401-411.
- Beukema, J. J. (1968). "Predation By the Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus Aculeatus* L.): the Influence of Hunger and Experience." *Behaviour* 31(1): 1-125.
- Beverton, R. J. H. et S. J. Holt (1957). *On the Dynamics of Exploited Fish Populations*, Springer, Dordrecht.
- Billoir, E., H. Delhaye, B. Clément, M. L. Delignette-Muller et S. Charles (2011). "Bayesian modelling of daphnid responses to time-varying cadmium exposure in laboratory aquatic microcosms." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74(4): 693-702.
- Billoir, E., M. L. Delignette-Muller, A. R. Pery, O. Geffard et S. Charles (2008). "Statistical cautions when estimating DEBtox parameters." *J. Theor. Biol.* 254(1): 55-64.
- Borg, B. (1982). "Seasonal effects of photoperiod and temperature on spermatogenesis and male secondary sexual characters in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L." *Can. J. Zool.* 60(12): 3377-3386.
- Borg, B., M. Schmitz, A. Hellqvist, C. Bornestaf et I. Mayer (2004). "Mechanisms in the Photoperiodic Control of Reproduction in the Stickleback." *Behaviour* 141(11-12): 1521-1530.
- Boyd, R., S. Roy, R. Sibly, R. Thorpe et K. Hyder (2018). "A general approach to incorporating spatial and temporal variation in individual-based models of fish populations with application to Atlantic mackerel." *Ecol. Modell.* 382: 9-17.
- Boyle, T. P. et J. F. Fairchild (1997). "The role of mesocosm studies in ecological risk analysis." *Ecol. Appl.* 7(4): 1099-1102.
- Britton, J. R., C. Gutmann Roberts, F. Amat Trigo, E. T. Nolan et V. De Santis (2019). "Predicting the ecological impacts of an alien invader: Experimental approaches reveal the trophic consequences of competition." *J. Anim. Ecol.* 0(0).
- Brock, C. D., M. E. Cummings et D. I. Bolnick (2017). "Phenotypic plasticity drives a depth gradient in male conspicuousness in threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*." *Evolution* 71(8): 2022-2036.
- Brock, T. C. M., M. Hammers-Wirtz, U. Hommen, T. G. Preuss, H. T. Ratte, I. Roessink, T. Strauss et P. J. Van den Brink (2015). "The minimum detectable difference (MDD) and the interpretation of treatment-related effects of pesticides in experimental ecosystems." *Environmental science and pollution research international* 22(2): 1160-1174.
- Brown-Peterson, N. J. et D. C. Heins (2009). "Interspawning interval of wild female three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* in Alaska." *J. Fish Biol.* 74(10): 2299-2312.
- Brown, Braithwaite et Jones (2008). "Lack of assortative mating between incipient species of stickleback from a hybrid zone." *Behaviour* 145(4-5): 463-484.

- Brown, J. H., J. F. Gillooly, A. P. Allen, V. M. Savage et G. B. West (2004). "Toward A Metabolic Theory Of Ecology." *Ecology* 85(7): 1771-1789.
- Calvez, B. et G. Hutzler (2006). *Automatic Tuning of Agent-Based Models Using Genetic Algorithms*. Multi-Agent-Based Simulation VI, Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg.
- Candolin, U. et T. Salesto (2005). "Effects of increased vegetation cover on nesting behavior of sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*)." *Behav. Ecol. Sociobiol.* 59(5): 689-693.
- Candolin, U. et H.-R. Voigt (2001). "Correlation between male size and territory quality: consequence of male competition or predation susceptibility?" *Oikos* 95(2): 225-230.
- Cao, J., W. Guan, S. Truesdell, Y. Chen et S. Tian (2016). "An individual-based probabilistic model for simulating fisheries population dynamics." *Aquac. Fish.* 1: 34-40.
- Caquet, T. (2002). "Use of aquatic mesocosms in ecotoxicology, state of the art and perspectives." *Radioprotection - Colloques* 37(C1).
- Caquet, T., L. Lagadic, O. Jonot, Bature W., Kilanda M., Simon P., Le Bras S., Echaubard M. et R. F. (1996). "Outdoor experimental ponds (mesocosms) designed for long-term ecotoxicological studies in aquatic environment." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 34: 125-133.
- Caquet, T., L. Lagadic et S. R. Sheffield (2000). "Mesocosms in ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems." *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 165: 1-38.
- Carpenter, S. R. et D. M. Lodge (1986). "Effects of submersed macrophytes on ecosystem processes." *Aquatic Botany* 26: 341-370.
- Cartwright, S. J., K. M. Bowgen, C. Collop, K. Hyder, J. Nabe-Nielsen, R. Stafford, R. A. Stillman, R. B. Thorpe et R. M. Sibly (2016). "Communicating complex ecological models to non-scientist end users." *Ecol. Modell.* 338: 51-59.
- Chellappa, S., F. A. Huntingford, R. H. C. Strang et R. Y. Thomson (1989). "Annual variation in energy reserves in male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. (Pisces, Gasterosteidae)." *J. Fish Biol.* 35(2): 275-286.
- Clutton-Brock, T. H. et A. C. J. Vincent (1991). "Sexual selection and the potential reproductive rates of males and females." *Nature* 351(6321): 58-60.
- Conolly, R. B., G. T. Ankley, W. Cheng, M. L. Mayo, D. H. Miller, E. J. Perkins, D. L. Villeneuve et K. H. Watanabe (2017). "Quantitative Adverse Outcome Pathways and Their Application to Predictive Toxicology." *Environmental science & technology* 51(8): 4661-4672.
- Cowan, J. H., K. A. Rose, E. D. Houde et S.-B. Wang (1999). "Modeling effects of increased larval mortality on bay anchovy population dynamics in the mesohaline Chesapeake Bay: evidence for compensatory reserve." *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 185: 133-146.
- Crossin, G. T., L. F. Sundström, W. E. Vandersteen et R. H. Devlin (2015). "Early life-history consequences of growth-hormone transgenesis in rainbow trout reared in stream ecosystem mesocosms." *PLoS One* 10(3): e0120173-e0120173.
- Dajoz, R. (2003). *Précis d'écologie*.
- David, V., B. Goussen, C. Tebby, S. Joachim, J. M. Porcher et R. Beaudouin (2018). "Modelling historical mesocosm data: Application of a fish bioenergetics model in semi-natural conditions." *Ecol. Freshw. Fish* 27(4): 1101-1113.
- David, V., S. Joachim, C. Tebby, J.-M. Porcher et R. Beaudouin (2019). "Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model." *Ecol. Modell.* 398: 55-66.

- de Kermoysan, G. (2013). *Caractérisation de la dynamique de population de l'épinoche à trois épines, Gasterosteus aculeatus, dans un mésocosme lotique : Application à l'évaluation des effets du bisphénol A dans un contexte écosystémique.*, AgroParisTeach.
- de Kermoysan, G., S. Joachim, P. Baudoin, M. Lonjaret, C. Tebby, F. Lesaulnier, F. Lestremau, C. Chatellier, Z. Akrou, E. Pheron, J. M. Porcher, A. R. Pery et R. Beaudouin (2013). "Effects of bisphenol A on different trophic levels in a lotic experimental ecosystem." *Aquat. Toxicol.* 144-145: 186-198.
- de Kermoysan, G., A. R. Pery, J. M. Porcher et R. Beaudouin (2013). "A non-invasive method based on head morphology to sex mature three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) in rearing conditions." *Math. Biosci.* 244(2): 148-153.
- DeAngelis, D. L. et V. Grimm (2014). "Individual-based models in ecology after four decades." *F1000prime reports* 6: 39-39.
- DeFaveri, J. et J. Merilä (2013). "Variation in Age and Size in Fennoscandian Three-Spined Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*)." *PLoS One* 8(11): e80866.
- Devillers, J., H. Devillers, A. Decourtye et P. Aupinel (2010). "Internet resources for agent-based modelling." *SAR and QSAR in environmental research* 21(3-4): 337-350.
- Dufresne, F., G. J. FitzGerald et S. Lachance (1990). "Age and size-related differences in reproductive success and reproductive costs in threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*)." *Behav. Ecol.* 1(2): 140-147.
- Eaton, R. C. et R. D. Farley (1974). "Spawning Cycle and Egg Production of Zebrafish, *Brachydanio rerio*, in the Laboratory." *Copeia* 1974(1): 195-204.
- EFSA (2013). "Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters." *EFSA Journal* 11(7): 3290.
- EFSA Scientific Committee, A. Hardy, D. Benford, T. Halldorsson, M. J. Jeger, K. H. Knutsen, S. More, A. Mortensen, H. Naegeli, H. Noteborn, C. Ockleford, A. Ricci, G. Rychen, V. Silano, R. Solecki, D. Turck, M. Aerts, L. Bodin, A. Davis, L. Edler, U. Gundert-Remy, S. Sand, W. Slob, B. Bottex, J. C. Abrahantes, D. C. Marques, G. Kass et J. R. Schlatter (2017). "Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment." *EFSA Journal* 15(1): e04658.
- Eggensl, M. L., A. D. Vethaak, M. J. Leaverz, G. J. M. Jean Horbach, J. P. Boon et W. Seinen (1996). "Differences in cypia response between flounder (*Platichthys flesus*) and plaice (*Pleuronectes platessa*) after long-term exposure to harbour dredged spoil in a mesocosm study." *Chemosphere* 32(7): 1357-1380.
- Evans, M. R. (2012). "Modelling ecological systems in a changing world." *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 367(1586): 181-190.
- Evans, N. T., B. P. Olds, M. A. Renshaw, C. R. Turner, Y. Li, C. L. Jerde, A. R. Mahon, M. E. Pfrender, G. A. Lamberti et D. M. Lodge (2016). "Quantification of mesocosm fish and amphibian species diversity via environmental DNA metabarcoding." *Molecular ecology resources* 16(1): 29-41.
- Faivre, R., B. Iooss, S. Mahévas, D. Makowski et H. Monod (2013). *Analyse de sensibilité et exploration de modèles. Application aux sciences de la nature et de l'environnement.*
- Fitzpatrick, B. G. (2019). "Issues in Reproducible Simulation Research." *Bulletin of Mathematical Biology* 81(1): 1-6.
- Forbes, V. E. et P. Calow (2002). "Extrapolation in ecological risk assessment: balancing pragmatism and precaution in chemical controls legislation." *BioScience* 52(3).
- Forbes, V. E. et P. Calow (2002). "Population growth rate as a basis for ecological risk assessment of toxic chemicals." *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 357(1425): 1299-1306.

- Forbes, V. E., P. Calow et R. M. Sibly (2008). "The extrapolation problem and how population modeling can help." *Environ. Toxicol. Chem.* 27(10): 1987-1994.
- Forbes, V. E., U. Hommen, P. Thorbek, F. Heimbach, P. J. Van den Brink, J. Wogram, H.-H. Thulke et V. Grimm (2009). "Ecological models in support of regulatory risk assessments of pesticides: developing a strategy for the future." *Integr. Environ. Assess. Manag.* 5(1): 167-172.
- Forbes, V. E., A. Palmqvist et L. Bach (2006). "The use and misuse of biomarkers in ecotoxicology." *Environ. Toxicol. Chem.* 25(1): 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 et P. Thorbek (2017). "A Framework for Predicting Impacts on Ecosystem Services From (Sub)Organismal Responses to Chemicals." *Environ. Toxicol. Chem.* 36(4): 845-859.
- Foster, S. A., V. B. Garcia et M. Y. Town (1988). "Cannibalism as the cause of an ontogenetic shift in habitat use by fry of the threespine stickleback." *Oecologia* 74(4): 577-585.
- Gabsi, F., M. Hammers-Wirtz, V. Grimm, A. Schäffer et T. G. Preuss (2014). "Coupling different mechanistic effect models for capturing individual- and population-level effects of chemicals: Lessons from a case where standard risk assessment failed." *Ecol. Modell.* 280: 18-29.
- Galic, N., V. Grimm et V. E. Forbes (2017). "Impaired ecosystem process despite little effects on populations: modeling combined effects of warming and toxicants." *Glob. Chang. Biol.* 23(8): 2973-2989.
- Galic, N., U. Hommen, J. M. Baveco et 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." *Integr. Environ. Assess. Manag.* 6(3): 338-360.
- Gambling, S. J. et T. E. Reimchen (2012). "Prolonged life span among endemic *Gasterosteus* populations." *Can. J. Zool.* 90(2): 284-290.
- Gerlach, G. (2006). "Pheromonal regulation of reproductive success in female zebrafish: female suppression and male enhancement." *Anim. Behav.* 72(5): 1119-1124.
- Gill, A. B. et P. J. B. Hart (1994). "Feeding behaviour and prey choice of the threespine stickleback, the interacting effects of prey size, fish size and stomach full." *Anim. Behav.* 47(921-932).
- Ginot, V., S. Gaba, R. Beaudouin, F. Aries et H. Monod (2006). "Combined use of local and ANOVA-based global sensitivity analyses for the investigation of a stochastic dynamic model: Application to the case study of an individual-based model of a fish population." *Ecol. Modell.* 193(3-4): 479-491.
- Goussen, B., R. Beaudouin, M. Dutilleul, A. Buisset-Goussen, J. M. Bonzom et A. R. R. Pery (2015). "Energy-based modelling to assess effects of chemicals on *Caenorhabditis elegans*: a case study on uranium." *Chemosphere* 120: 507-514.
- Goussen, B., O. R. Price, C. Rendal et R. Ashauer (2016). "Integrated presentation of ecological risk from multiple stressors." *Sci. Rep.* 6: 36004.
- Grech, A., C. Brochot, J.-L. Dorne, N. Quignot, F. Y. Bois et R. Beaudouin (2017). "Toxicokinetic models and related tools in environmental risk assessment of chemicals." *Science of The Total Environment* 578: 1-15.
- Grech, A., C. Tebby, C. Brochot, F. Y. Bois, A. Bado-Nilles, J.-L. Dorne, N. Quignot et R. Beaudouin (2019). "Generic physiologically-based toxicokinetic modelling for fish: Integration of environmental factors and species variability." *Science of The Total Environment* 651: 516-531.
- Griffiths, R., K. J. Orr, A. Adam et I. Barber (2000). "DNA sex identification in the three-spined stickleback." *J. Fish Biol.* 57(5): 1331-1334.

- Grimm, V. (1999). "Ten years of individual-based modelling in ecology: what have we learned and what could we learn in the future?" *Ecol. Modell.* 115(2): 129-148.
- Grimm, V., R. Ashauer, V. Forbes, U. Hommen, T. G. Preuss, A. Schmidt, P. J. van den Brink, J. Wogram et P. Thorbek (2009). "CREAM: a European project on mechanistic effect models for ecological risk assessment of chemicals." *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16(6): 614-617.
- Grimm, V. et U. Berger (2016). "Structural realism, emergence, and predictions in next-generation ecological modelling: Synthesis from a special issue." *Ecol. Modell.* 326: 177-187.
- Grimm, V., U. Berger, F. Bastiansen, S. Eliassen, V. Ginot, J. Giske, J. Goss-Custard, T. Grand, S. K. Heinz, G. Huse, A. Huth, J. U. Jepsen, C. Jørgensen, W. M. Mooij, B. Müller, G. Pe'er, C. Piou, S. F. Railsback, A. M. Robbins, M. M. Robbins, E. Rossmanith, N. Rüter, E. Strand, S. Souissi, R. A. Stillman, R. Vabø, U. Visser et D. L. DeAngelis (2006). "A standard protocol for describing individual-based and agent-based models." *Ecol. Modell.* 198(1): 115-126.
- Grimm, V., U. Berger, D. L. DeAngelis, J. G. Polhill, J. Giske et S. F. Railsback (2010). "The ODD protocol A review and first update." *Ecol. Modell.* 221(23): 2760-2768.
- Grimm, V. et S. F. Railsback (2005). *Individual-based Modeling and Ecology*. New Jersey.
- Grimm, V., T. Wyszomirski, D. Aikman et J. Uchmański (1999). "Individual-based modelling and ecological theory: synthesis of a workshop." *Ecol. Modell.* 115(2): 275-282.
- Gyllenhammar, A., L. Håkanson et K.-J. Lehtinen (2008). "A mesocosm fish farming experiment and its implications for reducing nutrient load on a regional scale." *Aquacultural Engineering* 38(2): 117-126.
- Hansen, M. J., A. J. W. Ward, I. Fürtbauer et A. J. King (2016). "Environmental quality determines finder-joiner dynamics in socially foraging three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*)." *Behav. Ecol. Sociobiol.* 70(6): 889-899.
- Hart, P. J. B. et A. B. Gill (1992). "Constraints on prey size selection by the three-spined stickleback: energy requirements and the capacity and fullness of the gut." *J. Fish Biol.* 40(2): 205-218.
- Hart, P. J. B. et A. B. Gill (1994). *Evolution of foraging behaviour in the threespine stickleback. The evolutionary biology of the threespine stickleback*, Oxford University Press. Chapter 8: 207-236.
- Hazlerigg, C. R., K. Lorenzen, P. Thorbek, J. R. Wheeler et C. R. Tyler (2012). "Density-dependent processes in the life history of fishes: evidence from laboratory populations of zebrafish *Danio rerio*." *PLoS One* 7(5): e37550.
- Hölker, F. et B. Breckling (2005). "A spatiotemporal individual-based fish model to investigate emergent properties at the organismal and the population level." *Ecol. Modell.* 186(4): 406-426.
- Hopkins, K., B. R. Moss et A. B. Gill (2010). "Increased ambient temperature alters the parental care behaviour and reproductive success of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*)." *Environ. Biol. Fishes* 90(2): 121-129.
- Hovel, R. A., D. A. Beauchamp, A. G. Hansen et M. H. Sorel (2015). "Development of a Bioenergetics Model for the Threespine Stickleback." *Trans. Am. Fish. Soc.* 144(6): 1311-1321.
- Huss, M., P. Byström et L. Persson (2008). "Resource heterogeneity, diet shifts and intra-cohort competition: effects on size divergence in YOY fish." *Oecologia* 158(2): 249-257.
- Hynes, H. B. N. (1950). "The Food of Fresh-Water Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* and *Pygosteus pungitius*)." *J. Anim. Ecol.* 19(1): 36-58.
- Ishikawa, M. et M. Seiichi (2000). "Mating Success and Male Courtship Behaviors in Three Populations of the Threespine Stickleback." *Behaviour* 137(7/8): 1065-1080.

- Jabot, F. et J. Chave (2011). "Analyzing Tropical Forest Tree Species Abundance Distributions Using a Nonneutral Model and through Approximate Bayesian Inference." *Am. Nat.* 178(2): E37-E47.
- Jabot, F., T. Faure et N. Dumoulin (2013). "EasyABC: performing efficient approximate Bayesian computation sampling schemes using R." *Methods Ecol. Evol.* 4(7): 684-687.
- Jabot, F., T. Faure, D. N. et C. Albert (2015). Package "EasyABC".
- Jensen, A. L. (1993). "Dynamics of fish populations with different compensatory processes when subjected to random survival of eggs and larvae." *Ecol. Modell.* 68(3): 249-256.
- Joachim, S. (2013). Bottom-up and top-down effects in a diclofenac contaminated model ecosystem. *Development of robust tools for the assessment of pharmaceuticals in aquatic media* D. project.
- Joachim, S. (2014). Bottom-up and top-down effects in a carbamazepine contaminated model ecosystem. *Development of robust tools for the assessment of pharmaceuticals in aquatic media* D. project.
- Joachim, S., S. Andres et E. Thybaud (2010). Les mésocosmes : synthèse bibliographique sur les installations existantes. . T. report.
- Jolles, J. W., K. L. Laskowski, N. J. Boogert et A. Manica (2018). "Repeatable group differences in the collective behaviour of stickleback shoals across ecological contexts." *Proceedings of the Royal Society B* 285(1872).
- Jolly, C., I. Katsiadaki, S. Morris, N. Le Belle, S. Dufour, I. Mayer, T. G. Pottinger et 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." *Aquat. Toxicol.* 92(4): 228-239.
- Jordan, C. M. et E. T. Garsid (1972). "Upper lethal temperatures of threespine stickleback in relation to thermal and osmotic acclimation, ambient salinity, and size.pdf>." *Can. J. Zool.* 50.
- Jusup, M., T. Sousa, T. Domingos, V. Labinac, N. Marn, Z. Wang et T. Klanjšček (2017). "Physics of metabolic organization." *Phys. Life Rev.* 20(Supplement C): 1-39.
- Kennedy, J. H., L. P. Ammann, W. T. Waller, J. E. Warren, A. J. Hosmer, S. H. Cairns, P. C. Johnson et R. L. Graney (1999). "Using statistical power to optimize sensitivity of analysis of variance designs for microcosms and mesocosms." *Environ. Toxicol. Chem.* 18(2): 113-117.
- Kidd, K. A., P. J. Blanchfield, K. H. Mills, V. P. Palace, R. E. Evans, J. M. Lazorchak et R. W. Flick (2007). "Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104(21): 8897.
- King, A. J., I. Fürtbauer, D. Mamuneas, C. James et A. Manica (2013). "Sex-Differences and Temporal Consistency in Stickleback Fish Boldness." *PLoS One* 8(12): e81116.
- Kitchell, J. F., D. J. Stewart et D. Weininger (1977). "Applications of a Bioenergetics Model to Yellow Perch (*Perca flavescens*) and Walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*)." *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 34(10): 1922-1935.
- Kooijman, S. A. L. M, L. Pecquerie, S. Augustine et M. Jusup (2011). *Scenarios for acceleration in fish development and the role of metamorphosis*.
- Kooijman, S. A. (2010). *Dynamic Energy Budget for metabolic organization*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Kooijman, S. A., T. Sousa, L. Pecquerie, J. van der Meer et T. Jager (2008). "From food-dependent statistics to metabolic parameters, a practical guide to the use of dynamic energy budget theory." *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 83(4): 533-552.

- Kooijman, S. A. et T. A. Troost (2007). "Quantitative steps in the evolution of metabolic organisation as specified by the Dynamic Energy Budget theory." *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 82(1): 113-142.
- Kooijman, S. A. L. M. (1986). "Energy budgets can explain body size relations." *J. Theor. Biol.* 121(3): 269-282.
- Kooijman, S. A. L. M. (2014). "Metabolic acceleration in animal ontogeny: An evolutionary perspective." *J. Sea Res.* 94: 128-137.
- Kooijman, S. A. L. M. et J. J. M. Bedaux (1996). "Analysis of toxicity tests on fish growth." *Water Research* 30(7): 1633-1644.
- Kooijman, S. A. L. M., N. Van Der Hoeven et D. C. Van Der Werf (1989). "Population Consequences of a Physiological Model for Individuals." *Funct. Ecol.* 3(3): 325-336.
- Kraak, S. B. M. (1999). "Sexual selection in sticklebacks in the field, correlates of reproductive, mating, and paternal success."
- Kraak, S. B. M., T. Bakker, C. M. et S. Hocevar (2000). "Stickleback Males, Especially Large and Red Ones, Are More Likely to Nest Concealed in Macrophytes." *Behaviour* 137(7/8): 907-919.
- Kraak, S. B. M., T. C. M. Bakker et B. Mundwiler (1999). "Correlates of the duration of the egg collecting phase in the three-spined stickleback." *J. Fish Biol.* 54(5): 1038-1049.
- Kraufvelin, P. (1999). "Baltic hard bottom mesocosms unplugged: replicability, repeatability and ecological realism examined by non-parametric multivariate techniques." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 240(2): 229-258.
- Kuřakowska, K. A., T. M. Kuřakowski, I. R. Inglis, G. C. Smith, P. J. Haynes, P. Prosser, P. Thorbek et R. M. Sibly (2014). "Using an individual-based model to select among alternative foraging strategies of wood pigeons: Data support a memory-based model with a flocking mechanism." *Ecol. Modell.* 280: 89-101.
- Lagarrigues, G., F. Jabot, V. Lafond et B. Courbaud (2015). "Approximate Bayesian computation to recalibrate individual-based models with population data: Illustration with a forest simulation model." *Ecol. Modell.* 306: 278-286.
- Larras, F., E. Billoir, V. Baillard, A. Siberchicot, S. Scholz, T. Wubet, M. Tarkka, M. Schmitt-Jansen et M.-L. Delignette-Muller (2018). "DRomics: A Turnkey Tool to Support the Use of the Dose-Response Framework for Omics Data in Ecological Risk Assessment." *Environmental Science & Technology* 52(24): 14461-14468.
- Lavin, P. A. et J. D. McPhail (1986). "Adaptive Divergence of Trophic Phenotype among Freshwater Populations of the Threespine Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*)." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 43(12): 2455-2463.
- Lawrence, C. (2007). "The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review." *Aquaculture* 269(1): 1-20.
- Lefébure, R., S. Larsson et P. Byström (2011). "A temperature-dependent growth model for the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*." *J. Fish Biol.* 79(7): 1815-1827.
- Lefébure, R., S. Larsson et P. Byström (2014). "Temperature and size-dependent attack rates of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*); are sticklebacks in the Baltic Sea resource-limited?" *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 451: 82-90.
- Leloutre, C., A. R. R. Péry, J.-M. Porcher et R. Beaudouin (2018). "A bioenergetics model of the entire life cycle of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*." *Ecol. Freshw. Fish* 27(1): 116-127.
- Lin, B.-I., A. Tokai et 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(13): 4833-4840.

- Liu, C., A. J. Bednarska, R. M. Sibly, R. C. Murfitt, P. Edwards et P. Thorbek (2014). "Incorporating toxicokinetics into an individual-based model for more realistic pesticide exposure estimates: A case study of the wood mouse." *Ecol. Modell.* 280: 30-39.
- Lorenzen, K. (2005). "Population dynamics and potential of fisheries stock enhancement: practical theory for assessment and policy analysis." *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 360(1453): 171-189.
- Martin, B. T., T. Jager, R. M. Nisbet, T. G. Preuss et V. Grimm (2013). "Predicting population dynamics from the properties of individuals: a cross-level test of dynamic energy budget theory." *Am. Nat.* 181(4): 506-519.
- Martin, B. T., T. Jager, R. M. Nisbet, T. G. Preuss, M. Hammers-Wirtz et V. Grimm (2013). "Extrapolating ecotoxicological effects from individuals to populations: a generic approach based on Dynamic Energy Budget theory and individual-based modeling." *Ecotoxicology* 22(3): 574-583.
- Mehlis, M. et T. C. M. Bakker (2014). "The influence of ambient water temperature on sperm performance and fertilization success in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*)." *Evol. Ecol.* 28(4): 655-667.
- Mihaich, E., J. Rhodes, J. Wolf, N. van der Hoeven, D. Dietrich, A. T. Hall, N. Caspers, L. Ortego, C. Staples, S. Dimond et S. Hentges (2012). "Adult fathead minnow, *Pimephales promelas*, partial life-cycle reproductive and gonadal histopathology study with bisphenol A." *Environ. Toxicol. Chem.* 31(11): 2525-2535.
- Mintram, K. S., A. R. Brown, S. K. Maynard, C. Liu, S.-J. Parker, C. R. Tyler et P. Thorbek (2018). "Assessing population impacts of toxicant-induced disruption of breeding behaviours using an individual-based model for the three-spined stickleback." *Ecol. Modell.* 387: 107-117.
- Mobrand, L. E., J. Barr, L. Blankenship, D. E. Campton, T. T. P. Evelyn, T. A. Flagg, C. V. W. Mahnken, L. W. Seeb, P. R. Seidel et W. W. Smoker (2005). "Hatchery Reform in Washington State." *Fisheries* 30(6): 11-23.
- Mooij, W. M. et D. L. DeAngelis (2003). "Uncertainty in spatially explicit animal dispersal models." *Ecol. Appl.* 13(3): 794-805.
- Mori, M. (1995). "Factors associated with and fitness effects of nest-raiding in the three-spined stickleback in a natural situation."
- Mori, S. (1993). "The Breeding System of the 3-Spined Stickleback, *Gasterosteus-Aculeatus* (Forma-Leiura) with Reference to Spatial and Temporal Patterns of Nesting Activity." *Behaviour* 126(1-2): 97-124.
- Mori, S. (1994). "Nest site choice by the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* (form leiurus), in spring-fed waters." *J. Fish Biol.* 45(2): 279-289.
- Mori, S. et M. Nagoshi (1987). "Growth and maturity size of the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* in rearing pool." *Bull. Fac. Fisil, Mie Univ*(14): 1-10.
- Mori, S. et N. Takamura (2004). "Changes in morphological characteristics of an introduced population of the threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* in Lake Towada, northern Japan." *Ichthyol. Res.* 51(4): 295-300.
- Morris, M. D. (1991). "Factorial Sampling Plans for Preliminary Computational Experiments." *Technometrics* 33(2): 161-174.
- Myers, R. A. et N. G. Cadigan (1993). "Density-Dependent Juvenile Mortality in Marine Demersal Fish." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50(8): 1576-1590.
- Naslund, J., J. Fick, N. Asker, E. Ekman, D. G. J. Larsson et L. Norrgren (2017). "Diclofenac affects kidney histology in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) at low mug/L concentrations." *Aquat. Toxicol.* 189: 87-96.

- Nordwall, F., I. Näslund et E. Degerman (2001). "Intercohort competition effects on survival, movement, and growth of brown trout (*Salmo trutta*) in Swedish streams." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58(11): 2298-2308.
- Odum, E. P. (1984). "The Mesocosm." *BioScience* 34(9): 558-562.
- OECD (2006). Guidance document on simulated freshwater lentic field tests. OECD, Environment et Directorate. Paris. 53: 37.
- OECD (2018). Users' Handbook supplement to the guidance document for developing and assessing adverse outcome pathways. O. S. o. A. O. Pathways. 1.
- Ólafsdóttir, G. Á., A. Andreou, K. Magellan et B. K. Kristjánsson (2014). "Divergence in social foraging among morphs of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*." *Biological Journal of the Linnean Society* 113(1): 194-203.
- Olafsdottir, G. A. et K. Magellan (2016). "Interactions between boldness, foraging performance and behavioural plasticity across social contexts." *Behav Ecol Sociobiol* 70(11): 1879-1889.
- Peichel, C. L., J. A. Ross, C. K. Matson, M. Dickson, J. Grimwood, J. Schmutz, R. M. Myers, S. Mori, D. Schluter et D. M. Kingsley (2004). "The Master Sex-Determination Locus in Threespine Sticklebacks Is on a Nascent Y Chromosome." *Current Biology* 14(16): 1416-1424.
- Pelletier, D., L. Carpentier, W. Roman et T. Bocke (2016). La vidéo rotative autonome pour l'observation des habitats et de la macrofaune côtiers - Guide méthodologique des systèmes STAVIRO et MICADO. *Projet AMBIO, Aires Marines Protégées, Patrimoine Mondial, BIOdiversité*. R. A. A. IFREMER. Noumea: 89.
- Persson, L., P. Bystrom et E. Wahlstrom (2000). "Cannibalism and Competition in Eurasian Perch: Population Dynamics of an Ontogenetic Omnivore." *Ecology* 81(4): 1058-1071.
- Pery, A., J. Devillers et R. Beaudouin (2017). Modélisation mécanistique au niveau individuel. *Les effets écotoxicologiques de la molécule à la population*. I. éditions. 1: 242.
- Péry, A. R. R., P. Flammarion, B. Vollat, J. J. M. Bedaux, S. A. L. M. Kooijman et J. Garric (2002). "Using a biology-based model (DEBtox) to analyze bioassays in ecotoxicology: Opportunities and recommendations." *Environ. Toxicol. Chem.* 21(2): 459-465.
- Piou, C., U. Berger et V. Grimm (2009). "Proposing an information criterion for individual-based models developed in a pattern-oriented modelling framework." *Ecol. Modell.* 220(17): 1957-1967.
- Politikos, D., S. Somarakis, K. P. Tsiaras, M. Giannoulaki, G. Petihakis, A. Machias et G. Triantafyllou (2015). "Simulating anchovy's full life cycle in the northern Aegean Sea (eastern Mediterranean): A coupled hydro-biogeochemical-IBM model." *Prog. Oceanogr.* 138: 399-416.
- Post, J. R., E. A. Parkinson et N. T. Johnston (1999). "Density-dependent processes in structured fish populations: Interaction strengths in whole-lake experiments." *Ecological Monographs* 69(2): 155-175.
- Powers, D. A. (1989). "Fish as model systems." *Science* 246(4928): 352.
- Preuss, T. G., M. Hammers-Wirtz, U. Hommen, M. N. Rubach et H. T. Ratte (2009). "Development and validation of an individual based *Daphnia magna* population model: The influence of crowding on population dynamics." *Ecol. Modell.* 220(3): 310-329.
- Price, C. A., J. S. Weitz, V. M. Savage, J. Stegen, A. Clarke, D. A. Coomes, P. S. Dodds, R. S. Etienne, A. J. Kerkhoff, K. McCulloh, K. J. Niklas, H. Olf et N. G. Swenson (2012). "Testing the metabolic theory of ecology." *Ecology Letters* 15(12): 1465-1474.
- Pyke, G. H. (2005). "A Review of the Biology of *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*." *Rev. Fish. Biol. Fisher.* 15(4): 339-365.

- Qiang, L., J. Cheng, J. Yi, J. M. Rotchell, X. Zhu et J. Zhou (2016). "Environmental concentration of carbamazepine accelerates fish embryonic development and disturbs larvae behavior." *Ecotoxicology* 25(7): 1426-1437.
- Quesenberry, N. J., P. J. Allen et J. J. Cech Jr (2007). "The influence of turbidity on three-spined stickleback foraging." *J. Fish Biol.* 70(3): 965-972.
- Raeymaekers, J. A. M., M. Boisjoly, L. Delaire, D. Berner, K. RÄSÄNEN et A. P. Hendry (2010). "Testing for mating isolation between ecotypes: laboratory experiments with lake, stream and hybrid stickleback." *Journal of Evolutionary Biology* 23(12): 2694-2708.
- Railsback, S. F. et V. Grimm (2011). *Agent-Based and Individual-Based Modeling. A Practical Introduction*, Princeton University Press.
- Räsänen, K. et A. P. Hendry (2014). "Asymmetric reproductive barriers and mosaic reproductive isolation: insights from Misty lake-stream stickleback." *Ecol. Evol.* 4(7): 1166-1175.
- Riddell, J. et M. M. Webster (2017). "How does hunger affect convergence on prey patches in a social forager?" *Ethology* 123(11): 811-817.
- Rochet, M.-J., P.-A. Cornillon, R. Sabatier et D. Pontier (2000). "Comparative analysis of phylogenetic and fishing effects in life history patterns of teleost fishes." *Oikos* 91(2): 255-270.
- Rose, K. A., J. H. Cowan Jr, K. O. Winemiller, R. A. Myers et R. Hilborn (2001). "Compensatory density dependence in fish populations: importance, controversy, understanding and prognosis." *Fish and Fisheries* 2(4): 293-327.
- Roussel, H. (2005). *Les effets du cuivre sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques : Une étude en mésocosmes lotiques*, Université Toulouse III - Paul Sabatier.
- Roussel, H., S. Joachim, S. Lamothe, O. Palluel, L. Gauthier et 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*)." *Aquat. Toxicol.* 82(4): 272-280.
- Roussel, H., L. Ten-Hage, S. Joachim, R. Le Cohu, L. Gauthier et J. M. Bonzom (2007). "A long-term copper exposure on freshwater ecosystem using lotic mesocosms: Primary producer community responses." *Aquat. Toxicol.* 81(2): 168-182.
- Rudén, C., J. Adams, M. Ågerstrand, T. C. M. Brock, V. Poulsen, C. E. Schlekat, J. R. Wheeler et T. R. Henry (2017). "Assessing the relevance of ecotoxicological studies for regulatory decision making." *Integr. Environ. Assess. Manag.* 13(4): 652-663.
- Rudman, S. M. et D. Schluter (2016). "Ecological Impacts of Reverse Speciation in Threespine Stickleback." *Current Biology* 26(4): 490-495.
- Sadoul, B., S. Augustine, E. Zimmer, M. L. Bégout et M. M. Vijayan (2019). "Prediction of long-term variation in offspring metabolism due to BPA in eggs in rainbow trout using the DEB model." *J. Sea Res.* 143: 222-230.
- Saltelli, A., P. Annoni, I. Azzini, F. Campolongo, M. Ratto et S. Tarantola (2010). "Variance based sensitivity analysis of model output. Design and estimator for the total sensitivity index." *Comput. Phys. Commun.* 181(2): 259-270.
- Saltelli, A., K. Chan et E. M. Scott (2008). *Sensitivity Analysis*.
- Saltelli, A., S. Tarantola et K. P. S. Chan (1999). "A Quantitative Model-Independent Method for Global Sensitivity Analysis of Model Output." *Technometrics* 41(1): 39-56.
- Sanderson, H. (2002). "Pesticide studies." *Environ. Sci. Pollut. Res.* 9(6): 429-435.
- Schmolke, A., P. Thorbek, P. Chapman et V. Grimm (2010). "Ecological models and pesticide risk assessment: Current modeling practice." *Environ. Toxicol. Chem.* 29(4): 1006-1012.

- Seehausen, O. (2006). "Conservation: Losing Biodiversity by Reverse Speciation." *Current Biology* 16(9): R334-R337.
- Shaw, J. L., M. Moore, J. H. Kennedy et I. R. Hill (1994). *Design and statistic analysis of field aquatic mesocosm studies.*, Lewis, BocaRaton.
- Smith, C. et R. J. Wootton (1999). "Parental energy expenditure of the male three-spined stickleback." *J. Fish Biol.* 54(5): 1132-1136.
- Sobol', I. M., S. Tarantola, D. Gatelli, S. S. Kucherenko et W. Mauntz (2007). "Estimating the approximation error when fixing unessential factors in global sensitivity analysis." *Reliab. Eng. Syst. Safe.* 92(7): 957-960.
- Sobol', I. M. (2001). "Global sensitivity indices for nonlinear mathematical models and their Monte Carlo estimates." *Mathematics and Computers in Simulation* 55(1): 271-280.
- Sohoni, P., C. R. Tyler, K. Hurd, J. Caunter, M. Hetheridge, T. Williams, C. Woods, M. Evans, R. Toy, M. Gargas et J. P. Sumpter (2001). "Reproductive Effects of Long-Term Exposure to Bisphenol A in the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*)." *Environmental Science & Technology* 35(14): 2917-2925.
- Sokołowska, E. a. K., E. (2006). "Annual reproductive cycle in two free living populations of three-spined stickleback, patterns of ovarian and testicular development." *Oceanologia* 48: 103-121.
- Soubeyrand, S., R. Beaudouin, N. Desassis et G. Monod (2007). "Model-based estimation of the link between the daily survival probability and a time-varying covariate, application to mosquitofish survival data." *Math. Biosci.* 210(2): 508-522.
- Stanley, B. V. et R. J. Wootton (1986). "Effects of ration and male density on the territoriality and nest-building of male three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.)." *Anim. Behav.* 34(2): 527-535.
- Taylor, E. B., J. W. Boughman, M. Groenenboom, M. Sniatynski, D. Schluter et J. L. Gow (2006). "Speciation in reverse: morphological and genetic evidence of the collapse of a three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) species pair." *Molecular ecology* 15(2): 343-355.
- Thiele, J. C., W. Kurth et V. Grimm (2012). "RNETLOGO: an R package for running and exploring individual-based models implemented in NETLOGO." *Methods Ecol. Evol.* 3(3): 480-483.
- Thiele, J. C., W. Kurth et 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(3): 11.
- Thomas, G. (1974). "The influences of encountering a food object on subsequent searching behaviour in *Gasterosteus aculeatus* L." *Anim. Behav.* 22: 941-952.
- Thybaud, E., V. Petit-Poulsen, G. Monod, L. Lagadic et T. Caquet (1999). "Utilisation de mésocosmes comme outils d'aide à l'évaluation des risques écotoxicologiques." *Colloque PNETOX "Préserver et améliorer la qualité des milieux"*; 74-90.
- Toli, E. A., F. C. Calboli, T. Shikano et J. Merila (2016). "A universal and reliable assay for molecular sex identification of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*)." *Molecular Ecology Resources* 16(6): 1389-1400.
- Tollefsen, K. E., S. Scholz, M. T. Cronin, S. W. Edwards, J. de Knecht, K. Crofton, N. Garcia-Reyero, T. Hartung, A. Worth et G. Patlewicz (2014). "Applying Adverse Outcome Pathways (AOPs) to support Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA)." *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 70(3): 629-640.
- Topping, C. J., T. Dalkvist et V. Grimm (2012). "Post-Hoc Pattern-Oriented Testing and Tuning of an Existing Large Model: Lessons from the Field Vole." *PLoS One* 7(9): e45872.

- Topping, C. J., T. S. Hansen, T. S. Jensen, J. U. Jepsen, F. Nikolajsen et P. Odderskær (2003). "ALMaSS, an agent-based model for animals in temperate European landscapes." *Ecol. Modell.* 167(1): 65-82.
- Topping, C. J., T. T. Høye et C. R. Olesen (2010). "Opening the black box—Development, testing and documentation of a mechanistically rich agent-based model." *Ecol. Modell.* 221(2): 245-255.
- Topping, C. J. et R. Luttik (2017). "Simulation to aid in interpreting biological relevance and setting of population-level protection goals for risk assessment of pesticides." *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 89: 40-49.
- van den Assem, J. (1967). "Territory in the Three-Spined Stickleback *Gasterosteus aculeatus* L.: An Experimental Study in Intra-Specific Competition." *Behaviour. Supplement*(16): III-164.
- van der Oost, R., J. Beyer et N. P. Vermeulen (2003). "Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review." *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13(2): 57-149.
- van der Vaart, E., M. A. Beaumont, A. S. A. Johnston et R. M. Sibly (2015). "Calibration and evaluation of individual-based models using Approximate Bayesian Computation." *Ecol. Modell.* 312(Supplement C): 182-190.
- van der Vaart, E., A. S. A. Johnston et R. M. Sibly (2016). "Predicting how many animals will be where: How to build, calibrate and evaluate individual-based models." *Ecol. Modell.* 326(Supplement C): 113-123.
- van der Veer, H. W. (1986). "Immigration, settlement, and density-dependent mortality of a larval and early postlarval 0-group plaice (*Pleuronectes platessa*) population in the western Wadden Sea." *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 29(3): 223-236.
- Van Iersel, J. J. A. (1953). "An Analysis of the Parental Behaviour of the Male Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus Aculeatus* L.)." *Behaviour. Supplement*(3): III-159.
- Vasseur, P. (2017). Modes d'action en écotoxicologie. *Les effets écotoxicologiques de la molécule à la population*. I. éditions: 242.
- Vethaak, A. D., J. G. Jol, A. Meijboom, M. L. Eggens, T. Rheinallt, P. W. Wester, T. van de Zande, A. Bergman, N. Dankers, F. Ariese, R. A. Baan, J. M. Everts, A. Opperhuizen et J. M. Marquenie (1996). "Skin and liver diseases induced in flounder (*Platichthys flesus*) after long-term exposure to contaminated sediments in large-scale mesocosms." *Environmental health perspectives* 104(11): 1218-1229.
- Via, S. et R. Lande (1985). "Genotype-Environment Interaction and the Evolution of Phenotypic Plasticity." *Evolution* 39(3): 505-522.
- Villeneuve, D. (2016). "Adverse Outcome Pathway on Aromatase Inhibition Leading to Reproductive Dysfunction (in Fish)."
- Vlaeminck, K., K. P. J. Viaene, P. Van Sprang, S. Baken et K. A. C. De Schampelaere (2019). "The Use of Mechanistic Population Models in Metal Risk Assessment: Combined Effects of Copper and Food Source on *Lymnaea stagnalis* Populations." *Environ. Toxicol. Chem.* 38(5): 1104-1119.
- Wallace, R. A. et K. Selman (1979). "Physiological aspects of oogenesis in two species of sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* L. and *Apeltes quadracus* (Mitchill)." *J. Fish Biol.* 14(6): 551-564.
- Walters, C. J. et J. R. Post (1993). "Density-Dependent Growth and Competitive Asymmetries in Size-Structured Fish Populations: A Theoretical Model and Recommendations for Field Experiments." *Trans. Am. Fish. Soc.* 122(1): 34-45.
- Ward, A. J. W., M. M. Webster et P. J. B. Hart (2006). "Intraspecific food competition in fishes." *Fish and Fisheries* 7(4): 231-261.

- Weber, J. N., G. S. Bradburd, Y. E. Stuart, W. E. Stutz et D. I. Bolnick (2017). "Partitioning the effects of isolation by distance, environment, and physical barriers on genomic divergence between parapatric threespine stickleback." *Evolution* 71(2): 342-356.
- Weston, H. N. et R. W. Drenner (2000). "Context-Dependent Effects of Bluegill in Experimental Mesocosm Communities." *Oecologia* 122(3): 421-426.
- Wootton, R. J. (1972). "The Behaviour of the Male Three-Spined Stickle-Back in a Natural Situation." *Behaviour* 41(3-4): 232-241.
- Wootton, R. J. (1973). "The effect of size of food ration on egg production in the female three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L." *J. Fish Biol.* 5(1): 89-96.
- Wootton, R. J. (1973). "Fecundity of the three-spined stickleback." *J. Fish Biol.* 5: 683-688.
- Wootton, R. J. (1976). *The Biology of the Sticklebacks*.
- Wootton, R. J. (1984). *A Functional Biology of Sticklebacks*. University of Sheffield, England.
- Wootton, R. J. (1994). Energy allocation in the threespine stickleback. The evolutionary biology of the threespine stickleback, Oxford University Press. Chapter 5: 114-143.
- Wootton, R. J. (1999). *Ecology of Teleost Fishes*, Kluwer Academic Publishers.
- Wootton, R. J. (2009). "The Darwinian stickleback *Gasterosteus aculeatus*: a history of evolutionary studies." *J Fish Biol* 75(8): 1919-1942.
- Wootton, R. J., J. R. M. Allen et S. J. Cole (1980). "Effect of body weight and temperature on the maximum daily food consumption of *Gasterosteus aculeatus* L. and *Phoxinus phoxinus* (L.): selecting an appropriate model." *J. Fish Biol.* 17(6): 695-705.
- Wootton, R. J. et D. A. Fletcher (2009). "Effect of spawning number and ration on reproductive performance of the batch-spawning three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*." *J Fish Biol* 75(3): 618-629.
- Wootton, R. J. et C. Smith (2000). "A Long-Term Study of a Short-Lived Fish: The Demography of *Gasterosteus aculeatus*." *Behaviour* 137(7/8): 981-997.
- Yeates-Burghart, Q. S., C. O'Brien, W. A. Cresko, C. M. Holzapfel et W. E. Bradshaw (2009). "Latitudinal variation in photoperiodic response of the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* in western North America." *J. Fish Biol.* 75(8): 2075-2081.
- Zimmer, E. I., T. G. Preuss, S. Norman, B. Minten et V. Ducrot (2018). "Modelling effects of time-variable exposure to the pyrethroid beta-cyfluthrin on rainbow trout early life stages." *Environmental Sciences Europe* 30(1): 36.

Annexes

Annexe 1 : Supporting Information (Article 1)

Table of contents

Section 1. Mesocosm experiments.....	256
Male and female founder characteristics.....	256
Introduction of macroinvertebrates and zooplankton in mesocosms.....	256
Samplings of macroinvertebrates and zooplankton.....	257
Section 2. DEB model.....	258
DEB model calibration.....	259
Calibration of the inter-individual variability of the DEB model.....	259
Section 3. Integration of the temperature scenario.....	260
Inter-mesocosm variability of the temperature.....	260
Intra-mesocosm variability of the temperature.....	260
Discretization of the semi-continuous temperature scenario.....	261
Temperature scenario characteristics.....	262
Section 4. Integration of the food scenario.....	263
Uncertainties of the zooplankton samples.....	263
Uncertainties of the macroinvertebrate samples.....	265
Global uncertainties for the food scenario.....	267
Diet of sticklebacks.....	268
Conversion of the prey abundance into energy.....	270
Script.....	272
References.....	275

Section 1. Mesocosm experiments

Male and female founder characteristics

Table S1. Male and female characteristics at the beginning and end of experiments.

Experiment	Δt (d)	N_i female	N_i male	N_f female	N_f male	L_i female		L_i male		L_f female		L_f male	
						Mean (mm)	Sd	Mean (mm)	Sd	Mean (mm)	Sd	Mean (mm)	Sd
1	210	165	110	83 (106)	39 (57)	51.41	± 4.21	49.25	± 2.11	62.06	± 3.71	55.08	± 3.11
2	213	165	110	72 (105)	37 (72)	42.46	± 1.69	42.37	± 2.38	56.14	± 3.71	49.68	± 3.13

N_i and N_f are the initial and final number of sticklebacks in the experiments, N_f refers to the founder sticklebacks which still had their tag and N_f between parentheses refers to the total number of sticklebacks for each experiment which were probably founders considering their length compared to the other fish in the mesocosms. Initial and final length (L_i and L_f respectively) are only given for the founders which still had their tag at the end of the experiments.

Population characteristics

Table S2. Population characteristics.

Experiment	Number of populations	Number of individuals (per population)	Mean length of fish born in all mesocosms (mm)
1	11	872 \pm 183	25.03 \pm 7.21
2	11	931 \pm 136	23.32 \pm 6.99

Introduction of macroinvertebrates and zooplankton in mesocosms.

Before the introduction of sticklebacks in the mesocosms in each experiment, the mesocosms were set up with macroinvertebrates and zooplankton. In November, zooplankton as well as periphyton were introduced in each mesocosm by sieving 36 litres of water with a mesh of 50 μm . The water was collected from an unpolluted artificial pond located next to the mesocosm platform. *Gammarus pulex* was introduced into each mesocosm (80 g, i.e. about 340 individuals per mesocosm). In December, 200 individuals of *Asellus aquaticus* were introduced into each mesocosm. At the same time, the gastropods *P. antipodorum*, *P. planorbis* and *R. balthica* were introduced into each mesocosm. (200, 17 and 50 individuals per mesocosm, respectively). Finally, each mesocosm received 8 *Notonecta*, 6 *Glossiphonia complanata* and 4 *Erpobdella octoculata*. These macroinvertebrates came from an unpolluted artificial pond located next to the mesocosm platform or from former unpolluted mesocosms. Other invertebrates, such as *Chironomidae* larvae, naturally colonized the mesocosms.

Samplings of macroinvertebrates and zooplankton.

Zooplankton was sampled every 4 weeks for each experiment with a Perspex tube of 5 cm in diameter and 0.8 m in height. A water sample was taken every meter with a total of 6 L and 19 L of water respectively in the upstream (upper section) and downstream (lower section) of the mesocosm. The collected water was sifted with a 1 mm and 50 μm mesh one after the other. The 1 mm mesh was used to take out most of the filamentous algae. 70% ethanol was then used in order to preserve the individuals.

Samples were treated with a pink dye (Rose Bengal, Sigma Aldrich) in order to tint biological materials thus allowing to optimize species identification. Subsamples of 2 mL were then collected. All individuals were enumerated and identified for the first three subsamples. If necessary, further subsamples were processed in order to have a coefficient of variation corresponding to a sub-sampling error lower than 10 %. No more than eight subsamples were analyzed.

Macroinvertebrates were sampled every 4 weeks using two types of artificial substrates (tubes and tiles). Tube substrates were composed of seven tubes (2 cm wide and 20 cm long). Tiles were 11 cm long, 16 cm wide and 1.5 cm in thickness. Ten tubes and ten tiles were placed horizontally on the bottom of each mesocosm. The tubes were placed at 0.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, and 18 meters from the inlet of the water and the tiles were placed at 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 and 19 meters from the inlet of the water. This arrangement follows a sampling plan alternating sides and middle of each mesocosm in order to sample the largest number of individuals according to their habitat preferences. On each sampling date, the artificial substrates were removed one by one from each mesocosm using a landing net. The upper and lower sections were sampled separately. The substrates were washed and scratched in order to retrieve all the macroinvertebrates. Mesocosm walls were also scrubbed twice on both sides (1 and 13 meters from the inlet of the water for one side of the mesocosms and 7 and 19 meters for the second side) to collect macroinvertebrates which lived there. The samples were then sifted with a 500 μm mesh and kept in water. Identification and enumeration were performed immediately after sampling. Macroinvertebrates were identified to the lowest practical taxonomic level. The abundance of macroinvertebrates was recorded by length classes for several species including *Asellus aquaticus* and *Gammarus pulex*. The macroinvertebrates and the artificial substrates were then put back in each mesocosm at the exact places where they had been sampled.

Table S3. Size class for macroinvertebrate species found in the samples

Macroinvertebrates	Small (mm)	Medium (mm)	Large (mm)
<i>Gammarus pulex</i>	<5	-	5 < X < 20
<i>Asellus aquaticus</i>	<5	-	5 < X < 15

Section 2. DEB model

$$\text{Reserve density: } \frac{d[E]}{dt} = \frac{\{\dot{p}_{Am}\}}{L} \times (f - e) \text{ with } e = \frac{[E]}{[E_m]} \quad (1)$$

$$\text{Structural length: } \frac{dL}{dt} = \frac{\dot{v}}{3*(e+g)} \times \left(e - \frac{L}{L_m} \right) \quad (2)$$

$$\text{Maturity level: } \frac{dE_H}{dt} = \frac{(1-\kappa) \times (g * E)}{(g+e)} \times (\dot{v} \times L^2 + \dot{k}_M \times L^3) - (\dot{k}_J \times E_H)$$

$$\text{if } E_H < E_H^p \text{ else } \frac{dE_H}{dt} = 0 \quad (3)$$

$$\text{Cumulative number of eggs: } \frac{dR}{dt} = \frac{\kappa_R}{E_0} \times \left(\frac{(1-\kappa) \times (g * E)}{(g+e)} \times (\dot{v} \times L^2 + \dot{k}_M \times L^3) - (\dot{k}_J \times E_H^p) \right)$$

$$\text{if } E_H = E_H^p \text{ else } \frac{dR}{dt} = 0 \quad (4)$$

With

$$L_m = \frac{\dot{v}}{\dot{k}_M \times g}, \text{ the maximum structural length}$$

$$[E_m] = \frac{\{\dot{p}_{Am}\}}{\dot{v}}, \text{ the maximum reserve density}$$

$$g = \frac{[E_G]}{\kappa \times [E_m]}, \text{ the energy investment ratio}$$

$$\dot{k}_M = \frac{[\dot{p}_M]}{[E_G]}, \text{ the somatic maintenance rate coefficient}$$

For male sticklebacks, $\kappa_{male} = \kappa - \alpha$ with κ the specific fraction of energy mobilized from reserve allocated to growth and somatic maintenance and α the fraction subtracted from κ to obtain κ in males after maturity.

Definitions of the parameters are given in the Appendix.

To take into account that physiological processes depend on the environmental temperature, five DEB parameters ($v, \{\dot{p}_{Am}\}, [\dot{p}_M], \dot{k}_J$ and φ) were corrected with a temperature correction function. This temperature function is the same than in Leloutre et al. (2018) and was provided for sticklebacks by Hovel et al. (2015). The temperature function is given by the following equations:

$$T_{effect} = \left(\frac{T_{max} - T_{exp}}{T_{max} - T_{opt}} \right)^X \times e^{X - X \left(\frac{T_{max} - T_{exp}}{T_{max} - T_{opt}} \right)} \quad (5)$$

$$X = \frac{Z^2 \times \left(1 + \sqrt{1 + \frac{40}{Y}} \right)^2}{400} \quad (6)$$

$$Z = \log(Cq) \times (T_{max} - T_{opt}) \quad (7)$$

$$Y = \log(Cq) \times (T_{max} - T_{opt} + 2) \quad (8)$$

DEB model calibration

The calibration of the DEB model was performed using the software R 3.3.1 with the coda package (Plummer et al. 2016) and MCSim, which is designed for Bayesian inference through Markov Chain Monte Carlo (MCMC) (Bois 2009). We performed three independent MCMC and the quality of convergence was checked by calculating the Gelman–Rubin index (Gelman and Rubin 1992). The likelihood functions and the *a priori* distribution were the same as in Leloutre et al. (2018). The data used for the calibration are the same as in Leloutre et al. (2018), except for the re-calibration of the parameter α for males where the data on male length during the experiment 1 were used (Table S1).

Calibration of the inter-individual variability of the DEB model

The inter-individual variability of the energy budget was calibrated considering that the parameters related to the feeding processes (surface-area-specific maximum assimilation rate $\{pAm\}$ and the proportionality factor to be fed ad libitum ϕ) were individual-specific. As the founders were adult and mature during the experiments, the inter-individual variability on the parameters related to the maturity level could not be calibrated.

We made the calibration on the female length data of the experiment 1. Indeed, we used the initial and final lengths of each individual (83 individuals). Each individual was fitted separately, yielding one set of parameters for each. Here, $\{pAm\}$ and ϕ were assumed to be distributed log-normally around a “population” mean with a “population” standard deviation. The standard deviation in logscale was sampled from a truncated normal distribution. The geometric population means themselves were specified with the prior distributions found during the calibration with laboratory experiments (Appendix). Both the “population” mean and geometric variance were estimated together with the individual values. At the end, a set of parameters was obtained for each individual with one set of “population” averages as well as a set of “population” variances.

Markov-chain Monte Carlo (MCMC) simulations were performed using GNU MCSim version 5.5.0 (<http://www.gnu.org/software/mcsim>). Three MCMC chains were run in parallel for 100,000 iterations. Their convergence was checked by calculating the criterion of Gelman and Rubin (Gelman and Rubin 1992).

Section 3. Integration of the temperature scenario

Inter-mesocosm variability of the temperature.

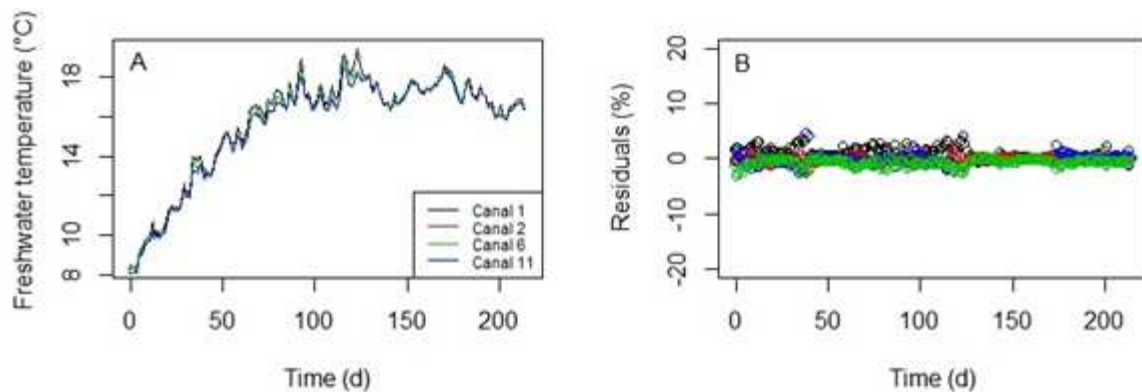


Figure S1. (A) Example of temperatures recorded every 10 minutes by Temp5 in four mesocosms. (B) Temperature differences between each mesocosm and the overall mean temperature recorded every 10 minutes by all Temp5.

Intra-mesocosm variability of the temperature.

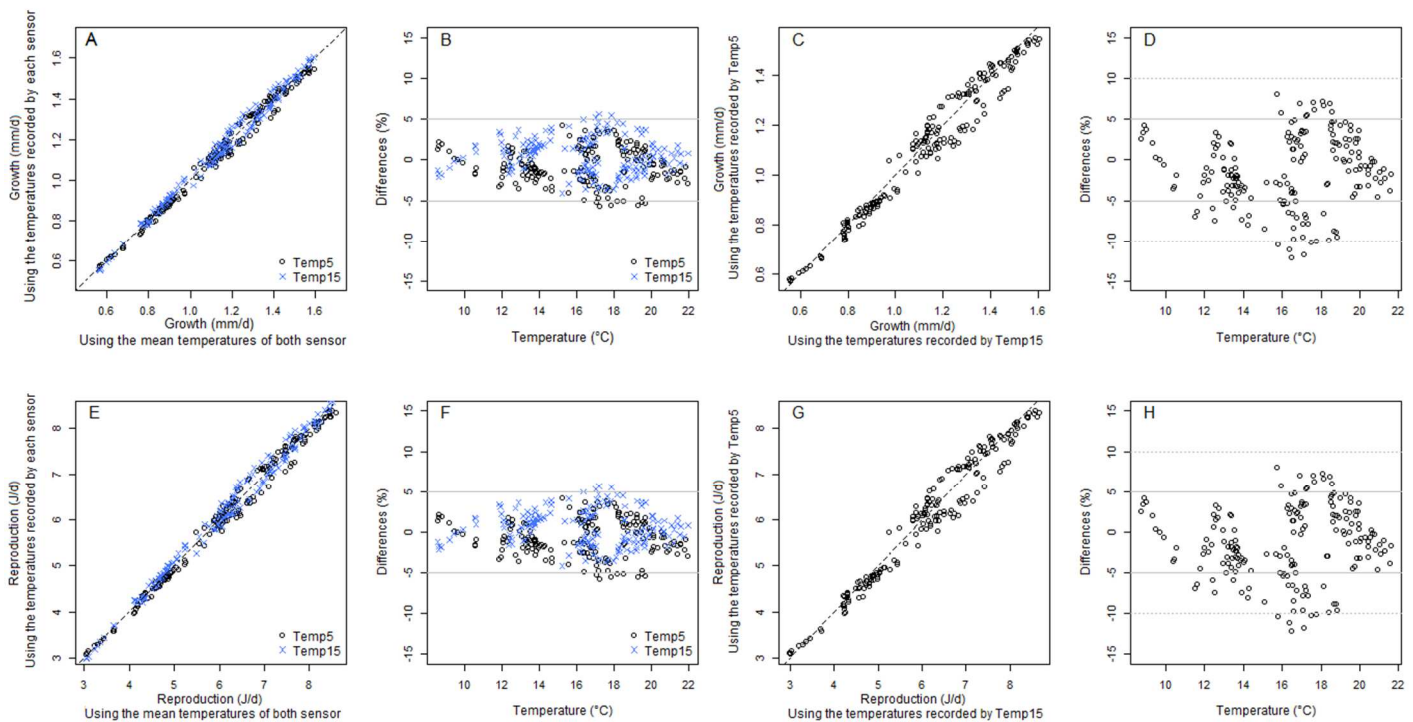


Figure S2. Compared predictions (A, C, E, G) and relative differences (B, D, F, H) of the DEB simulations using the temperature measured by Temp5, Temp15 or the mean temperatures of both sensors. On the upper part, the results are given for the growth and on the lower part, they are given for reproduction. On graph A, B, E, F, the growth and reproduction per day calculated with temperatures from Temp5 or Temp15 are compared to the growth and reproduction calculated with the mean temperatures of both sensors. On graph C, D, G, H, the growth and reproduction per day calculated with the temperatures from Temp5 are compared to the growth and reproduction calculated with the temperatures from Temp15. The calculations were made with the temperatures recorded every 10 minutes but the representation is given per day to be readable.

Discretization of the semi-continuous temperature scenario.

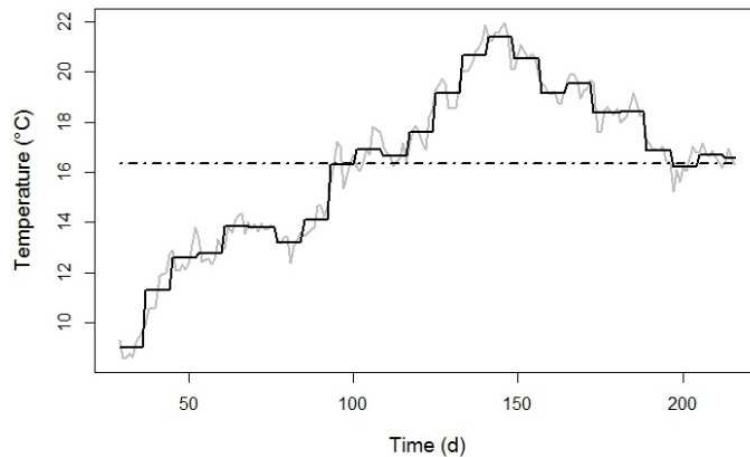


Figure S3. Example of a scenario of water temperature computed for DEB simulation from observed data (recorded every 10 min) with three different time steps: mean temperatures per day (grey line), per week (black full line), and over the entire experiment (black dotted line).

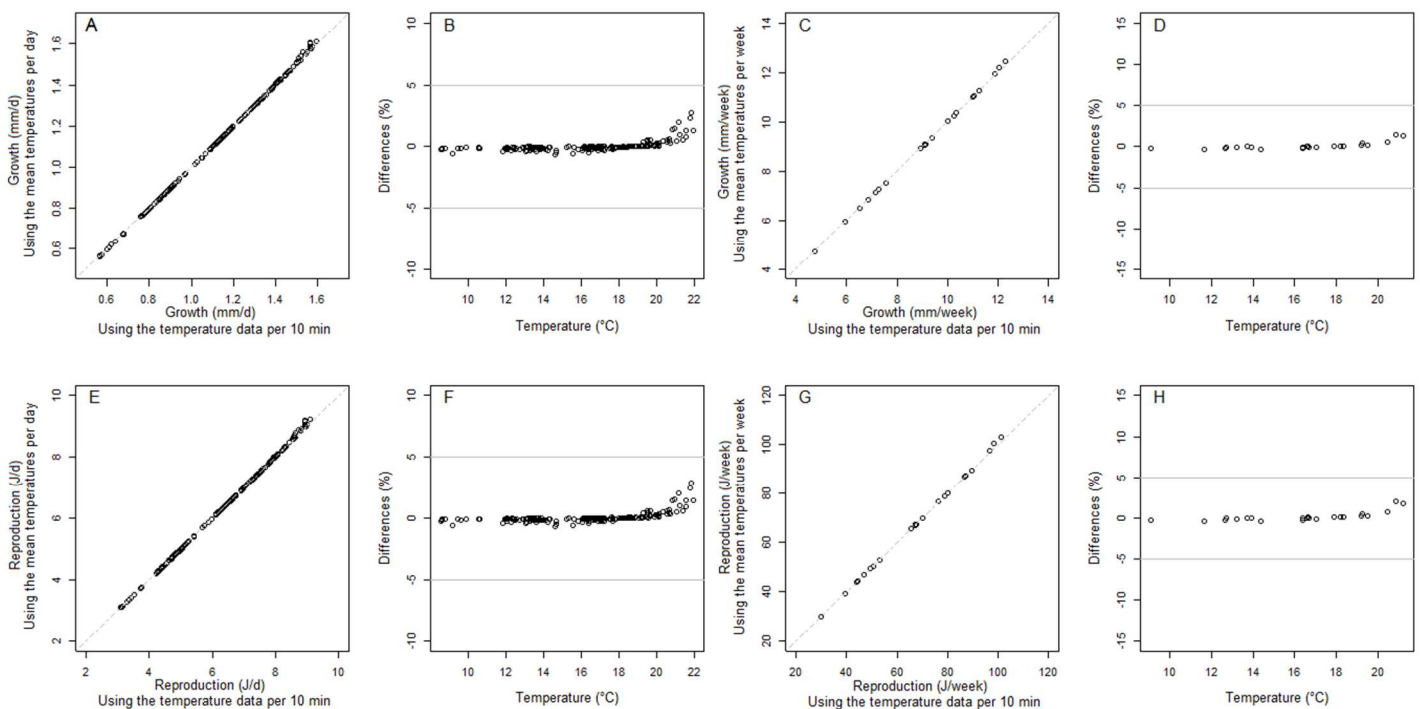


Figure S4. Compared predictions (A, C, E, G) and relative residuals (B, D, F, H) of the DEB simulations using different discretization of the temperature data. On the upper part, the results are given for growth and on the lower part, they are given for reproduction. On graph A, B, E, F, growth and reproduction per day are compared to growth and reproduction calculated with the mean temperatures recorded every 10 minutes of Temp5 and Temp15. On graph C, D, G, H, growth and reproduction per week are compared to growth and reproduction calculated with the mean temperatures recorded every 10 minutes of Temp5 and Temp15.

*Temperature scenario characteristics***Table S4.** Characteristics of the temperature scenario chosen for both experiments.

Experiment	Temperature (°C)			
	Mean	sd	min	max
1	15.9	3.6	7.0	21.5
2	15.7	2.8	7.7	19.4

Section 4. Integration of the food scenario

Uncertainties of the zooplankton samples.

Table S5. Raw data of the 13 water samples performed in the mesocosm upstream

Location	Water sample location	Rotifera	Cladocera	Nauplii	Copepoda
1 m	Center	527	0	0	1
1 m	Center	446	0	0	1
1 m	Center	430	0	0	1
2 m	Center	143	1	1	1
2 m	Center	142	0	9	1
2 m	Center	120	1	3	1
2 m	Side	20	1	3	1
2 m	Side	23	0	1	1
2 m	Side	20	0	0	0
3 m	Center	78	3	5	1
3 m	Center	85	1	8	0
3 m	Center	86	2	5	1
4 m	Center	83	0	3	2
4 m	Center	66	0	0	0
4 m	Center	68	0	4	0
5 m	Center	43	0	2	1
5 m	Center	50	1	3	1
5 m	Center	54	0	3	1
2 m	Side	16	0	0	0
2 m	Side	11	1	0	0
2 m	Side	17	1	1	0
6 m	Center	137	1	1	0
6 m	Center	125	1	5	1
6 m	Center	134	3	5	3
6m	Side	34	0	3	0
6m	Side	26	1	0	1
6m	Side	26	0	2	1
7 m	Center	36	2	2	1
7 m	Center	41	2	3	0
7 m	Center	29	1	4	0
8 m	Center	45	2	8	2
8 m	Center	30	4	9	3
8 m	Center	42	3	5	0
9 m	Center	44	6	5	1
9 m	Center	36	6	8	1
9 m	Center	35	2	4	1
9m	Side	19	4	1	3
9m	Side	13	3	0	1
9m	Side	20	0	2	0

Uncertainty of the mesocosm samples. Data collected from ecosystems contain uncertainty due to the natural dynamics of ecosystems, the technical and economical restraints related to the sampling protocol, and the statistical methods used to analyze the data (Blukacz et al. 2005). To test the uncertainty of the zooplankton mesocosm sampling method, exceptionally, 13 water samples performed in the upstream of one mesocosm were analyzed independently for four different taxa (3 laboratory sub-samples were performed). The 13 water samples were used to predict the uncertainty of the methodology which is based on 57 water samples (SI Table S5). To this purpose 10,000 simulated groups of 57 samples were randomly drawn using re-sampling method with replacement.

Table S6. 80% and 95% confidence interval of the ratio between the abundance estimation and prediction using 57 water samples

	Percentile			
	2.5%	10%	90%	97.5%
<i>Rotifera</i>	0.69	0.78	1.23	1.37
<i>Cladocera</i>	0.75	0.83	1.17	1.27
<i>Nauplii</i>	0.82	0.88	1.12	1.19
<i>Copepoda</i>	0.87	0.92	1.08	1.12

According to these simulations, our mesocosm sampling methodology assesses 80 % of abundances estimated with an error less than 23%, 17%, 12% and 8% for the four taxa. However, this first estimation could under-estimate the real uncertainty, if the 13 real water samples did not represent all possible water samples.

Uncertainty of the laboratory sub-samples. Three subsamples were analyzed in laboratory to estimate the abundance of the zooplankton in the entire sample. If necessary, further subsamples were processed in order to have a coefficient of variation corresponding to a sub-sampling error lower than 10 %. Thus, in the uncertainty analysis, we considered that the laboratory error cannot be above 10% by using a truncnormal distribution.

Global uncertainty on zooplankton. Global uncertainty was calculated by resampling the two uncertainty distributions and using the following equations:

$$x' = x + xErr_{meso} \quad (5)$$

$$x'' = x' + x'Err_{lab} \quad (6)$$

$$x'' = x(1 + Err_{meso} + Err_{lab} + Err_{meso}Err_{lab}) \quad (7)$$

$$\frac{x''-x}{x} = (Err_{meso} + Err_{lab} + Err_{meso}Err_{lab}) \quad (8)$$

With x the real abundance, x' the abundance estimated by the mesocosm sampling stage, x'' the abundance estimated by the laboratory sub-sampling stage. Err_{meso} and Err_{lab} are the relative error (Pred-Obs)/Obs) at the mesocosm and laboratory stage, respectively.

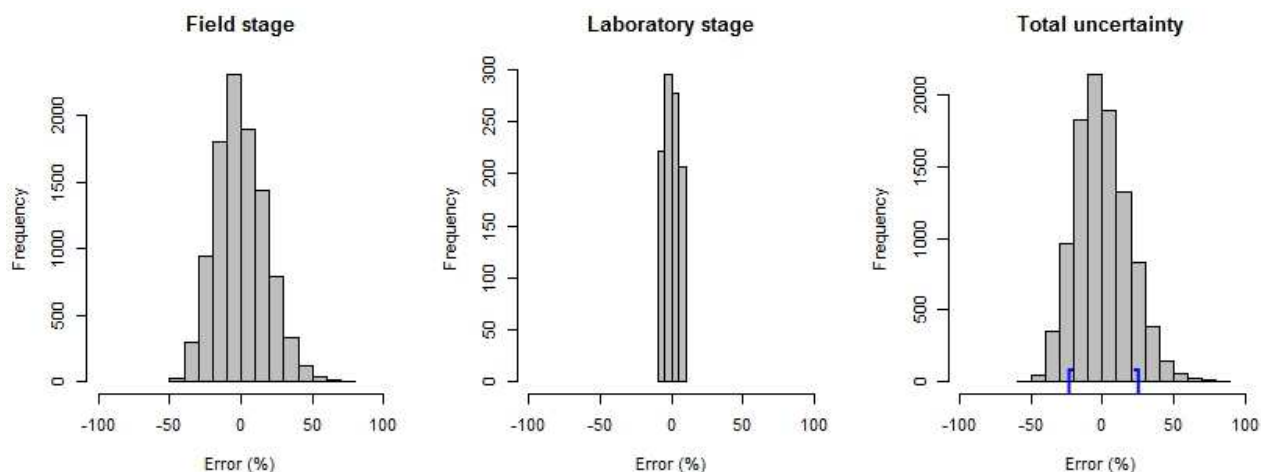


Figure S5. Relative error $((\text{Obs}-\text{Pred})/\text{Obs} \times 100)$ in mesocosm stage, laboratory stage, and overall for *Rotifera* data. Blue brackets represent 80% of the estimated abundance.

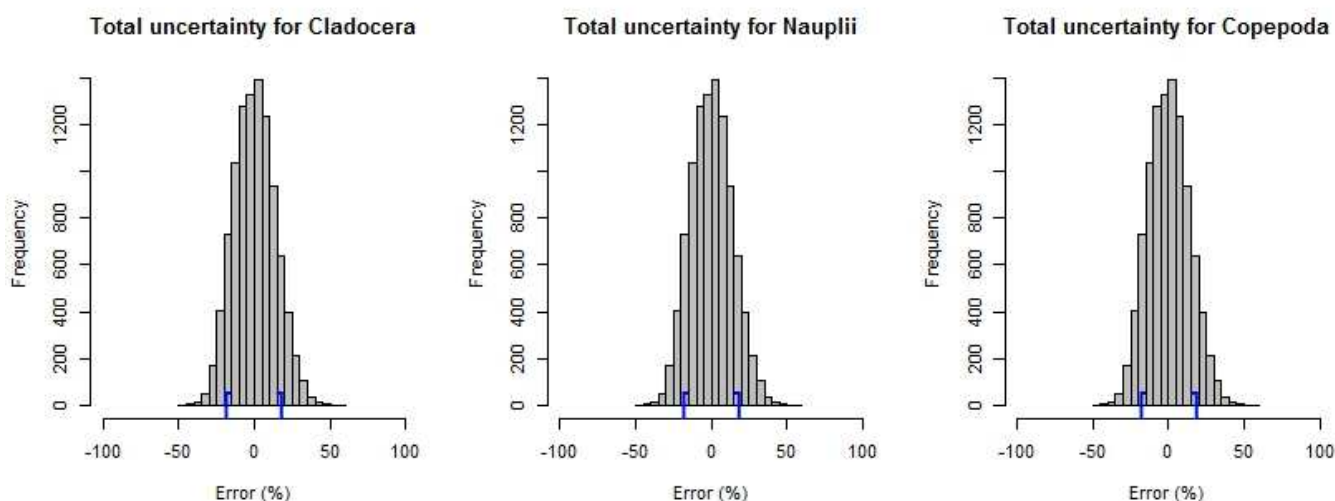


Figure S6. Global uncertainty $((\text{Obs}-\text{Pred})/\text{Obs} \times 100)$ for *Cladocera*, *Nauplii* and *Copepoda*. Blue brackets represent 80% of the estimated abundance.

According to these simulations, our mesocosm sampling methodology assesses 80 % of abundances estimated with an error less than 25%, 18%, 15% and 11% for *Rotifera*, *Cladocera*, *Nauplii* and *Copepoda* respectively.

Uncertainties of the macroinvertebrate samples.

To quantify the uncertainty on species abundance estimation of macroinvertebrates, for a limited number of traps (tubes, tiles or scrubbed walls, see SI Section 1), the abundances of macroinvertebrates were measured individually after four weeks of colonization on the sampling devices (before the introduction of sticklebacks in the mesocosms in experiment 2). For each location in each mesocosm (four locations per traps), 5 replicates of samples were made to have a mean abundance per location. Based on this mean data, the uncertainty due to the mesocosm samplings was assessed by a bootstrap with replacement ($n=10,000$) respecting the proportion of the different sampling devices in each mesocosm, and using data collected on the most abundant species in the mesocosms at the sample date (*Stylaria lacustris*).

Table S7. Mean macroinvertebrate data to estimate the uncertainty of the method (samples were made at the end of march after 4 weeks of colonization on the sampling devices)

Traps	Location	Distance (m)	<i>Glossiphoniidae</i>		<i>Erpobdellidae</i>		<i>Hirudidae</i>		<i>Stylaria lacustris</i>	<i>Lumbriculus variegatus</i>	<i>Lymnaeidae radix</i>			<i>Lymnaeidae stagnicola</i>			<i>Hydrobiidae</i>		
			NA	NA	Clutch	Large	Small	NA	NA	Large	Medium	Small	Large	Medium	Small	Large	Medium	Small	
Tubes	upstream	2.5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0.8 ± 1.8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tiles	upstream	4	0 ± 0	0 ± 0	1.0 ± 1.0	0 ± 0	0 ± 0	14.2 ± 19.6	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tubes	upstream	4.5	0 ± 0	0 ± 0	0.8 ± 1.1	0 ± 0	0 ± 0	7.6 ± 9.6	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tiles	upstream	4.5	0 ± 0	0 ± 0	2.0 ± 3.5	0 ± 0	0 ± 0	0.6 ± 0.5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tubes	downstream	13	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1.4 ± 1.6	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tiles	downstream	13	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1.0 ± 1.0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tubes	downstream	11	0 ± 0	1.8 ± 3.0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1.2 ± 0.8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tiles	downstream	12	0 ± 0	0 ± 0	2.6 ± 3.1	0 ± 0	0 ± 0	0.6 ± 0.8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Wall	upstream	Side 1	0 ± 0	0.2 ± 1.0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.4 ± 0.9	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Wall	upstream	Side 2	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1.0 ± 2.3	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Wall	downstream	Side 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.4 ± 0.5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Wall	downstream	Side 2	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0.8 ± 1.1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Table S7 continued.

Traps	Location	Distance (m)	<i>Planorbe carinatus</i>			<i>Anisus vortex</i>	<i>Gasteropoda</i>	<i>Ancylus</i>	<i>Baetidae</i>	<i>Gammaridae</i>		<i>Asellidae</i>		<i>Dugesia</i>	<i>Turbellaria</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Ceratopo</i>
			Large	Medium	Small	NA	Clutch	NA	NA	Large	Small	Large	Small	NA	Clutch	NA	NA
Tubes	upstream	2.5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	1.0 ± 0.7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tiles	upstream	4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.6 ± 0.9	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0
Tubes	upstream	4.5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.4 ± 0.5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.4 ± 0.5	0 ± 0	0.6 ± 0.9	0 ± 0	1.8 ± 3.0	0 ± 0
Tiles	upstream	4.5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0
Tubes	downstream	13	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.8 ± 0.8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tiles	downstream	13	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tubes	downstream	11	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.4 ± 0.5	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tiles	downstream	12	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	1.4 ± 2.1	0 ± 0	0 ± 0	0.4 ± 0.5
Wall	upstream	Side 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.6 ± 0.9	0 ± 0
Wall	upstream	Side 2	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.4 ± 0.5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1.0 ± 1.4	0 ± 0
Wall	downstream	Side 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Wall	downstream	Side 2	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Table S8. 80% and 95% confidence interval of the ratio between the abundance estimation and prediction using 24 traps per mesocosms

	Percentile			
	2.5%	10%	90%	97.5%
<i>Stylaria lacustris</i>	-0.52	-0.35	0.40	0.62

The three sampling devices (tube, tiles or scrubbed walls) were considered independently in the simulations. The global uncertainty of the mesocosm sampling is given in Table S8 for *Stylaria lacustris* which is the most abundant species at the sampling date. This species was chosen to estimate the uncertainty of the sampling because at the sampling date (end of March), the abundance of the macroinvertebrates in the mesocosms were very low. As a consequence, very few macroinvertebrates were caught in the sampling devices. An appropriate uncertainty analysis was thus not possible for *Asellus aquaticus*, *Gammarus pulex* and *Chironomidae*.

According to these simulations, our mesocosm sampling methodology assesses 80 % of abundances estimated with an error less than 40 %.

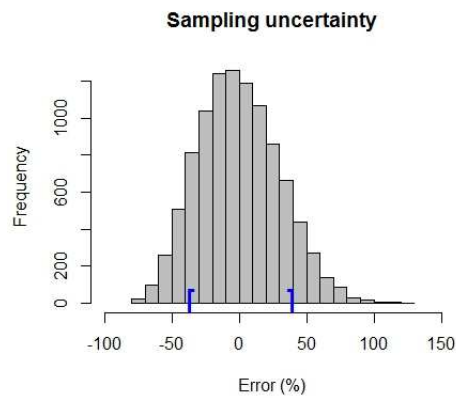


Figure S7. Relative error $((\text{Obs}-\text{Pred})/\text{Obs} \times 100)$ during the samplings on macroinvertebrates based on *Stylaria lacustris* data. Blue brackets represent 80% of the abundance estimations.

Global uncertainties for the food scenario.

Regarding the overall uncertainty for the food availability, we considered that each sampling date and each species abundance were independent and were drawn from a normal distribution with the mean and standard deviation found during the uncertainty analysis of the zooplankton and macroinvertebrate samples and we calculated the global uncertainty of the food scenario by propagation of uncertainty.

Diet of sticklebacks

Table S9. Review of the stickleback diet found in literature (Hynes 1950, Walkey 1967, Allen and Wootton 1984)

Number of sticklebacks	Composition of food (%)												
	Blegvad (1917) from Hynes (1950) 427		Hartley (1940) from Hynes (1950) 129		Hartley (1948) from Hynes (1950) 227		Hynes (1950) 1581		Walkey (1967) not specified		Allen and Wootton (1984) 240		
	Aera	Danemark (brackish water)	England (Cambridgeshire rivers)		England (Cambridgeshire rivers)		England (Berket river)		England (Monkton)		England (Llyn Frongoch)		
Arcella													
Rotifera													
Nematoda													
Invertebrate eggs etc.													
Lamellibranchia		Pelagic lamellibranch larvae	+										
Gastropoda		Gastropoda. eggs and larvae	1				Potamopyrgus antipodarum	2.7					
Annelida		Polychaeta	1			Oligochaeta	1			Annelida	0.7	Annelida	0.4
Crustacea		Higher Crustacea	41			Higher Crustacea	24			A. meridianus	0.4		
										G. pulex	1.6		
		Copepoda	27		Copepoda	23.2				Copepoda (Calanoida)	0.05	Collombola	0.4
		Ostracoda	1		Chydorus et ostracoda	5.2				Copepoda (Cyclopoida)	11.5	Copepoda	36.3
		Cladocera	10							Copepoda (Harpacticoida)	5.2	Ostracoda	7.1
Adult insects		Winged insects	4							Cladocera	8.9	Cladocera	7.9
										Diptera	+	insects	0.4
Insect larvae										Chironomid	1.2		
										Ephemeroptera	+		
										Chironomid	16.3	Chironomid	13.2
										Other Diptera	2	Other Diptera	2.3
										Trichoptera	1	Trichoptera	0.9
Insect Pupae										Lepidoptera	1	Neuroptera	0.9
										Aquatic Coleoptera	+	Coleoptera	0.1
										Chironomid	4	Chironomid pupae	5.8
Insect Nymphs										Chironomid	4	Chironomid	4
										Other Diptera	+	Other Diptera	0.1
Insect (nd)										Ephemeroptera	+	Ephemeroptera	13.9
										Aquatic Hemiptera	+		
										Insect (mostly chironomid larvae and pupae and mayfly nymph)	51		
										Homoptera	1	Ephemeroptera	0.5
										Thysanoptera	+	Plecoptera	0.01
Ophiurida		Ophioglypha albida	+							Hymenoptera	+	S. lutaria	0.3
	Copelata	Appendicularia	+									Trichoptera	0.8
		Anemones	Actinia viduata	1								Hemiptera	4.5
	Arthropodes											Coleoptera	0.4
		Arachnida											
Mollusca													
Eggs and larvae													
Plant material & Algae													
Other													

Table S10 presents the results of gut contents of 80 sticklebacks. These sticklebacks came from a former mesocosm experiment in INERIS (different from experiments 1 and 2). 40 sticklebacks were caught during two different dates (May and September). The diet of four length classes was assessed by dissecting the guts of 10 individuals per length class (26-29 mm; 32-40 mm; 47-53 mm; 60-62 mm).

Table S10. Composition of the diet determined by gut contents for sticklebacks in mesocosms during two different periods (May and September).

	Length class (mm)	Number of sticklebacks	May				September			
			26 - 29	32 - 40	47 - 53	60 - 62	26 - 29	32 - 40	47 - 53	60 - 62
			10	10	10	10	10	10	10	10
Nematoda	Nematoda		1.9	0.3						
Mollusca	General	15.8						0.6	15.4	
	Lymnaea		13.0	70.6	55.3					
	Physidae		0.1	0.3	0.2					
Annelida	Hirudinea				0.4				0.3	
Crustacea	Asellus			1.4	0.7	0.1	0.3	2.0		
	Gammarus									
	Crustacean legs			0.6						
	Copepoda	36.9	14.1	16.3	14.2	0.6	0.5	7.9	0.5	
	Ostracoda	3.9	3.7	0.9	10.3	1.7	12.0	11.4	0.5	
	Cladocera	42.7	57.3	6.6	2.7	0.6	3.0	1.2		
Adult insects	Ant	0.2								
	Tipulidae								0.3	
	Collembola		6.5							
	Chironomid		0.1							
	Diptera					0.2	0.3	1.5		
	Aphids					5.0	0.3	0.3		
Insect larvae	Chironomid		1.2			0.2	0.5	1.8	0.3	
	Tipulidae		1.0		0.2					
Insect Nymphs	Chironomid		0.1				0.8			
Insect nd	Chironomid	0.2		0.3						
	Cératopogonidae			0.3			0.3		0.3	
Arachnida	Hydracarien		0.1							
Fish eggs and larvae	Eggs (nd)			2.3						
	Stickleback eggs				15.1					
Plant material	Vegetal		0.7		0.7	91.6	90.9	58.5		
	Diatoms									
	Seeds			0.3	0.2					
Unidentified		0.2								

According to Tables S9 and S10, the most frequently found preys in the guts of sticklebacks were crustaceans (zooplankton and higher crustacea) and dipterans (mainly *Chironomidae*).

Conversion of the prey abundance into energy

According to Hynes (1950) and Gill and Hart (1994), the maximum size for a prey (macroinvertebrate) to be predated by a three-spined stickleback is 10 mm. Thus, we only used the abundance of prey under 10 mm. To do that, we separated the samplings classes into discrete classes (inferior to 10 mm and superior to 10 mm) by considering that the abundance between the different classes are homogeneous. Table S11 and S12 present the conversion factors that we used to estimate the total abundance of zooplankton or macroinvertebrate in mesocosms by taking into account the dimensions of the different sampling devices and the mesocosm.

Table S11. Conversion factors for the calculation of the total abundance for the zooplankton samples

	V_s upstream (m^3)	V_s downstream (m^3)	V_t upstream (m^3)	V_t downstream (m^3)
Experiment 1	$4.75 \cdot 10^{-3}$	$15.75 \cdot 10^{-3}$	1.898	5.788
Experiment 2	$5 \cdot 10^{-3}$	$18 \cdot 10^{-3}$	1.898	5.788

With V_s the volume of the water samplings and V_t the volume of water in the mesocosm

Table S12. Conversion factors for the calculation of the total abundance for macroinvertebrate samples

Traps	Dimensions (m)	Volume (m^3) or Surface (m^2)
Tubes	7 cylinders of 0.2 in diameter x 0.20 long	0.0440 m^3
Tiles	0.11 x 0.16 x 0,013	0.0228 m^3
Surface sampled in the upstream	0.25 x 0.21	0.2150 m^2
Surface sampled in the downstream	0.25 x 0.60	0.6000 m^2

The volume of water used for the conversion is given in Table S11. The surface of the mesocosm walls is $3.87 m^2$ and $10.8 m^2$ respectively for the upstream and downstream parts.

Tables S13 and S14 present the conversion factors that we used to estimate the total energy from the total abundance of preys per mesocosm. For each experiment, we calculated the food energy from the food throughout time by linearly interpolating the energy between the different sampling dates. The energy used for the simulations is the mean energy for the 11 mesocosms per experiment.

Table S13. Conversion factors for zooplankton

	Family	Species	By g AFDW (Cal)	J/individual	Individual weight (µg)	References
Copepoda	Artemiidae	Nauplii	6737	0.0178	4.215	(Jørgensen 2002)
	Harpacticidae	T. japonicus	5300	0.1396	41.98	(Watanabe 1982)
	Harpacticidae	T. Californicus	5155	0.1358	41.98	(Jørgensen 2002)
	Calanidae	C. Helgolandicus	5400	0.1422	41.98	(Jørgensen 2002)
	Acartiidae	A. Clausi	4100	0.1080	41.98	(Watanabe 1982)
			<i>Mean</i>	<i>0.1314</i>		
Cladocera	Leptodoridae	L. Kindtii	6705	0.0295	7.001	(Jørgensen 2002)
Rotifera			1.34.10 ⁻³ to 2.10 ⁻³ per rotifera	0.0070	0.628	(Støttrup 2003)

For all zooplankton, the conversion factor used to calculate the energy per individual was 5000 cal/g (DW) ; WW = 50% DW (Jørgensen 1979).

Table S14. Conversion factors for macroinvertebrates

	Family	Species and size	Calorie per g AFDW	Calorie per g	Conversion factor	J/individual	Individual weight (mg)	References
Higher Crustacea	Gammaridae	G. Fossarum [2-5 mm]	5452	3738 (DW)		1.4469	0.439	(Driver et al. 1974, Jørgensen 1979, Ricciardi and Bourget 1998)
		G. Fossarum [5-9mm]	5354	3896 (DW)	DW = 19.1 % WW ; AFDW = 79.1 % DW	79.793	26	(Driver et al. 1974, Jørgensen 1979, Ricciardi and Bourget 1998)
		G. Fossarum [9-13 mm]	5201	3778 (DW)		77.512		(Driver et al. 1974, Jørgensen 1979, Ricciardi and Bourget 1998)
	Asellidae	A. Aquaticus [2-5 mm]	17.6 kJ		DW = 20.8 % WW ; AFDW = 68.2 % DW	3.3874	1.04	(Rumohr et al. 1987)
A. Aquaticus [5-15 mm]		5521			90.579	27.81	(Jørgensen 1979)	
Insect	Chironomidae			3737 J (WW)	NA	13.5026	NA	(Eggletona and Schramm 2003, Frouz et al. 2003, Bogut et al. 2007)

For chironomidae, we used : 1g DW = 6g WW = 0.9g AFDW = 5kCal

Script

R Script of the DEB model for females (R 3.3.1 software)

```

library("deSolve")
library("gplots")

### Function involving the various differential equations and parameters used ###
### With structural variables ###

# Temperature function (Hovel et al.2015):
FT = function( Temp , CTM,CT0, CQ){
tmp = (CTM - Temp)/(CTM-CT0)
V = ifelse(CTM > Temp, tmp, 0)
Z = log(CQ)*(CTM-CT0)
Y = log(CQ)*(CTM-CT0+2)
XX = ( Z^2 * (1 + (1 + 40/Y)^(0.5) )^2 ) / 400
res = V^XX * exp( XX * (1-V))
return(res)
}

debF = function(t,state,parameters, inputa, inputb){

with( as.list(c(state,parameters)), {

Texp.t= inputa(t)
Tc = FT (Temp = Texp.t , CTM = Tmax,CT0 = Topt, CQ = Cq )

# Correct all parameters depending on time to temperature
v.t= v * Tc# Energy conductance (mm /d)
PAm.t= PAm * Tc#Maximum area specific assimilation rate(J/ d / mm^2)
PM.t= PM* Tc# Volume somatic maintenance costs (J/d/mm^3)
Kj.t= Kj* Tc#Maturity maintenance rate coefficient (d^-1)

Phi.t= Phi * Tc

# Parameters functions of primary parameters

Em= PAm.t/v.t# Maximum reserve density (J/mm^3)

g= Eg / (Kappa * Em)# Energy investment ratio
Km.t= PM.t / Eg# Somatic maintenance rate
Linf= (v.t / (Km.t*g)) * 1/Shape# Maximum physical length (mm)
Lm= (v.t / (Km.t*g))# Maximum structural length (mm)

# Reserve density
Qn.t= inputb(t)
f= (Qn.t / (Phi.t * L^2 * 0.5)) / ( 1 + (Qn.t / (Phi.t * L^2 * 0.5)) )
freal= ifelse(Eh < Ehb, 0, f)

dE= (PAm.t / L ) * (freal - (E/Em) )

# Growth
e= E/Em
dL=(v.t / (3 * (e+g))) * (e - (L/Lm))

# Maturity
PC= ((g*E)/(g+e))*(v.t*L^2 + Km.t*L^3)
temp.Eh= ((1-Kappa) * PC) - ( Kj.t * Eh)
dEh= ifelse (Eh <= Ehp, temp.Eh, 0)

# Cumulated eggs
temp.dr= (Kr/Eegg)*((1-Kappa)* PC) - ( Kj.t* Ehp) )
dR=ifelse (Eh >= Ehp, temp.dr, 0)

# Output model
ParSim= round(c(Linf=Linf, Tc=Tc, g=g, Km.t=Km.t, Em=Em, Texp.t=Texp.t),digits=4)
list(Sim = cbind(dE, dL, dEh, dR),
Parameter = ParSim,
f=freal))
}

```

```

# (I.2) Simulation
#-----

ModelE3EF = function(

# Value of parameters (Qn and Texp should be adapted in function of the food and temperature scenarios as well as the time of
simulation given by Timesdata)
Qn= 100000 * 3.73,# "Chironomus" 3.73 J/mg wet weight – Default value
Phi= 15.31,# J/mm^2

# energy
PAm= 2.42,# Maximum area specific assimilation rate
v= 1.33,# Energy conductance (mm /d)
Kappa = 0.757,# fraction of energy to growth/somatic

# growth
Shape = 0.250,# shape coefficient for adults V = zota * L ^3
PM= 0.111,# Volume somatic maintenance costs (J/d/mm^3)
Eg= 1.10,# Cost of synthesis of a unit of structureJ/mm^3

# reproduction
Ehb= 1.33,# Cumulated energy at birth (J)
Ehp= 442,# Cumulated energy at puberty (J)
Kj= 0.003,# Maturity maintenance rate coefficient (d^-1)
Kr= 0.978,# Reproduction efficiency
Eegg= 5.61,# Energy in an egg (J)
Legg= 0.563,# Size of primordial cell in physical length (mm)

# temperature (from Hovel et al. 2015)
Tmax= 25,# water temperature above which consumption ceases
Topt= 23,# the laboratory-derived temperature preferendum
Cq= 3 ,# approximates the rate at which the function increases over low temperatures.
Texp= 16,# –Default value

# Time step and initial points
Timesdata = seq(1,8,0.01),# –Default values
E.init=NULL,# Energy density at t0
Eh.init =NULL,# Energy maturity at t0
L.init= NULL# Length at t0

){

# (I.3) Simulation - Compute differential equations
#-----

parameters = c(Tmax=Tmax,Topt=Topt, Cq=Cq,
Kappa=Kappa, Qn=Qn, Phi=Phi, Eg=Eg,v=v,PAm=PAm,Shape=Shape,
Ehp=Ehp,Kr=Kr,PM=PM,Kj=Kj,Ehb=Ehb,
Legg=Legg, Eegg=Eegg ,
L.init=L.init, E.init=E.init, Eh.init=Eh.init )

# Starting points:
Km= PM/Eg
Em= PAm/v
g= Eg/(Kappa*Em)

# Initialization
L.0= ifelse( is.null(L.init), Legg * Shape , L.init * Shape )
Eh.0= ifelse(is.null(Eh.init), 0, Eh.init)
E.0= ifelse(is.null(E.init), (Eegg/(Legg*Shape)^3) , E.init)
R.0= 0

# temperature scenario
if( length(Texp)>1){
times= seq(0,length(Texp)-1, 1)#Attention : on considère des températures/jours (pas de temps=1)
import = Texp
}else{
times= Timesdata
import = rep(Texp, length(times))}

Scenario = data.frame(times= times, import = import )
Texp.Scenario = approxfun(Scenario$times, Scenario$import,rule = 2)

```

```

# food scenario
if( length(Qn)>1){
times= seq(0,length(Qn)-1, 1)
import = Qn
}else{
times= Timesdata
import = rep(Qn, length(times))}

Scenariof = data.frame(times= times, import = import )
f.Scenario = approxfun(Scenariof$times, Scenariof$import,rule = 2)

#plot(f.Scenario)

state = c(E=E.0, L=L.0, Eh=Eh.0, R=R.0)

out= ode(y=state,
times=Timesdata,
func=debF,
parms=parameters,
inputa = Texp.Scenario,
inputb = f.Scenario,
method="lsode")

# (I.4) Simulation function - Output data
#-----
Sim= out[,1:5]
Sim[,3] = out[,3] * 1/Shape# physical length
colnames(Sim) = c("Time", "Energy", "Size", "Maturity", "Reproduction")
L_mat =Sim[Sim[,4] >= Ehp,3][1]
tps_mat = Sim[Sim[,4] >= Ehp,1][1]
ParSim= out[nrow(out), 6:ncol(out)]

return(list( Sim=Sim,
Init.values = c(E0 =E.0, L0.Structural=L.0, Eh0=Eh.0, R0=R.0),
Par=parameters,
food=out[, ,ncol(out)],
L_mat = L_mat,
tps_mat=tps_mat,
ParSim=ParSim))
}

```

R Script of the DEB model for males (R 3.3.1 software)

Type R metabolic acceleration:

- alpha = 0.082 is added as parameter (calibrated value with laboratory experiments)
- Parameter called Kappa is replaced by KappaM which is defined in (I.3 – starting points) by the following script:

```
KappaM= ifelse(Eh.0 >= Ehp, (Kappa - alpha), Kappa)
```

Possible variation of R Script for males (not used in the article):

Type A metabolic acceleration:

- beta = 0.219 (calibrated value with laboratory experiments)
- Parameter called PAm is replaced by PAmM which is defined in (I.3 – starting points) by the following script:

```
PAmM= ifelse(Eh.0 >= Ehp, (PAm - beta), PAm)
```

References

- Allen, J. R. M. and Wootton, R. J. (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. doi: 10.1111/j.1365-2427.1984.tb00158.x.
- Blukacz, E. A., Sprules, W. G. and Brunner, J. (2005). Use of the Bootstrap for Error Propagation in Estimating Zooplankton Production. *Ecology*, 86, 2223-2231. doi: 10.1890/04-0772.
- Bogut, I., Has-Schon, E., Adamek, Z., Rajković, V. and Galović, D. (2007). Chironomusplumosus larvae - a suitable nutrient for freshwater farmed fish. *Poljoprivreda*, 13, 159-162.
- Bois, F. Y. (2009). GNU MCSim: Bayesian statistical inference for SBML-coded systems biology models. *Bioinformatics*, 25, 1453-1454. doi: 10.1093/bioinformatics/btp162.
- Driver, E. A., Sugden, L. G. and Kovach, R. J. (1974). Calorific, chemical and physical values of potential duck foods. *Freshwater Biology*, 4, 281-292. doi: 10.1111/j.1365-2427.1974.tb00098.x.
- Eggletona, M. and Schramm, H. L. (2003). Feeding ecology and energetic relationships with habitat of blue catfish, *Ictalurus furcatus*, and flathead catfish, *Pylodictis olivaris*, in the lower Mississippi River, U.S.A. *Environmental Biology of Fishes*, 70, 107-121.
- Frouz, J., Matena, J. and Arshad, A. L. I. (2003). Survival strategies of chironomids (Diptera: Chironomidae) living in temporary habitats: a review. *European Journal of Entomology*, 100, 459-465.
- Gelman, A. and Rubin, D. B. (1992). Inference from Iterative Simulation Using Multiple Sequences. *Statistical Science*, 7, 457-472.
- Gill, A. B. and Hart, P. J. B. (1994). Feeding behaviour and prey choice of the threespine stickleback, the interacting effects of prey size, fish size and stomach full. *Animal Behaviour*, 47.
- Hovel, R. A., Beauchamp, D. A., Hansen, A. G. and Sorel, M. H. (2015). Development of a Bioenergetics Model for the Threespine Stickleback. *Transactions of the American Fisheries Society*, 144, 1311-1321. doi: 10.1080/00028487.2015.1079554.
- Hynes, H. B. N. (1950). The Food of Fresh-Water Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* and *Pygosteus pungitius*). *Journal of Animal Ecology*, 19, 36-58.
- Jørgensen, S. E. (1979). *Composition and ecological parameters of Living Organisms. Handbook of Environmental Data and Ecological Parameters*. S. E. Jørgensen. Copenhagen, International Society for Ecological Modelling: 1-206.
- Jørgensen, S. E. (2002). *A Systems Approach to the Environmental Analysis of Pollution Minimization*. Washington DC, Lewis Publishers.
- Leloutre, C., Péry, A. R. R., Porcher, J.-M. and Beaudouin, R. (2018). A bioenergetics model of the entire life cycle of the three-spined stickleback, *gasterosteus aculeatus*. *Ecology of Freshwater Fish*, 27, 116-127. doi: 10.1111/eff.12329.
- Plummer, M., Best, N., Cowles, K., Vines, K., Sarkar, D., Bates, B. and Almond, R. (2016). coda: Output Analysis and Diagnostics for MCMC.
- Ricciardi, A. and Bourget, E. (1998). Weight-to-weight conversion factors for marine benthic macroinvertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, 163, 245-251. doi: 10.3354/Meps163245.
- Rumohr, H., Brey, T. and Ankar, S. (1987). *A compilation of biometric conversion factors for benthic invertebrates of the Baltic Sea*. Uppsala, Opulus Press.
- Støttrup, J. (2003). *Production and nutritional value of Copepods. Live feeds in marine aquaculture*, Blackwell Science Ltd. 5: 145-206.
- Walkey, M. (1967). The ecology of *Neoechinorhynchus Rutili*. *The Journal of Parasitology*, 53, 795-804.
- Watanabe, T. (1982). Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 73, 3-15. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0305-0491\(82\)90196-1](http://dx.doi.org/10.1016/0305-0491(82)90196-1).

Annexe 2 : Supporting Information (Article 2)

Table of contents

Part I. Mesocosm experiments.....	277
I.1. Data for the model calibration and evaluation.....	277
I.1.1. Temperature, photoperiod and food scenarios.....	277
I.1.2. Characteristics of the founder sticklebacks at the beginning of the experiment.....	279
I.1.3. Observed stickleback population endpoints.....	281
I.3. Data for the model development.....	283
I.3.1. Fecundity of female sticklebacks.....	283
I.3.2. Number of eggs harvesting by males.....	283
I.3.3. Daily survival probability of sticklebacks in mesocosms.....	284
I.3.4. Daily mortality probability and water temperature.....	284
Part II. DEB-IBM description, sensitivity analyses and calibration.....	285
II.1. ODD protocol: Model description.....	285
II.1.1. Design concepts.....	285
II.1.2. Details.....	286
II.2. Sensitivity analyses.....	293
II.2.1. Local sensitivity analysis.....	293
II.2.2. Morris method.....	294
II.2.3. Sobol method.....	296
II.3. Model calibration.....	300
II.3.1. Calibration method.....	300
II.3.2. Calibration results.....	302
II.4. Inter-year dependent parameter.....	306
II.5. Model evaluation.....	307
Part III. Model application.....	309
III.1. Simulation results of toxicant stresses for each endpoint.....	309
III.2. LOECs for each endpoint and toxicant stress.....	311
III.2.1. Toxicant impacting the basal mortality: M.n parameter.....	311
III.2.2. Toxicant impacting the cost of synthesis of a unit of structure: [EG] parameter.....	312
Part IV. DEB-IBM script.....	312
References.....	313

Part I. Mesocosm experiments

I.1. Data for the model calibration and evaluation

The DEB-IBM was calibrated with the data from the mesocosm experiments of 2010 and 2011 and was validated with the data from the mesocosm experiments of 2012, 2013 and 2014.

I.1.1. Temperature, photoperiod and food scenarios

I.1.1.1. Model calibration

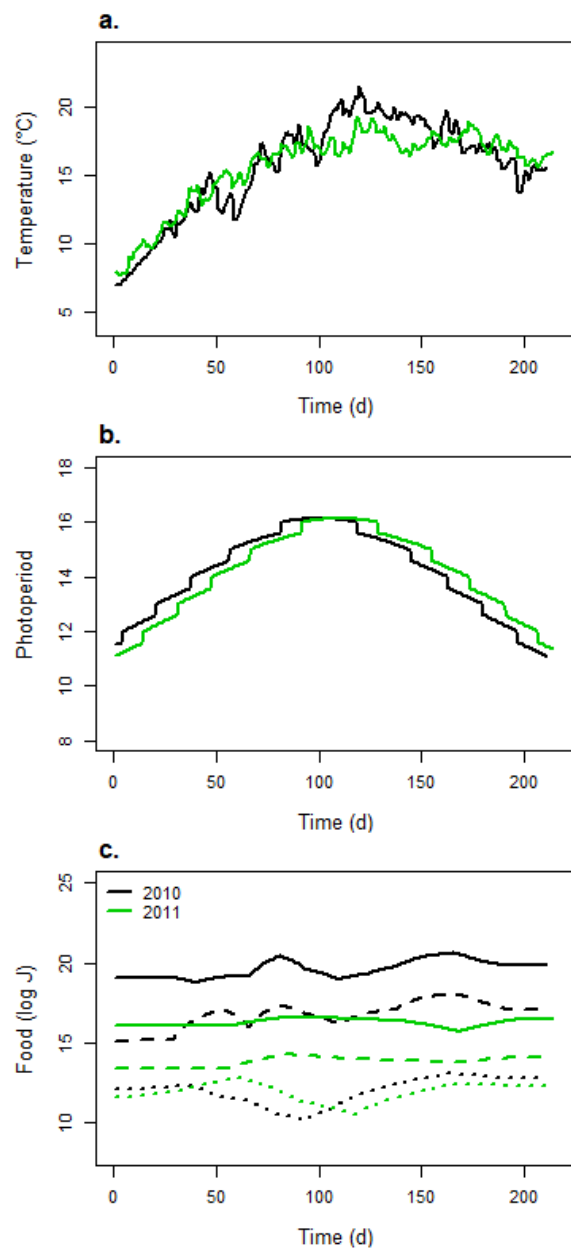


Figure A.1. Temperature (a), photoperiod (b) and food (c) scenarios for 2010 and 2011 mesocosm experiments. For graph c, dotted lines represent the zooplankton energy over time, dashed lines represent energy from macroinvertebrates with a size inferior to 5 mm and full lines represent energy from macroinvertebrates with a size superior to 5 mm.

I.1.1.2. Model evaluation

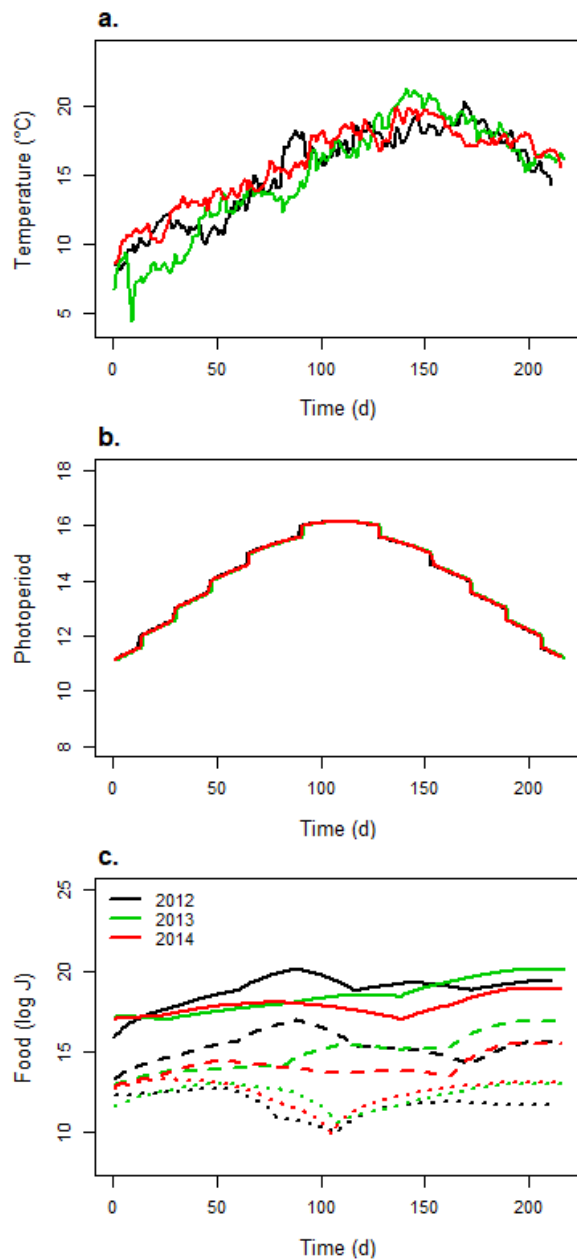


Figure A.2. Temperature (a), photoperiod (b) and food (c) scenarios for 2012, 2013 and 2014 mesocosm experiments. For graph c, dotted lines represent the zooplankton energy over time, dashed lines represent energy from macroinvertebrates with a size inferior to 5 mm and full lines represent energy from macroinvertebrates with a size superior to 5 mm.

I.1.2. Characteristics of the founder sticklebacks at the beginning of the experiments

I.1.2.1. Model calibration

Table A.1. Length of the founder sticklebacks when introducing in mesocosms

		Length of founders (mm) per mesocosm																		
		1		2		3		4		5		6		7		8		9		
		Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	
2010		50.86	49.11	50.32	50.05	49.3	46.38	47.28	49.25	52.64	46.92	47.33	49	46.87	48.68	49.37	48.11	46.3	48.68	
		45.61	52.62	50.69	50.96	50.67	50.05	51.81	48.94	53.64	49.65	49.67	48.89	47.68	48.66	48.94	47.6	49.28	51.15	
		49.6	52.13	46.66	48.76	46.41	54.56	53.16	50.46	51.91	48.69	50.21	47.59	48.1	46.92	45	48.98	46.49	47.4	
		45.99	45.67	48.54	49.06	53.02	48.37	46.83	48.8	49.94	49.72	48.42	51.61	48.01	49.49	48.84	45.57	48.1	51.71	
		45.37	51.71	46.85	47.65	46.48	48.67	47.06	45.09	47.93	50.91	48.95	45.95	48.1	46.33	48.25	48.54	49.44	49	
		51.29	53.07	48.17	51.27	50.47	47.65	51.63	51.5	50.76	45.83	48.93	48.61	45.76	45.81	49.31	50.49	48.36	49.2	
		48.25	49.92	51.98	48.5	48.17	49.24	47.13	47.19	49.69	52.6	46.87	48.44	46.55	51.27	48.35	49	49.05	48.85	
		55.13	52.47	50	50.82	51.79	47.95	51.45	50.87	53.57	50.56	52.69	51.68	56.58	49.2	55.9	51.83	55.13	49.96	
		54.57	51.16	58.16	45.41	53.16	48.64	49.87	49	52.85	48.51	51.63	44.12	49.98	50.67	56.44	50.76	55.82	56	
		57.34	47.04	53.28	49.44	53.63	47.47	55.12	49.18	55.71	45.72	57.16	49.17	54.49	44.89	54.29	45.42	58.25	47.36	
		51.75		52.87		53.81		51.7		53.7		51.14		51.83		58.1		54.89		
		56.22		51.66		56.77		58.79		54.78		55.52		48.85		57.94		49.42		
		56.4		53		48.86		52.28		51.68		55.24		53.47		58.04		50		
		54.74		55.28		50.91		53.53		52.5		52.61		53.37		51.3		51.86		
		53.71		57.34		50.59		51.2		47.26		55.64		53.25		52.02		55.65		
	2011		45.05	43.12	42.63	43.72	40.56	44.11	43.45	42.38	39.82	44.21	39.17	43.82	43.77	39.94	41.32	43.75		
			44.69	45.12	42.57	39.79	39.01	43.38	42.8	41.94	40	41.44	45.01	43.33	44.41	44.09	42.45	44.07		
		41.12	42.3	42.02	41.26	39.01	44.55	42.4	40.32	41.31	45.37	42.84	44.78	41.07	42.17	46.33	41.09			
		39.56	41.23	42.64	41.28	43.75	43.25	44.42	42.63	44.49	40.3	43.78	45.12	40.75	44.23	41.86	41.07			
		43.54	43.84	43.47	42.54	43.76	42.4	42.66	43.16	41.33	43.64	42.75	43.91	43.73	43.16	40.27	40.2			
		44.65	44.15	43.45	43.51	41.12	39.86	45.05	44.82	44.14	42.47	42.3	44.99	45.13	41.11	44.23	39.46			
		39.66	41.37	42.54	41.29	40.04	42.84	40.87	42.55	41.55	42.25	41.3	45.47	44.96	43.3	44.84	44.77			
		43	43.85	40.25	42.12	43.58	41.96	42.21	44.38	42.42	40.4	45.06	41.67	45.05	40.24	43.68	44.38			
		42.9	38.12	45.47	38.59	42.03	35.44	40.99	34.38	41.84	35.51	40.68	38.54	44.19	38.84	43.63	37.28			
		44.24	38.24	44.74	33.76	42.58	39.68	42.4	33.65	44.96	38.96	44.32	36.58	44.85	35.07	41.98	37.48			
		40.36		40.22		41.86		43.49		43.81		42.75		42.42		44.11				
		43.75		43.19		42.61		44.77		42.99		43.8		42.87		40.3				
		41.93		41.64		39.62		43.73		41.59		42.91		42.94		43.13				
		41.14		44.39		41.18		39.84		42.26		40.6		44.08		39.66				
		41.84		41.14		42.79		38.54		39.34		42.17		42.63		42.51				

I.1.2.2. Model evaluation

Table A.2. Length of the founder sticklebacks when introducing in mesocosms (2012, 2013 and 2014)

		Length of founders (mm) per mesocosms					
		1		2		3	
		Females	Males	Females	Males	Females	Males
2012		41.48	44.06	43.41	45.06	40.00	42.73
		44.16	48.65	42.54	40.41	43.71	42.83
		42.97	47.18	41.07	44.16	41.07	42.99
		42.52	43.81	41.67	45.05	42.91	45.77
		44.05	42.67	42.11	46.7	43.43	46.33
		43.22	42.37	43.08	42.49	41.64	40.05
		42.30	41.64	41.42	43.26	43.05	45.01
		45.00	43.91	42.46	40.52	41.55	42.69
		44.24	43.89	44.76	43.48	43.58	44.71
		42.88	44.36	41.49	47.15	43.69	46.65
		42.41		44.52		42.00	
		42.95		42.29		45.19	
		42.70		43.59		44.68	
		44.91		43.89		41.30	
		44.84		45.61		41.93	
	2013		45.10	37.30	42.25	38.65	43.25
		42.34	43.87	42.65	41.24	41.70	40.73
		41.90	41.92	44.97	44.98	43.57	44.91
		40.93	35.33	41.64	39.98	42.12	36.72
		44.51	37.68	42.15	38.30	40.47	37.00
		43.99	38.00	42.52	37.00	44.95	37.00
		42.40	41.00	44.24	42.00	42.60	46.00
		43.47	42.00	43.54	43.00	41.83	42.00
		43.96	44.00	41.73	41.00	42.87	44.00
		42.48	41.50	42.84	38.00	42.19	38.00
		42.40		44.71		43.47	
		42.11		44.92		41.60	
		40.28		44.62		42.43	
		44.99		41.35		42.96	
	42.15		41.7		41.05		
2014		45.06	43.13	44.39	43.80	43.33	42.88
		42.04	45.22	43.27	40.42	42.69	41.98
		40.59	45.06	45.48	42.61	42.09	43.88
		41.86	43.09	41.57	40.96	43.45	41.61
		43.19	42.68	42.17	44.71	44.51	44.73
		45.65	46.78	41.53	42.11	44.37	41.81
		41.66	42.78	42.88	42.66	44.25	43.39
		43.41	45.44	42.84	42.62	42.67	47.98
		44.72	41.98	42.77	41.96	45.27	43.53
		43.76	44.57	41.93	43.06	42.12	42.73
		41.64		42.72		41.09	
		42.33		41.89		45.61	
		42.69		44.71		45.33	
		41.48		42.80		43.60	
	40.77		41.34		44.83		

I.1.3. Observed stickleback population endpoints

I.1.3.1. Model calibration

Table A.3. Experimental data from the mesocosm experiments of 2010 and 2011 at the end of the experiments. The estimated value and the confidence interval (quantiles 2.5 and 97.5%) were presented for the median and the coefficient of variation (CV) for each endpoint of both years.

Year	Endpoint	Median [IC 95%]	CV [IC 95%]	Data per mesocosms								
				1	2	3	4	5	6	7	8	9
2010	N.tot	862 [772 - 1074]	0.199 [0.078 - 0.285]	907	814	627	1074	1286	772	862	883	788
	N.F.C00	10 [8 - 11]	0.151 [0.070 - 0.213]	10	10	11	8	11	10	9	7	12
	L.F.C00	61.11 [59.51 - 63.82]	0.028 [0.017 - 0.035]	62.71	64.28	60.27	59.51	63.82	61.11	59.44	62.68	60.79
	CV.F.C00	0.052 [0.046 - 0.066]	0.233 [0.106 - 0.373]	0.052	0.046	0.051	0.060	0.028	0.066	0.050	0.058	0.073
	N.M.C00	6 [4 - 7]	0.261 [0.172 - 0.333]	7	4	4	8	4	6	6	6	4
	L.M.C00	54.50 [53.58 - 55.73]	0.018 [0.011 - 0.023]	55.01	55.35	53.125	55.73	56.17	53.58	53.78	54.09	54.50
	CV.M.C00	0.042 [0.020 - 0.059]	0.542 [0.199 - 0.781]	0.036	0.045	0.059	0.109	0.016	0.042	0.034	0.042	0.020
	F.F	0.197 [0.102 - 0.282]	0.337 [0.178 - 0.472]	0.198	0.192	0.325	0.102	0.102	0.282	0.197	0.190	0.251
	L.F.CXX	32.75 [32.04 - 33.43]	0.023 [0.013 - 0.032]	31.93	33.43	32.75	32.64	34.42	33.29	32.28	33.24	32.04
	CV.F.CXX	0.140 [0.121 - 0.166]	0.116 [0.065 - 0.151]	0.121	0.166	0.133	0.167	0.153	0.143	0.130	0.140	0.121
	L.M.CXX	33.27 [32.60 - 34.43]	0.023 [0.014 - 0.029]	34.08	33.28	33.17	32.60	34.43	33.73	32.73	34.59	32.33
	CV.M.CXX	0.148 [0.129 - 0.154]	0.094 [0.048 - 0.132]	0.151	0.146	0.133	0.154	0.171	0.152	0.129	0.148	0.124
	F.J	0.613 [0.495 - 0.780]	0.197 [0.101 - 0.284]	0.613	0.590	0.388	0.780	0.800	0.495	0.632	0.619	0.532
	L.J	20.61 [20.17 - 21.61]	0.048 [0.025 - 0.070]	20.61	21.13	21.99	20.18	18.56	21.61	20.11	20.40	21.51
	CV.J	0.109 [0.091 - 0.119]	0.139 [0.074 - 0.193]	0.107	0.109	0.091	0.119	0.141	0.094	0.118	0.109	0.090
	F.M.m	0.865 [0.817 - 0.891]	0.043 [0.024 - 0.061]	0.883	0.843	0.817	0.802	0.881	0.855	0.891	0.935	0.865
	L.M.m	35.58 [34.25 - 35.89]	0.023 [0.012 - 0.031]	35.89	34.82	34.85	35.58	36.13	35.67	34.25	35.84	33.55
CV.M.m	0.169 [0.153 - 0.188]	0.115 [0.045 - 0.158]	0.176	0.163	0.153	0.218	0.188	0.165	0.172	0.169	0.151	
2011	N.tot	960 [742 - 1040]	0.160 [0.088 - 0.223]	830	742	707	975	944	997	1040	1190	
	N.F.C00	9.5 [7.5 - 12]	0.238 [0.125 - 0.312]	8	9	7	10	10	7	12	14	
	L.F.C00	55.27 [53.54 - 56.15]	0.022 [0.013 - 0.029]	56.52	55.66	53.54	54.25	55.31	55.23	53.35	56.99	
	CV.F.C00	0.062 [0.056 - 0.082]	0.234 [0.114 - 0.331]	0.059	0.042	0.094	0.057	0.065	0.072	0.082	0.056	
	N.M.C00	6 [4 - 10]	0.379 [0.202 - 0.519]	4	6	5	6	3	10	10	7	
	L.M.C00	48.74 [47.27 - 49.93]	0.029 [0.017 - 0.038]	48.93	49.39	46.98	48.55	47.27	50.47	47.48	51.16	
	CV.M.C00	0.056 [0.046 - 0.079]	0.226 [0.096 - 0.294]	0.056	0.046	0.053	0.052	0.083	0.059	0.043	0.079	
	F.F	0.159 [0.141 - 0.210]	0.177 [0.080 - 0.230]	0.210	0.163	0.218	0.141	0.155	0.172	0.142	0.131	
	L.F.CXX	31.66 [31.34 - 32.50]	0.017 [0.008 - 0.023]	31.34	31.40	32.80	31.65	31.07	31.67	32.08	32.51	
	CV.F.CXX	0.135 [0.126 - 0.147]	0.087 [0.044 - 0.117]	0.130	0.125	0.131	0.144	0.126	0.138	0.162	0.147	
	L.M.CXX	33.37 [32.66 - 33.65]	0.019 [0.010 - 0.028]	32.66	32.69	34.44	33.35	32.19	33.54	33.39	33.65	
	CV.M.CXX	0.136 [0.132 - 0.162]	0.104 [0.064 - 0.127]	0.124	0.133	0.132	0.138	0.132	0.166	0.162	0.158	
	F.J	0.685 [0.617 - 0.703]	0.089 [0.036 - 0.122]	0.573	0.660	0.580	0.688	0.694	0.682	0.713	0.760	
	L.J	19.88 [19.56 - 20.30]	0.020 [0.012 - 0.026]	20.64	20.30	19.56	20.19	19.56	19.72	20.05	19.47	
	CV.J	0.145 [0.132 - 0.153]	0.077 [0.040 - 0.103]	0.123	0.128	0.154	0.145	0.145	0.154	0.136	0.152	
	F.M.m	0.909 [0.880 - 0.929]	0.027 [0.016 - 0.035]	0.9	0.918	0.937	0.880	0.917	0.884	0.940	0.869	
	L.M.m	34.85 [33.48 - 35.48]	0.027 [0.013 - 0.036]	33.48	34.13	35.45	34.79	32.94	35.48	34.91	35.74	
CV.M.m	0.153 [0.142 - 0.177]	0.119 [0.070 - 0.151]	0.139	0.160	0.134	0.146	0.146	0.188	0.177	0.176		

I.1.3.2. Model calibration

Table A.4. Experimental data from the mesocosm experiments of 2012 and 2014 at the end of the experiments

Year	Endpoint	Data per mesocosm		
		1	2	3
2012	N.tot	962	733	1049
	N.F.C00	8	7	7
	L.F.C00	60.24	59.87	55.59
	CV.F.C00	0.050	0.027	0.056
	N.M.C00	9	4	5
	L.M.C00	51.61	49.98	50.22
	CV.M.C00	0.055	0.064	0.057
	F.F	0.108	0.194	0.092
	L.F.CXX	32.19	31.13	30.28
	CV.F.CXX	0.152	0.103	0.121
	L.M.CXX	33.64	31.97	30.57
	CV.M.CXX	0.165	0.120	0.114
	F.J	0.785	0.619	0.810
	L.J	19.94	19.93	19.46
	CV.J	0.144	0.154	0.153
	F.M.m	0.860	0.872	0.939
	L.M.m	36.69	33.29	31.79
CV.M.m	0.200	0.144	0.177	
2013	N.tot	1137	1019	1522
	N.F.C00	6	2	10
	L.F.C00	62.65	57.55	63.16
	CV.F.C00	0.041	0.092	0.066
	N.M.C00	6	3	4
	L.M.C00	54.63	50.90	56.50
	CV.M.C00	0.119	0.126	0.047
	F.F	0.112	0.115	0.059
	L.F.CXX	30.22	29.72	28.95
	CV.F.CXX	0.120	0.103	0.087
	L.M.CXX	30.59	30.46	30.18
	CV.M.CXX	0.144	0.117	0.141
	F.J	0.748	0.729	0.857
	L.J	20.81	20.67	19.02
	CV.J	0.118	0.127	0.136
	F.M.m	0.613	0.748	0.50
	L.M.m	32.46	31.65	31.82
CV.M.m	0.216	0.154	0.219	
2014	N.tot	556	857	949
	N.F.C00	8	11	11
	L.F.C00	63.67	63.91	63.32
	CV.F.C00	0.027	0.061	0.069
	N.M.C00	8	5	5
	L.M.C00	54.28	57.20	55.58
	CV.M.C00	0.061	0.057	0.096
	F.F	0.158	0.111	0.116
	L.F.CXX	31.36	29.75	30.83
	CV.F.CXX	0.150	0.092	0.139
	L.M.CXX	31.56	32.61	31.21
	CV.M.CXX	0.136	0.137	0.143
	F.J	0.626	0.788	0.767
	L.J	20.72	20.54	19.91
	CV.J	0.148	0.130	0.160
	F.M.m	0.883	0.929	0.789
	L.M.m	33.67	34.52	33.30
CV.M.m	0.217	0.213	0.219	

I.3. Data for the model development

I.3.1. Fecundity of female sticklebacks

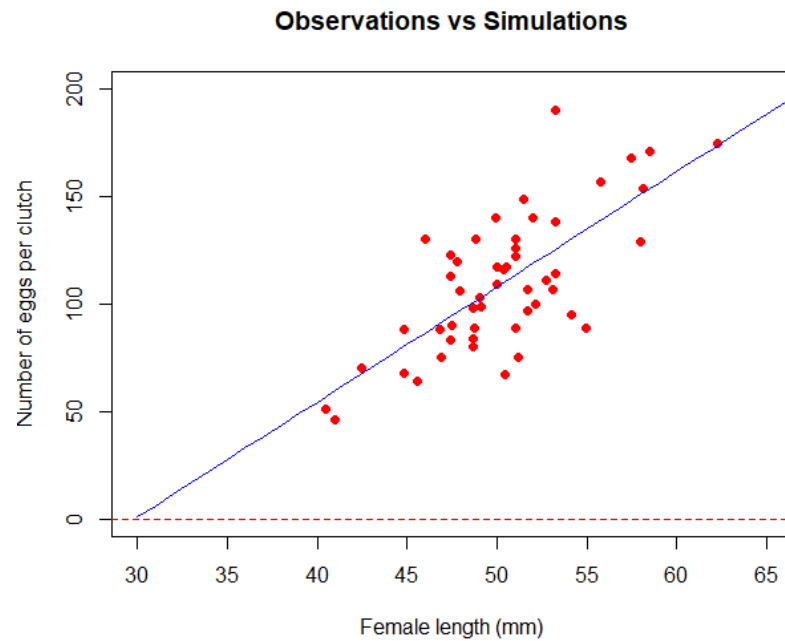


Figure A.3. Number of eggs per clutch in function of the female stickleback length. Red points represent the laboratory data and the blue line represents the best fit for the observations (Eq. (A.10)).

I.3.2. Number of eggs harvesting by males

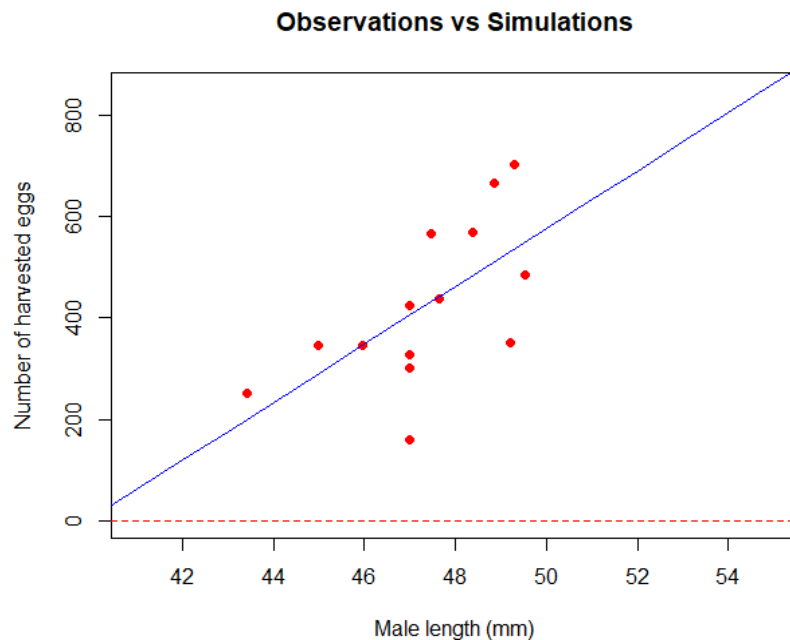


Figure A.4. Number of harvested eggs in function of the male stickleback length. Red points represent the laboratory data and the blue line represents the best fit for the observations (Eq. (A.11)).

1.3.3. Daily survival probability of sticklebacks in mesocosms

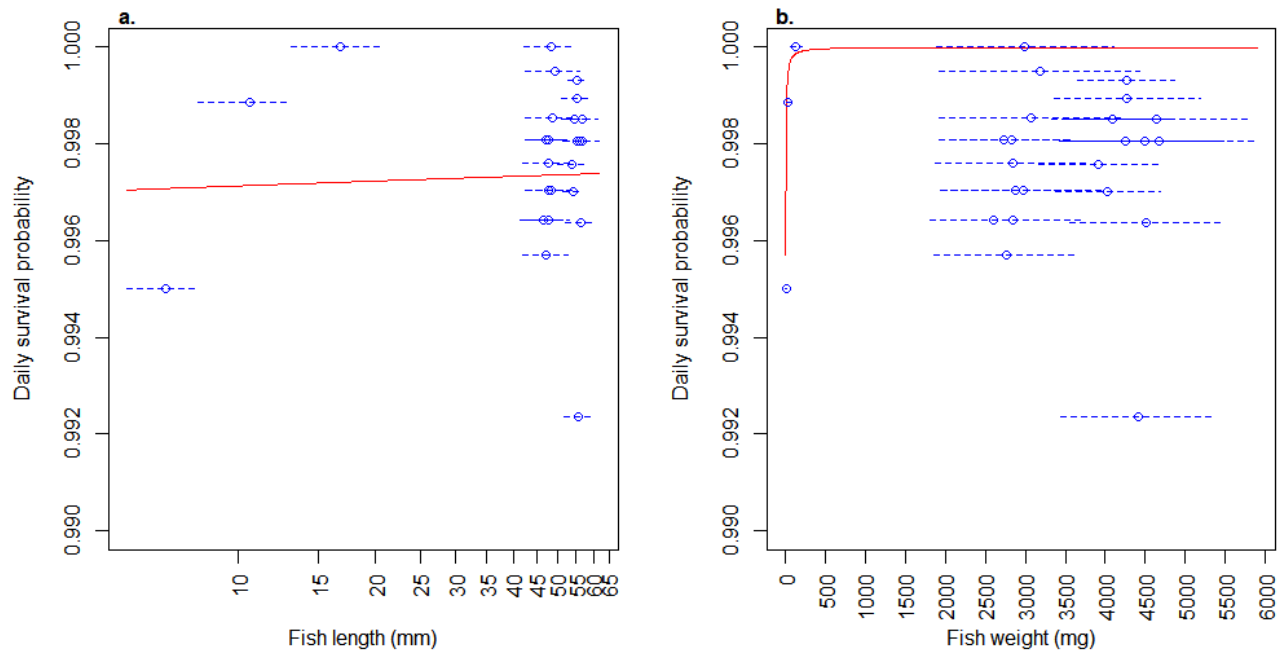


Figure A.5. Predictions of the daily survival probability in function of the fish length (a) or fish weight (b). Data are from historical mesocosm and laboratory experiments. The points represent the mean daily survival mortality, the dashed blue lines the length interval at which the survival was monitored. Red lines represent the estimation of the daily survival probability in function of the fish length or weight (Eq. (A.15)).

1.3.4. Daily mortality probability and water temperature

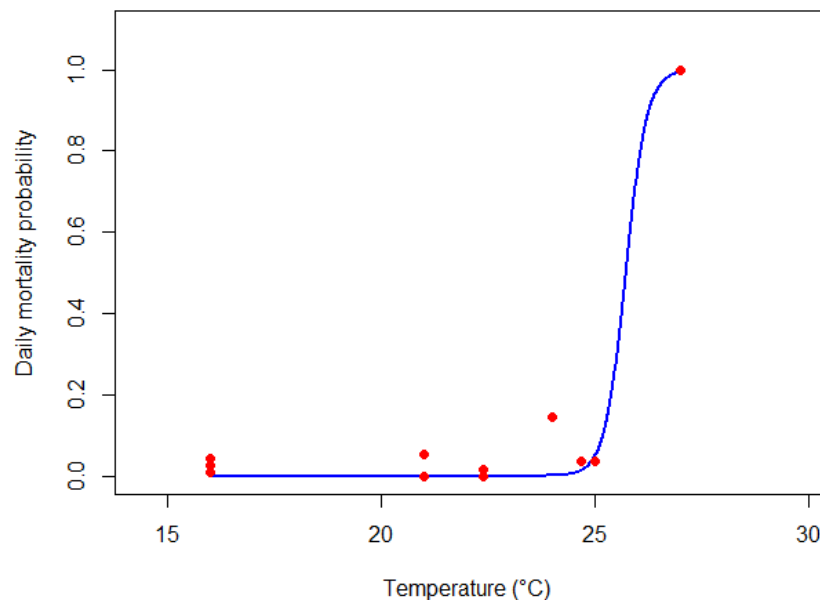


Figure A.6. Predictions of the daily mortality probability in function of the freshwater temperature. Red points represent the observed data from laboratory experiments where juveniles were followed during 4 or 8 days at different water temperature. Blue line represents the estimation of the daily mortality probability in function of the water temperature (Eq. (A.14)).

Part II. DEB-IBM description, sensitivity analyses and calibration

II.1. ODD protocol: Model description

The model description follows the ODD protocol for describing individual-based models (Grimm et al. 2006, Grimm et al. 2010). The Purpose, the Entities, state variables, scales and the description of the Process overview and scheduling are given in the main text of the article. Here comes the rest of the ODD protocol.

II.1.1. Design concepts

Basic principles. The model is based on the Dynamic Energy Budget theory (Kooijman 2010) which describes the fluxes of energy within the organism to explain its growth, reproduction and maintenance. Coupling a DEB model and an IBM facilitates the extrapolation of the individual responses to the population level (Beaudouin et al. 2015). The DEB model for the three-spined stickleback was developed by Leloutre et al. (2018) on laboratory experiments and its relevance for predicting physiological processes of founder sticklebacks in mesocosm experiments was assessed by David et al. (2018). The freshwater temperature, photoperiod and food density were integrated in our model as inputs. Specific sub-models were integrated to predict the environment and fish behaviors, including food and reproduction behaviors and mortality (see Appendix Figure A.1).

Emergence. The predicted population dynamics emerge from the individuals which interact with each other and their environment.

Adaptation. Males can attract the females which have the most eggs in order to maximize their juvenile production.

Learning and prediction. Individuals do not learn or predict the future.

Interaction. The individuals interact indirectly via the food competition. Moreover, the density-dependant mortality reflects the level of aggressions which is induced by the number of sticklebacks in mesocosms. Males can also compete to get a territory.

The number of harvested eggs depends on the mating interaction between males and females. Males also interact with their eggs and larvae until they leave the nest.

Sensing. The establishment of a nest implies that males have a global perception of its environment to assess if enough space was available to build a nest. Globally, individuals indirectly sense the population biomass and total abundance in the mesocosm.

Stochasticity. First, the mesocosm is randomly chosen among the number of mesocosms used for a given experiment (ex: mesocosm “4” chosen randomly among the nine mesocosms of the 2010 experiment), then the actual lengths of the founders that were experimentally introduced the chosen mesocosm were setup for the simulation. A second source of stochasticity comes from the inter-individual variability of some DEB parameters ($\{\dot{p}Am\}$, φ , Ehb , Ehp). The “scatter-multiplier” is lognormally distributed with the inter-individual

variability parameter (see Table 1) as suggested by Kooijman et al. (1989). In addition, mortality is intrinsically a stochastic process.

Finally, another source of stochasticity comes from the variability inter-mesocosm which affects both the mortality and the food density. The variability inter-mesocosm is driven from a normal distribution with specific coefficient of variation for food and mortality (see Table 1).

Collectives. The model does not include collectives.

Observation. At the end of the simulation, the predicted endpoints of the DEB-IBM are the same variables monitored in mesocosms. These descriptive variables of the fish population were the population abundance (N.tot), female and juvenile frequencies (F.F and F.J) and the mean lengths and the coefficients of variation of the lengths of five categories of individuals: male and female founders (L.M.C00, L.F.C00, CV.M.C00, CV.F.C00) males and females born in mesocosms (L.M.CXX, L.F.CXX, CV.M.CXX, CV.F.CXX) and juveniles (L.J, CV.J). Finally, the frequency of mature males among the total number of males (F.M.m) was calculated as well as the mean length of mature males and the coefficient of variation of their lengths (L.M.m and CV.M.m). Based on these variables, other variables can be deduced as the male frequency and the sex-ratio were thus not taken into account for the calibration processes.

II.1.2. Details

II.1.2.1. Input data

Temperature and food scenarios were defined from the freshwater temperature measurements (averaged per day and per location of the sensors) and the prey samplings made in mesocosms using the same framework than in David et al. (2018). Briefly, zooplankton and macroinvertebrates were sampled every four weeks in the mesocosms. However, among the possible species, stickleback only predate a subset. The stickleback preys was determined from literature (see David et al. (2018)) and were constituted with higher crustacean (*Gammarus* and *Asellus*), a dipteran family (Chironominae) and the zooplankton. Furthermore, the sampling of macroinvertebrates was made by distinguishing two class sizes: inferior and superior to 5 mm. The abundance data have been converted into energy data and have been linearly interpolated between the sampling dates.

To get realistic data of the daylight time at the mesocosm platform and develop the photoperiod scenarios, we used photoperiod data from the Astronomical Applications Department of the U.S. Naval Observatory (http://aa.usno.navy.mil/data/docs/Dur_OneYear.php) with the coordinates 49°16'N and 2°30'E. Temperature, photoperiod and food scenarios were implemented per day.

II.1.2.2. Initialization

a. Environment initialization

The photoperiod, temperature and food density are initialized according to the observed scenario of a given experiment. The parameter modelling inter-mesocosm variability is drawn from a standard normal distribution.

b. Founder stickleback initialization

The number of founders is the same than in the mesocosm experiments: 15 females and 10 males. One mesocosm experiment is randomly chosen from the number of mesocosms present at each experiment (9, 8 or 3 depending on the year) in order to initialize the lengths of the simulated founder sticklebacks to the length of the founders introduced in the chosen mesocosm for the simulation.

Each founder sticklebacks are considered mature. The individual DEB parameters $\{\dot{p}Am\}$ and φ are initialized as well as the DEB variables calculating from those parameters. For the females, the maximum number of eggs (R_{max}) that they can produce in a clutch is initialized, and the number of eggs R that they already have is randomly drawn from a uniform distribution $U\{0, R_{max}\}$. For the males, the number of eggs that they can harvest is initialized ($Nb.Eggs_{max}$). A time of acclimation (Time.Acc) of their new environment is taken into account and is lognormally distributed with the inter-individual variability parameter. All founders are considered active for the reproduction processes.

c. New born initialization

New individuals born in mesocosm are initialized as juveniles. The individual DEB parameters $\{\dot{p}Am\}$, φ , E_H^p and E_H^b are initialized as well as the DEB variables calculating from those parameters. Their energy E is initialized at the individual E_H^b . The length is initialized at the length of sticklebacks at hatchling ($L0$). The sex of the juvenile is randomly given with a probability of 0.5 of being a female or male.

II.1.2.3. Sub-models

a. Update-environment

Temperature. The freshwater temperature is updated at each time step as well as the correcting factor for the DEB parameters. The equation for the temperature correction is from Hovel et al. (2015). Five parameters of the DEB models are corrected with this equation (\dot{v} , $\{\dot{p}Am\}$, $[\dot{p}_M]$, φ and \dot{k}_M) as in Leloutre et al. (2018).

Photoperiod. The photoperiod is updated at each time step.

Food density. The food density in the model is divided into three categories: the zooplankton and the macroinvertebrates inferior and superior to 5 mm as two class sizes were distinguished during the macroinvertebrate samplings. The food density is updated at each time step.

Movement. Each individual randomly moves in the mesocosms except for the males. When males have built a nest, they stay near their nest until hatchling (Wootton 1984).

b. DEB models

Equations. The DEB model describes the life cycle of the sticklebacks. The physiological processes of the individual (growth, reproduction, maintenance) are described by differential DEB equations given in Leloutre et al. (2018).

Focus on the functional response f . Sticklebacks have an individual functional response f calculated with the following equation from David et al. (2018).

$$f = \frac{x}{1+x} \text{ with } x = \frac{X_i}{0.5 \cdot \varphi \cdot L^2} \quad \text{Eq. (A.12)}$$

Where x is the scaled food density, X_i the food density (J) one individual have access to at each time step. φ is the necessary amount of food to be fed ad libitum (J/mm²) which depends on the squared structural length L (mm) of the fish. To calculate the food density X_i (J) available for each stickleback, we considered the available energy in the water column around the foraging fish (See David et al. 2018).

At each time step, the food density presents in the water column in which sticklebacks predate is calculating comparing the total surface of the mesocosm and the radius of the water column.

$$\text{factor.i} = \frac{\pi \times r_i^2}{S_{\text{meso}}} \quad \text{Eq. (A.13)}$$

Where S_{meso} is the surface of the mesocosm (in m²) and r_i the radius (in m) of the water column.

The radius is supposed to be dependent on the length of the individual and thus linearly increases with their length until reaching a reference value (given for larger sticklebacks). Indeed, smaller sticklebacks are less explorative compared to larger sticklebacks to reduce the risk of cannibalism (Foster et al. 1988): from the mesocosm observations, fry and small juveniles stay indeed in the vegetation whereas larger fish would have a tendency to be in open water and thus be more explorative.

$$\begin{aligned} r_i &= \frac{L_i}{L_{\text{ref}}} \times r_{\text{ref}} \text{ if } L_i < L_{\text{ref}} \\ r_i &= r_{\text{ref}} \text{ if } L_i \geq L_{\text{ref}} \end{aligned} \quad \text{Eq. (A.14)}$$

Because males are slightly more boldness than females and show greater exploration of their environment in a foraging context (King et al. 2013), the distance they can travel during foraging in increase by the parameter Bold.M (in percentage). Furthermore, among all the prey type monitored in mesocosms, sticklebacks are limited by the size of their mouth to predate prey as shown by Gill and Hart (1994). To assess the food density per individual, we calculated the mouth size from the size of sticklebacks (Nettleship 2011, De Kermoisan 2013) (Eq. (A.4)) to calculate the length of the prey then can predate (Eq. (A.5)) based on the ratio between the mouth and the prey sizes given in Gill and Hart (1994).

$$L_{mouth} = a_{food} \times L + b_{food} \quad \text{Eq. (A.15)}$$

$$\text{and } L_{food} = Ratio_{food} \times L_{mouth} \quad \text{Eq. (A.16)}$$

With a_{food} and b_{food} the parameters of the equation and L the standard length of the fish (mm), L_{mouth} the length of the fish mouth (mm) and L_{food} the maximal length of the prey (mm) the fish can predate. $Ratio_{food}$ is the ratio between mouth and prey sizes.

Then, the food density $Food_i$ each individual can access to at time t is calculated. All individuals can predate zooplankton but the amount of energy from macroinvertebrates they can predate is linearly interpolated from the prey size of the macroinvertebrates and L_{food} .

$$Food_i = X_{zoo} + x_i \cdot X_{macro_{\leq 5}} + y_i \cdot X_{macro_{> 5}} \quad \text{Eq. (A.17)}$$

Where X_{zoo} is the amount of zooplanckton (in J), $X_{macro_{\leq 5}}$ and $X_{macro_{> 5}}$ the food density (J) of macroinvertebrates with a length inferior or strictly superior of 5 mm as those two categories of prey were sampled in mesocosms. x and y are the proportion factors calculated from L_{food} and the category size of the prey to determine the proportion of food individuals can have from the two class sizes of macroinvertebrates.

The calculation of the food density for the individuals is thus given by:

$$X_i = Food_i \times factor_i \quad \text{Eq. (A.18)}$$

Finally, in order to model the competition for food in mesocosms, we calculated a factor of inhibition of growth for the sticklebacks which depends on the produced biomass in mesocosms. The functional response f is then multiplied by this factor of inhibition a_{inh} . The competition pressure is supposed to be dependent on the individual weight and higher for juveniles as smaller sticklebacks are less competitive in the mesocosms. Furthermore, the density of juveniles is intense leading to possible intra-cohort competition.

$$a_{inh} = \frac{K.dens.i}{K.dens.i+Biomass} \text{ with } K.dens.i = Kdens \times W^{a.Kdens} \quad \text{Eq. (A.19)}$$

$$\text{And } f = a_{inh} \times f \quad \text{Eq. (A.20)}$$

With $Kdens$ and $a.Kdens$ the density-dependent parameters for growth, W the weight of the fish (expressed in mg/m^2), Biomass the produced biomass of sticklebacks in mesocosms (mg/m^2). Founder sticklebacks are not supposed to be in competition as there are the most dominant in the mesocosms.

In conclusion, three main processes can affect the functional response f , first the distance for foraging, then the available quantity of food for each individual and finally the phenomenon of density-dependance.

c. Transition from juvenile to adult

The length threshold between juveniles and adults was fixed at 26 mm in the model because at this length, the sexes of juveniles can be experimentally determined (De Kermoyan 2013). In addition, on the population located at INERIS, no fish were observed mature below 26 mm. Therefore, in the model, juveniles which reach 26 mm are classified in males or females.

d. Puberty process

Juveniles are mature when their cumulated energy is above the threshold of their individual parameter E_H^p . Then, the state variable *puberty* is activated. Males which have enough energy to bear the reproduction process (determined by R_{min}) are considered ready for reproduction.

e. Female fecundity

Fecundity (eggs per clutch) is dependent on the stickleback female length (Wootton 1984). In the model, mature females are predicted to produce eggs (variable R in the DEB model) and the size of the clutch (R_{max}) is determined by Eq. (A.10). When the number of produced eggs has reach the size of the clutch, the female is ready to spawn.

$$R_{max} = a_{Rmax} \times (L - L_{mat}) + b_{Rmax} \quad \text{Eq. (A.21)}$$

With a_{Rmax} and b_{Rmax} the parameters of the equation and L the length of the female in mm. L_{mat} is the length at maturity of the female (mm). Then, only a part of the clutch is spawn in a nest which is determined par $Part_Rmax$.

Female attributes implied in reproduction are reinitialized after the female had spawn in a nest.

f. Reproductive behavior of the males

The male reproductive behavior is described by 4 sub-parts which correspond to 4 procedures in the NetLogo script.

i. Territory establishment

Stickleback males establish breeding territories (van den Assem 1967, Mori 1993, Candolin and Voigt 2001). In the model, the breeding period is activated when the

photoperiod is above the photoperiod threshold for the reproduction processes. Indeed, photoperiod has an impact on the reproduction processes (Borg 1982, Wootton 1984). If so, males can get a territory if they have enough space in the mesocosm (A.Territory.min) and have enough energy to bear the reproduction processes (R_min).

ii. Nest building

Males can build a nest if they have a territory. The nest has a daily probability to be destroyed included in the mortality processes (M.nn).

iii. Eggs harvesting

If more than one female is ready to spawn, males select the female which have the most eggs to spawn (Wootton 1984). However, a male can receive several clutches from several females in its nest, the maximum number of females which can spawn in a nest is given by the parameter Female.Select.

The maximal number of eggs that a male can harvest depends on the male length (De Kermoyan 2013) and is given by Eq. (A.11).

$$Nb.Eggs_{max} = a_{Nb.Eggs} \times (L - L_{mat}) + b_{Nb.Eggs} \quad \text{Eq. (A.22)}$$

With $a_{Nb.Eggs}$ and $b_{Nb.Eggs}$ the parameters of the equation and L the length of the male in mm. L_{mat} is the length at maturity of the male (mm).

When the number of eggs in the nest is above the number of eggs that the male can harvest or that the harvesting time is finished, the male stops to harvest.

iv. Hatching

If the time of development of the eggs is reached, the eggs can hatch and the state variables of the fries are initialized. The hatching process is extended over several days as observed in laboratory. The number of eggs to hatch daily is drawn from a uniform distribution taking into account the number of eggs remaining in the nest.

The probability of stopping the reproduction processes for males is calculated by multiplying the number of successful nests that made the male to the parameter Proba.Stop. Then this value is compared to a value of X randomly drawn from a uniform distribution $U(0,1)$; if X is lower than the probability then the male stops the reproduction processes. Furthermore, males also stop the reproduction processes when the time of the breeding period is over (determined by Breeding.Period).

g. Mortality

Individual mortality is divided into different parts:

i. Eggs and larvae mortality

This mortality is taken into account in the reproduction processes. Each egg and larvae have a probability P.OL of survival. Thus, the number of survival eggs is equaled to the quantity of eggs multiplied by the egg and larvae probability of survival.

ii. Daily mortality of the nest

The daily probability of mortality of the nest depends on the probability of destruction of the nest (M.nn) and the density-dependence of the predators M.nc.

$$M.c = P.attack * P.Dest.nid \quad \text{Eq. (A.23)}$$

$$\text{With } P.attack = \frac{Biomass.P}{DP50_m + Biomass.P} \quad \text{Eq. (A.24)}$$

Biomass.P is the biomass of the predators which are susceptible to attack nest, i.e. individuals which are mature (Wootton 1984).

iii. Daily mortality depending of the temperature.

Mortality of three-spined sticklebacks increases with the water temperature.

$$M.t = \frac{e^{a.t \times T + b.t}}{1 + e^{a.t \times T + b.t}} \quad \text{Eq. (A.25)}$$

With a.t and b.t the parameters for the calculation of M.t and T the water temperature (in Celsius).

iv. Daily mortality of the individuals.

The daily mortality of the individuals depends on the natural mortality and the density-dependence.

The natural mortality is calculated for each individual with an allometric relationship depending on the weight of the individual:

$$M.n = Mu \times W^{bN} \quad \text{Eq. (A.26)}$$

With Mu and bN the parameters.

Then, the density-dependence is taken into account with the following equation (Hazlerigg et al. 2012).

$$M = 1 - \text{Survival with Survival} = \frac{M.n}{1 + m.dens * N} \quad \text{Eq. (A.27)}$$

With M.n the basal mortality of the individuals, m.dens the density-dependent parameter and N the number of individuals in the population.

Moreover, the males in reproduction have a daily malus of mortality (*Mr*).

Finally, the sum of the probabilities for each individual is computed and an inter-mesocosm variability was added (see Table 1). Then this value is compared to a value of X randomly drawn from a uniform distribution $U(0,1)$; if X is inferior to the sum of the probabilities then the individual die.

II.2. Sensitivity analyses

II.2.1. Local sensitivity analysis

A local sensitivity analysis was made on the DEB-IBM. The parameter values varied between $\pm 5\%$ and the global index was calculated according to the method described in Ginot et al. (2006) and Beaudouin et al. (2008). A dummy parameter which has no effect in the model was included to distinct the noise to the real effects of the parameters. As described in Beaudouin et al. (2008), the sensitivity distribution of a parameter which is lower than the 99% upper percentile of the sensitivity distribution of the dummy parameters show that the effects of the parameter on the outputs are not distinguishable from random effects. To avoid correlation between some parameters like a_{food} and b_{food} , K_{dens} and a_{Kdens} or a_{t} and b_{t} , we introduced a ratio between those parameters as well as the second parameter: ab_{food} ($a_{\text{food}}/b_{\text{food}}$) and b_{food} , ab_{Kdens} ($K_{\text{dens}}/a_{\text{Kdens}}$) and K_{dens} or at_{bt} ($a_{\text{t}}/b_{\text{t}}$) and b_{t} .

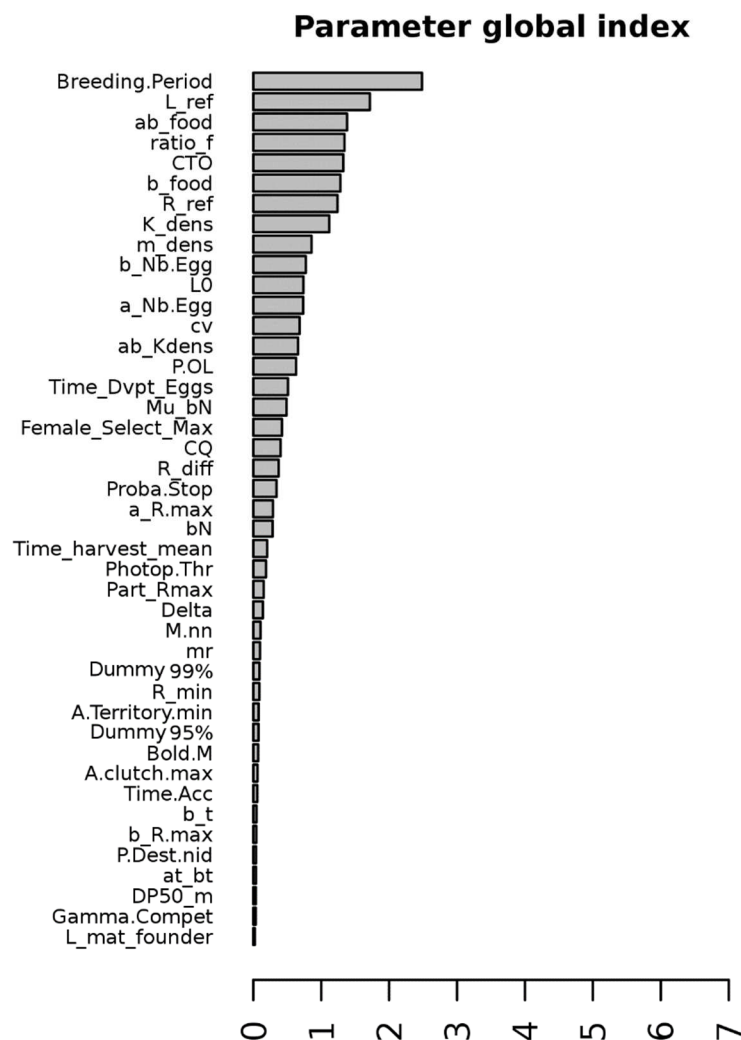


Figure A.7. Results of the local sensitivity analysis.

II.2.2. Morris method

The Morris method is a screening method which highlights the most influential parameters of a model with a low computational cost. It uses the one-step-at-a-time method (OAT), meaning that in each run only one input parameter is given a new value. For more details on the method, see Beaudouin et al. (2015). Here, 80 trajectories were realized using 30 replicates of each set of parameters using the R package “sensitivity” (Iooss et al. 2012).

Table A.5 provides the intervals of confidence used for the Morris sensitivity analyses for each parameter. Results of the sensitivity analysis were given by outputs as the influence of the parameters depend on the studied output (see Figure A.8).

Table A.5. Confidence intervals of the parameters used for the Morris method

Parameter	Description	Median	IC 5%	IC 95 %	Unit
L0	Standard length of juveniles at hatching	5.72	4.71	6.53	mm
a_R.max	Calculation of the size clutch in function of the female length	5.37	4.52	6.23	1/mm
b_R.max	Calculation of the size clutch in function of the female length	16.8	2.29	35.5	-
P.OL	Survival probability of eggs	0.8982	0.709	1	-
Female_Select_Max	Maximal number of female to collect its eggs	4	1	7	-
A.clutch.max	Maximal duration of keeping eggs for a female	2	1	7	d
Proba.Stop	Probability of stopping the reproduction processes for a male	0.1	0.05	0.4	-
Part_Rmax	Fraction of eggs to be lay by a female	0.703	0.37	1	-
a_Nb.Egg	Parameter for calculatin the maximam number of eggs in a nest in function of the male length	58.8	47.04	70.76	-
b_Nb.Egg	Parameter for calculatin the maximam number of eggs in a nest in function of the male length	-437	-524.4	-349.6	-
Time_harvest_mean	Harvest mean duration for males (percentage of the cycle)	12.7	10.16	15.24	%
Time.Acc	Time for male founder sticklebacks to acclimate themself to their new environment	-7	-8.4	-5.6	degree/d
Time_Dvpt_Eggs	Development time for the eggs	6.9	5.1	8.7	degree/d
R_min	Minimal energy for males to support the reproduction processes	1586.565	1426.91	2099.325	J
L_mat_founder	Standard mature length for founders	32.55	29.295	35.805	mm
R_diff	Time between two reproductions	10	5	30	degree/d
A.Territory.min	Mimimal territory size for a male	0.218	0.13	0.32	m ²
Gamma.Compet	Competition parameter for getting a territory	0.15	0.12	0.18	-
ab_food	Relationship Length - Mouth size	-0.453	-0.264	-1.396	-
b_food	Relationship Length - Mouth size	-0.569	-0.192	-0.94	mm
ratio_f	Ratio prey size/mouth size	0.6	0.54	0.66	-
K_dens	Parameter of density dependence for the food	8000	6400	9600	mg/m ²
ab_Kdens	Parameter of density dependence for the food	0.00005	0.00004	0.00006	-
R_ref	Reference radius to calculate the radius of the water column	65.4	44.7	96.1	mm
L_ref	Reference length to calculate the radius of the water column	25	5.72	58.79	mm
Delta	Difference between the optimal and maximal temperature	2	1.8	2.2	degree
CTO	Optimal temperature	23	20.7	25.3	degree
CQ	Rate at which the function increases over low temperatures	3	2.7	3.3	-
m_dens	Parameter for the density dependent mortality	6.45E-06	1.00e-07	1.00e-05	-
mr	Malus for the survival of males in reproduction	0.000856	0.0007	0.0010	-
Mu_bN	Natural mortality rate at unit weight	-0.0626	-0.0096	0.1117	-
bN	Allometric scaling factor	-0.0516	-0.147	-0.058	1/d
DP50_m	50% of the density dependence for nest attacks	4000	3242	4760	mg/m ²
M.nn	Daily mortality of the nests	0.0191	0.0052	0.0649	-
at_bt	Parameter to calculate the mortality rate due to the temperature	-0.0388	-0.0466	-0.0311	-
b_t	Parameter to calculate the mortality rate due to the temperature	-93.7	-112.44	-74.96	-
P.Dest.nid	Probability of destroying a nest after an attack	0.01	0.008	0.012	-
Photop.Thr	Minimum day time to start the reproduction	11.305	9.044	13.566	h.min
Bold.M	Pourcentage of boldness for males during foraging	0.17	0.1	0.2	-
cv	Inter-individual variability	0.055	0.04	0.07	-
Breeding.Period	Duration of the breeding period	130	110	149	d

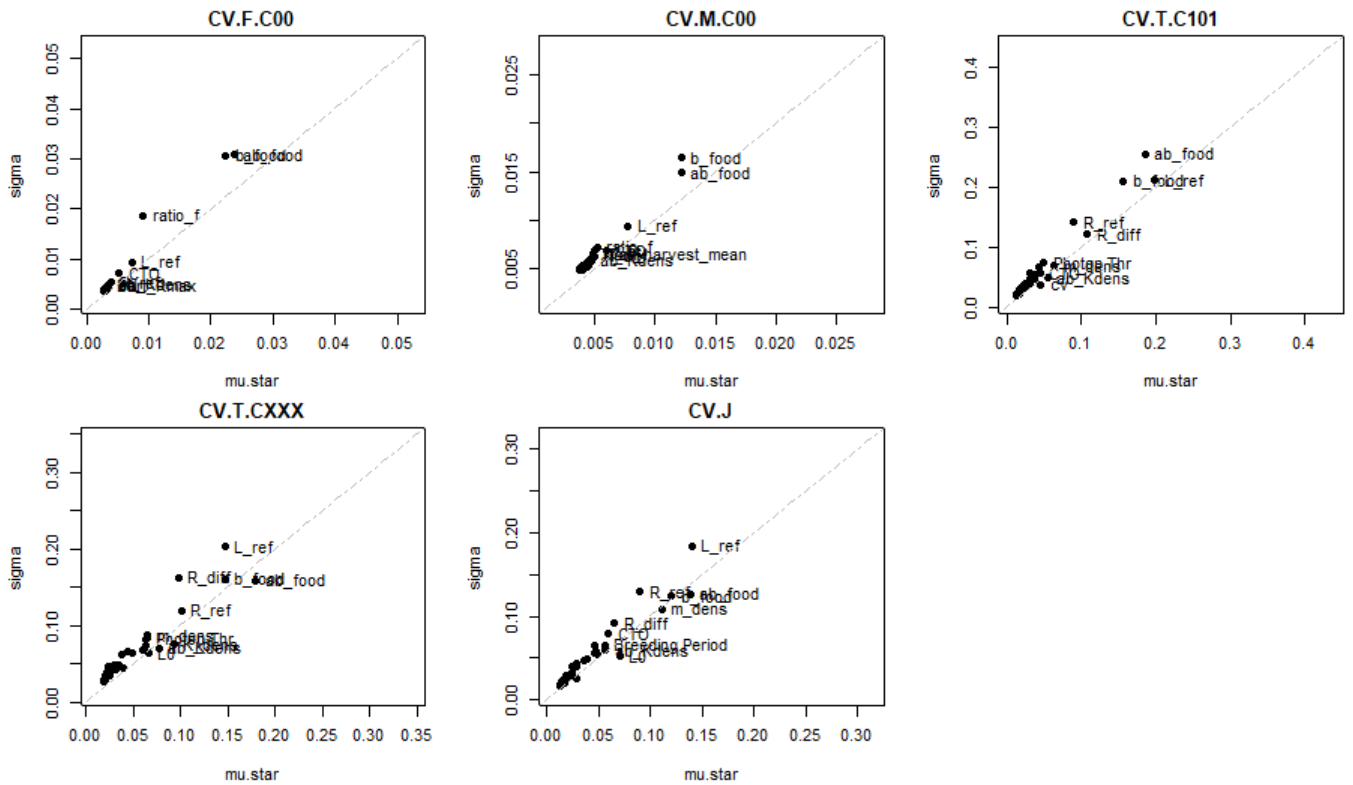
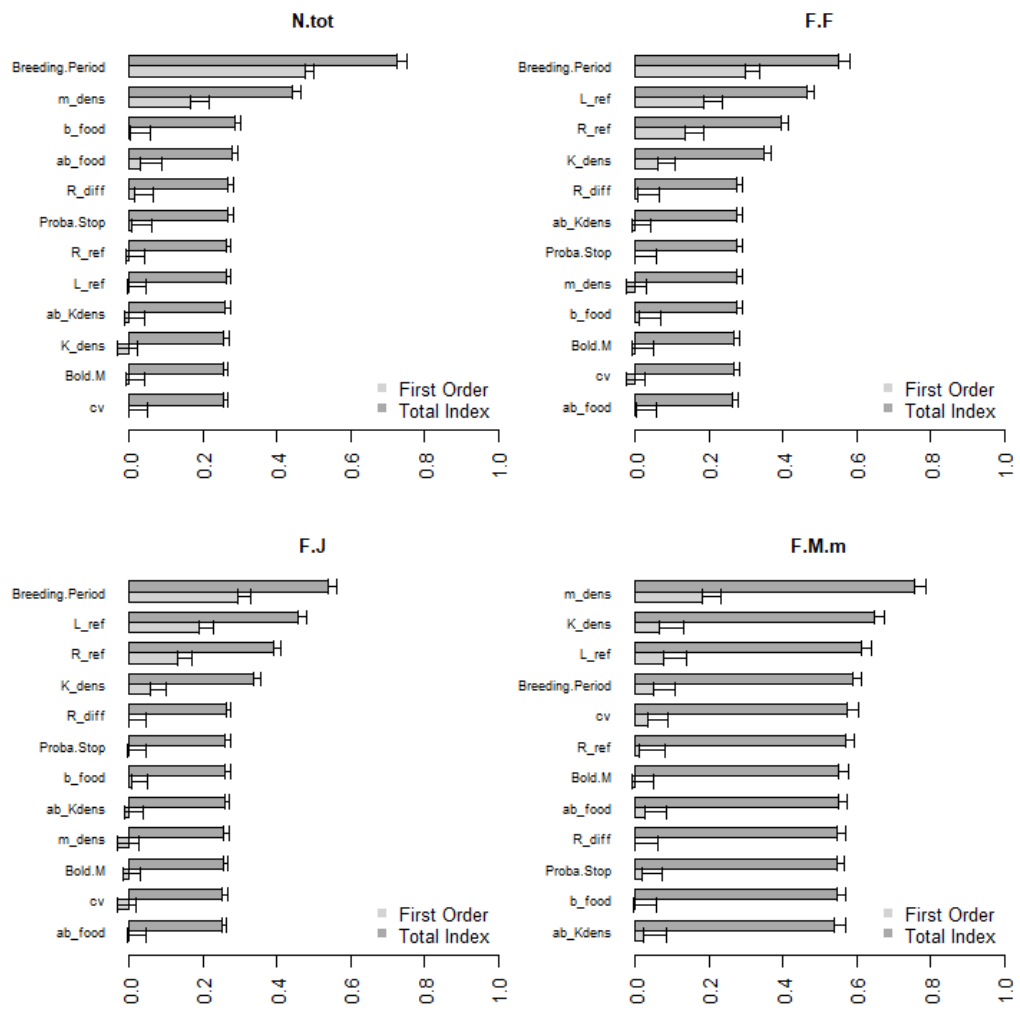
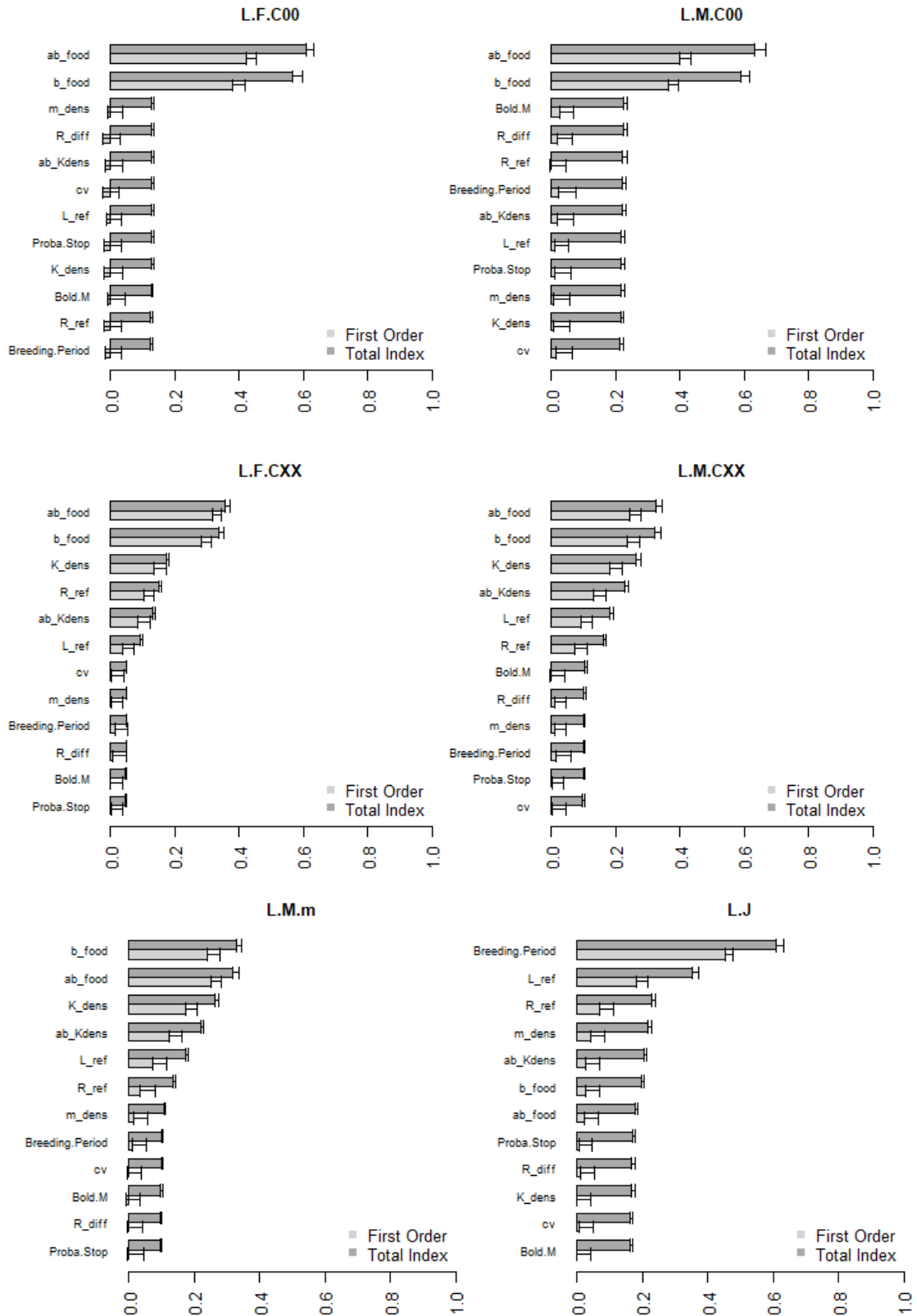


Figure A.8. Results of the Morris method in function of the parameters outputs. N.tot = Total abundance, F.M, F.F, F.J = Frequency of males, females and juveniles, F.M.m = Frequency of mature males, L.F.C00, L.M.C00, L.T.CXXX, L.T.C101 and L.J = Mean lengths of female and male founders, the sticklebacks born in the mesocosm, the individuals of the first cohort and the juveniles, CV.F.C00, CV.M.C00, CV.T.C101, CV.J = CV of lengths of female and male founders, the individuals of the first cohort and the juveniles. The first 10 parameters with the most effects for each output are shown.

II.2.3. Sobol method

A sensitivity analysis using the Sobol method was made for the IBM. The variance-based Sobol method is a global sensitivity analysis (Sobol' et al. 2007, Saltelli et al. 2010) which decomposes the variance of the outputs of the model to attribute it to one or several parameters. To reduce computational costs of the sensitivity analysis, we chose to present the results of the Sobol sensitivity analysis only for the parameters chosen for the calibration and with a variation of $\pm 10\%$ of their value. First order and total Sobol' sensitivity indices were calculated using the R package "sensitivity" (Iooss et al. 2012) as well as their 95% confidence intervals. The results were given in function on the studied outputs (Figure A.9).





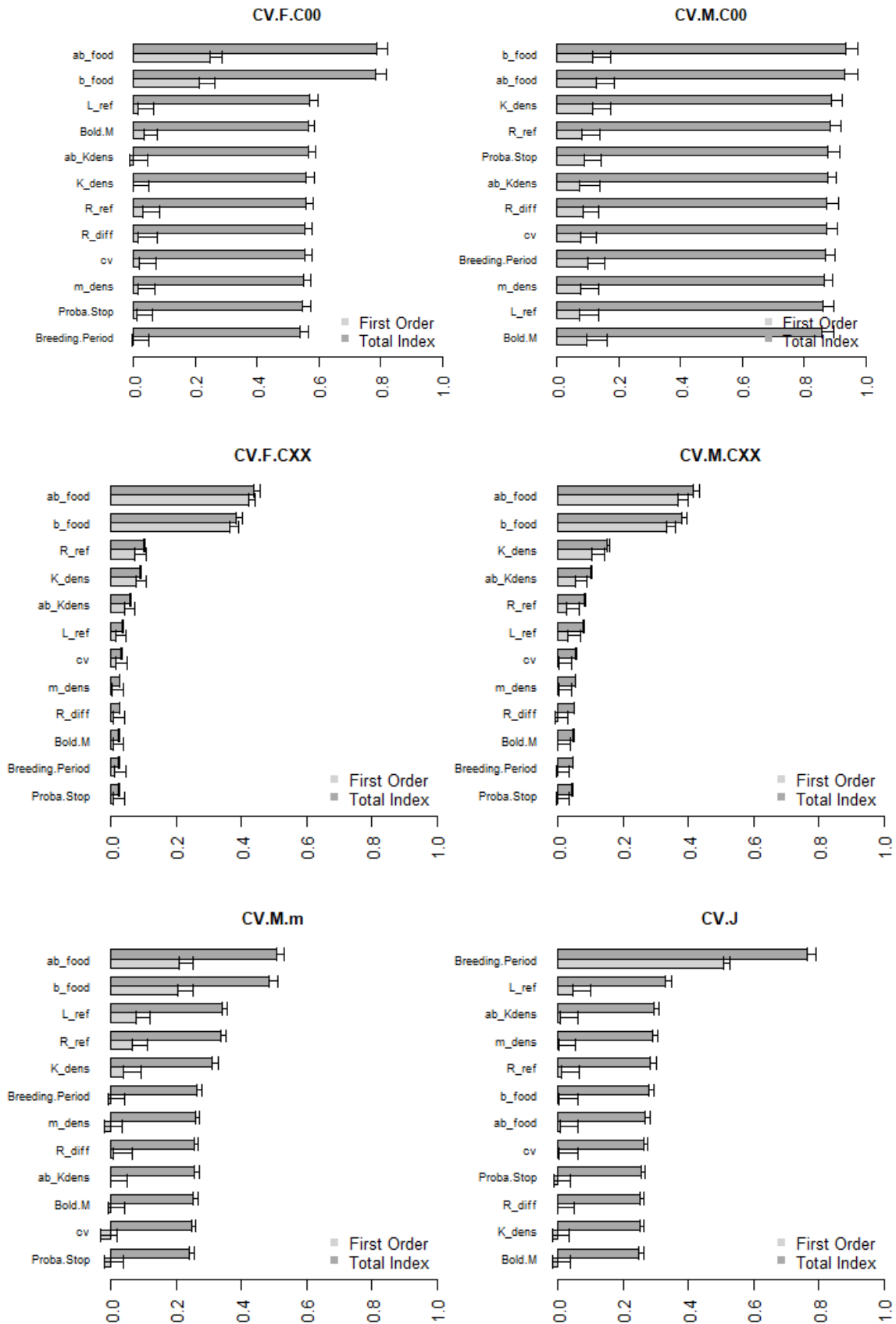


Figure A.9. Results of the sensitivity analysis using the variance-based Sobol' method for the different population endpoints. The first order and total index are represented as well as their confidence interval. To avoid correlation between some parameters, a ratio between some parameters

were used for the sensitivity analysis (ab_food for a_food/b_food and ab_Kdens for K_dens/a_Kdens corresponding respectively to the sensitivity analysis of a_food and a_Kdens).

II.3. Model calibration

II.3.1. Calibration method

Calibration of the DEB model had already been performed with laboratory experiments in David et al. (2018). The values and the description of the DEB parameters are given in the following table.

Table A.6. Values and descriptions of the DEB parameters.

Parameter	Value	Unit	Definition
δ_M	0.250	-	Shape coefficient
E_0	5.61	J	Initial reserve
E_H^b	1.33	J	Cumulated energy invested in maturity at birth
E_H^p	375	J	Cumulated energy invested in maturity at puberty
$\{\dot{p}_{Am}\}$	2.42	J/mm ² /d	Maximum surface area specific assimilation rate
\dot{v}	1.33	mm/d	Energy conductance
κ	0.757	-	Specific fraction of energy mobilized from energy from reserved allocated to growth and somatic maintenance
A	0.111	-	Fraction subtracted from κ to obtain κ in males after maturity
L_{egg}	0.563	mm	Size of primordial cell in physical length
$[\dot{p}_M]$	0.111	J/mm ³ /d	Volume specific somatic maintenance costs
$[E_G]$	1.10	J/mm ³	Cost of synthesis of a unit of structure
\dot{k}_j	0.003	/d	Maturity maintenance rate
k_R	0.978	-	Reproduction efficiency
φ	15.31	J/mm ²	Proportional factor to be fed ad libitum for a given day
T_{max}	25	°C	Water temperature above which consumption ceases
C_q	3	-	Rate at which the function increases over low temperatures
T_{opt}	23	°C	Optimal water temperature

Calibration of the population model was done using a genetic algorithm available within the software BehaviorSearch (Grimm and Railsback 2005). The distance to minimize was the weighted sum of least squares (WLS) between the predictions and the observations of the endpoints of the population (Eq. 1).

The parameters for the generic algorithm were 0.01, 100, 0.7, 3 respectively for the mutation rate, the population size, the crossover rate and the tournament size. The population model was chosen to be generational. For each set of parameters, the WLS was averaged on 30 simulations and when the generic algorithm found a better solution, the WLS was checked on 100 simulations to avoid false better solutions. The prior and posteriors of the parameters are given in Table A.6.

To avoid correlation between some parameters like a_food and b_food or K_dens and a_Kdens, we calibrated a ratio between those parameters as well as the second parameter: ab_food (a_food/b_food) and b_food, ab_Kdens (K_dens/a_Kdens) and K_dens.

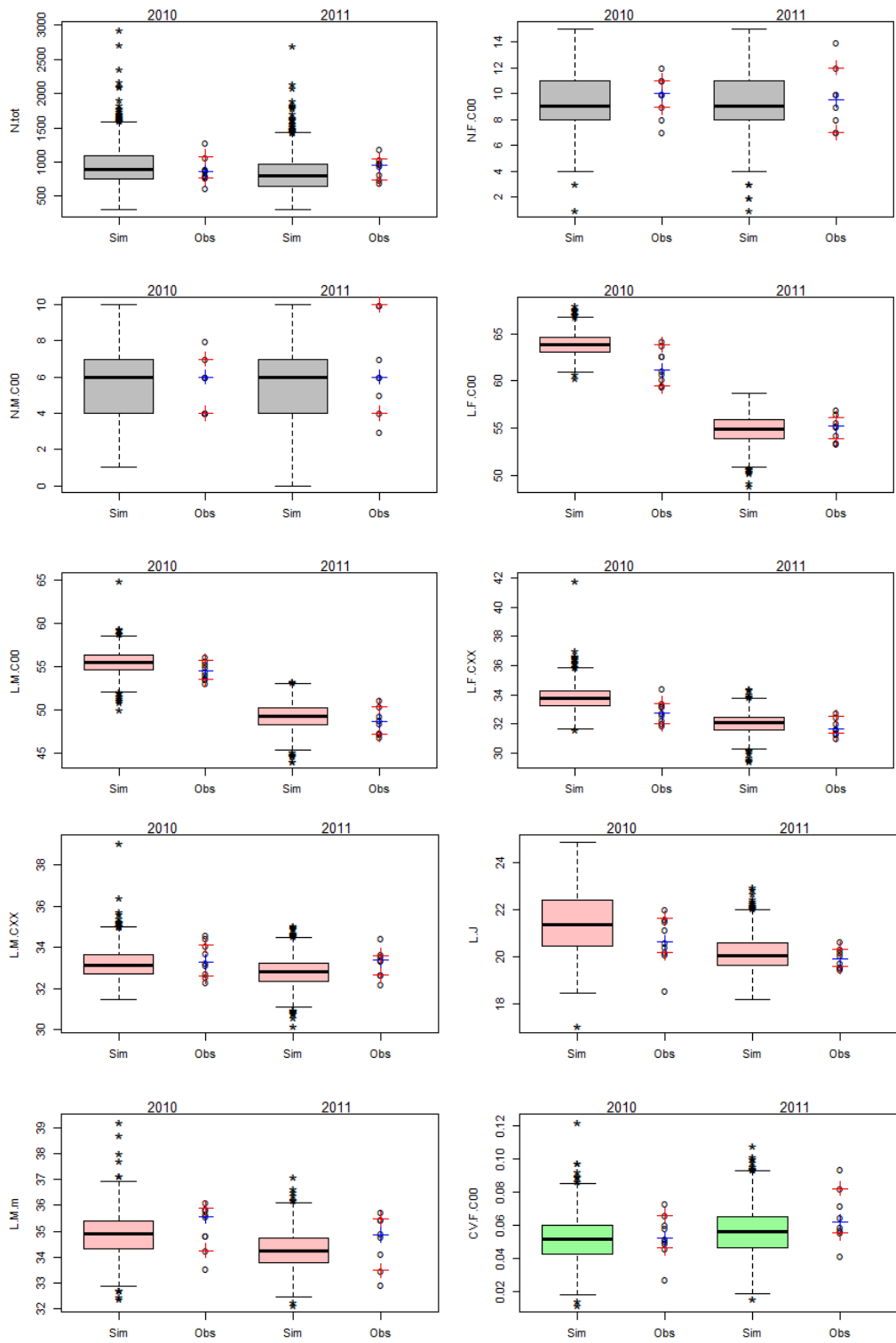
Furthermore, one DEB parameter linked to the stickleback maturity (E_H^p) was re-calibrated on maturity data of males in mesocosms. Calibration of the CVs of the food scenarios and the mortality was also made minimizing the weighted sum of least squares (WLS) between the

predictions (CV of the outputs calculated on 100 simulations) and the observations of the CV of the outputs.

Table A.7. Prior, posterior values and parameter spaces of the calibrated parameters

Parameter	Description	Posterior	Prior	Parameter spaces
m_dens	Parameter for the density dependent mortality	8.60E-06	0.000106	[1.10-4; 3.66.10-4]
R_diff	Time between two reproductions	11.14	3	[0 ; 20]
Proba.Stop	Probability of stopping the reproduction processes for a male	0.09	0.33	[0 ; 0.5]
Breeding.Period	Duration of the breeding period	117.23	130	[0 ; 200]
R_ref	Reference radius to calculate the radius of the water column	57.60	65.40	[44.7 ; 96.1]
L_ref	Reference length to calculate the radius of the water column	23.54	46.38	[5.72 ; 56.62]
K_dens	Parameter of density dependence for the food	8702.16	10000	[5000 ; 15000]
a_Kdens	Parameter of density dependence for the food	0.436	0.2	[0.1 ; 0.5]
a_food	Relationship Length - Mouth size	0.297	0.258	[0.248 ; 0.268]
b_food	Relationship Length - Mouth size	- 0.743	- 0.568	[-0.94 ; -0.192]
Bold.M	Pourcentage of boldness for males during foraging	0.17	0.1	[0 ; 0.3]
Cv	Inter-individual variability	0.061	0.055	[0.044 ; 0.066]
Ehp	Energy at puberty (J)	374.79	441.547	[300 ; 450]
CV.c_M	Coefficient of variation of the mortality (inter-mesocosm variability)	23.92	20	[10 ; 30]
CV.c_F	Coefficient of variation of the food (inter-mesocosm variability)	14.94	20	[10 ; 30]

II.3.2. Calibration results



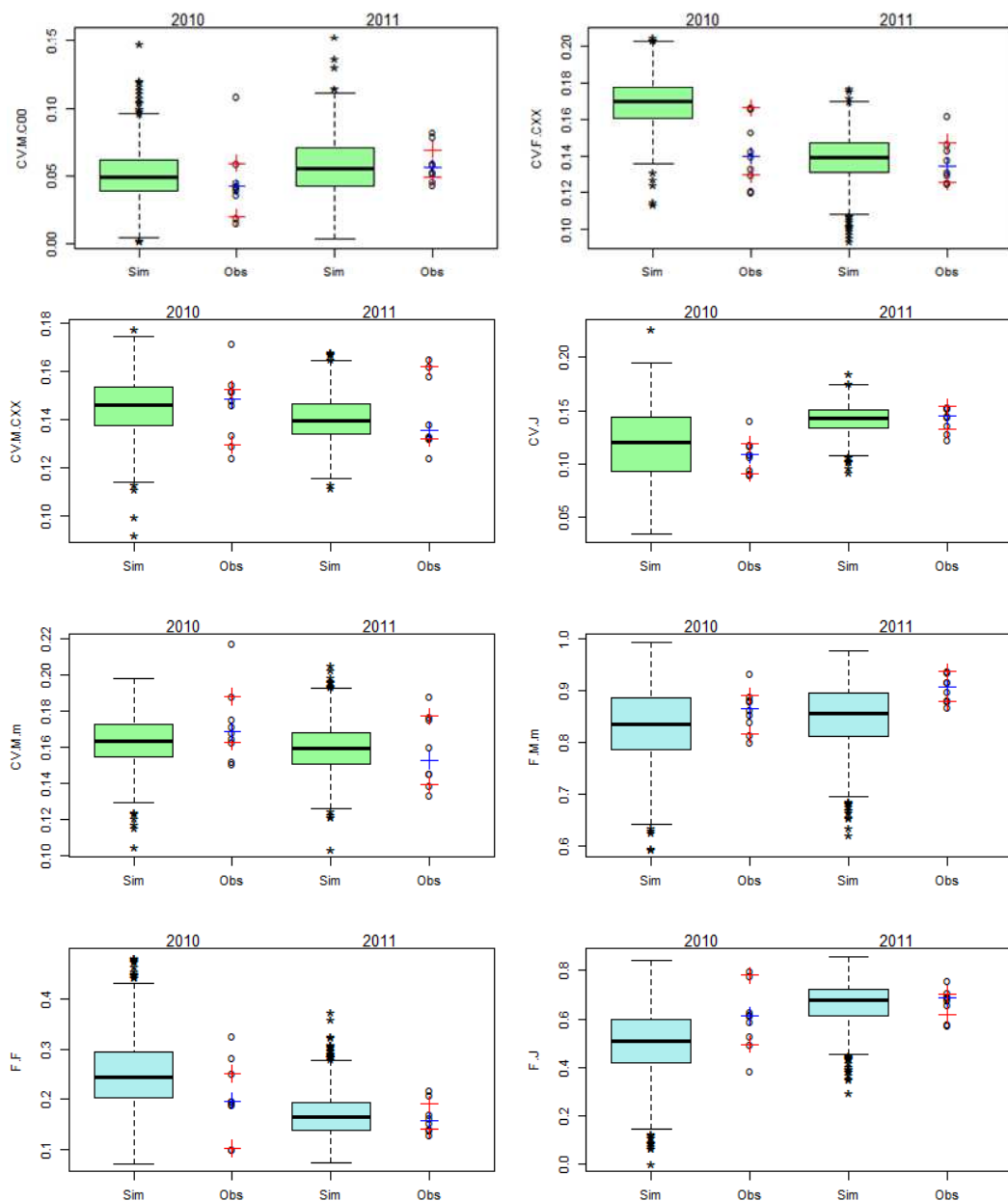


Figure A.10. Results of the calibration for 2010 and 2011 for each population endpoint. Grey boxplots represent the model simulations for the total abundance and number of female and male founders at the end of the experiments. Pink and green boxplots represent respectively the mean lengths and the CV of the lengths of the different categories of individuals. Blue boxplots represent the frequencies of mature males, female and juveniles. The points represent the observations of the descriptive variables of the populations. Blue crosses represent the medians of the observations and red crosses their 95 % confidence interval.

Predictions of the length frequency

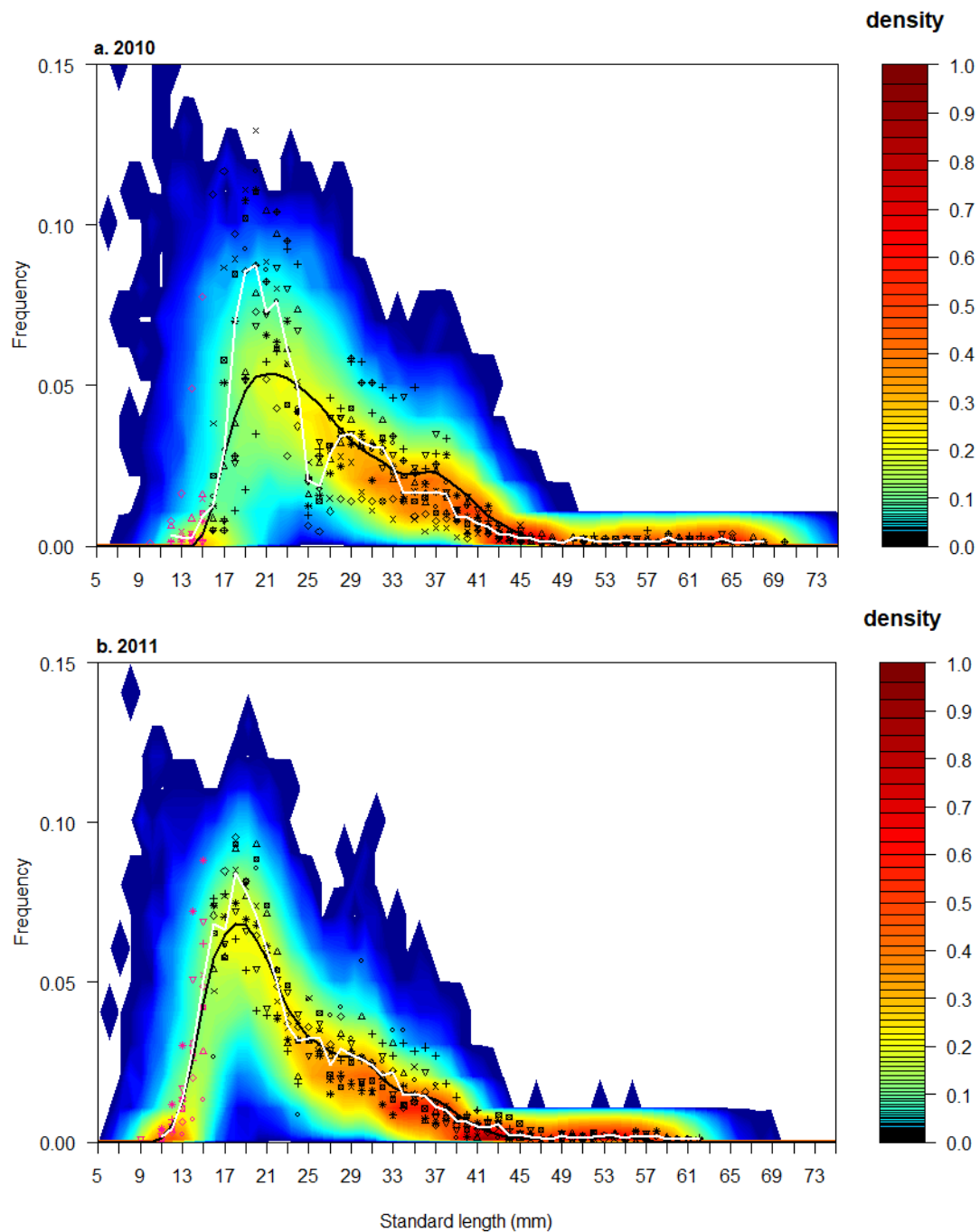


Figure A.11. Probabilistic distributions of the length frequency predicted by the model length compared to frequency distributions observed in the mesocosms of 2010 (a) and 2011 (b). Different point types represent the length frequency distributions of the different observed populations (9 and 8 populations in 2010 and 2011 respectively). Red points correspond to the class size that were excluded from the calibration process (individuals with a length smaller than 15 mm). Full black and white lines represent the median length frequency distributions of the simulated and observed populations respectively. Color level represents the frequency of simulated populations ($n = 1000$) having a given percentage of individuals for a given class length. Frequency inferior to $< 1e-04$ are represented in white.

Predictions of the length frequency of mature males

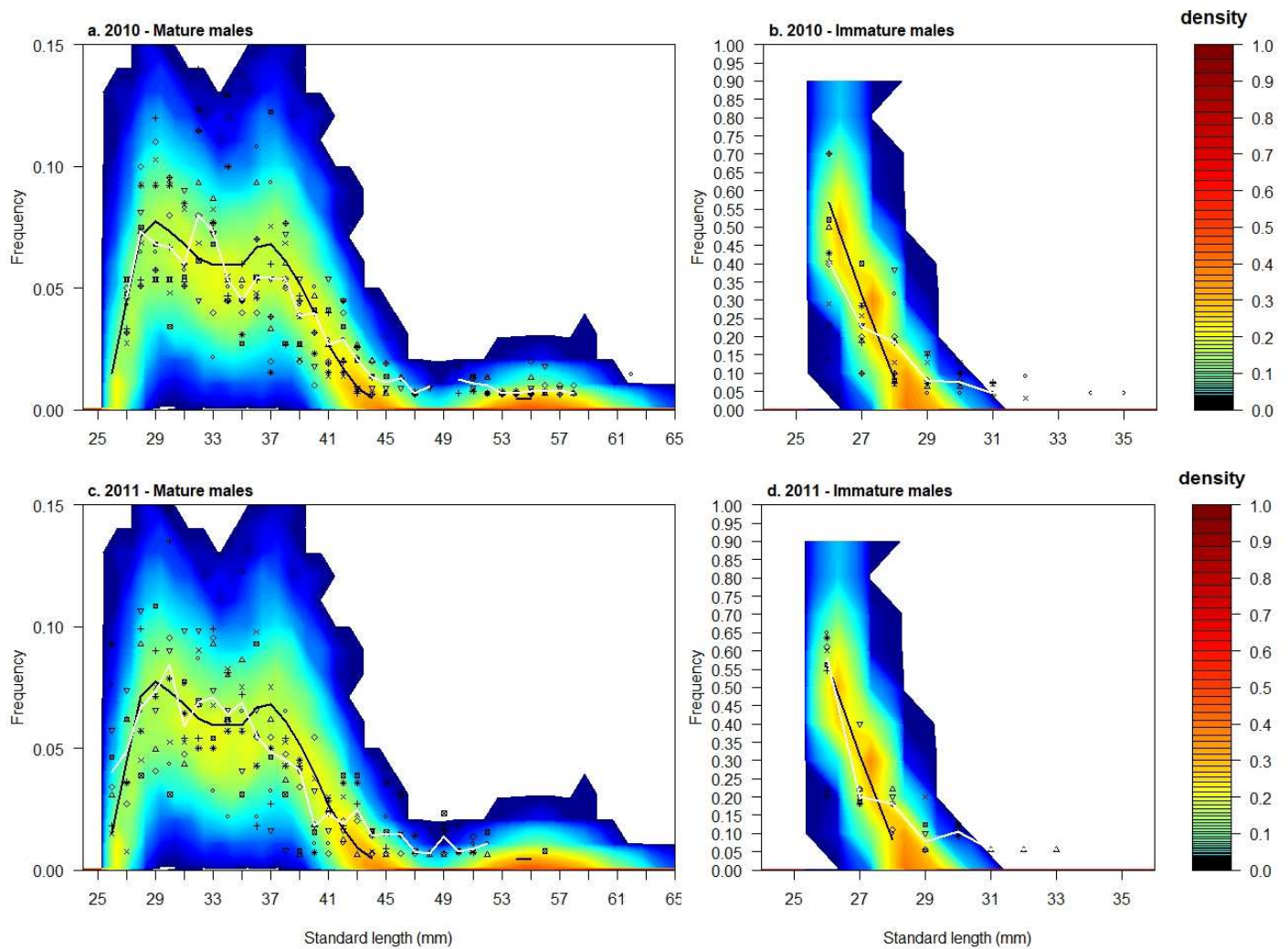


Figure A.12. Probabilistic distributions of the length frequency of mature (a,c) and immature (b,d) males predicted by the model compared to frequency distributions observed in the mesocosms of 2010 (a,b) and 2011 (c,d). Different point types represent the length frequency distributions of the different observed populations (9 and 8 populations in 2010 and 2011 respectively). Full black and white lines represent the median length frequency distributions of the simulations and observations respectively. Color level represents the frequency of simulations ($n = 1000$) having a given percentage of individuals for a given class length. Frequency inferior to $< 1e-04$ are represented in white.

II.4. Inter-year dependent parameter

A clear shift on the observed frequencies was found between the years of experiments 2010 and 2011 used for the calibration and the years of experiments 2012, 2013 and 2014 used for the validation. Indeed, as seen on the following graph, the fish in the first cohort born in mesocosms had a lower length in 2012, 2013 and 2014 than in 2010 and 2011 (between 30 and 40 mm on the graph). Indeed, the mean lengths of the males and females were 33.17 mm and 32.60 mm for 2010 and 2011 respectively. The mean lengths of the males and females were 31.63 for 2012, 30.02 mm for 2013 and 31.22 mm 2014 respectively. However, this could not be explained by the temperature and food scenarios which were similar of the ones from 2010 and 2011.

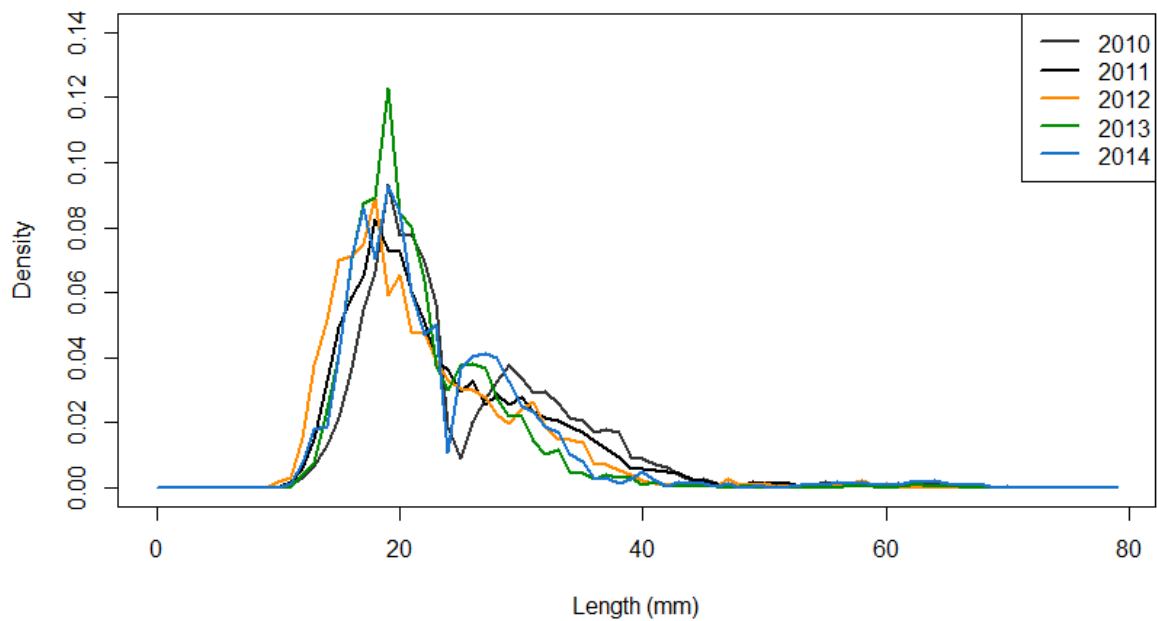
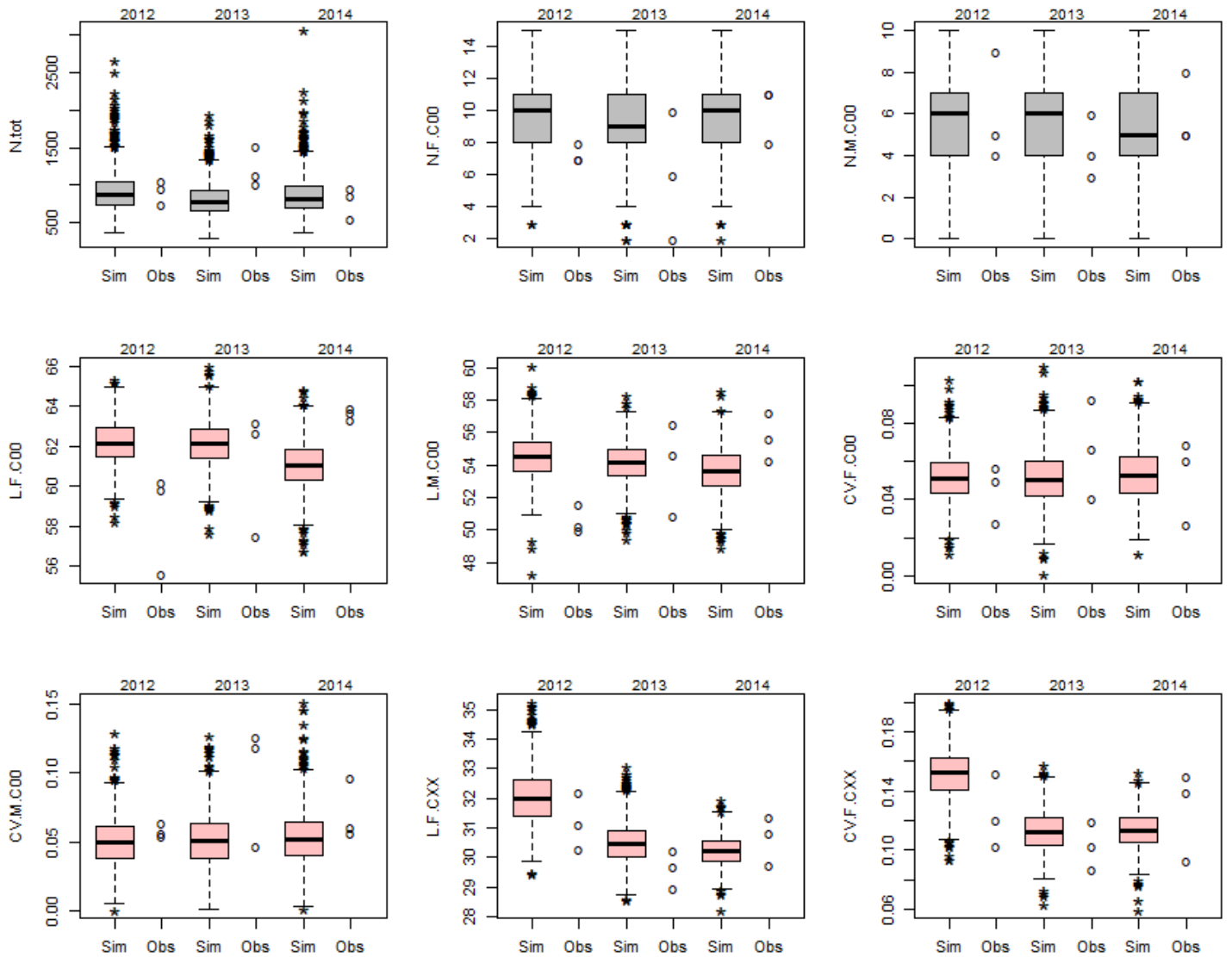


Figure A.13. Mean observed length frequencies for 2010 and 2011 (years of calibration) and 2012, 2013 and 2014 (years of validation).

To take into account the shift on the observed length frequencies, we introduced an inter-year dependent variation of the K_{dens} parameter responsible of the density-dependent growth and thus of the interactions between the fish and its environment. We did not change the DEB parameters for growth as this acclimatization of the fish to its environment is supposed to be reversible if the fish is isolated with unlimited food and an optimal temperature.

II.5. Model evaluation



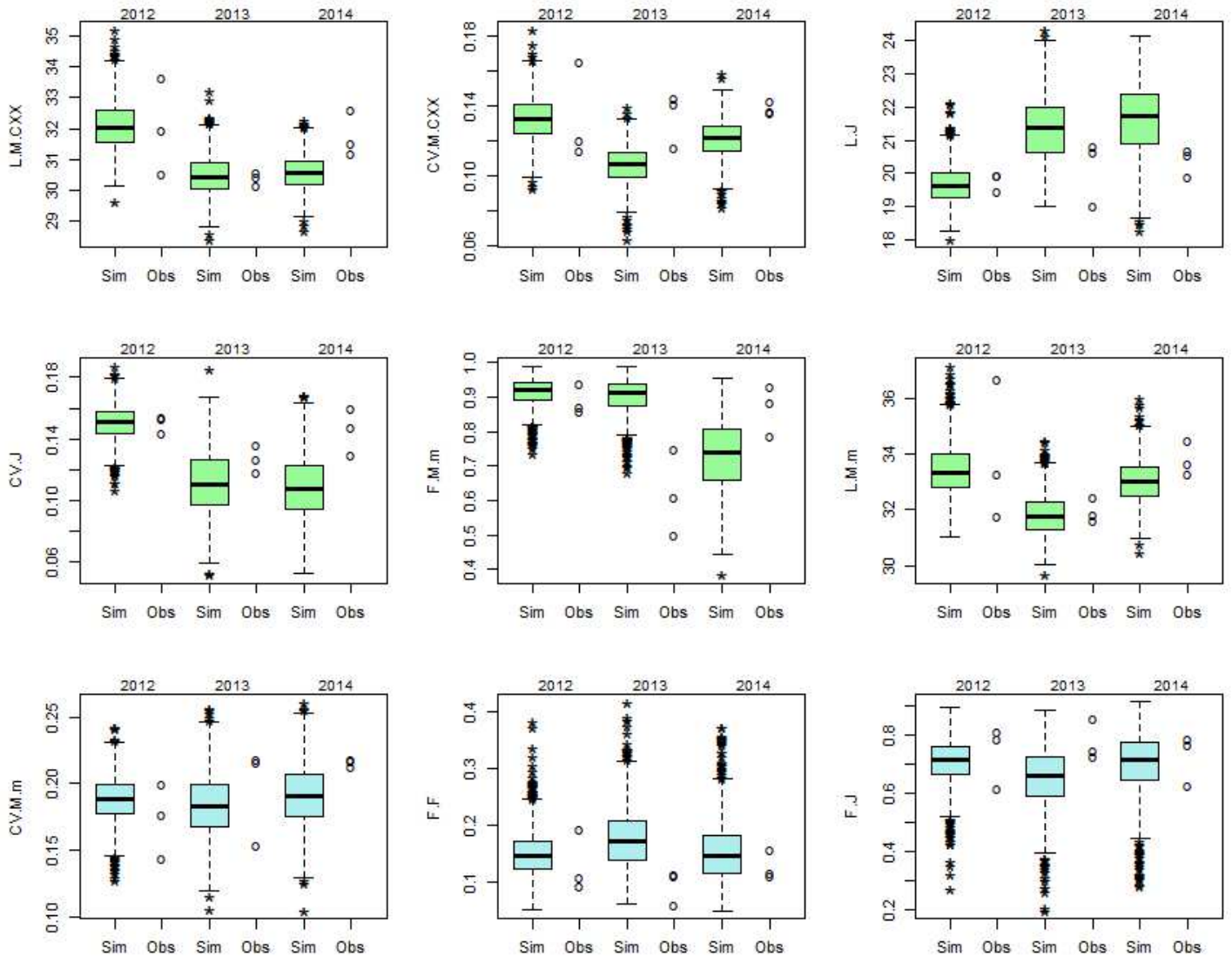
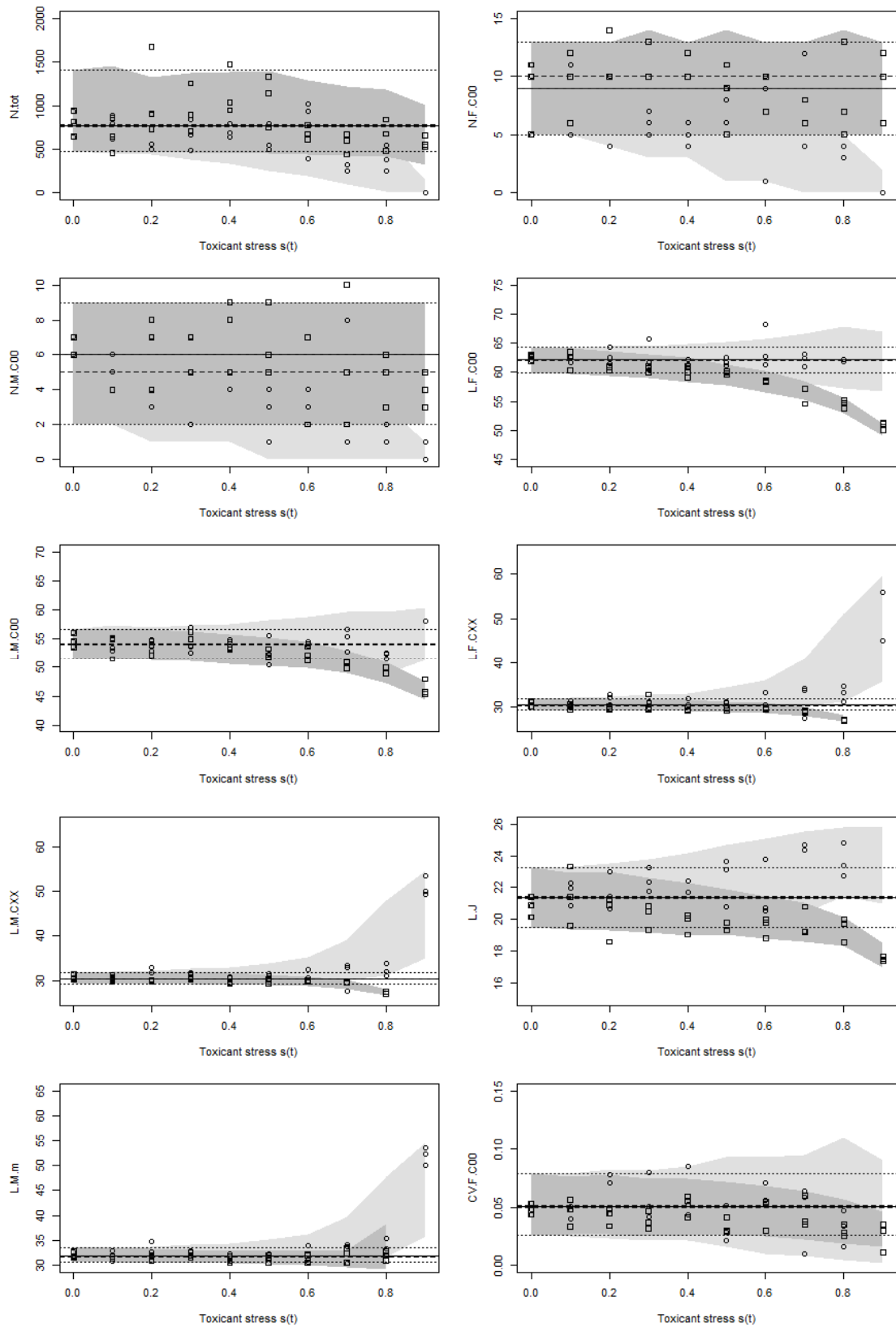


Figure A.14. Model predictions of the DEB-IBMs for 2012, 2013 and 2014 for each population endpoints. Grey boxplots represent the model simulations for the total abundance and number of female and male founders at the end of the experiments. Pink and green boxplots represent respectively the mean lengths and the CV of the lengths of the different categories of individuals. Blue boxplots represent the frequencies of mature males, female and juveniles. The points represent the observations of the descriptive variables of the populations.

Part III. Model application

III.1. Simulation results of toxicant stresses for each endpoint



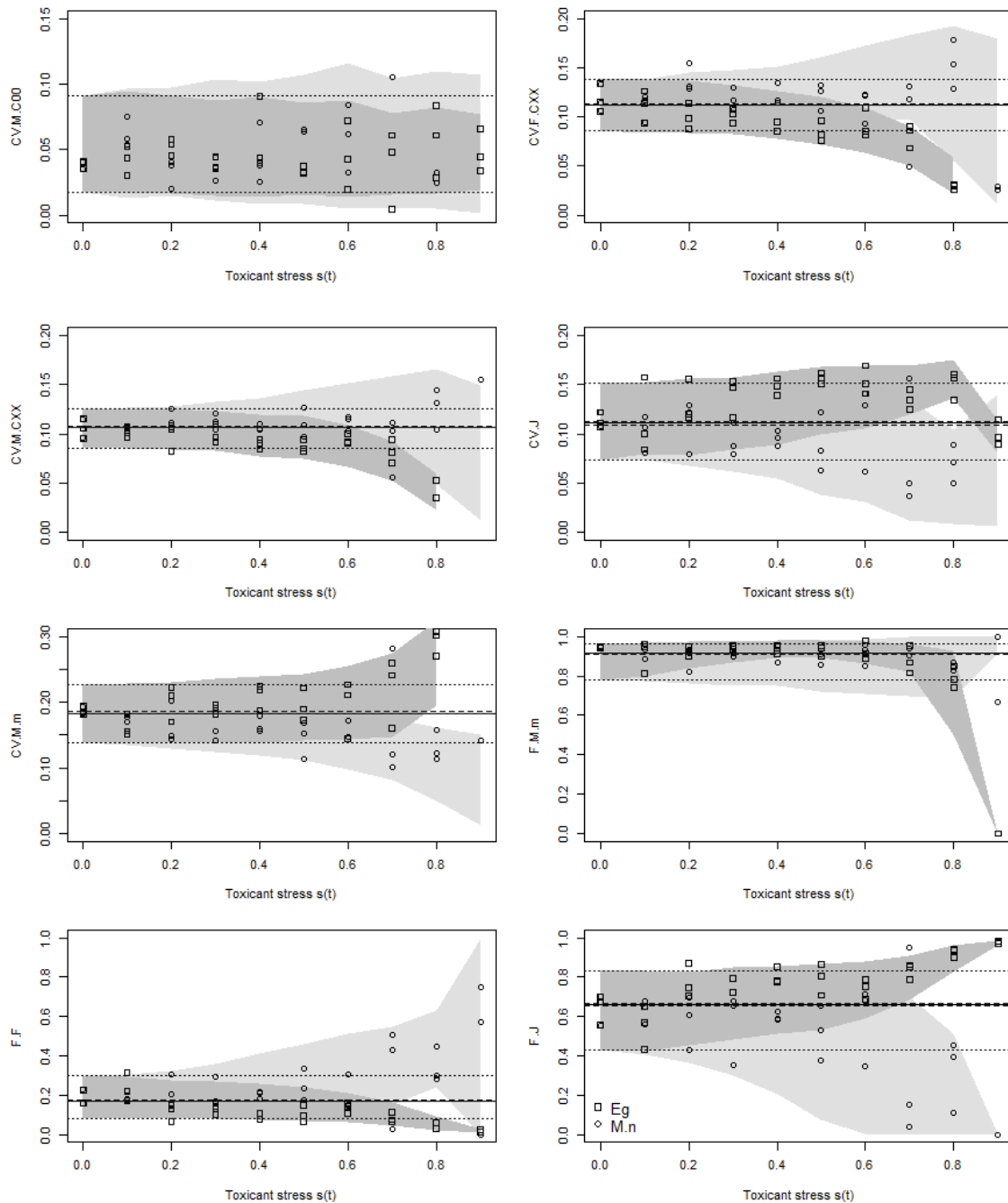


Figure A.15. Effects of hypothetical toxicants with the two different tested modes of action and with 3 simulations.

- Circles represent a given mesocosm experiment (3 populations per concentration) with the toxicant affecting the basal mortality and squares represent a given mesocosm experiment (3 populations per concentration) with the toxicant affecting the cost of synthesis of a unit of structure.
- Light grey zone represents the 95 % prediction interval (1000 simulations) of the endpoints with the toxicant affecting the basal mortality and dark grey zone represent the one from the toxicant affecting the cost of synthesis of a unit of structure.

- Dashed grey lines represent the 95 % prediction interval of the medians of the simulations in control conditions (1000 simulations) and dotted grey lines represent the 95 % prediction interval of the endpoints of the simulations in control conditions.

III.2. LOECs for each endpoint and toxicant stress

III.2.1. Toxicant impacting the basal mortality: $M.n$ parameter

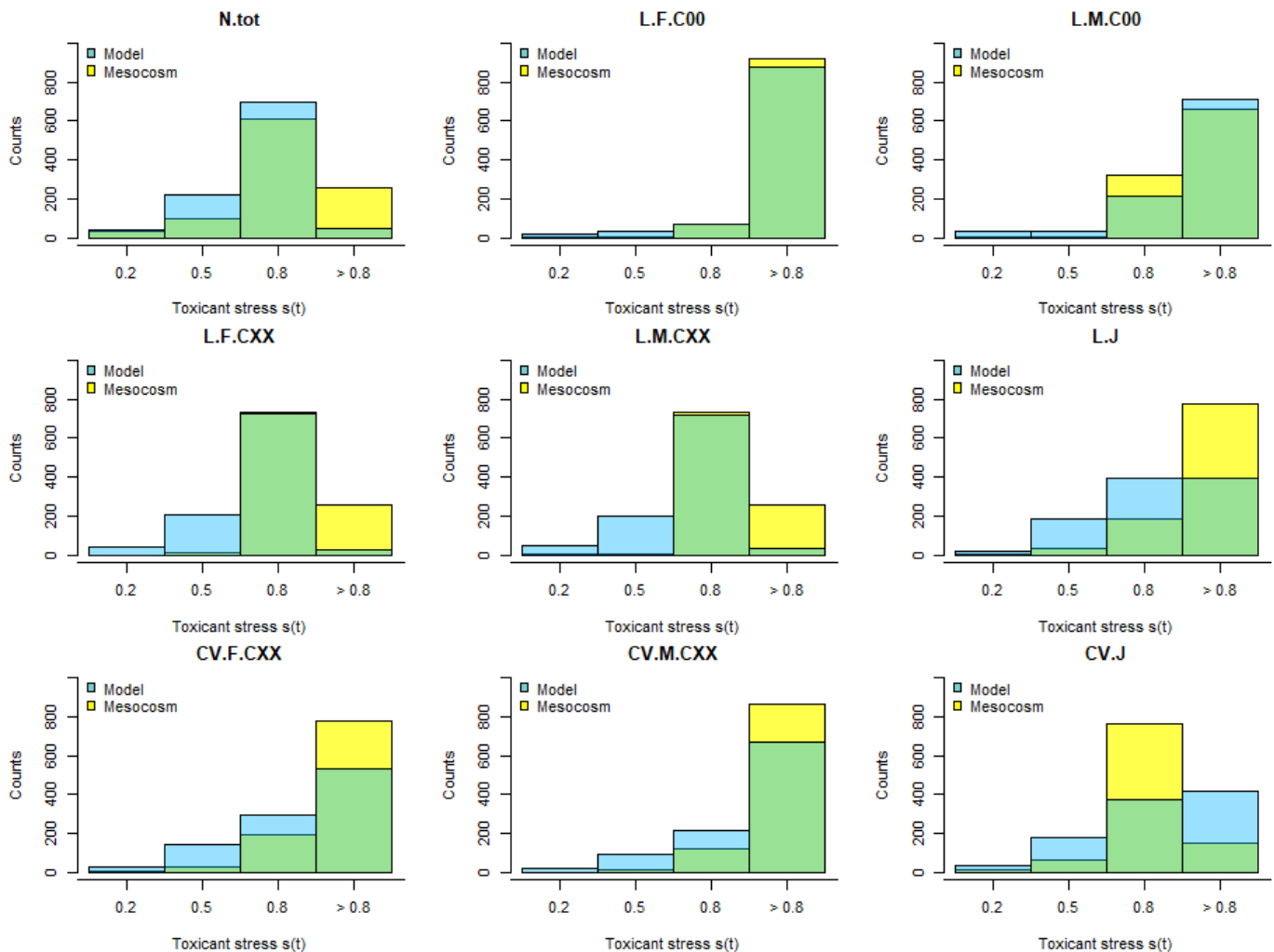


Figure A.16. Comparison of the LOEC distributions calculated for the population endpoints having a toxicant stress impacting the basal mortality. In yellow, the control was constituted by the three replicates available with mesocosm experiment design. In blue, the distribution of the control endpoints was estimated by the model simulations (1000 simulations).

III.2.2. Toxicant impacting the cost of synthesis of a unit of structure: $[E_G]$ parameter

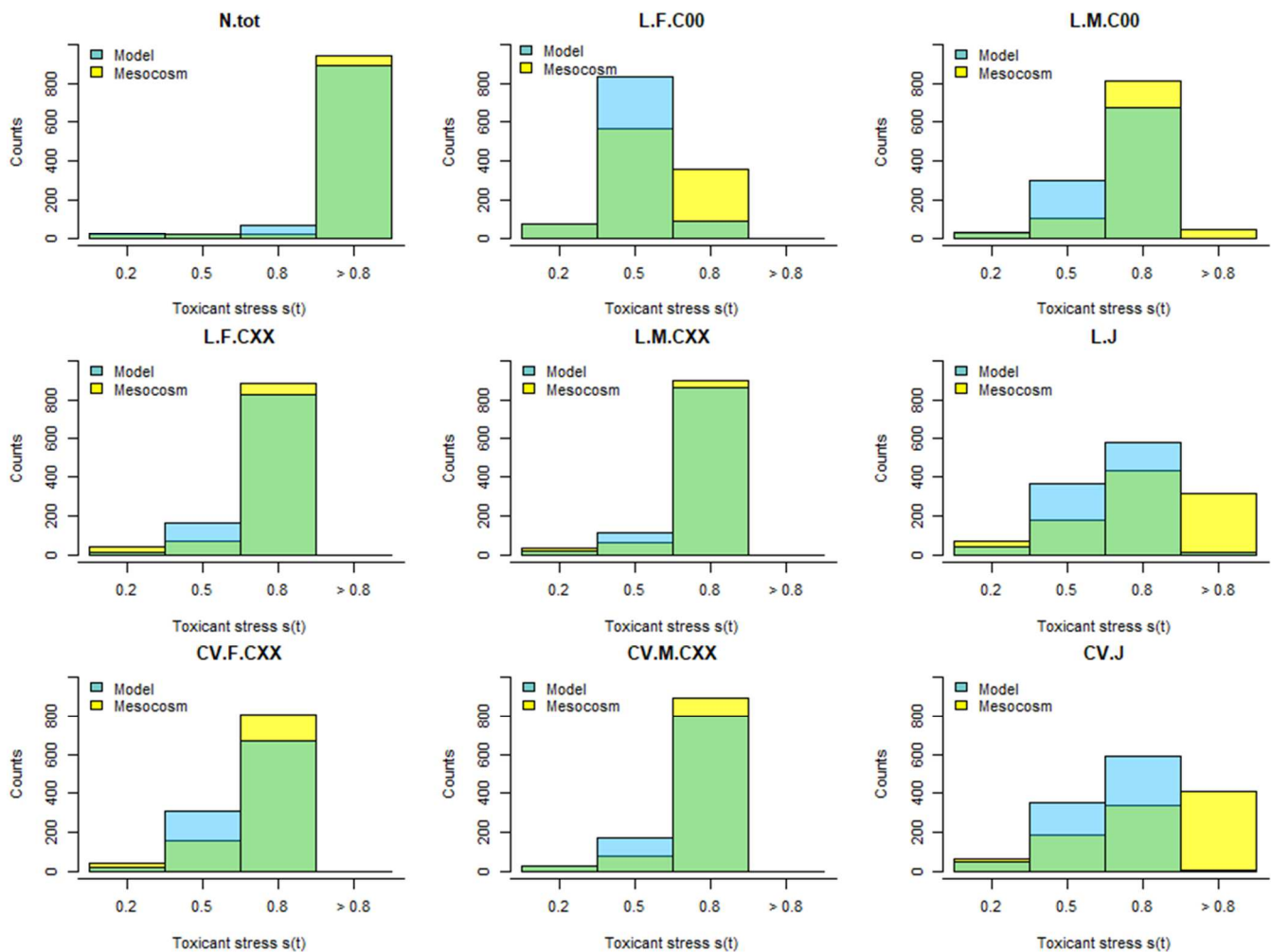


Figure A.17. Comparison of the LOEC distributions calculated for the population endpoints having a toxicant stress impacting the basal mortality. In yellow, the control was constituted by the three replicates available with mesocosm experiment design. In blue, distribution of the control endpoints was estimated by the model simulations (1000 simulations).

Part IV. DEB-IBM script

See additional files:

- The DEB-IBM Netlogo file
- The input files:
 - o Input2010.txt
 - o Input2011.txt
 - o Input2012.txt
 - o Input2013.txt
 - o Input2014.txt

References

- Beaudouin, R., Goussen, B., Piccini, B., Augustine, S., Devillers, J., Brion, F. and Pery, A. R. (2015). An individual-based model of zebrafish population dynamics accounting for energy dynamics. *PLoS One*, 10, e0125841. doi: 10.1371/journal.pone.0125841.
- Beaudouin, R., Monod, G. and Ginot, V. (2008). Selecting parameters for calibration via sensitivity analysis: An individual-based model of mosquitofish population dynamics. *Ecological Modelling*, 218, 29-48. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2008.06.033>.
- Borg, B. (1982). Seasonal effects of photoperiod and temperature on spermatogenesis and male secondary sexual characters in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Canadian Journal Of Zoology*, 60, 3377-3386. doi: 10.1139/z82-427.
- Candolin, U. and Voigt, H.-R. (2001). Correlation between male size and territory quality: consequence of male competition or predation susceptibility? *Oikos*, 95, 225-230. doi: 10.1034/j.1600-0706.2001.950204.x.
- David, V., Goussen, B., Tebby, C., Joachim, S., Porcher, J.-M. and Beaudouin, R. (2018). Modelling historical mesocosm data: Application of a fish bioenergetics model in semi-natural conditions. *Ecology of Freshwater Fish*, 0. doi: 10.1111/eff.12418.
- De Kermoyan, G. (2013). Caractérisation de la dynamique de population de l'épinoche à trois épines, *Gasterosteus aculeatus*, dans un mésocosme lotique : Application à l'évaluation des effets du bisphénol A dans un contexte écosystémique., AgroParisTeach.
- Foster, S. A., Garcia, V. B. and Town, M. Y. (1988). Cannibalism as the cause of an ontogenetic shift in habitat use by fry of the threespine stickleback. *Oecologia*, 74, 577-585. doi: 10.1007/bf00380056.
- Gill, A. B. and Hart, P. J. B. (1994). Feeding behaviour and prey choice of the threespine stickleback, the interacting effects of prey size, fish size and stomach full. *Animal Behaviour*, 47.
- Ginot, V., Gaba, S., Beaudouin, R., Aries, F. and Monod, H. (2006). Combined use of local and ANOVA-based global sensitivity analyses for the investigation of a stochastic dynamic model: Application to the case study of an individual-based model of a fish population. *Ecological Modelling*, 193, 479-491. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2005.08.025.
- Grimm, V., Berger, U., Bastiansen, F., Eliassen, S., Ginot, V., Giske, J., Goss-Custard, J., Grand, T., Heinz, S. K., Huse, G., Huth, A., Jepsen, J. U., Jørgensen, C., Mooij, W. M., Müller, B., Pe'er, G., Piou, C., Railsback, S. F., Robbins, A. M., Robbins, M. M., Rossmannith, E., Rügen, N., Strand, E., Souissi, S., Stillman, R. A., Vabø, R., Visser, U. and DeAngelis, D. L. (2006). A standard protocol for describing individual-based and agent-based models. *Ecological Modelling*, 198, 115-126. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2006.04.023.
- Grimm, V., Berger, U., DeAngelis, D. L., Polhill, J. G., Giske, J. and Railsback, S. F. (2010). The ODD protocol A review and first update. *Ecological Modelling*, 221, 2760-2768. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2010.08.019.
- Grimm, V. and Railsback, S. F. (2005). *Individual-based Modeling and Ecology*. New Jersey.
- Hazlerigg, C. R., Lorenzen, K., Thorbek, P., Wheeler, J. R. and Tyler, C. R. (2012). Density-dependent processes in the life history of fishes: evidence from laboratory populations of zebrafish *Danio rerio*. *PLoS One*, 7, e37550. doi: 10.1371/journal.pone.0037550.
- Hovel, R. A., Beauchamp, D. A., Hansen, A. G. and Sorel, M. H. (2015). Development of a Bioenergetics Model for the Threespine Stickleback. *Transactions of the American Fisheries Society*, 144, 1311-1321. doi: 10.1080/00028487.2015.1079554.
- Iooss, B., Janon, A. and Pujol, G. (2012). Global Sensitivity Analysis of Model Outputs: R package 'sensitivity'.
- King, A. J., Fürtbauer, I., Mamuneas, D., James, C. and Manica, A. (2013). Sex-Differences and Temporal Consistency in Stickleback Fish Boldness. *PLoS One*, 8, e81116. doi: 10.1371/journal.pone.0081116.
- Kooijman, S. A. L. M., Van Der Hoeven, N. and Van Der Werf, D. C. (1989). Population Consequences of a Physiological Model for Individuals. *Functional Ecology*, 3, 325-336. doi: 10.2307/2389373.
- Leloutre, C., Péry, A. R. R., Porcher, J.-M. and Beaudouin, R. (2018). A bioenergetics model of the entire life cycle of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Ecology of Freshwater Fish*, 27, 116-127. doi: 10.1111/eff.12329.
- Mori, S. (1993). The Breeding System of the 3-Spined Stickleback, *Gasterosteus-Aculeatus* (Forma-Leiura) with Reference to Spatial and Temporal Patterns of Nesting Activity. *Behaviour*, 126, 97-124. doi: 10.1163/156853993x00362.

Nettleship, S. (2011). The impacts of river impoundments on the biology of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, Leicester.

Saltelli, A., Annoni, P., Azzini, I., Campolongo, F., Ratto, M. and Tarantola, S. (2010). Variance based sensitivity analysis of model output. Design and estimator for the total sensitivity index. *Computer Physics Communications*, 181, 259-270. doi: 10.1016/j.cpc.2009.09.018.

Sobol', I. M., Tarantola, S., Gatelli, D., Kucherenko, S. S. and Mauntz, W. (2007). Estimating the approximation error when fixing unessential factors in global sensitivity analysis. *Reliability Engineering & System Safety*, 92, 957-960. doi: 10.1016/j.res.2006.07.001.

van den Assem, J. (1967). Territory in the Three-Spined Stickleback *Gasterosteus aculeatus* L.: An Experimental Study in Intra-Specific Competition. *Behaviour. Supplement*, III-164.

Wootton, R. J. (1984). *A Functional Biology of Sticklebacks*. University of Sheffield, England.

Annexe 3 : Application du modèle sur des dynamiques de population anormales

Table des matières

Expériences de 2013 et 2014 (diclofenac et carbamazépine).....	316
Entrées des DEB-IBMs simulant les expériences de 2013 et 2014.....	316
Suivi des conditions biotiques et abiotiques pour l'expérience de 2013.....	317
Suivi des conditions biotiques et abiotiques pour l'expérience de 2014.....	319
Expériences de 2018 (perturbation mécanique).....	321
Scénarios écologiques.....	321
Description et valeurs des paramètres du modèle.....	322
Références.....	323

Expériences de 2013 et 2014 (diclofenac et carbamazépine)

Entrées des DEB-IBMs simulant les expériences de 2013 et 2014

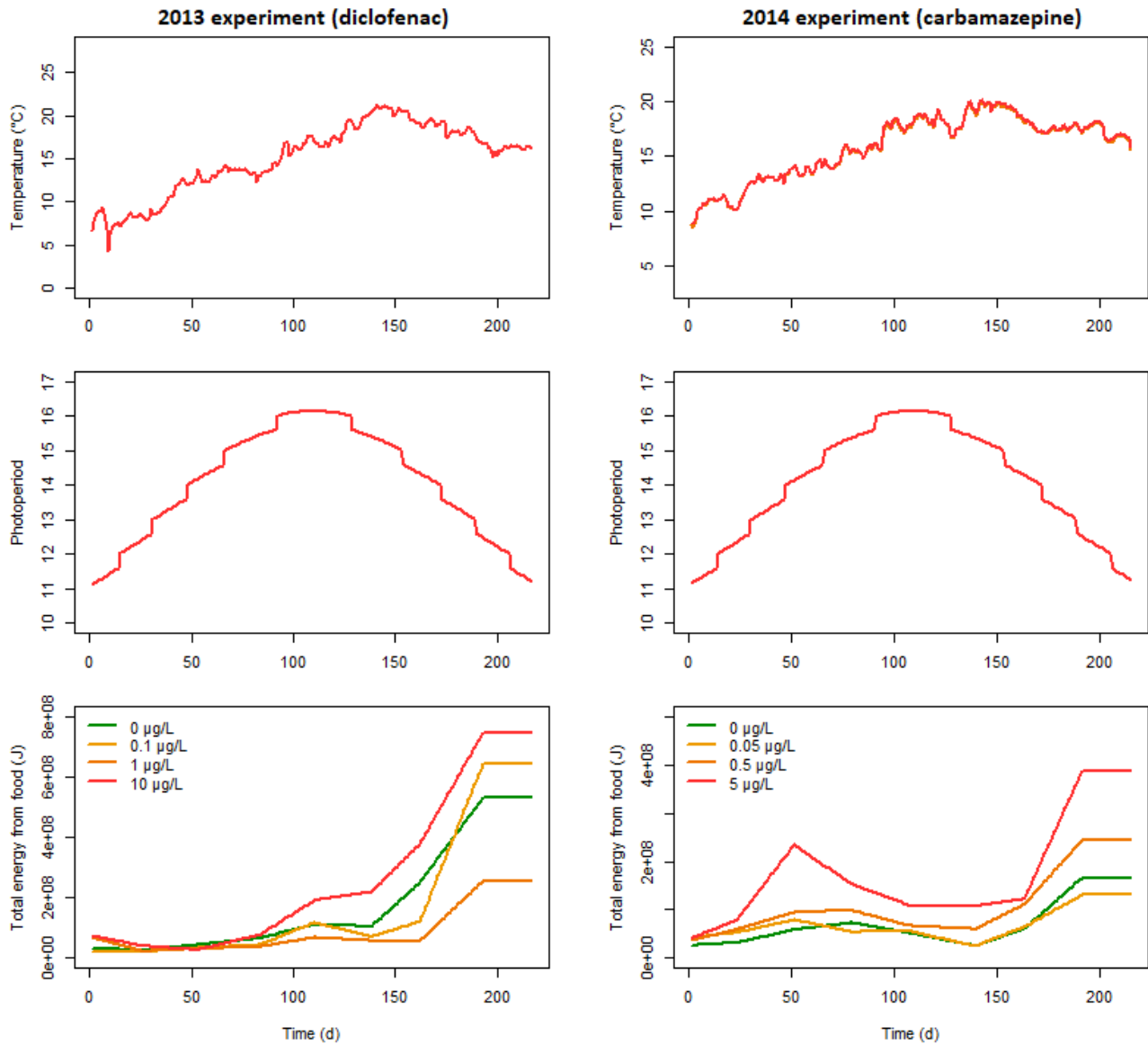


Figure 1. Entrées des DEB-IBMs simulant les expériences de 2013 (panel de gauche) et 2014 (panel de droite). Les entrées des DEB-IBMs sont la température (°C), la photopériode et la quantité de nourriture donnée en énergie (J).

Suivi des conditions biotiques et abiotiques pour l'expérience de 2013

• *Conditions abiotiques*

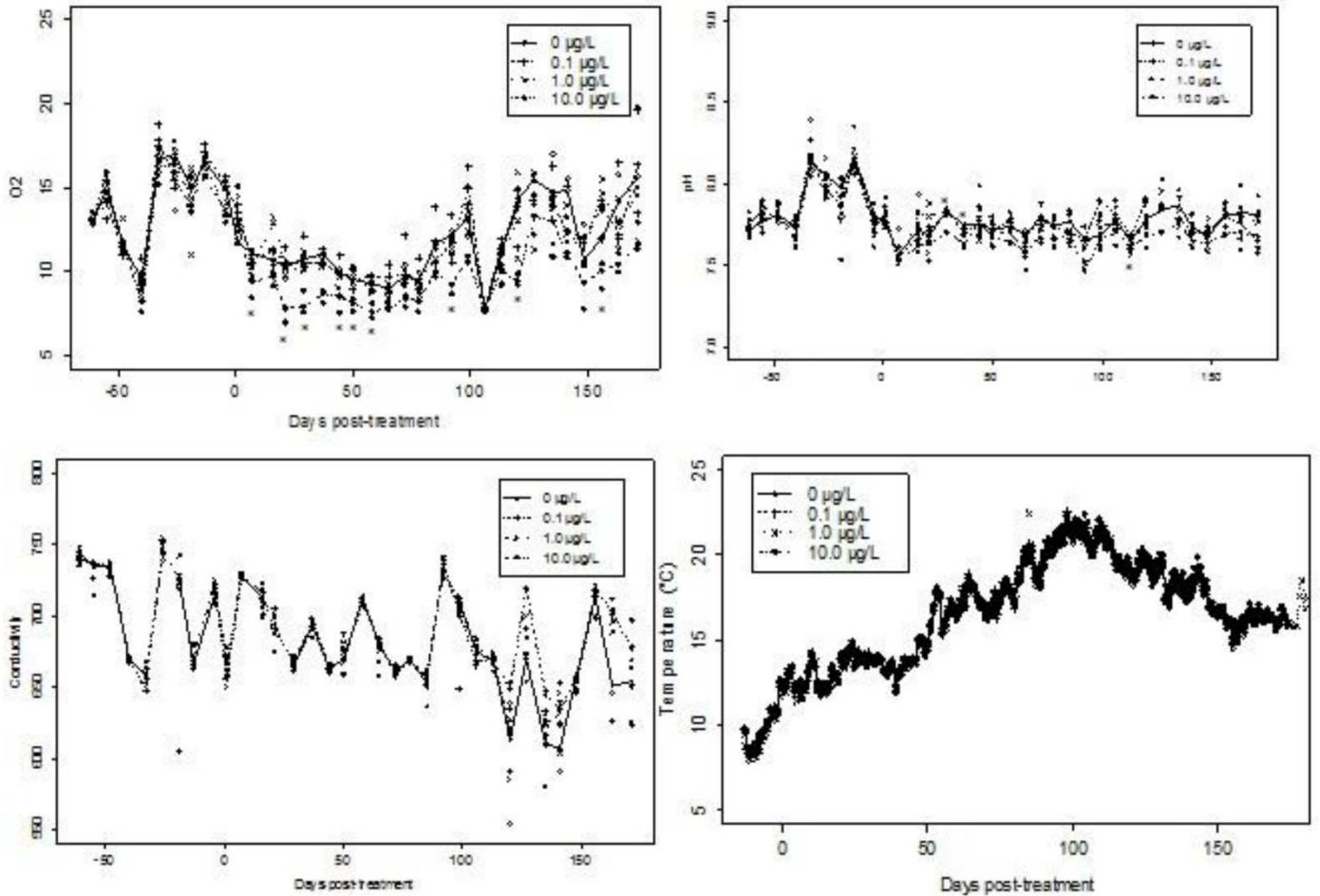


Figure 2. Oxygène dissous observé dans le contrôle (points blancs) et les traitements [+ : 0,1, x : 1 et points noirs : 10 µg / L]. Les valeurs moyennes pour chaque traitement sont présentées par une ligne pleine, une ligne avec les tirets, une ligne pointillée et une ligne pointillée et avec tiret, respectivement, pour le témoin, 0,1, 1, et 10 µg/L. Les différences significatives entre les traitements et les contrôles sont marquées d'un astérisque. Source : Joachim (2013).

- Conditions biotiques

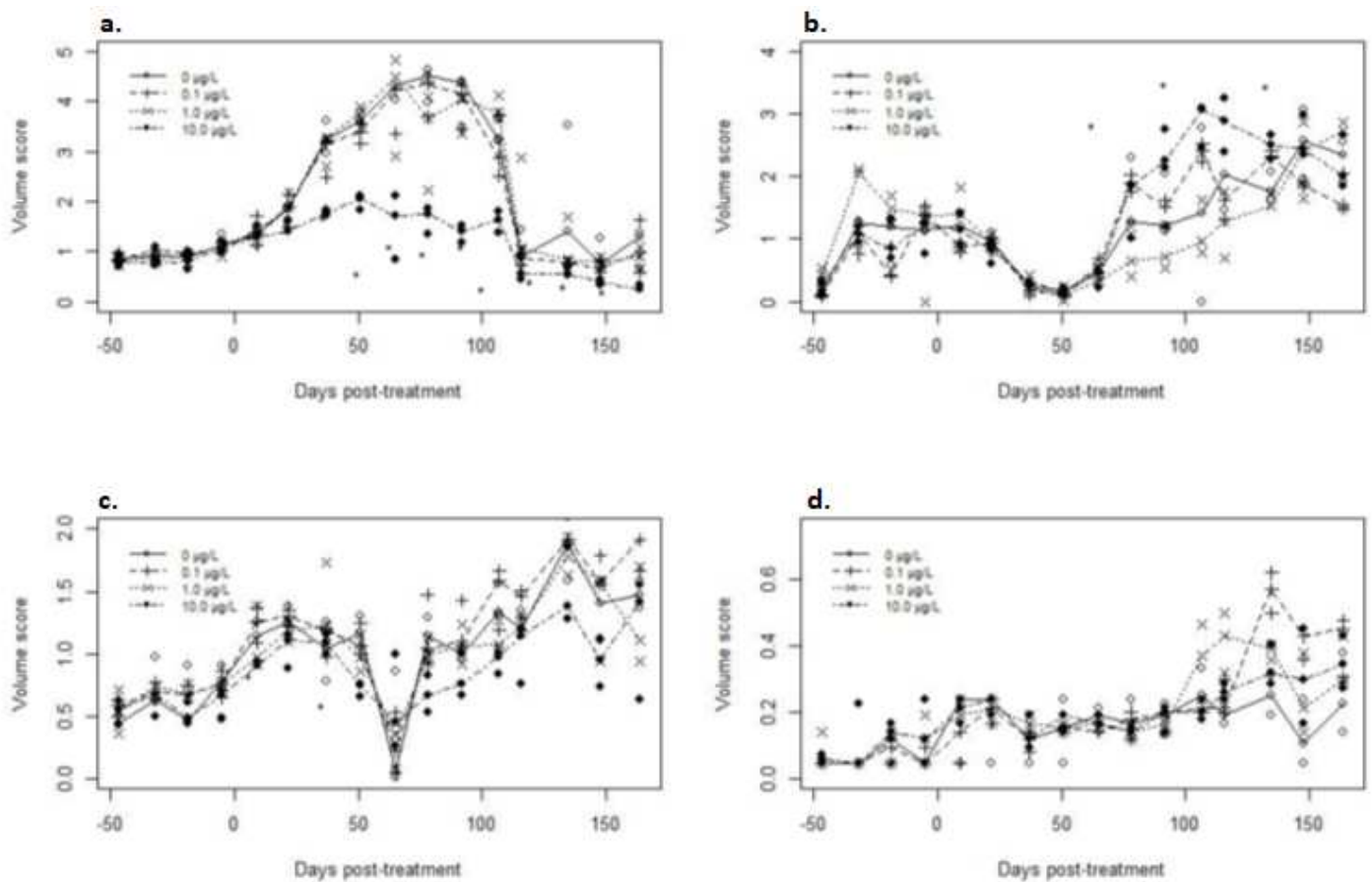


Figure 3. Score de volume de cresson (a) d'algues filamenteuses (b) de la *Callitriche platycarpa* (c) et du *Myriophyllum spicatum* (d) dans les mésocosmes témoins (points blancs, trait plein) et les mésocosmes traités [0.1 (0.05), 1 (0.45), 10 (4.1)] µg / L; ligne avec tirets, ligne pointillée, ligne pointillée et avec tirets, respectivement). Les valeurs représentent les scores moyens en volume par mésocosme (m³). Les différences significatives entre les traitements et les contrôles sont marquées d'un astérisque. Source : Joachim (2013).

Suivi des conditions biotiques et abiotiques pour l'expérience de 2014

- Conditions abiotiques

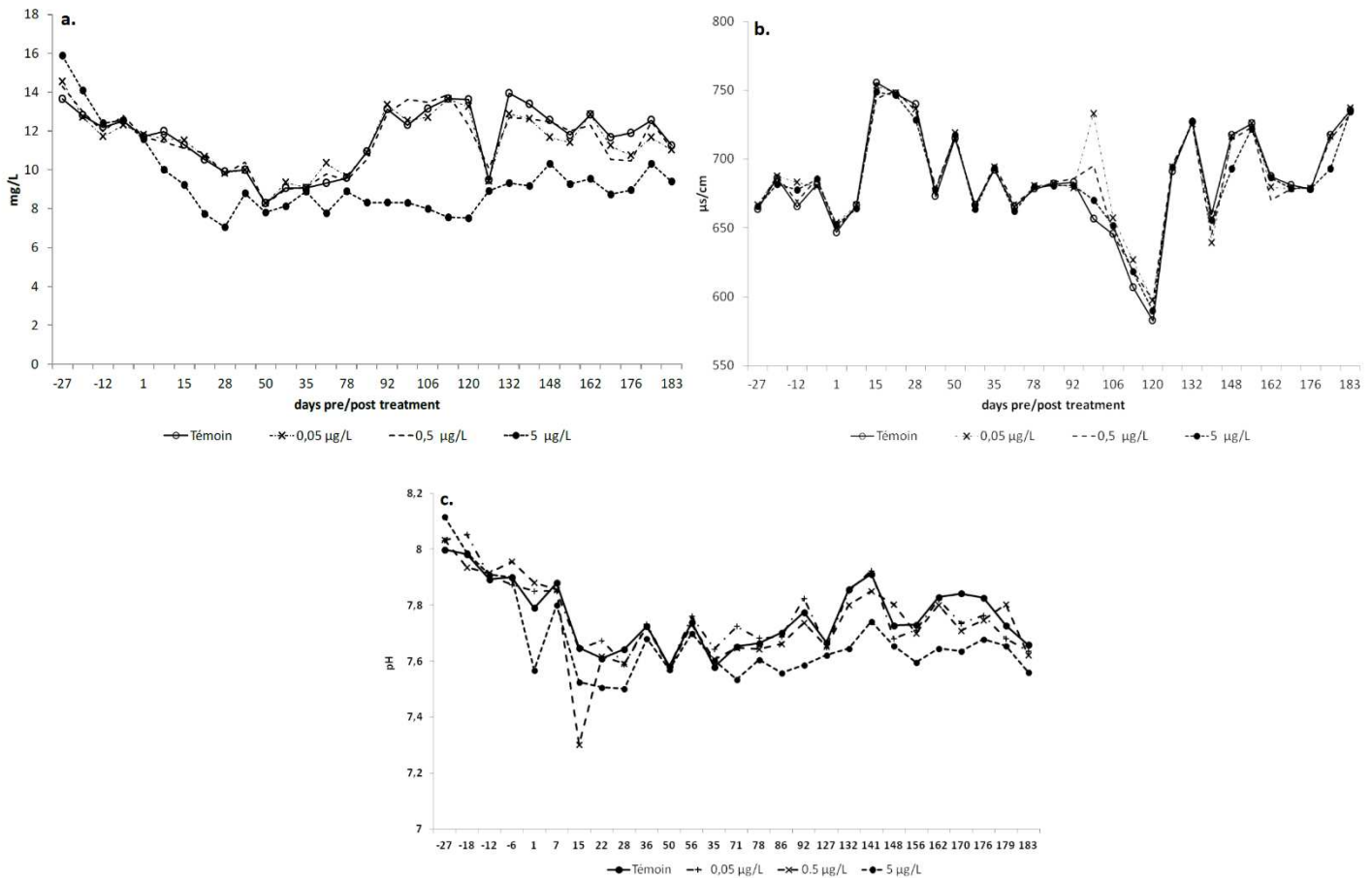


Figure 4. Oxygène dissous (a), conductivité (b) et pH de l'eau (c) observés dans le contrôle (points blancs) et les traitements [+ : 0,05, x : 0,5 et points noirs: 5 µg / L]. Les valeurs moyennes pour un traitement sont présentées par une ligne pleine, une ligne en tirets, une ligne pointillée et une ligne pointillée et en tirets, respectivement pour le témoin, 0,05, 0,5 et 5 µg / L. Source : Joachim (2014).

- Conditions biotiques

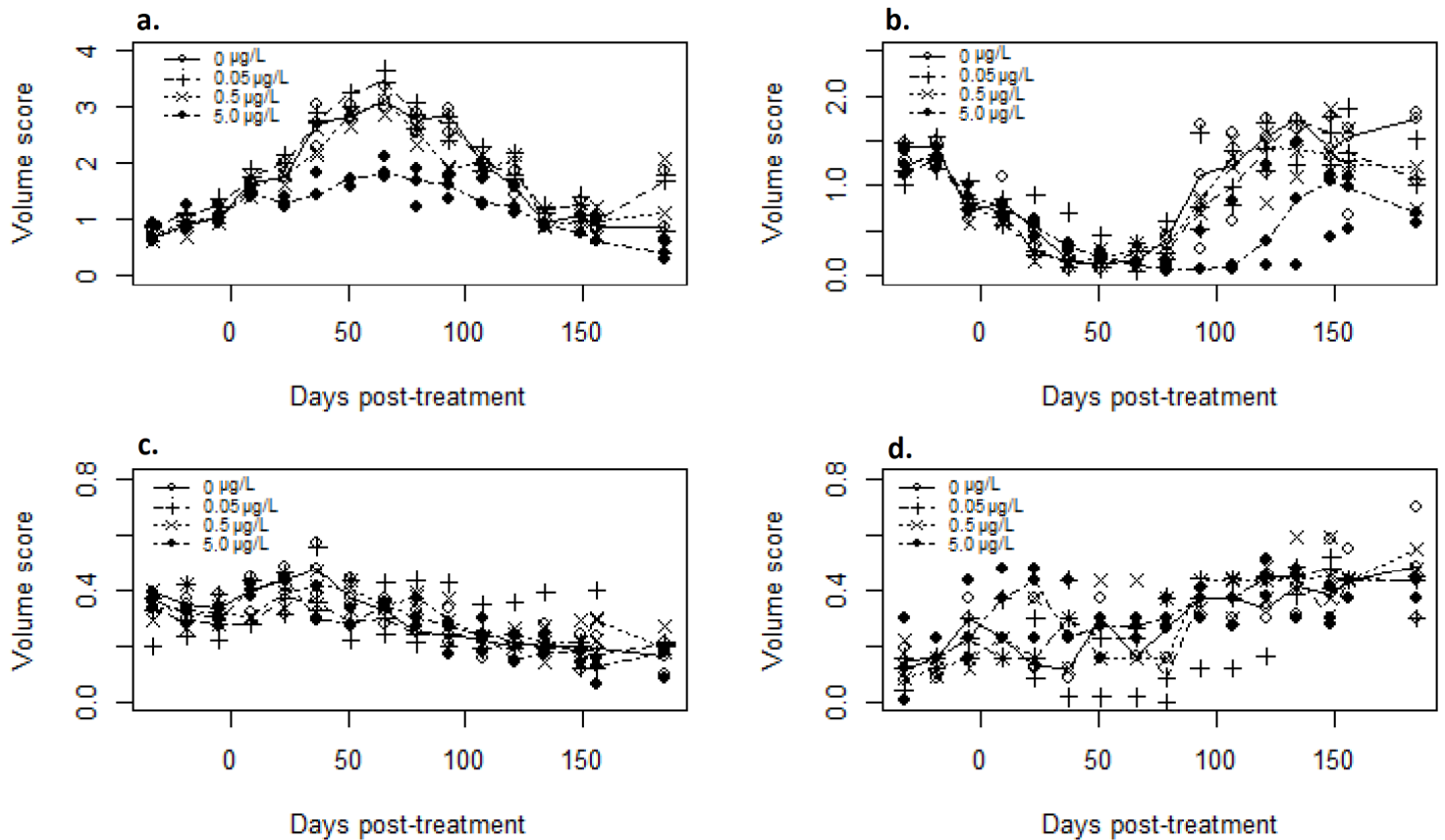


Figure 5. Score de volume de *Nasturtium officinale* (a) algues filamenteuses (b) *Callitriche platycarpa* (c) et *Myriophyllum spicatum* (d) dans les mésocosmes témoins (points blancs, ligne pleine) et traités à 0,05, 0,5 et 5 µg / L; ligne avec les tirets, ligne pointillée, ligne pointillée avec tirets, respectivement). Les valeurs représentent les scores moyens en volume par mésocosmes (m³). Les différences significatives entre les traitements et les contrôles sont marquées d'un astérisque. Source : Joachim (2014).

Expérience de 2018 (perturbation mécanique)

Scénarios écologiques

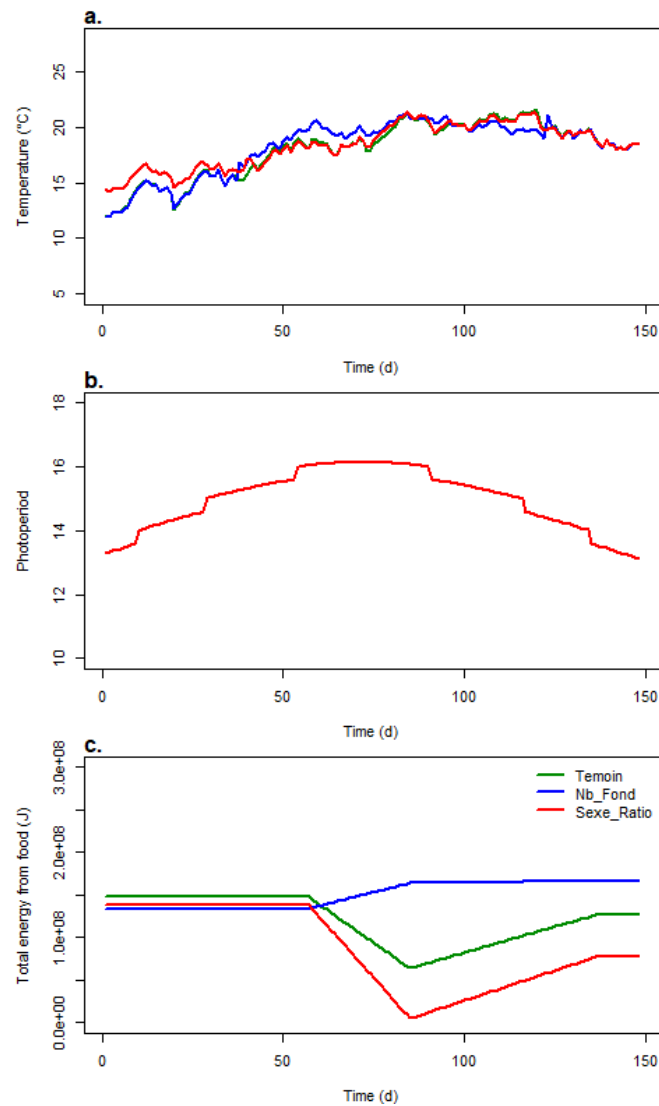


Figure 4. Température de l'eau (°C) (a), photopériode (b) et quantité d'énergie provenant de la nourriture (c) au cours du temps observés dans le contrôle (ligne verte) et les traitements « Nb_Fond » (ligne bleue) et « Sexe_Ratio » (ligne rouge). Ces scénarios constituent les entrées du DEB-IBM.

Description et valeurs des paramètres du modèle

Tableau 1. Description et valeurs des paramètres du DEB-IBM

Parameter	Description	Value	Unit
DEB parameters			
δ_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	577.6	J
$\{\dot{p}_{Am}\}$	Maximum surface area specific assimilation rate	2.42	J/mm ² /d
\dot{v}	Energy conductance	1.33	mm/d
κ	Specific fraction of energy mobilized from energy from reserved allocated to growth and somatic maintenance	0.757	-
α	Fraction subtracted from κ to obtain κ in males after maturity	0.111	-
L_{egg}	Size of primordial cell in physical length	0.563	mm
$[\dot{p}_M]$	Volume specific somatic maintenance costs	0.123	J/mm ³ /d
$[E_G]$	Cost of synthesis of a unit of structure	1.10	J/mm ³
k_J	Maturity maintenance rate	0.003	/d
k_R	Reproduction efficiency	0.978	-
φ	Proportional factor to be fed ad libitum for a given day	15.31	J/mm ²
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
Reproduction parameters			
Photop.Thr	Minimum day time to start the reproduction	11.305	h
Breeding.Period	Time of the breeding period	89.78	d
Adult.Thr	Minimum length to determine fish sex	26	mm
L_0	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 ²
Gamma.Compete	Competition parameter for getting a territory	0.15	-
Food parameters			
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	6692	mg/m ²
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	-
Survival parameters			
m_{dens}	Parameter for the density dependent mortality	0.0000086	-
m_r	Malus for the survival of males in reproduction	0.000856	-
μ	Natural mortality rate at unit weight	0.00323	1/d
b_N	Allometric scaling factor	-0.0516	1/d
$DP50_m$	50% of the density dependence	4000	mg/m ²
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	-
Variability parameters			
c_v	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	%

Références

Joachim, S. (2013). Bottom-up and top-down effects in a diclofenac contaminated model ecosystem. *Development of robust tools for the assessment of pharmaceuticals in aquatic media* D. project.

Joachim, S. (2014). Bottom-up and top-down effects in a carbamazepine contaminated model ecosystem. *Development of robust tools for the assessment of pharmaceuticals in aquatic media* D. project.

Annexe 4 : Supporting Information (Article 3)

Table of contents

Introduction of the macroinvertebrates in the mesocosms.....	325
Contamination of the mesocosms.....	325
Measured concentrations of the mixture chemicals.....	327
Material and methods: Internal concentrations in fish.....	329
Physico-chemistry in mesocosms.....	331
Biological measurements of zooplankton and macroinvertebrates.....	332
Statistical analyses of the zooplankton and macroinvertebrate samplings.....	333
Results for the biomarkers.....	336
Results for the population endpoints.....	337
Mean weight of the sticklebacks.....	338
Maturity of male sticklebacks in mesocosms.....	339
Model parameters.....	341
Statistical comparison of the simulated control with the DEB-IBM and the observations made in the mixture treatments.....	342
Model calibration of the toxic parameters.....	344
Model simulations of the condition factors.....	345
Complementary experiment in laboratory.....	346
Reference.....	351

Introduction of the macroinvertebrates in the mesocosms

Table S1. Quantity of macroinvertebrates introduced in each mesocosm

Macroinvertebrate	Quantity per mesocosm
<i>Gammarus fossarum</i>	80 g of wet weight
<i>Asellus aquaticus</i>	200 individuals
<i>P. antipodarum</i>	200 individuals
Planorbis	17 individuals
<i>Radix balthica</i>	50 individuals
Leeches	6 Glossiphonia and 4 Erpodella
Notonectidae	8 individuals

Contamination of the mesocosms

Five different pharmaceuticals were tested simultaneously using three different mixture exposure conditions. The first condition (called Mx1) represented the median concentration found in several rivers of the water catchment area of the Meuse for each pharmaceutical: 25 ng/L for carbamazepine, diclofenac and naproxen; 50 ng/L for Irbesartan and 100 ng/L for 4-Acetamidophenol. Conditions Mx10 and Mx100 represented respectively 10 and 100 times the concentrations found in the Mx1 exposure condition. Treatment began on the 20th of April and ended on the 2nd of October 2017.

The contamination system is composed of four independent test banks, one per exposure condition (Mx1, Mx10, Mx100 and one control). Each test bank is composed of two tanks: a 20L mixing tank and a 50L supply tank. The mixing tank receives the stock solution of the mixture of the five tested pharmaceuticals. Each stock solution is prepared in DMSO (Dimethyl sulfoxide reagent grade, purity =99.5%, Sigma Alderich). The stock solutions were changed every 15 days. The concentrations of each pharmaceutical in the different stock solutions are presented in the following table:

Table S2. Concentrations of the mixture of pharmaceuticals in the different stock solutions

Tested pharmaceuticals	Stock solution Mx1	Stock solution Mx10	Stock solution Mx100
Carbamazepine (g/L) ¹	0.06	0.6	6.6
Diclofenac (g/L) ²	0.06	0.6	6.6
Naproxen (g/L) ³	0.06	0.6	6.6
Irbesartan (g/L) ⁴	0.13	1.3	13.3
4-Acetamidophenol (g/L) ⁵	0.26	2.6	26.6

- 1: Carbamazepine (CAS: 298-46-4, purity 98 %, Acros Organics),
- 2: Diclofenac sodium salt (CAS: 15307-79-6, purity 98 % Interchim),
- 3: Naproxen sodium (CAS: 26159-34-2, purity 98 %, Alfa Aesar),
- 4: Irbesartan (CAS: 138402-11-6, purity 98 %, Sigma Alderich),
- 5: 4-Acetamidophenol (CAS: 103-90-2, purity 98 %, Acros Organics)

For each test bank, an electronic burette placed on the bottle of the stock solution allows to inject, under the control of the automatic device, 1 ml of the solution into the mixing tank. The latter is supplied by tap water which has been previously heated and treated with UVs. This mixture solution is then homogenized thanks to a stirrer. Its contents is then automatically emptied into the supply tank. Only DMSO is injected in the control mixing tank.

Peristaltic pumps connected to the supply tank allows to deliver the mixture solution with a flow rate of 100 ml/min to each mesocosm. Each peristaltic pumps delivers the mixture solution to three mesocosm. When the supply tank level falls below a threshold, the preparation of a new mixture solution in the mixing tank is triggered and then discharged into the supply tank after a certain period of agitation. Thus, continuous exposure is ensured. The contamination system is configured and supervised by an HMI (human machine interface).

Measured concentrations of the mixture chemicals

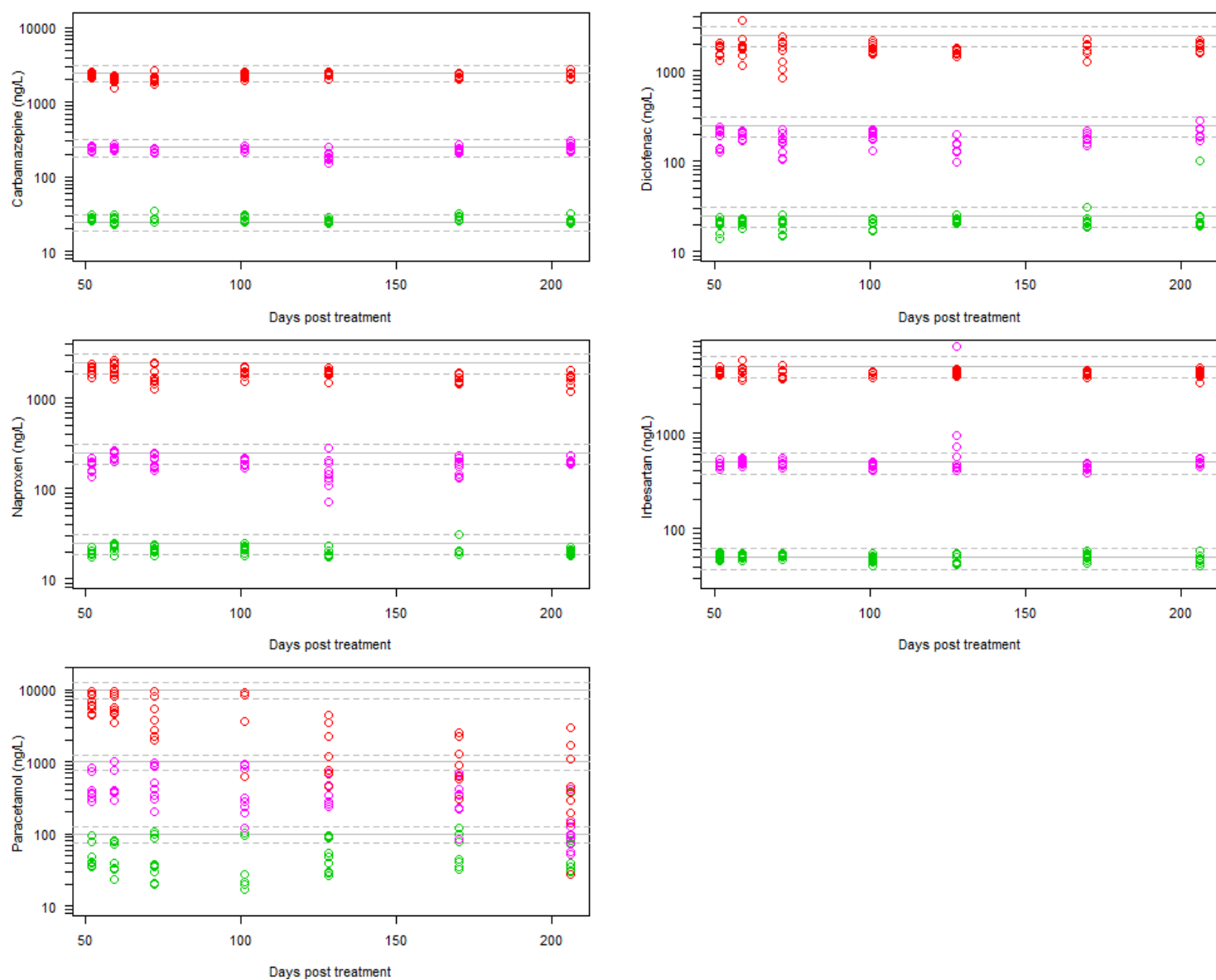


Figure S1. Measured concentrations of the different mixture component over time. Green, pink and red circles represent the measured concentrations respectively in the Mx1, Mx10 and Mx100 treatments. The dashed lines represent the $\pm 25\%$ interval around the nominal concentrations and the full line the nominal concentration.

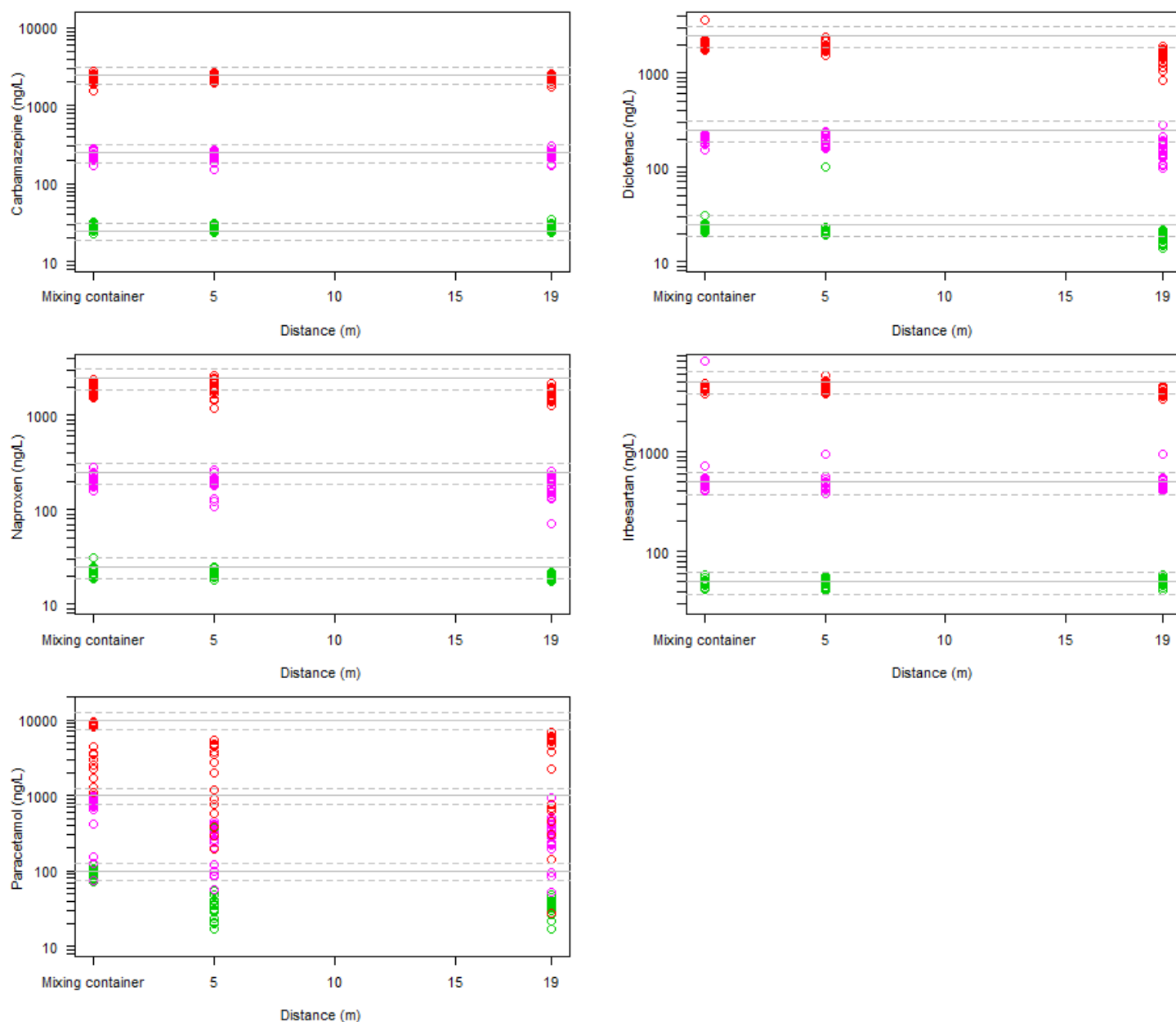


Figure S2. Measured concentrations of the different mixture component in function of the distance from the inlet of water. Green, pink and red circles represent the measured concentrations respectively in the Mx1, Mx10 and Mx100 treatments. The dashed lines represent the $\pm 25\%$ interval around the nominal concentrations and the full line the nominal concentration. Measurements in the mixing container represent the concentrations in the inlet of water.

Material and methods: Internal concentrations in fish

- *Chemicals*

ULC-MS grade methanol, formic acid (FA) water and acetonitrile (ACN) were purchased from Biosolve (Valkenswaard, the Netherlands). Oasis HLB SPE cartridges (200 mg, 6 mL) were obtained from Waters (Waters, Milford, MA, USA). 4-Hydroxy Diclofenac, 5-Hydroxy Diclofenac, Irbesartan, Irbesartan-d4 (internal standard), Desmethyl Naproxen, Naproxen were purchased from LGC Standards (Molsheim, Germany). Carbamazepine, Carbamazepine-d8 (internal standard) and naproxen-D3 (internal standard) were supplied by Sigma-Aldrich (Bornem, Belgium). Carbamazepine 10,11-epoxide, Diclofenac-d4 (internal standard), Naproxen Acyl-B-D-glucuronide, Acetaminophen-d4 (internal standard), Diclofenac Acyl-B-D-glucuronide, Irbesartan-Glucuronide were from TRC (Toronto, Canada).

Individual standard stock solutions of compounds were accurately prepared at 1 mg/mL in methanol with correction for purity. Mixed working standard solutions (an IS solution and a solution containing all the remaining compounds) were prepared by diluting the stock solutions with methanol. The mixed working standard solution contained all the analytes at 1 µg/mL. All stock and working solutions were stored for one year at -18°C.

- *Sample preparation*

Homogenized sample (5 g) was placed in a 50-mL polypropylene centrifuge tube, was spiked with 50 µL IS solution and the mixture allowed to stand for 15 min.

Twenty mL of acetonitrile was used to extract drug residues and precipitate proteins. The sample was then thoroughly shaken at room temperature for 15 min and centrifuged at 4650g for 5 min. Then, the extract was collected and loaded on an Oasis HLB cartridge (preconditioned with 3 mL of methanol and 3 mL of water) under vacuum to obtain a flow rate of about 1 mL/min). The cartridges were then rinsed with 3 mL ultra-pure water and vacuum-dried to remove excess water. Finally, the retained components were eluted with 3 mL of methanol.

The eluate was evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen in a water bath set at 40°C. Then, the pellet was resuspended in 1 mL ACN/water (10:90, v/v). The extract was centrifuged at 11500g for 5 min at 20°C. The clear supernatant was transferred to a vial prior to UHPLC-MS/MS analysis.

- *Liquid chromatography/mass spectrometry analysis*

Analyses were performed using an Acquity UHPLC system (Waters, Milford, MA, USA) and chromatographic separations were done by injecting 20 µl of sample on an Acquity UPLC HSS T3 column (150 × 2.1 mm, 1.7 µm particle size, Waters). The mobile phases consisted of water with 0.05% formic acid (A) and ACN with 0.05% formic acid in (B). The linear gradient used was as follows: 0-1.0 min: 0% B, 1.0-6.0 min: increase to 100% B, 6.0-7.0 min: 100% B; 7.1-8.0 min: 0% B) at a flow rate of 0.5 mL/min. The column and autosampler were set, respectively, at 50°C and 15°C.

Detection was carried out with a Waters Acquity TQ mass spectrometer (Waters, Manchester, UK) equipped with an electrospray ionization source operating in the positive (ESI+) ionization mode and using the following parameters : capillary voltage 2.50 kV, source temperature 150°C, desolvation temperature 600°C, cone gas (nitrogen) flow 50 L/h, desolvation gas (also nitrogen) flow 1200 L/h. Collision-induced dissociation was done with argon as the collision gas at 4×10^{-3} mbar pressure in the collision cell. The cone voltages, the collision energies, the precursor and product ions were optimized by direct infusion of the pure individual standard solution at a concentration of 10 µg/mL and a flow-rate of 5 µL/min. The dwell times were optimized for each drug to achieve at least 12 points per peak. Data acquisition was done with the MassLynx 4.1 software and the TargetLynx 4.1 software (Waters).

Matrix matched calibration curves ranging from 1 µg/kg to 100 µg/kg were prepared in blank. For quantification of residues, their corresponding deuterated analogues were used as internal standards.

Physico-chemistry in mesocosms

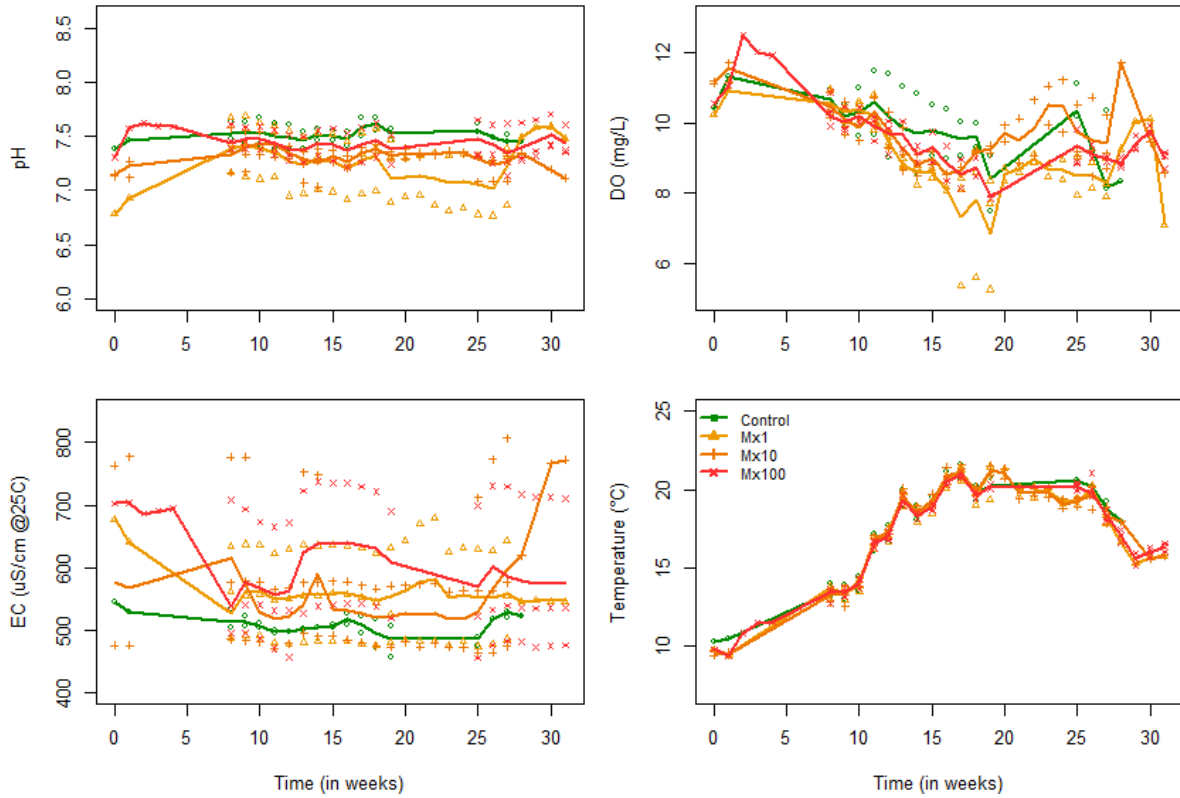


Figure S3. pH, dissolved oxygen (DO), conductimetry (EC) and temperature over time of experiments. The treatments are differentiated with the colors (Mx0: green, Mx1: yellow, Mx10: orange and Mx100: red). The points represent the observed data in the different mesocosms and the lines represent the mean per treatment.

Biological measurements of zooplankton and macroinvertebrates

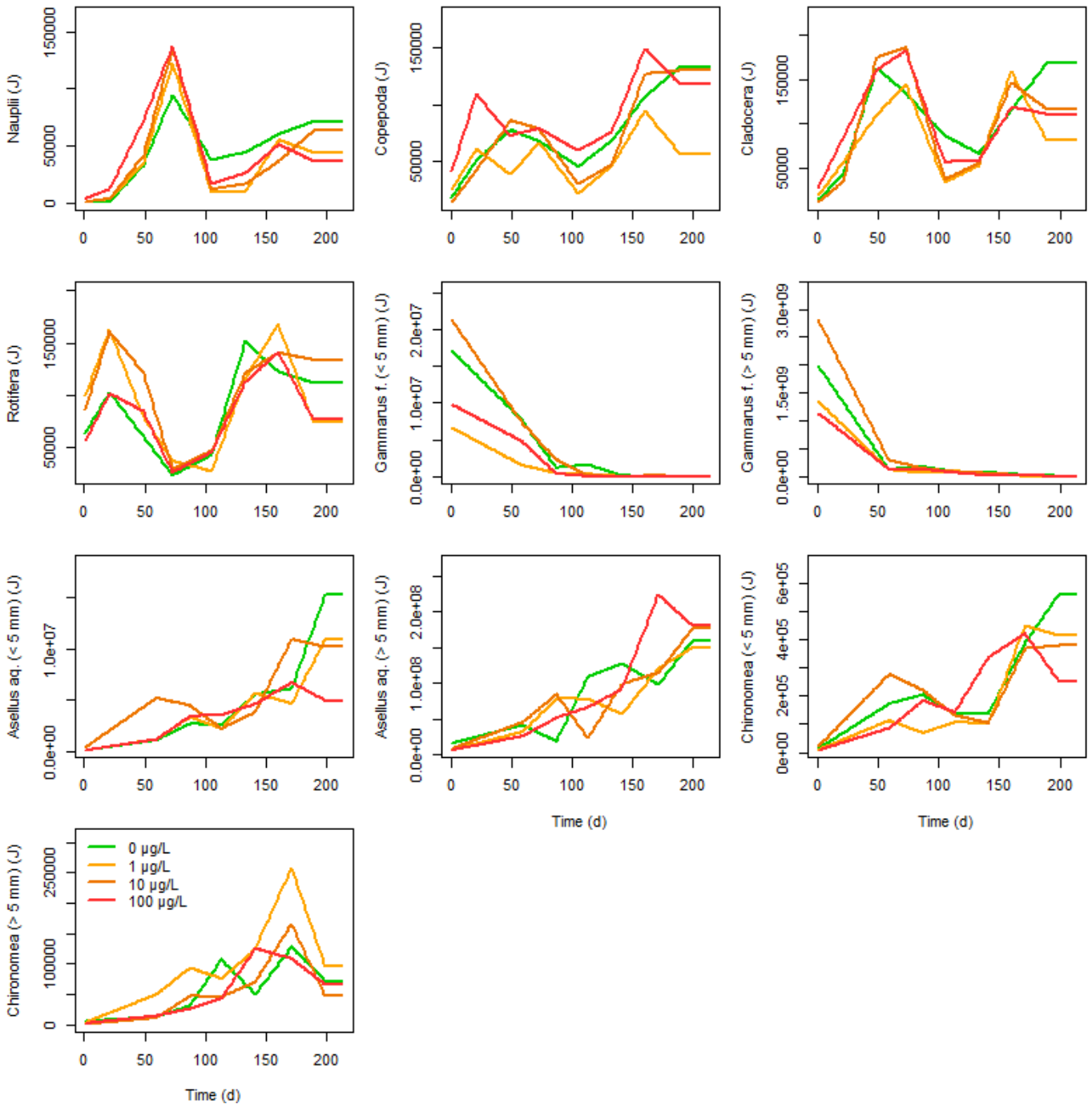


Figure S4. Energy (J) for each stickleback prey (zooplankton or macroinvertebrate) over time of experiment. The lines represent the linear interpolation between the mean per treatment (Mx0: green, Mx1: yellow, Mx10: orange and Mx100: red).

Statistical analyses of the zooplankton and macroinvertebrate samplings

- *Community Data Analysis*

The response of the zooplankton and macroinvertebrate community to the different pharmaceutical mixture treatments was analysed using the Principal Response Curve (PRC) method of Van den Brink and Ter Braak (1999) which was adapted to our data (Tebby et al., 2017). A PRC was performed using the Euclidean distance on Hellinger-transformed data.

Constrained ordination analysis (RDA) was performed in order to determine the eventual effects of treatment and/or time. Significance of treatment effects overall was estimated with 9999 permutations of the time-series on all axes of the PRC. Significance of the first PRC diagram was estimated with 99 permutations of the time-series on the first axis of the PRC. Monte Carlo permutations (999) were also performed at each individual sampling date to assess which mixture treatment differed from the control for each sampling date, Dunnett's test on PCA co-ordinates was used to determine the NOEC and LOEC at the community level (NOEC_{community}, LOEC_{community}) for each sampling date and thereon for the entire experimental period.

- *Zooplankton*

A total of 44 different taxonomic groups of zooplankton were sampled throughout the experiment including 33 taxa/species of rotifers (dominant taxa: *Lepadella* sp., *Lecane closterocerca*, *Cephalodella gibba*), 10 species of cladocerans (dominant species: *Chydorus sphaericus*, *Alona guttata*) 1 order of copepod (*Cyclopoida*).

Using the Euclidean distance on Hellinger transformed data, the community structure was not affected by the treatment (Monte Carlo Permutations on all axes; $F=1.13$; $p=0.124$). Time displayed explains 65% of the total variance. Also, significance tests by axis show that none of the PRC axes are significant (Monte Carlo Permutations on each axis; $F=6.18$ for the first axis; $p=0.43$).

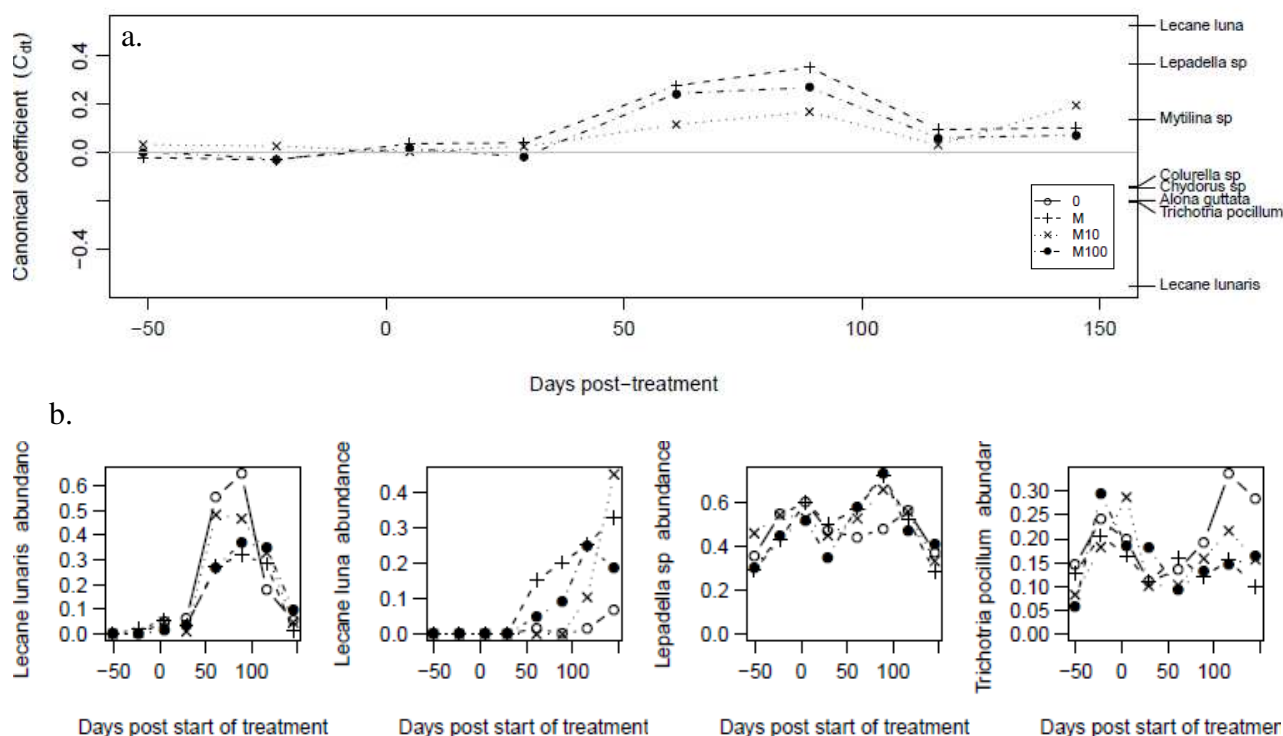


Figure S5. (a) First Principal Response Curves, indicating the effect of the mixture treatment through time on the zooplankton community. Curves deviating from the reference value of 0 indicate treatment effects. The species weight (bk) can be interpreted as the affinity of the taxon with the curves. Notice that species weight between 0.1 and -0.1 are not presented, as they were likely to show a weak or unrelated response. Mixture treatments M, M10, M100 are represented by a dotted line, dashed line, and dashed dotted line, respectively. This PRC axis is not significant. (b) Log-Abundance of species that contribute the most to the observed community response.

- *Macroinvertebrates*

A total of 19 different taxonomic groups of macroinvertebrates were sampled throughout the experiment including 6 species of gastropods (*R. balthica*, *P. antipodorum*, *P. planorbis*), 2 of crustaceans (*G. fossarum*, *A. aquaticus*), 2 taxa of oligochaeta (*S. lacustris*, *L. variegatus*), 1 of ephemeropterans (*C. dipterum*), 2 taxa of dipterans (*Chironomidae*, *Tipulidae*), 1 of tubellarians (*Dugesia*), 2 taxa of leeches (*Glossiphonia complanata* and *Erpobdellidae*), 1 taxa of heteropterans (*Notonecta*), 1 taxa of coleopterans (*Agabus*), and 1 taxa of trichopterans (*Limnephilidae*).

Using the Euclidean distance on Hellinger transformed data, the community structure was not affected by the treatment (Monte Carlo Permutations on all axes; $F=1.14$; $p=0.19$). Time displayed explains 65% of the total variance. Also, significance tests by axis show that none

of the PRC axes are significant (Monte Carlo Permutations on each axis; $F=11.8$ for the first axis; $p=0.11$).

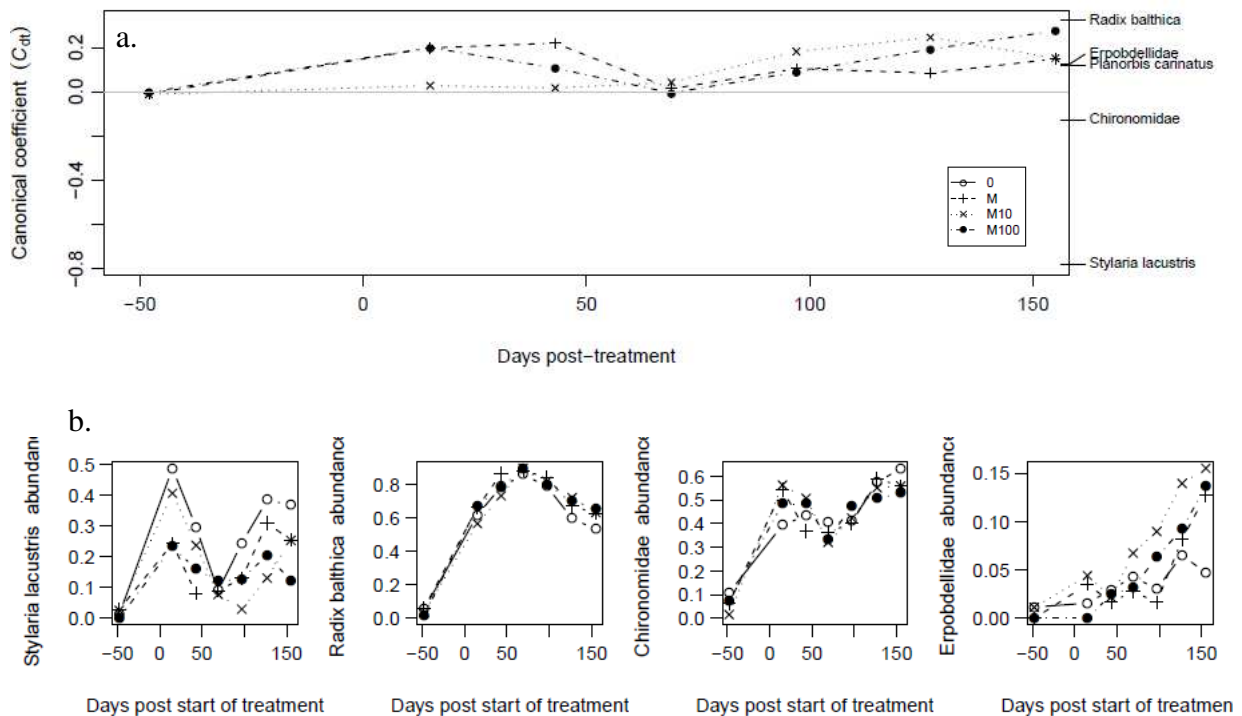


Figure S6. (a) First Principal Response Curves, indicating the effect of the mixture treatments through time on the macroinvertebrate community. Curves deviating from the reference value of 0 indicate treatment effects. The species weight (bk) can be interpreted as the affinity of the taxon with the curves. Notice that species weight between 0.1 and -0.1 are not presented, as they were likely to show a weak or unrelated response. Mixture treatments M, M10, M100 are represented by a dotted line, dashed line, and dashed dotted line, respectively. This PRC axis is not significant. (b) Log-Abundance of species that contribute the most to the observed community response.

Results for the biomarkers

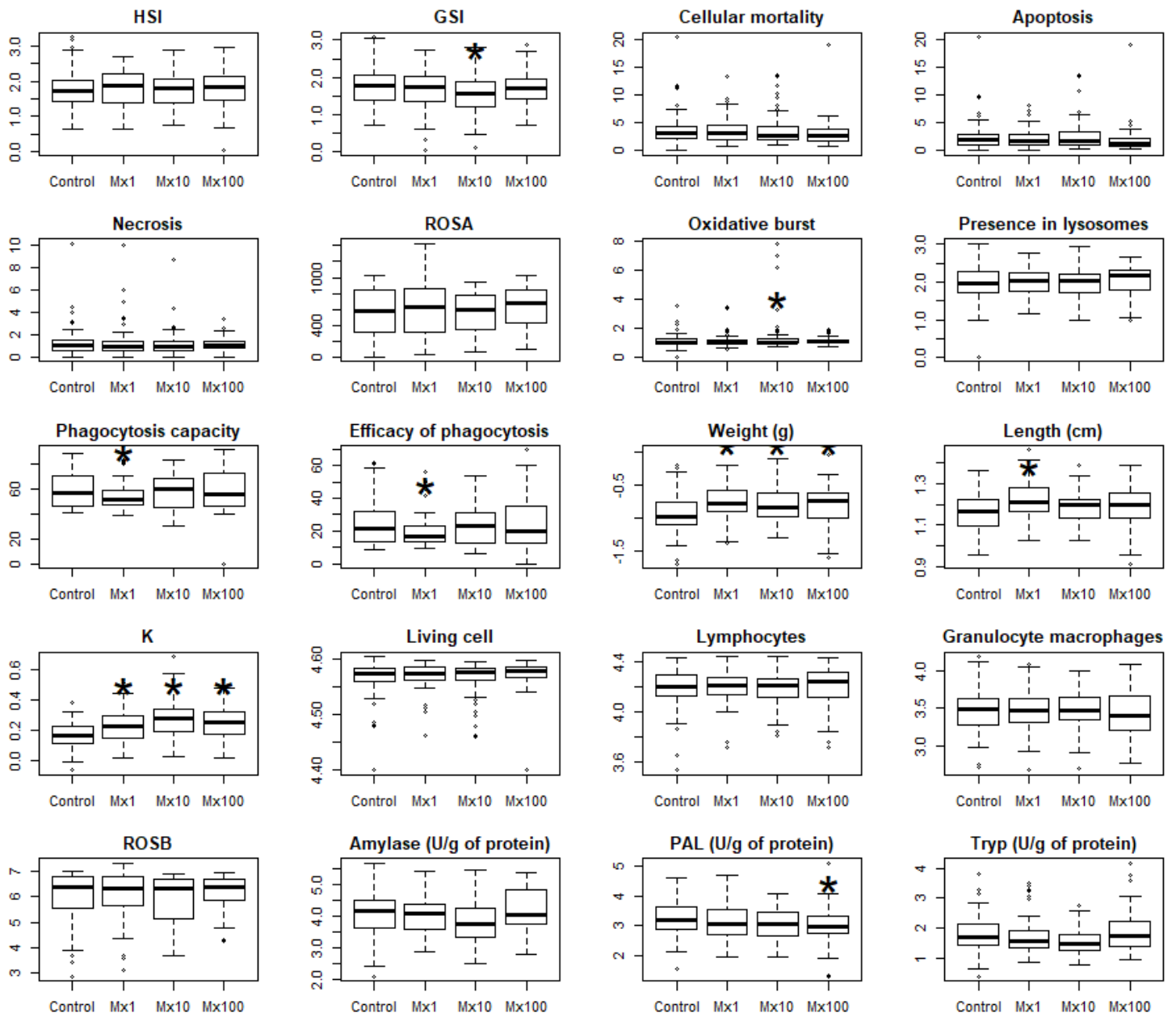


Figure S7. Boxplot for each studied biomarker and each mixture treatment (Control, Mx1, Mx10, Mx100). Stars represent the significant results with an ANOVA (p-value < 0.05).

Results for the population endpoints

Table S3. Mean, standard deviation and CV of the population endpoints. Minimal detectable difference (MDD) were calculated for each treatment (Mx1, Mx10 and Mx100) (EFSA 2013, Brock et al. 2015).

	Control			Mx1 treatment				Mx10 treatment				Mx100 treatment			
	Mean	Sd	CV (%)	Mean	Sd	CV (%)	MDD (%)	Mean	Sd	CV (%)	MDD (%)	Mean	Sd	CV (%)	MDD (%)
N.tot	1087	165	15,21	976	292	29,92	28,29	977	29	2,98	29,56	919	263	28,62	30,07
N.F.0	10,67	1,53	14,32	9,33	1,53	16,37	25,13	9,33	2,08	22,30	26,30	7,33	1,53	20,83	26,76
W.F.0	1784	141	7,92	2032	22	1,08	15,34	1924	276	14,35	16,10	1854	257	13,88	16,40
L.F.0	53,04	1,22	2,29	54,28	1,09	2,01	3,55	52,98	0,53	1,00	3,73	53,08	1,88	3,54	3,81
CV.F.0	0,063	0,021	33,11	0,061	0,015	24,68	40,98	0,054	0,017	30,84	43,13	0,068	0,017	24,51	43,99
N.M.0	5,67	2,08	36,74	4,33	2,52	58,08	55,09	6,00	3,00	50,00	57,10	4,33	2,31	53,29	57,88
W.M.0	1550	180	11,61	1556	44	2,83	13,98	1565	164	10,50	14,68	1781	208	11,70	14,95
L.M.0	49,68	1,44	2,89	49,13	1,40	2,85	3,45	49,68	0,88	1,76	3,63	51,00	0,65	1,27	3,70
CV.M.0	0,051	0,010	19,08	0,050	0,019	37,04	52,32	0,043	0,021	48,28	55,06	0,051	0,020	39,32	56,15
F.F	0,115	0,033	28,88	0,109	0,020	18,63	34,92	0,129	0,018	13,70	36,74	0,124	0,034	27,54	37,46
W.F.X	267,3	17,3	6,46	291,7	14,8	5,08	6,86	281,9	5,3	1,89	7,22	274,2	10,8	3,93	7,36
L.F.X	28,84	0,60	2,10	29,06	0,31	1,08	1,84	29,04	0,17	0,58	1,94	28,78	0,07	0,26	1,98
CV.F.X	0,080	0,014	17,64	0,092	0,020	21,54	27,13	0,088	0,012	13,29	28,56	0,084	0,012	14,22	29,14
F.M	0,115	0,023	19,94	0,109	0,028	25,68	31,72	0,134	0,011	8,27	33,37	0,131	0,032	24,73	34,03
W.M.X	297	9,81	3,30	305	11,97	3,93	6,80	308	20,06	6,51	7,15	300	12,13	4,05	7,29
L.M.X	29,59	0,39	1,33	29,49	0,19	0,65	1,67	29,69	0,47	1,59	1,76	29,39	0,13	0,43	1,79
CV.M.X	0,098	0,010	9,74	0,099	0,007	7,55	13,83	0,096	0,012	12,30	14,56	0,088	0,006	7,01	14,86
F.J	0,768	0,036	4,74	0,780	0,046	5,90	8,91	0,735	0,015	2,09	9,37	0,742	0,069	9,34	9,56
W.J	105	6,92	6,58	99	10,69	10,79	15,44	96	3,42	3,56	16,20	108	17,88	16,64	16,51
L.J	20,36	0,66	3,25	20,44	0,76	3,72	5,62	20,44	0,38	1,84	5,91	21,11	1,14	5,39	6,03
CV.J	0,134	0,015	11,25	0,146	0,020	13,42	17,91	0,138	0,002	1,56	18,85	0,125	0,021	16,41	19,23
F.M.m	0,658	0,129	19,59	0,778	0,066	8,54	22,43	0,811	0,112	13,84	23,55	0,761	0,117	15,34	24,00
W.M.m	442	86,20	19,52	393	29,89	7,60	15,62	399	22,50	5,64	16,39	396	21,81	5,51	16,69
L.M.m	32,31	1,52	4,69	31,02	0,46	1,49	3,77	31,35	0,22	0,70	3,97	31,00	0,31	1,00	4,05
CV.M.m	0,179	0,039	21,84	0,168	0,029	17,06	26,31	0,170	0,028	16,60	27,67	0,170	0,030	17,38	28,21
F.M.im	0,344	0,128	37,11	0,223	0,067	30,26	48,37	0,190	0,113	59,61	50,68	0,239	0,114	47,73	51,60
W.M.im	218	10,27	4,71	223	15,48	6,94	9,24	213	17,85	8,38	9,71	234	10,64	4,55	9,90
L.M.im	27,59	0,32	1,14	27,75	0,05	0,17	1,17	27,53	0,13	0,47	1,24	27,74	0,26	0,93	1,26
CV.M.im	0,048	0,005	10,86	0,057	0,007	12,11	22,93	0,048	0,003	7,05	24,15	0,051	0,011	22,51	24,63
CF.F.0	1,194	0,018	1,52	1,273	0,070	5,51	12,99	1,291	0,149	11,51	13,65	1,239	0,150	12,14	13,92
CF.M.0	1,261	0,082	6,51	1,315	0,084	6,40	10,17	1,273	0,068	5,33	10,69	1,340	0,115	8,62	10,90
CF.F.X	1,114	0,006	0,56	1,188	0,022	1,85	2,85	1,152	0,006	0,49	3,01	1,150	0,037	3,19	3,07
CF.M.X	1,148	0,014	1,21	1,189	0,030	2,51	3,57	1,177	0,027	2,27	3,75	1,181	0,036	3,08	3,83
CF.M.m	1,296	0,071	5,48	1,315	0,042	3,16	5,81	1,293	0,047	3,66	6,12	1,328	0,036	2,69	6,24
CF.M.im	1,038	0,019	1,82	1,044	0,077	7,40	8,79	1,021	0,085	8,35	9,25	1,096	0,039	3,58	9,43
CF.J	1,247	0,041	3,25	1,157	0,003	0,28	4,36	1,125	0,051	4,49	4,59	1,136	0,025	2,20	4,68

Mean weight of the sticklebacks

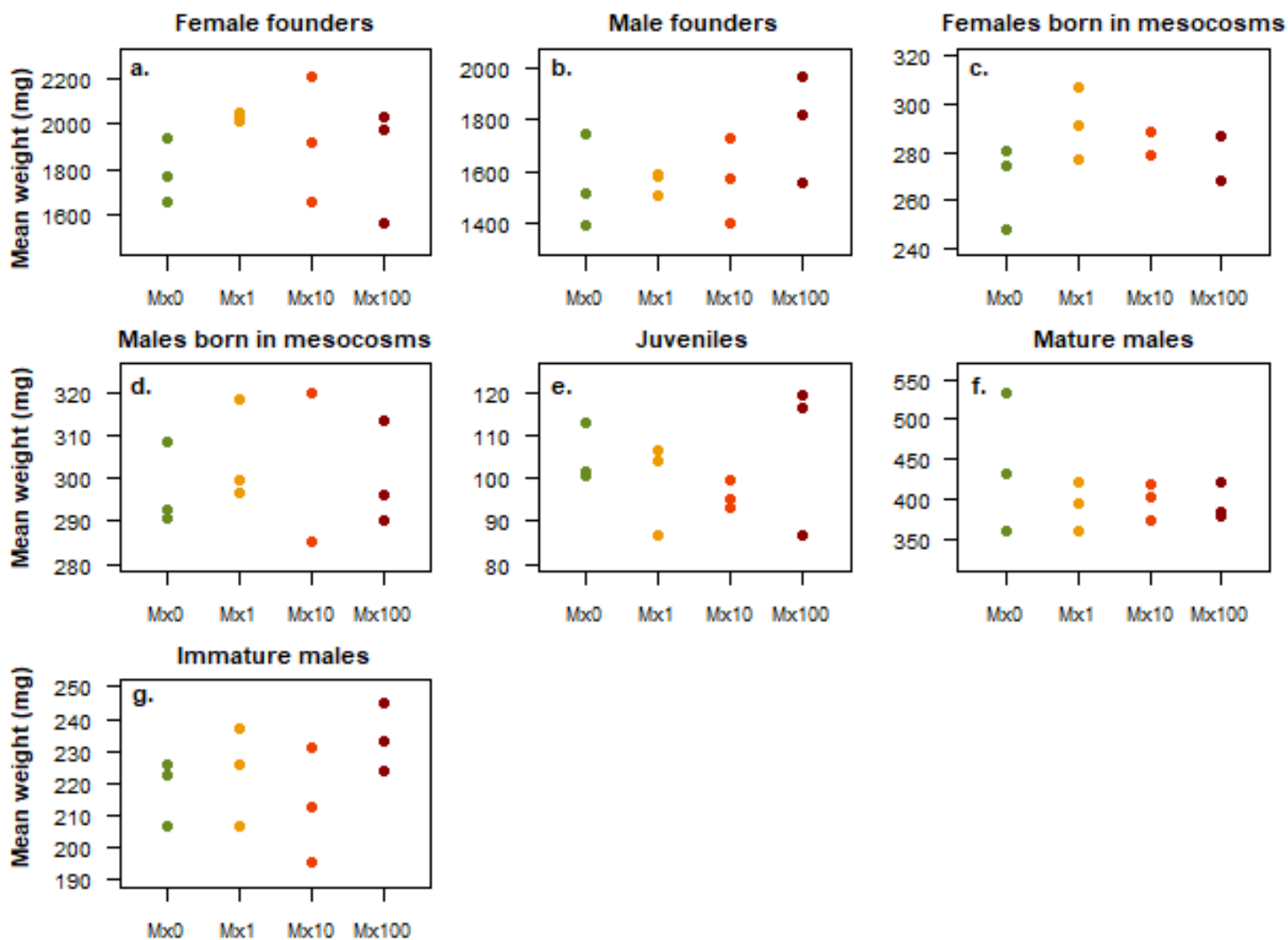


Figure S8. Mean weight of the female founders (a), male founders (b), females born in mesocosms (c), males born in mesocosms (d), juveniles (e), mature males (f) and immature males (g) at the end of experiment in each mixture treatment (Mx0: green, Mx1: yellow, Mx10: orange and Mx100: red).

Maturity of male sticklebacks in mesocosms

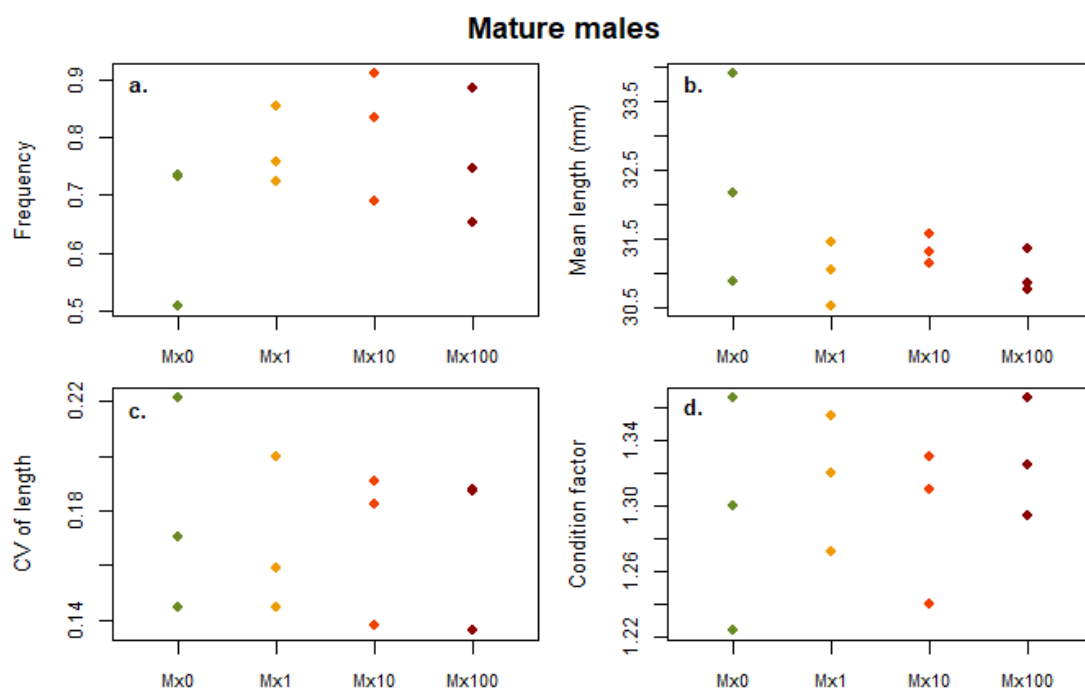


Figure S9. Frequency (a), mean length (b), CV of length (c) and condition factor (d) of mature males at the end of experiment in each mixture treatment (Mx0: green, Mx1: yellow, Mx10: orange and Mx100: red).

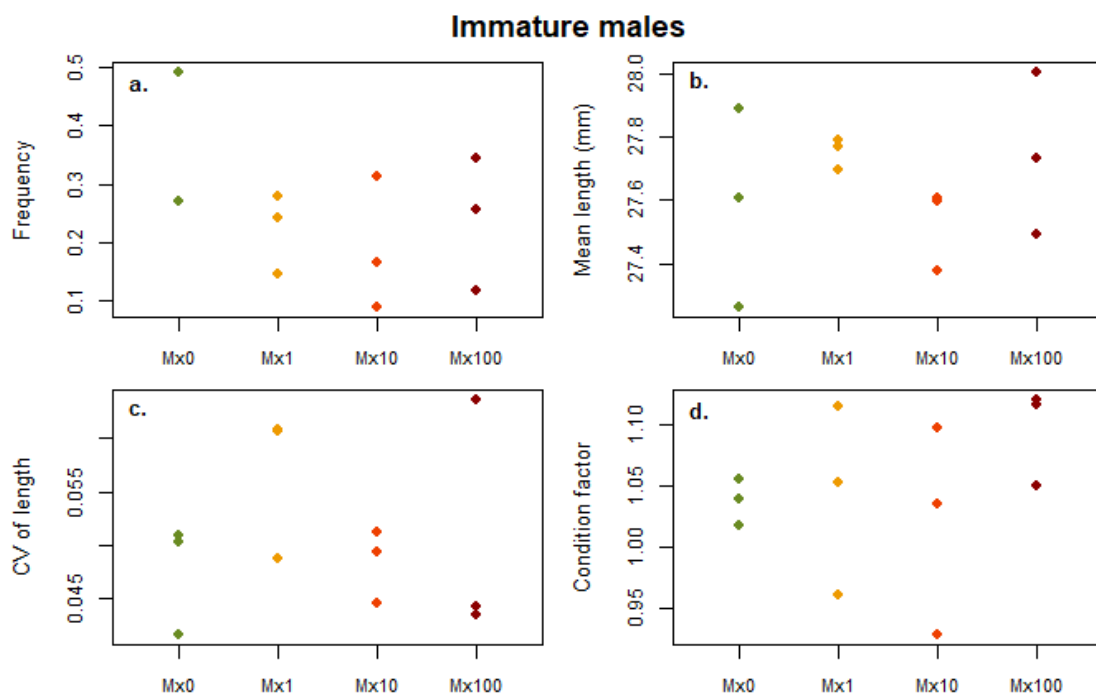


Figure S10. Frequency (a), mean length (b), CV of length (c) and condition factor (d) of immature males at the end of experiment in each mixture treatment (Mx0: green, Mx1: yellow, Mx10: orange and Mx100: red).

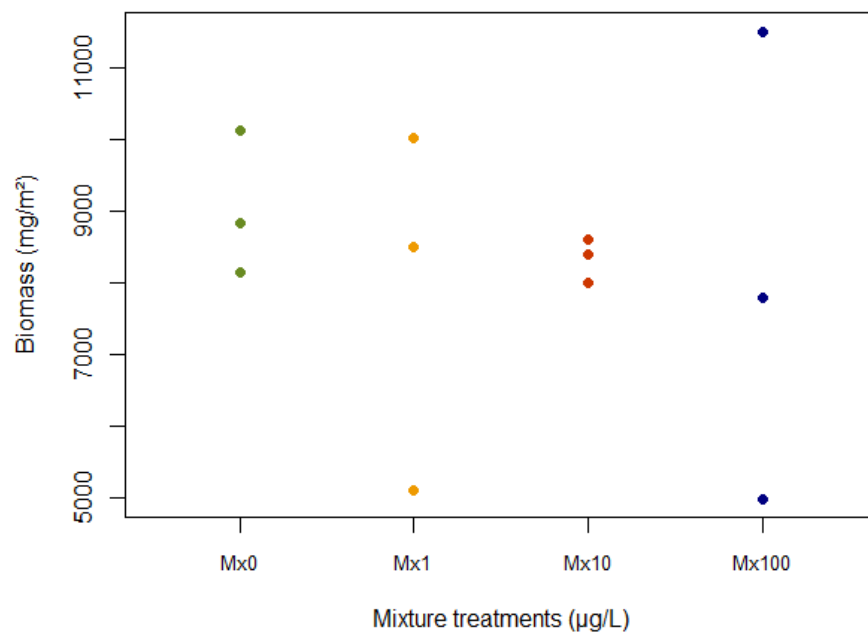


Figure S11. Total fish biomass (mg/m²) in the mesocosms in each mixture treatment (Mx0: green, Mx1: yellow, Mx10: orange and Mx100: red).

Model parameters

Table S4. Parameter descriptions and values of the DEB-IBM in control conditions (David et al. 2019)

Parameter	Description	Value	Unit
DEB parameters			
δ_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
$\{\dot{p}_{Am}\}$	Maximum surface area specific assimilation rate	2.42	J/mm ² /d
\dot{v}	Energy conductance	1.33	mm/d
κ	Specific fraction of energy mobilized from energy from reserved allocated to growth and somatic maintenance	0.757	-
κ	Fraction subtracted from κ to obtain κ in males after maturity	0.111	-
L_{egg}	Size of primordial cell in physical length	0.563	mm
$[\dot{p}_M]$	Volume specific somatic maintenance costs	0.132	J/mm ³ /d
$[E_c]$	Cost of synthesis of a unit of structure	1.10	J/mm ³
\dot{k}_j	Maturity maintenance rate	0.003	/d
k_R	Reproduction efficiency	0.978	-
Φ	Proportional factor to be fed ad libitum for a given day	15.31	J/mm ²
T_{max}	Water temperature above which consumption ceases	25	°C
C_q	Rate at which the function increases over low temperatures	3	-
T_{opt}	Optimal water temperature	23	°C
Reproduction parameters			
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	l/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 ²
Gamma.Compete	Competition parameter for getting a territory	0.15	-
Food parameters			
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 ²
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	-
Survival parameters			
m_dens	Parameter for the density dependent mortality	0.000086	-
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 ²
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	-
Variability parameters			
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	%

Statistical comparison of the simulated control with the DEB-IBM and the observations made in the mixture treatments

Table S5. p-values of the unilateral test using the simulated control endpoints with the DEB-IBM and the observations made in the mixture treatments.

	Mx1 treatment	Mx10 treatment	Mx100 treatment
N.tot	0.76966	0.93160	0.71554
N.F.0	0.61570	0.43050	0.05304
N.M.0	0.09064	0.40332	0.09600
L.F.0	0.77094	0.99944	0.88826
L.M.0	0.22682	0.11494	0.00454
L.F.X	0.80170	0.84568	0.96872
L.M.X	0.38528	0.13030	0.59974
L.J	0.04546	0.06660	0.19002
L.M.m	0.94962	0.86538	0.97068
CV.F.0	0.73930	0.39626	0.88970
CV.M.0	0.18984	0.07760	0.18656
CV.F.X	0.58618	0.59028	0.41030
CV.M.X	0.99354	0.92704	0.73144
CV.J	0.98222	0.97400	0.73242
CV.M.m	0.60880	0.64598	0.62922
F.M.m	0.94962	0.94598	0.79738
F.F	0.95724	0.85262	0.85968
F.J	0.94982	0.81806	0.81916

Table S6. p-values of the Dunnet's test using the simulated control endpoints with the DEB-IBM and the observations made in the mixture treatments. Unilateral test with the hypothesis that the values of the control were inferior to the ones from the treatments

	Mx1 treatment	Mx10 treatment	Mx100 treatment
N.tot	0.20502	0.24356	0.30438
N.F.0	0.53188	0.58002	0.96842
N.M.0	0.73672	0.14020	0.74366
L.F.0	0.77094	0.99944	0.88826
L.M.0	0.22682	0.11494	0.00454
L.F.X	0.80170	0.84568	0.96872
L.M.X	0.38528	0.13030	0.59974
L.J	0.96350	0.98286	0.66788
L.M.m	0.94962	0.86538	0.97068
CV.F.0	0.00320	0.50960	0.07004
CV.M.0	0.83788	0.93934	0.82634
CV.F.X	0.08396	0.40880	0.59968
CV.M.X	0.01206	0.01858	0.41424
CV.J	0.00752	0.11928	0.28144
CV.M.m	0.33494	0.30414	0.28260
F.M.m	0.09326	0.02286	0.11926
F.F	0.95724	0.85262	0.85968
F.J	0.14002	0.44994	0.28226

Model calibration of the toxic parameters

The parameters of the dose-response for the mortality were recalibrated on the population observed data in mesocosms with an iterative process using a genetic algorithm available within the software BehaviorSearch. The distance to minimize was the weighted sum of least squares (WLS) between the predictions and the observations of the endpoints of the population (Eq. 1).

$$WLS = \sum_{i=1}^n \frac{(Sim_i - \mu_{obs_i})^2}{\sigma_{obs_i}^2} \quad (\text{Eq. 28})$$

With n the number of observed outputs, Sim_i the value of the simulated output i , μ_{obs_i} the mean of the observed output i and σ_{obs_i} the standard deviation of the observed output i .

Furthermore, concerning the stress level for the weight which was calibrated separately on the condition factors observed in mesocosms, we use the software BehaviorSearch with a baseline search algorithm (called “RandomSearch”, see BehaviorSearch documentation online) as we calibrated only one parameter. The distance to minimize was the WLS using the data on the condition factors.

Model simulations of the condition factors

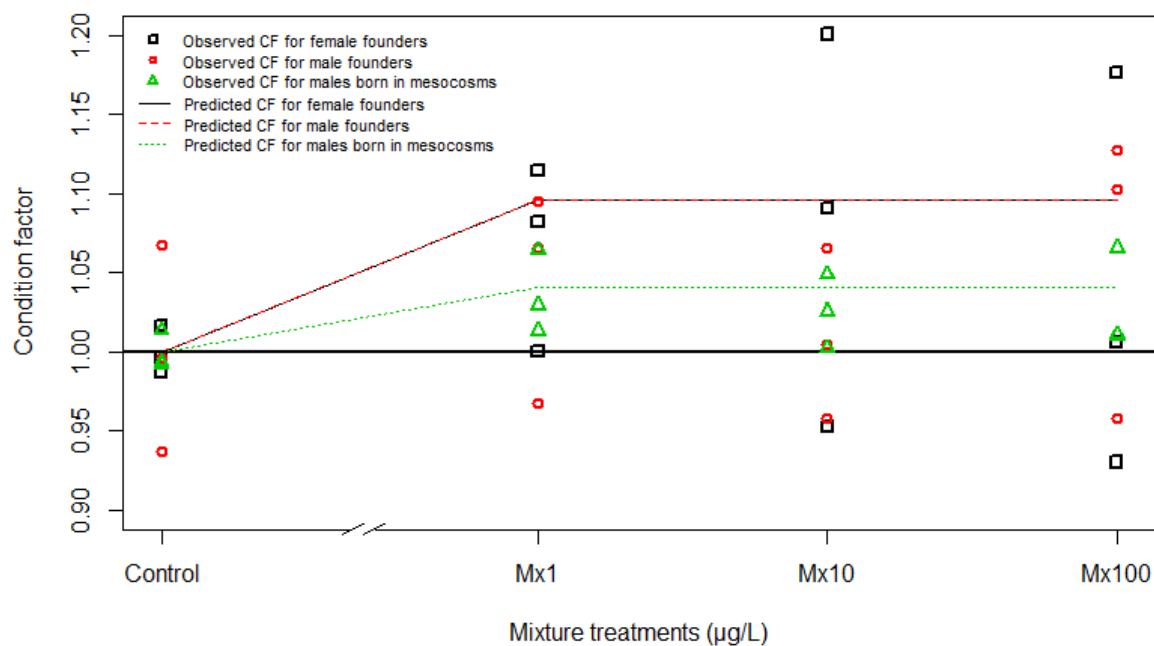


Figure S12. Simulated and observed mean condition factors for the female founders, male founders and males born in mesocosms for the different mixture treatments. The lines represent the predictions for the female founders (dark full line), male founders (red dashed line) and males born in mesocosms (green dotted line). The points represent the observations (black squares for female founders, red circles for male founders and green triangles for males born in mesocosms).

Complementary experiment in laboratory

To complete the mesocosm experiment and describe the short-term effects of a pharmaceutical mixture (diclofenac, carbamazepin, paracetamol, naproxen, irbesartan) on a battery of biomarkers of the three-spine stickleback, a laboratory experiment was conducted.

Three weeks before this laboratory experiment, 270 adult three-spined sticklebacks (4.68 ± 0.54 cm; 1.38 ± 0.51 g) were sexed using head morphology models (De Kermoysan et al. 2013) to obtain 50% of males and 50% of females. For acclimation, fish were maintained two weeks in aerated 10L aquariums (9 fish in one aquariums) with continuous water renewal at a temperature of 14.5 ± 1.0 °C.

The chosen exposure concentrations of pharmaceutical mixtures were the same as already described in mesocosm experiments (Mx1, Mx10 and Mx100). In addition, two control conditions were added: a condition in which stickleback were not exposed to any contaminant and a DMSO condition in which stickleback were exposed only to the solvent solution used to dissolve pharmaceuticals (corresponding to the Mx0 in the mesocosm experiment). Sticklebacks were exposed during 3, 7 or 21 days at the rate of 18 fishes per condition in the aquariums previously described. During all the experiment, fish received daily food-supply of bloodworms (Ocean Nutrition T, Belgium) to reach 100% of *ad libitum*.

At the end of the exposure time, sticklebacks were anesthetized by balneation with MS222 (Tricaine methanesulfonate, 100 mg/L, Sigma-Aldrich, USA) before cervical dislocation. Organs of each fish (liver, spleen, muscle, blood, intestine) were taken and stored at -80°C in appropriated buffer before biomarkers measurement (summarized in table 2) as previously described (Catteau et al. 2019).

Table S8. List of measured biomarkers in three-spined stickleback and references used for each method. GSH: total glutathione; GPx: Glutathione peroxidase; SOD: Superoxide dismutase; TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances; EROD: 7-ethoxyresorufin-O-deethylase; GST: glutathione-S transferase; AChE: Acetylcholinesterase; VTG: Vitellogenin; SPG: Spiggin, E.U.: Experimental Unit; F.U : Fluorescence Unit.

	Biomarkers	Organs	Methods	Units
Condition Index	Fulton's condition index	Whole body	Fulton 1902	E.U.
	Hepatosomatic index	Liver	Sloof et al. 1983	E.U.
Innate immune responses	Leucocyte necrosis			%
	Leucocyte apoptosis			%
	Granulocyte percentage			%
	Lysosomale presence	Spleen	Bado-Nilles et al. 2014	F.U.
	Phagocytosis capacity			%
	Phagocytosis efficiency			%
	Respiratory burst index			E.U.
	Antioxidant system	GSH content		Vandeputte et al., 1994
GPx activity		Liver	Paglia and Valentine, 1967	U/g of total protein
Catalase activity			Babo and Vasseur, 1992	U/mg of total protein
SOD activity			Paoletti et al., 1986	U/g of total protein
Oxidative damages	TBARS content	Liver	Ohkawa et al., 1979	nmol/g of total protein
Biotransformation	EROD activity	Liver	Flammarion et al. 2002	pmol/min/mg of total protein
	GST activity		Habig et al 1974	U/g of total protein
Synaptic transmission	AChE activity	Muscle	Ellman et al., 1961	U/g of total protein
Reproductive system	Gonadosomatic index	Gonad	Zeyl et al. 2014	E.U.
	VTG concentration	Blood	Sanchez et al. 2007	ng/mL of blood
Digestive enzymes	Trypsine activity		García-Carreño and Haard, 1993	U/g of total protein
	Alkaline phosphatase activity	Intestine	Panteghini and Bais, 2008	U/g of total protein
	Amylase activity		Junge et al. 2001	U/g of total protein

Statistical analyses

All statistical analyses were performed with R software version 3.2.2 (Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Two-way ANOVAs on the raw data (or log-transformed data) were applied for each biomarker to determine the impacts of “Sex” and “Exposure condition”. Normality and homoscedasticity of ANOVAs residuals between each treatment were systematically verified using Shapiro-Wilk and Levene’s tests ($\alpha = 5\%$). In case of non-compliance with normality, ANOVAs were replaced by Kruskal-Wallis tests ($\alpha = 5\%$). ANOVAs and Kruskal-Wallis tests were followed respectively by Dunnet or Dunn tests to compare each group to the DMSO treatment (considered as the reference).

When significant difference was detected between gender, data for male and female stickleback were analysed separately for the concerned biomarker. Globally, 25 biomarkers were tested and, with a first order risk equal to 5%, from 0 to 4 false positive results are expected (IC 95%, binomial distribution).

Results

Table S9. Biomarker responses in three-spined sticklebacks exposed during 3 days to the different concentration of the mixture. Values are mean \pm standard error of the mean. Statistical difference from the reference group (DMSO) are expressed according to the results of Dunnet of Dunn's tests. *: 0.05 > p-value > 0.01; **: 0.01 > p-value > 0.001; ***: p-value < 0.001. EROD: 7-ethoxyresorufin-O-deethylase; GST: glutathione-S-transferase; AChE: Acetylcholinesterase; GPx: glutathione peroxidase; CAT: catalase; SOD: superoxide dismutase; E.U.: Experimental Unit; F.U.: Fluorescence Unit.

3 days of exposure		DMSO (ref)	H2O	Mx1	Mx10	Mx100	
		Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	
Biometric index (organisme)	Length (cm)	4,51 \pm 0,09	4,71 \pm 0,14	4,81 \pm 0,12	4,61 \pm 0,12	4,71 \pm 0,19	
	Weight (g)	1,26 \pm 0,09	1,38 \pm 0,13	1,52 \pm 0,14	1,27 \pm 0,10	1,51 \pm 0,17	
	Fulton's condition index (E.U.)	1,34 \pm 0,04	1,27 \pm 0,03	1,30 \pm 0,04	1,26 \pm 0,02	1,39 \pm 0,10	
	Hepatosomatic index \oplus (E.U.)	4,74 \pm 0,25	3,66 \pm 0,97	5,73 \pm 0,63	4,77 \pm 0,42	4,97 \pm 0,39	
	Hepatosomatic index \ominus (E.U.)	5,57 \pm 0,31	5,54 \pm 0,36	6,03 \pm 0,63	6,01 \pm 0,28	5,65 \pm 0,30	
Reproductive system (blood and gonads)	Vitellogenin \oplus (log ng/mL of blood)	3,08 \pm 0,93	3,55 \pm 0,27	3,50 \pm 0,97	3,15 \pm 0,88	3,73 \pm 0,83	
	Gonadosomatic index \oplus (E.U.)	1,29 \pm 0,27	1,34 \pm 0,44	1,49 \pm 0,11	1,18 \pm 0,13	1,03 \pm 0,09	
	Gonadosomatic index \ominus (E.U.)	4,66 \pm 1,64	2,53 \pm 0,34	2,55 \pm 0,73	2,33 \pm 0,26	2,62 \pm 0,56	
Immune system (spleen)	Leucocyte necrosis (%)	2,54 \pm 0,27	2,60 \pm 0,20	2,90 \pm 0,28	2,56 \pm 0,25	3,08 \pm 0,31	
	Leucocyte apoptosis (%)	5,30 \pm 0,58	7,80 \pm 1,40	5,62 \pm 0,86	6,89 \pm 0,79	5,23 \pm 0,79	
	Phagocytic capacity (%)	59,74 \pm 1,06	65,02 \pm 2,31	63,95 \pm 1,58	59,58 \pm 2,06	59,15 \pm 1,76	
	Phagocytic efficiency (%)	30,18 \pm 1,53	37,35 \pm 2,80	34,75 \pm 2,46	30,70 \pm 2,74	31,18 \pm 1,66	
	Lysosomal presence (F.U.)	2,70 \pm 0,13	2,67 \pm 0,12	2,54 \pm 0,14	2,69 \pm 0,12	2,88 \pm 0,09	
	Basal oxidative activity (F.U.)	477,72 \pm 46,93	474,16 \pm 58,36	536,92 \pm 69,61	536,54 \pm 54,81	691,65 \pm 63,90	
	Active oxidative activity (F.U.)	622,37 \pm 46,43	595,79 \pm 61,08	654,30 \pm 77,06	673,86 \pm 47,28	829,92 \pm 60,86	
	Respiratory burst index (E.U.)	1,39 \pm 0,07	1,36 \pm 0,10	1,34 \pm 0,08	1,40 \pm 0,09	1,31 \pm 0,09	
	Lymphocytes among leucocytes (%)	68,75 \pm 1,76	72,50 \pm 1,88	66,59 \pm 2,08	71,42 \pm 2,08	70,53 \pm 2,45	
Granulocytes among leucocytes (%)	32,01 \pm 1,77	28,18 \pm 1,90	34,21 \pm 2,09	29,26 \pm 2,10	30,19 \pm 2,48		
Metabolic detoxication (liver)	EROD activity (pmol/min/mg of tot prot)	0,56 \pm 0,06	0,54 \pm 0,08	0,69 \pm 0,13	0,67 \pm 0,09	0,65 \pm 0,11	
	GST activity (U/g of tot prot)	2268,49 \pm 168,16	2441,07 \pm 139,77	2431,16 \pm 391,98	2388,50 \pm 202,82	2550,93 \pm 247,85	
Neurotoxicity (muscle)	AChE activity (U/g of tot prot)	47,41 \pm 3,27	52,80 \pm 5,14	47,45 \pm 4,73	49,56 \pm 4,60	46,62 \pm 6,91	
Antioxydant system (liver)	GPx activity \oplus (U/g of tot prot)	7,13 \pm 1,67	12,89 \pm 4,49	30,24 \pm 13,11	9,61 \pm 2,71	15,51 \pm 4,56	
	GPx activity \ominus (U/g of tot prot)	82,99 \pm 17,77	85,23 \pm 14,86	75,11 \pm 14,11	66,82 \pm 11,40	88,88 \pm 26,95	
	CAT activity \oplus (U/g of tot prot)	144553,16 \pm 42571,55	146688,38 \pm 41574,37	175071,87 \pm 42459,21	142594,31 \pm 19804,51	162526,68 \pm 43191,12	
	CAT activity \ominus (U/g of tot prot)	196075,50 \pm 19218,09	261020,94 \pm 33529,29	261032,55 \pm 42000,24	215431,24 \pm 26780,06	206662,47 \pm 55520,42	
	SOD activity (U/g of tot prot)	3223,15 \pm 445,68	4164,58 \pm 416,91	3627,38 \pm 538,89	3829,73 \pm 436,13	3201,20 \pm 452,28	
Digestive enzymes (intestine)	Trypsin activity (U/g of tot prot)	9,55 \pm 1,15	13,18 \pm 2,26	9,65 \pm 2,37	12,05 \pm 3,27	5,77 \pm 0,67	
	Alkaline phosphatase activity (U/g of tot prot)	34,40 \pm 2,28	54,07 \pm 10,17	31,39 \pm 3,88	36,47 \pm 5,48	17,64 \pm 1,73	***
	Amylase activity (U/g of tot prot)	35,66 \pm 4,40	48,67 \pm 5,19	44,36 \pm 6,79	44,74 \pm 7,95	31,06 \pm 2,94	

Table S10. Biomarker responses in three-spined sticklebacks exposed during 7 days to the different concentration of the mixture. Values are mean \pm standard error of the mean. Statistical difference from the reference group (DMSO) are expressed according to the results of Dunnet of Dunn's tests. *: 0.05 > p. value > 0.01; **: 0.01 > p-value > 0.001; ***: p-value < 0.001. EROD: 7-ethoxyresorufin-O-deethylase; GST: glutathione-S-transferase; AChE: Acetylcholinesterase; GPx: glutathione peroxidase; CAT: catalase; SOD: superoxide dismutase; E.U.: Experimental Unit; F.U.: Fluorescence Unit.

7 days of exposure		DMSO (ref)	H2O	Mx1	Mx10	Mx100
		Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM
Biometric index (organisme)	Length (cm)	4,67 \pm 0,12	4,73 \pm 0,11	4,67 \pm 0,11	4,63 \pm 0,13	4,53 \pm 0,10
	Weight ♂ (g)	1,10 \pm 0,16	1,65 \pm 0,28	1,39 \pm 0,25	1,48 \pm 0,15	1,03 \pm 0,09
	Weight ♀ (g)	1,49 \pm 0,12	1,29 \pm 0,12	1,31 \pm 0,11	1,20 \pm 0,18	1,29 \pm 0,13
	Fulton's condition index ♂ (E.U.)	1,23 \pm 0,03	1,47 \pm 0,08	1,38 \pm 0,09	1,37 \pm 0,03	1,23 \pm 0,03
	Fulton's condition index ♀ (E.U.)	1,34 \pm 0,06	1,20 \pm 0,03	1,25 \pm 0,04	1,21 \pm 0,04	1,27 \pm 0,04
	Hepatosomatic index ♂ (E.U.)	4,00 \pm 0,60	5,83 \pm 0,58	* 4,76 \pm 0,16	5,31 \pm 0,38	4,95 \pm 0,42
	Hepatosomatic index ♀ (E.U.)	5,22 \pm 0,45	5,43 \pm 0,31	5,40 \pm 0,33	5,70 \pm 0,47	5,88 \pm 0,25
Reproductive system (blood and gonads)	Vitellogenin ♂ (log ng/mL of blood)	2,67 \pm 0,92	3,31 \pm 1,00	2,91 \pm 0,83	2,74 \pm 0,90	2,68 \pm 1,08
	Gonadosomatic index ♂	1,34 \pm 0,14	0,91 \pm 0,16	1,40 \pm 0,16	1,06 \pm 0,19	1,09 \pm 0,09
	Gonadosomatic index ♀	3,58 \pm 1,12	3,84 \pm 0,99	4,67 \pm 1,58	5,98 \pm 1,44	3,21 \pm 0,63
Immune system (spleen)	Leucocyte necrosis (%)	2,11 \pm 0,24	1,78 \pm 0,31	2,17 \pm 0,24	2,26 \pm 0,25	1,81 \pm 0,33
	Leucocyte apoptosis (%)	7,35 \pm 0,52	8,56 \pm 1,24	7,32 \pm 0,90	7,57 \pm 1,06	7,29 \pm 0,91
	Phagocytic capacity (%)	63,58 \pm 1,95	64,71 \pm 1,76	62,00 \pm 1,60	60,59 \pm 1,80	64,35 \pm 1,63
	Phagocytic efficiency (%)	34,86 \pm 2,64	35,12 \pm 1,91	31,73 \pm 1,62	31,69 \pm 2,25	33,56 \pm 1,73
	Lysosomal presence (F.U.)	2,40 \pm 0,18	2,40 \pm 0,08	2,34 \pm 0,06	2,66 \pm 0,05	2,45 \pm 0,29
	Basal oxidative activity (F.U.)	647,37 \pm 81,67	684,14 \pm 69,63	695,21 \pm 78,74	862,31 \pm 57,84	708,39 \pm 80,42
	Active oxidative activity (F.U.)	640,59 \pm 83,01	725,09 \pm 84,52	756,53 \pm 95,01	907,31 \pm 70,20	** 761,26 \pm 97,57
	Respiratory burst index (E.U.)	1,02 \pm 0,02	1,03 \pm 0,06	0,95 \pm 0,03	0,97 \pm 0,02	0,96 \pm 0,04
	Lymphocytes among leucocytes (%)	71,68 \pm 1,82	72,75 \pm 1,83	70,62 \pm 2,10	68,48 \pm 2,55	70,59 \pm 1,64
	Granulocytes among leucocytes (%)	28,95 \pm 1,82	27,88 \pm 1,84	30,07 \pm 2,11	32,19 \pm 2,56	30,16 \pm 1,63
Metabolic detoxication (liver)	EROD activity (pmol/min/mg of tot prot)	0,76 \pm 0,15	0,61 \pm 0,13	0,48 \pm 0,07	0,68 \pm 0,10	0,95 \pm 0,17
	GST activity (U/g of tot prot)	2238,48 \pm 177,25	2375,88 \pm 289,31	2227,76 \pm 366,22	2517,55 \pm 282,65	2595,63 \pm 298,69
Neurotoxicity (muscle)	AChE activity (U/g of tot prot)	61,61 \pm 7,27	56,88 \pm 5,59	51,57 \pm 6,27	59,14 \pm 7,37	60,12 \pm 5,18
Antioxydant system (liver)	GPx activity ♂ (U/g of tot prot)	14,38 \pm 6,60	19,03 \pm 4,43	18,39 \pm 5,75	26,95 \pm 2,29	17,10 \pm 2,02
	GPx activity ♀ (U/g of tot prot)	101,52 \pm 19,26	82,38 \pm 14,37	113,88 \pm 19,84	194,49 \pm 60,27	84,41 \pm 22,16
	CAT activity ♂ (U/g of tot prot)	53873,18 \pm 13388,73	57043,14 \pm 20258,02	47065,85 \pm 6859,27	83398,26 \pm 20679,66	151987,10 \pm 30701,38
	CAT activity ♀ (U/g of tot prot)	151656,90 \pm 23890,95	150731,01 \pm 25676,82	107352,88 \pm 16021,24	134984,54 \pm 37335,58	261475,35 \pm 48815,93
	SOD activity (U/g of tot prot)	2921,02 \pm 407,44	3116,30 \pm 429,07	2855,29 \pm 391,45	3743,70 \pm 453,53	3673,47 \pm 499,30
Digestive enzymes (intestine)	Trypsine activity (U/g of tot prot)	4,62 \pm 0,40	4,49 \pm 0,47	4,98 \pm 0,48	5,02 \pm 0,49	4,49 \pm 0,33
	Alkaline phosphatase activity (U/g of tot prot)	19,14 \pm 2,42	19,30 \pm 2,35	23,61 \pm 3,25	21,40 \pm 3,07	16,96 \pm 1,83
	Amylase activity ♂ (U/g de prot)	41,71 \pm 11,74	25,98 \pm 14,26	22,02 \pm 10,28	32,60 \pm 19,60	27,76 \pm 13,81
	Amylase activity ♀ (U/g de prot)	21,12 \pm 11,74	21,45 \pm 14,26	22,87 \pm 10,28	20,05 \pm 19,60	16,13 \pm 13,81

Table S11. Biomarker responses in three-spined sticklebacks exposed during 21 days to the different concentration of the mixture. Values are mean \pm standard error of the mean. Statistical difference from the reference group (DMSO) are expressed according to the results of Dunnet of Dunn's tests. *: 0.05 > p. value > 0.01; **: 0.01 > p-value > 0.001; ***: p-value < 0.001. EROD: 7-ethoxyresorufin-O-deethylase; GST: glutathione-S-transferase; AChE: Acetylcholinesterase; GPx: glutathione peroxidase; CAT: catalase; SOD: superoxide dismutase; E.U.: Experimental Unit; F.U.: Fluorescence Unit.

21 days of exposure		DMSO (ref)	H2O	Mx1	Mx10	Mx100
		Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM
Biometric index (organisme)	Length (cm)	4,71 \pm 0,14	4,74 \pm 0,11	4,72 \pm 0,14	4,77 \pm 0,13	4,73 \pm 0,15
	Weight (g)	1,39 \pm 0,13	1,44 \pm 0,11	1,45 \pm 0,14	1,42 \pm 0,13	1,41 \pm 0,15
	Fulton's condition index (E.U.)	1,28 \pm 0,04	1,31 \pm 0,03	1,30 \pm 0,02	1,25 \pm 0,03	1,25 \pm 0,02
	Hepatosomatic index $\overline{\Phi}$ (E.U.)	5,15 \pm 0,37	6,34 \pm 1,03	4,88 \pm 0,41	5,49 \pm 0,32	4,60 \pm 0,32
	Hepatosomatic index $\overline{\Psi}$ (E.U.)	6,13 \pm 0,24	5,85 \pm 0,40	5,98 \pm 0,34	5,69 \pm 0,38	5,70 \pm 0,31
Reproductive system (blood and gonads)	Vitellogenin $\overline{\Phi}$ (log ng/mL of blood)	3,16 \pm 0,97	2,72 \pm 1,14	3,73 \pm 0,43	3,09 \pm 0,77	3,07 \pm 0,98
	Gonadosomatic index $\overline{\Phi}$ (E.U.)	1,53 \pm 0,22	1,15 \pm 0,09	1,49 \pm 0,09	1,55 \pm 0,19	1,49 \pm 0,16
	Gonadosomatic index $\overline{\Psi}$ (E.U.)	2,01 \pm 0,13	3,12 \pm 0,90	6,78 \pm 2,21	2,28 \pm 0,37	2,12 \pm 0,15
Immune system (spleen)	Leucocyte necrosis (%)	2,92 \pm 0,44	2,96 \pm 0,31	2,77 \pm 0,27	3,02 \pm 0,26	3,47 \pm 0,33
	Leucocyte apoptosis (%)	9,52 \pm 1,22	8,08 \pm 0,84	9,70 \pm 1,10	8,69 \pm 1,15	6,59 \pm 0,66
	Phagocytic capacity (%)	73,66 \pm 1,54	71,80 \pm 1,65	73,78 \pm 1,60	71,38 \pm 1,52	73,50 \pm 1,67
	Phagocytic efficiency (%)	41,58 \pm 2,01	40,24 \pm 2,28	42,48 \pm 2,23	39,60 \pm 2,02	42,75 \pm 2,19
	Lysosomal presence (F.U.)	2,68 \pm 0,17	2,69 \pm 0,12	2,91 \pm 0,14	2,83 \pm 0,13	2,84 \pm 0,09
	Basal oxidative activity (F.U.)	489,36 \pm 68,33	530,42 \pm 52,92	653,93 \pm 77,88	601,24 \pm 61,91	585,24 \pm 66,34
	Active oxidative activity (F.U.)	519,19 \pm 73,84	543,88 \pm 55,82	653,43 \pm 68,38	633,66 \pm 65,58	609,16 \pm 68,05
	Respiratory burst index (E.U.)	1,10 \pm 0,08	1,02 \pm 0,04	1,09 \pm 0,08	1,05 \pm 0,03	1,03 \pm 0,03
	Lymphocytes among leucocytes (%)	70,01 \pm 2,19	69,83 \pm 2,23	65,86 \pm 1,73	66,29 \pm 1,81	70,19 \pm 2,10
Granulocytes among leucocytes (%)	30,64 \pm 2,21	30,85 \pm 2,26	34,90 \pm 1,74	34,51 \pm 1,82	30,57 \pm 2,10	
Metabolic detoxication (liver)	EROD activity (pmol/min/mg of tot prot)	1,45 \pm 0,19	0,97 \pm 0,14	0,83 \pm 0,17	0,90 \pm 0,21	0,93 \pm 0,19
	GST activity (U/g of tot prot)	2569,00 \pm 118,27	2783,14 \pm 197,84	2747,61 \pm 212,85	2372,59 \pm 273,20	2461,86 \pm 239,09
Neurotoxicity (muscle)	AChE activity (U/g of tot prot)	75,94 \pm 8,75	79,92 \pm 6,40	73,29 \pm 6,07	78,28 \pm 7,67	67,79 \pm 6,94
	GPx activity $\overline{\Phi}$ (U/g of tot prot)	23,80 \pm 7,00	24,97 \pm 9,81	10,92 \pm 2,19	9,39 \pm 3,69	9,48 \pm 2,47
Antioxydant system (liver)	GPx activity $\overline{\Psi}$ (U/g of tot prot)	64,33 \pm 9,88	106,58 \pm 25,26	131,07 \pm 37,07	76,28 \pm 22,40	60,89 \pm 18,30
	CAT activity $\overline{\Phi}$ (U/g of tot prot)	164079,55 \pm 33430,56	140073,54 \pm 19936,04	159386,13 \pm 22165,73	105471,03 \pm 12493,83	139334,91 \pm 19520,34
	CAT activity $\overline{\Psi}$ (U/g of tot prot)	271439,57 \pm 24883,09	272401,50 \pm 27941,54	225591,42 \pm 22740,95	269497,07 \pm 26056,19	203037,28 \pm 37737,57
	SOD activity (U/g of tot prot)	4566,78 \pm 384,74	4462,43 \pm 343,00	3943,39 \pm 456,47	3163,37 \pm 509,03	2873,41 \pm 401,67 *
Digestive enzymes (intestine)	Trypine activity (U/g of tot prot)	5,67 \pm 0,58	9,41 \pm 1,47	6,41 \pm 0,81	5,95 \pm 0,57	6,65 \pm 0,38
	Alkaline phosphatase activity (U/g of tot prot)	20,05 \pm 1,73	29,08 \pm 3,41	20,05 \pm 2,14	25,29 \pm 2,31	26,46 \pm 2,42 *
	Amylase activity $\overline{\Phi}$ (U/g de prot)	17,71 \pm 2,15	43,83 \pm 11,22	42,60 \pm 9,78	43,83 \pm 8,86	32,93 \pm 4,59
	Amylase activity $\overline{\Psi}$ (U/g de prot)	33,12 \pm 4,92	31,50 \pm 6,73	29,89 \pm 4,52	31,28 \pm 4,23	28,98 \pm 2,73

After 3 day of exposure, only alkaline phosphatase activity was significantly lower in stickleback exposed to the higher concentration (Mx100) (Table 9). After 7 days of exposure, 3 biomarkers were significantly different from the reference: HSI in male fish was higher in fish exposed only to water, active oxidative activity was higher in fish exposed to the medium concentration (Mx10) and catalase activity was higher in fish exposed to the higher concentration (Mx100) (Table 10). Finally, after 21 days of exposure, only SOD and alkaline phosphatase activities were lower in sticklebacks exposed to the higher concentration compared to the reference fish. GSH and TBARS concentration were below the detection limit in all exposed group whatever the time of exposure (Table 11).

The number of biomarkers which were significantly different from the reference was below to the expected number of false positive (between 0 and 4) for all exposure time, which indicate low effect of the pharmaceutical mixture on the stickleback's biomarkers.

Reference

- Brock, T. C. M., Hammers-Wirtz, M., Hommen, U., Preuss, T. G., Ratte, H. T., Roessink, I., Strauss, T. and Van den Brink, P. J. (2015). The minimum detectable difference (MDD) and the interpretation of treatment-related effects of pesticides in experimental ecosystems. *Environ Sci Pollut Res Int*, 22, 1160-1174. doi: 10.1007/s11356-014-3398-2.
- Catteau, A., Le Guernic, A., Marchand, A., Hani, Y. M. I., Palluel, O., Turiès, C., Bado-Nilles, A., Dedourge-Geffard, O., Geffard, A. and Porcher, J.-M. (2019). Impact of confinement and food access restriction on the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*, L.) during caging: a multi-biomarker approach. *Fish Physiology and Biochemistry*, 45, 1261-1276. doi: 10.1007/s10695-019-00670-1.
- David, V., Joachim, S., Tebby, C., Porcher, J.-M. and Beaudouin, R. (2019). Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model. *Ecological Modelling*, 398, 55-66. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.02.008>.
- EFSA (2013). Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters. *EFSA Journal*, 11, 3290. doi: 10.2903/j.efsa.2013.3290.
- Van den Brink, P. J. and Ter Braak, C. J. F. (1999). Principal Response Curves: Analysis of time-dependent multivariate responses of a biological community to stress. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18, 138-148.

Annexe 5 : Supporting Information (Article 4)

Table of content

Model parameters of the DEB-IBM in control conditions.....	353
Review of the BPA effects.....	354
Energy from zooplankton and macroinvertebrates for each BPA condition.....	356
Simulation results based on dose-responses fitted on organism literature data.....	357
Sobol' sensitivity analysis.....	359
Made at the time corresponding to the end of the mesocosm experiment (211 days).....	359
Comparison of the results at three different time of simulation (70, 140 and 211 days).....	360
LOECs calculated with the mesocosm data or the DEB-IBM in control conditions.....	361
Populational dose-response curves.....	362
Comparison of the simulation with and without an effect on R for the founders.....	364
Dose-response curves for the BPA effects.....	365
Script.....	365
References.....	365

Model parameters of the DEB-IBM in control conditions

Table S1. Parameter descriptions and values of the DEB-IBM in control conditions (David et al. 2019)

Parameter	Description	Value	Unit
DEB parameters			
δ_M	Shape coefficient	0.250	-
E_0	Initial reserve	5.61	J
E_H^p	Cumulated energy invested in maturity at birth	1.33	J
E_H^p	Cumulated energy invested in maturity at puberty	375	J
$\{p_{Am}\}$	Maximum surface area specific assimilation rate	2.42	J/mm ² /d
\dot{v}	Energy conductance	1.33	mm/d
κ	Specific fraction of energy mobilized from energy from reserved allocated to growth and somatic maintenance	0.757	-
α	Fraction subtracted from κ to obtain κ 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	0.119	J/mm ³ /d
$[E_G]$	Cost of synthesis of a unit of structure	1.10	J/mm ³
\dot{k}_J	Maturity maintenance rate	0.003	/d
k_R	Reproduction efficiency	0.978	-
ϕ	Proportional factor to be fed ad libitum for a given day	15.31	J/mm ²
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
Reproduction parameters			
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 ²
Gamma.Compete	Competition parameter for getting a territory	0.15	-
Food parameters			
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	6692	mg/m ²
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	-
Survival parameters			
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 ²
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	-
Variability parameters			
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	%

Review of the BPA effects

Table S2. Review of the BPA effects found in literature for fish.

Species	Individual	Time of exposure	Nominal concentration	Measured concentrations	Condition	Type of effect	Effects	Ref
Stickleback	Adult	21 days	2.5 µg/L to 280 µg/L	NO	in vitro test on kidney and in vivo test, contaminated water, flow through system	Reproduction	Inhibition of spiggin production	Jolly et al. 2009
Zebrafish	Juvenile	20 days	1 and 10 µM	NO	Contaminated water, semi-static system	Reproduction	Sex-ratio disruption, inhibition of ovarian growth	Chen 2017
Zebrafish	Juvenile	45 days	500, 1000, 2000 mg/kg	NO	fed with food containing BPA	Reproduction	Sex-ratio disruption	Drastichova 2005
Zebrafish	Adult	3 weeks	5, 10, or 20 µg/L	NO	Contaminated water	Reproduction	Maturity disruption in females	Santangeli et al., 2016
Zebrafish	Adult	96 hours	0, 0.01, 0.1, 1.0, 10, or 100 µg/L	YES	drug delivered in a continuous flow	Reproduction	Induction of VTG	Villeneuve 2012
Zebrafish	Adult	14 days	1, 10, 100 and 1000 µg/L	YES in tissue	contaminated water, flow through system	Reproduction	Multiple alterations of the ovaries	Molina et al. 2013
Goldfish	Adult	28 days	1, 10, 100 and 1000 µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Reproduction	Induction of VTG	Ishibashi et al., 2001
Goldfish	Adult	90 days	0.2 and 20 µg/L	NO	Contaminated water	Reproduction	Reduction of the steroidogenic acute regulatory protein and increase of the estrogen receptors (ERs) mRNA transcript and mRNA transcript of androgen receptor in testis, brain- and testis-specific aromatase, and vitellogenin. Alteration of sperm.	Hatef et al. 2012
Cyprinus carpio	Juvenile/Adult	14 days	1 to 1000 µg/L	YES	contaminated water, flow through system	Reproduction	Induction of VTG. Severe alterations of oocytes and testis structure (ex vivo test)	Mandich et al. 2007
Fathead minnows	Adult	96 hours	0, 0.01, 0.1, 1.0, 10, or 100 µg/L	YES	drug delivered in a continuous flow	Reproduction	Induction of VTG	Villeneuve 2012
Salmo trutta	Adult	4 months	1.75, 2.40, 5.00 µg/L	NO	contaminated water, flow through system	Reproduction	Impacts on sperms and ovaries	Lahnsteiner et al. 2005
Turbot	Juvenile	3 weeks	59 µg/L	YES	contaminated water, flow through system	Reproduction	Altered sex steroid levels	Labadie and Budzinski, 2006
Guppies	Adult	21 days	274-549 µg/L	/	contaminated water, flow through system	Reproduction	Significant declines in total sperm counts for males, no change in testis size and sperme lengths	Haubruege et al. 2000
P. promelas	Adult	164 days	1 to 1280 µg/L	YES	contaminated water, flow through system	Reproduction	Induction of VTG. Inhibition of gonadal growth. Inhibition of spermatogenesis. Disruption of the egg production and hatchability.	Sohoni et al. 2001
Yellowfin seabream	Adult	7 and 14 days	1, 10, 50, and 100 µg/g	NO	Injected intraperitoneally per week	Reproduction	Elevated hepatosomatic index. Induction of VTG	Negintaji et al. 2018
Japanese medaka	Adult	2 weeks	0.3, 1, 3, 10 µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Reproduction	Impacts on the number of eggs and hatchings. Only males were exposed.	Shioda and Wakabayashi, 2000
Catla catla	Adult	14 days	10, 100, 1000 µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Reproduction	Alterations of oocytes	Faheem et al., 2017
Goldfish, zebrafish, fathead minnow, and Nile tilapia	Juvenile/Adult	168 h	100 µg/L, 300µg/L, 600µg/L, 800µg/L, and 1000µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Reproduction	Induction of VTG	Allner et al. 2016
Rainbow trout	Adult	3 h	0, 30 and 100 µg.mL of BPA	NO	Trout oocytes were exposed for 3 h in ovarian fluid in ovarian fluid, followed by fertilization	Reproduction / Growth	Hatching delays, growth suppression and altered stress response	Aluru et al. 2010
Japanese medaka	All stages	60 days	2.28, 13.0, 71.2, 355, and 1,820 µg/L	YES	contaminated water, flow through system	Reproduction / Growth	Inhibition of growth, decreased in both the total length and body weight. Disruption of the external secondary sex characteristics	Yokota et al. 2009
Japanese medaka	Juvenile	60 days	1.5 mg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Reproduction / Lipid metabolism	lipid peroxidation in all the tested tissues, effects on GSI, activities of CAT in the liver, gill, testis, and ovary reduced, activities of GST in the liver and gill stimulated, Total number of eggs per brood was not significantly different between control and BPA/LD-BP treatments. Total number of brood reduced	Li et al. 2016
Gobiocypris rarus	Adult	7 days	1, 15 and 225 µg/L	YES	Contaminated water, semi-static system	Reproduction / Lipid metabolism	Alteration of many genes involved in lipid metabolism, oxidative stress, and proteolysis processes. Effects on VTG, sex hormone and TG levels.	Zhang et al., 2016
P. promelas	All stages	444 days	1 to 1280 µg/L	YES	Flow through system, solution delivered with peristaltic pumps	Reproduction / Survival	Induction of VTG Disruption of hatchability and eggs production. Effects on survival	Staples 2011
Fathead minnows	Adult	164 days	1, 16, 64, 160, and 640 µg/L	YES	contaminated water, flow through system	Reproduction / Survival	Impact on male survival. Induction of VTG. Alteration of the male gonads.	Mihaich et al. 2013
Japanese medaka	All stages	7 days of embryonic development	100 µg/L	YES	Contaminated water, water replaced daily until hatching	Reproduction / Survival	Transgenerational effects. Significant reduction in the fertilization rate in offspring and embryo survival.	Bhandari et al. 2015
P. promelas	96h	1 to 13.3 mg/L	1 to 8.65 mg/L	NO	contaminated water, static test	Survival	Mortality test : LC50 = 4.7 (4 - 5.5) mg/L	Howard and Dill 1988
Salmo salar	96 hours	0.2, 1.5, 10.5, 100.5 and 1000.5 µg/L	NO	contaminated water, flow through system	Survival	Mortality test : LC50 = 4.6 (3.6 - 5.4) mg/L		
Salmo salar	Egg/Larvae	42 days	10, 100 and 1000 µg/L	YES	Contaminated water, semi-static conditions (renewal after 48 h)	Accumulation	important accumulation rates and bioconcentration factors (BCF96)	Honkanen et al. 2004
Zebrafish	Adult	5 days	0, 10, 20, 40, 80, and 100 µM	YES in tissue	static waterborne exposure	Development	Fluid accumulation (oedema) in the yolk sac and haemorrhages. Phlegmatic behaviour of the fry. Histological changes in liver cell nuclei.	
Zebrafish	Embryo	48 hours to 72 hpf	0.001, 0.01, 0.1, 1, or 10 µM	NO	contaminated water	Development	Larval hyperactivity or learning deficits.	Saili et al. 2012
Coris Julis	Adult	14 days	80 µg/ml	NO	Contaminated water, semi-static system	Development	Alteration of the early dorsoventral (DV) patterning, segmentation, and brain development	Tse et al. 2013
Japanese medaka	Embryo/Larvae	9 days	20 or 200 µg / L	NO	Contaminated water, semi-static system	Development	Highly significant increased binding levels of subtype2 in hypothalamic areas, while markedly decreased levels of subtype5 were found in these diencephalic areas, as well as in the medial preglomerular nucleus.	Alo et al. 2005
Gobiocypris Rarus	Adult	28 days	15 µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Lipid metabolism	Embryonic deformities (pericardial edema, hemorrhage, hemostasis)	Pastva et al. 2001
Japanese medaka	Adult	60 days	0.1, 1, 10, 100, or 1000 µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Stress biomarker	Difference of the serum triglyceride contents.	Guan et al. 2016
							Reduction of the activities of catalase (CAT), superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, and the content of reduced glutathione.	Minghong et al. 2011

Zebrafish	Adult	until either 25 or 120 hpf	0.1, 1, 10, 100, or 1000 µg/L	YES	Contaminated water	Reproduction	Disruption of the hatching time	Qiu et al 2018
Marine medaka	Adult	72 h	76 µg/L	NO	Contaminated water?	Lipid metabolism	BPA significantly upregulated mRNA expression of lipid metabolism	Kim et al 2018
Rainbow trout	All stages	3 h	Eggs were enriched with 0, 4 and 40 ng of BPA	NO	Contamination via the ovarian fluid	Metabolism	Impacts on key genes involved in cortisol biosynthesis in the head kidney, as well as stress- and growth-related transcripts in the liver and muscle.	Thomas 2018
Zebrafish	Embryo	from 0 hpf to 120 hpf.	10, 100, 1000 µg/L	YES for 1000 µg/L	Contaminated water	Metabolism, Development	Alterations in the atrial:ventricular beat ratio and reduced heart rate.	Moreman 2018
Gobiocypris rarus	Adult	21 days	15 µg/L and 225 µg/L	YES	Contaminated water	Reproduction	Poor quality of the embryos, increased malformation and delayed craniofacial cartilage ossification of the larvae.	Fan 2018
Zebrafish	Adult	2 weeks	0.1, 1, 10, 100, or 1000 µg/L	YES in tissue	contaminated water, flow through system	Development	Dramatic decreases in the number of Cyp19b transcripts.	Molina et al. 2018
Cyprinodon variegatus	All stages	111 dph.	9.4, 19, 38, 75, 150, and 300 µg/L	YES	Contaminated water-intermittent-flow proportional diluter			Mihaich et al.2018
Japanese medaka	Embryo	44 days post-fertilization	6, 20, 60, 200 and 600 µg/L	Range 87.1 % to 104.4 %	Contaminated water, semi-static system	Reproduction	Transcription of VTG genes was induced in both sexes, indicating estrogenic disruption. Decrease of the hatchability. Increase of the growth of female larvae.	Sun et al. 2014
Zebrafish	Adult, larvae		0, 2, and 20 µg/L	YES	Contaminated water, semi-static system	Reproduction, neurotoxicity	Effects on reproduction and neurotoxicity.	Guo et al. 2018
O. niloticus	Adult	6 weeks	1.64 and 3.28 µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Growth	Fish growth and feed intake were significantly reduced. Total protein, albumin, globulin, and acetylcholine esterase decreased significantly; meanwhile, aspartate transferase, alanine transferase, alkaline phosphatase, uric acid, and creatinine increased significantly with exposure to BPA in a dose dependent manner	Abdel-Tawwab et al. 2018
Zebrafish	Adult	7 weeks	50 and 500 ng/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Reproduction, Behavior	low dose BPA treatment decreased the male locomotion during courtship; and was associated with less courtship behaviours to female but more aggressive behaviours to mating competitor.	Li et al. 2017
Swordtail fish		96 h and 60 days	10, 13, 17, 22, and 29 ppm and 20 ppb	NO	Contaminated water, semi-static system	Reproduction, growth	BPA caused vitellogenin mRNA expression. Following the long-term exposure, BPA exposures significantly affected the growth of swordtails.	Kwak at al. 2001
Japanese Medaka	Embryo/Larvae	20 dpf	200 ng/ml	NO	Contaminated water	Reproduction, Behavior	Following chronic BPA exposure, 20 dpf larvae showed suppression of locomotion, both in distance covered and speed of movement	Inagaki et al. 2016
medaka	Embryo/Larvae	60 days	0.1, 1, 10, 100 and 1000 µg/L	YES	Contaminated water, semi-static system	Genetic	Negative impact on gene regulation	Qiu et al. 2016
Zebrafish	Adult	14 days	1, 10, 100 and 1000 µg/L	NO	Contaminated water	Reproduction	Induction of VTG, significant increases in follicular atresia	Molina et al. 2018
Zebrafish	Adult	14 days	1, 10, 100 and 1000 µg/L	NO	Contaminated water	Reproduction	deregulation of gonadotropic hormones causing degeneration of gonadotropic cells	Molina et al. 2018
Zebrafish	Adult	45 days	10 µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Metabolism	Bisphenol A toxicity in fish brain	Wu et al. 2016
Zebrafish	Larvae	72 -96 hpf	0, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Metabolism	Effects of BPA during normoxia and hypoxia	Cypher et al. 2018
Zebrafish	Embryo	48 hpf	0.0068 µM	NO	Contaminated water	Metabolism	BPA increases neuronal birth (neurogenesis) within the hypothalamus, a highly conserved brain region involved in hyperactivity.	Kinch et al. 2015
Fathead minnows	Egg/Juvenile	26 days	0.1, 1, 10, 100, 1000 µg/L	within tox1.5 x0.9	Contaminated water, semi-static system	Growth	Effects on growth and development	Warner et al. 2017
Red Commun Carp	Cell	48 h	0.1, 1, 10, 100, 1000, and 10 000 µg/L	NO	In vitro	Metabolism	BPA enhanced the antibacterial activity of macrophages and apoptosis	Yang et al. 2015
Japanese medaka	Embryo	15 days	200 µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Development, growth	Decrease body length, deformaties, hatchling success	Zha and Wang, 2006
Zebrafish	Adult	6 months	500 µg/L	NO	Contaminated water, semi-static system	Behavior	BPA exposure induced a significant decrease in group preference, as well as a weaker adaptability to new environment,	Wang et al. 2015
Zebrafish	Embryo/Larvae	96 h and 11 days	0.10, 0.20, 0.30, 0.40, and 0.50mM	NO	Contaminated reconstituted medium	Metabolism	BPA caused chemical damage to developing cells by causing pericardial edema.	Fei 2010
Rare minnow	Adult	7 and 14 days	15 µg/L	YES	Contaminated water, semi-static system	Reproduction	Results showed significant increase of gonad somatic index (GSI) and serum estradiol (E2) levels	Zhang et al., 2018
Rainbow trout	all stages	3 h	3 and 30 ng/L	Yes in eggs	Ovarian fluid	Growth	Reduction of the growth during early development, followed by a catch-up growth post juveniles	Sadoul et al., 2017

Energy from zooplankton and macroinvertebrates for each BPA condition

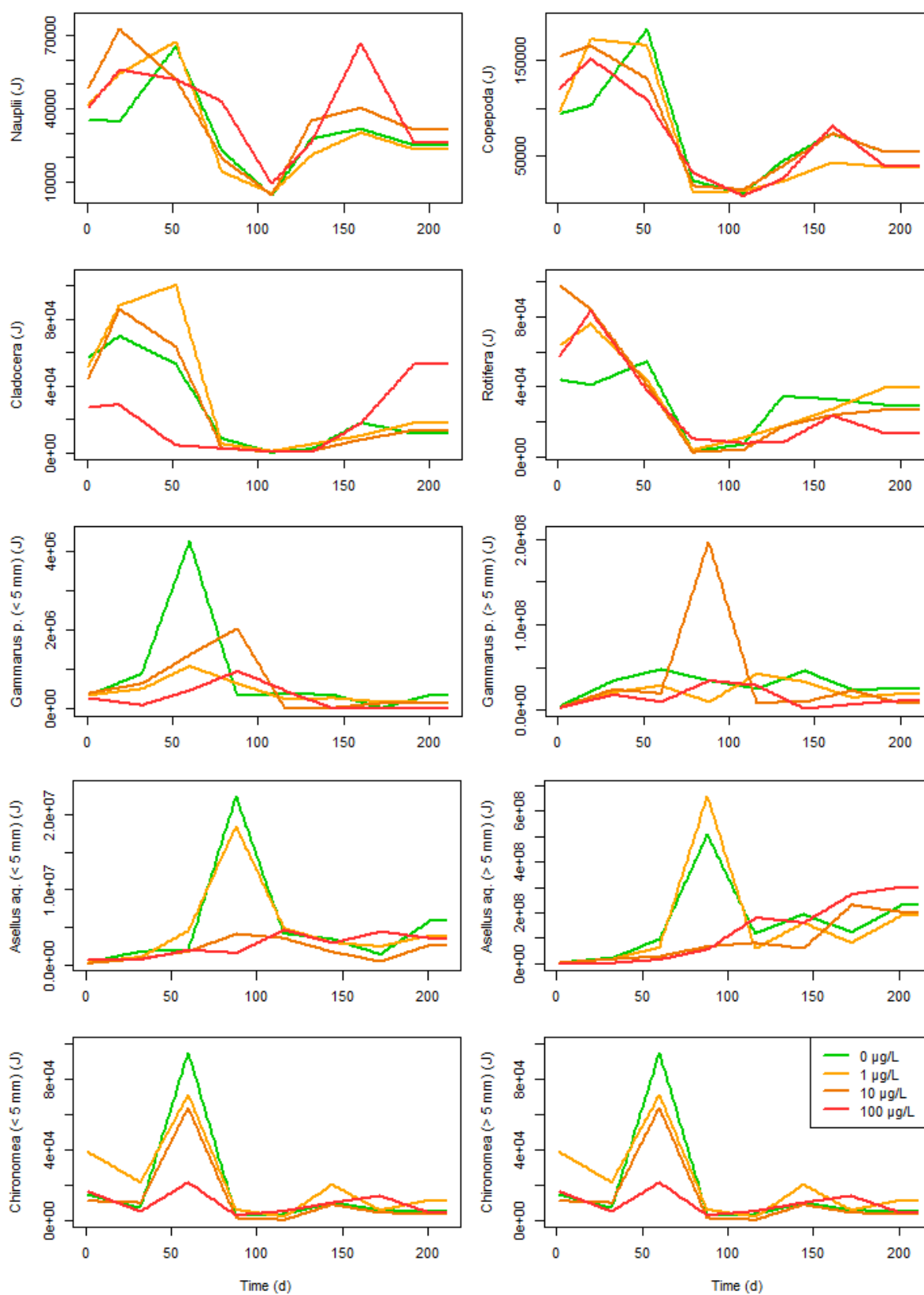


Figure S1. Energy from zooplankton and macroinvertebrates over time for each BPA condition (green: 0 µg/L, yellow: 1 µg/L, orange: 10 µg/L, red: 100 µg/L) used for developing the food scenario.

Simulation results based on dose-responses fitted on organism literature data

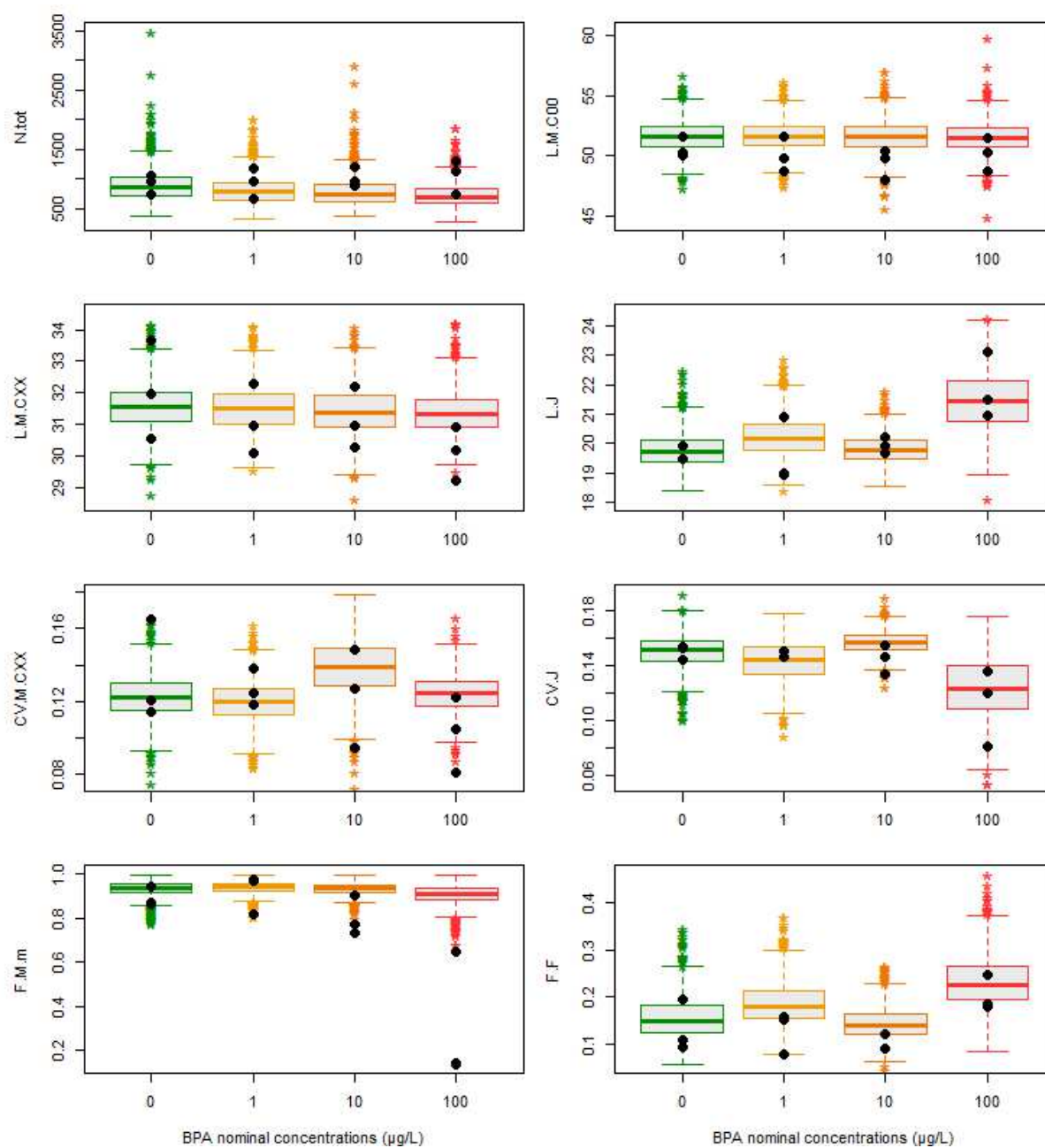


Figure S2. Simulation of the toxicity using the dose-responses developed with literature data for BPA impacts on physiological processes of sticklebacks. Boxplot represent the model predictions for each exposure condition (green: 0 µg/L, yellow: 1 µg/L, orange: 10 µg/L and red: 100 µg/L). Black points represent the observations made in mesocosms for each BPA condition.

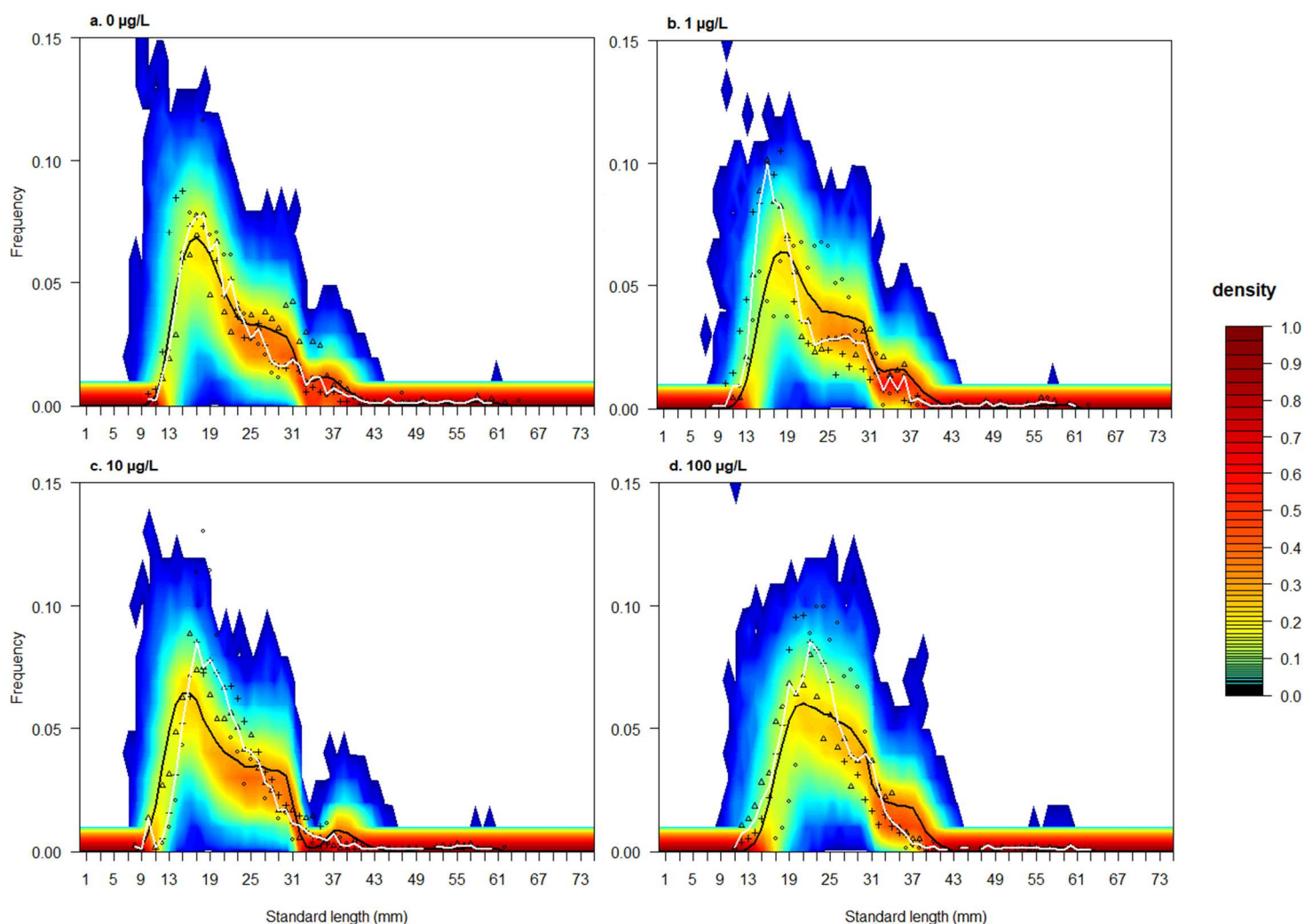


Figure S3. Probabilistic distributions of the length frequency predicted by the model length compared to frequency distributions observed for each toxic condition: 0 µg/L (a), 1 µg/L (b), 10 µg/L (c) or 100 µg/L (d) using the dose-response curves developed with organism literature data. Different point types represent the length frequency distributions of the different observed populations. Full black and white lines represent the median length frequency distributions of the simulated and observed populations respectively. Color level represents the frequency of simulated populations ($n = 1000$) having a given percentage of individuals for a given class length. Frequency inferior to $< 1e-04$ are represented in white.

Sobol' sensitivity analysis

Made at the time corresponding to the end of the mesocosm experiment (211 days):

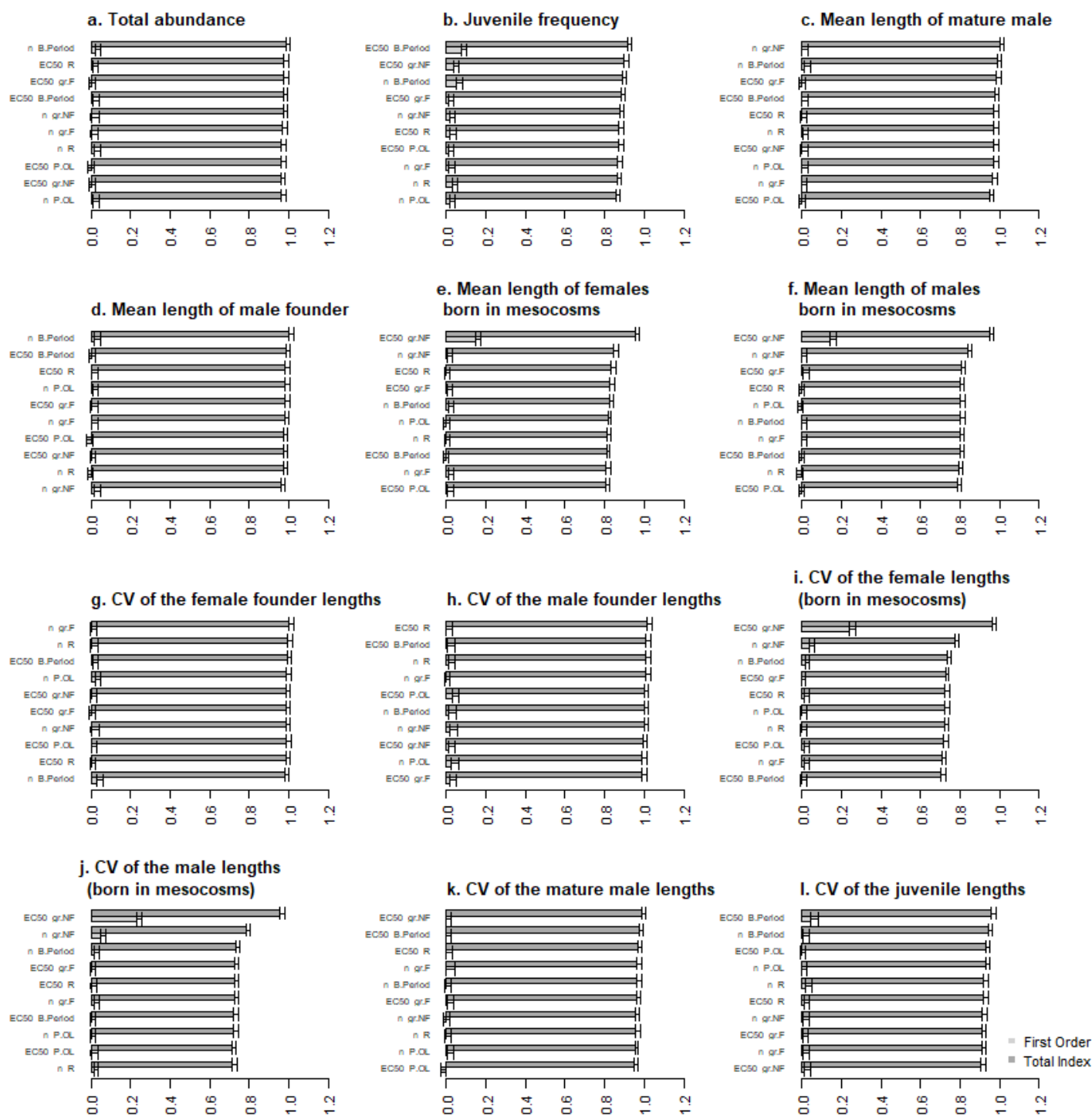


Figure S4. Results of the Sobol' sensitivity analysis made at the simulation time corresponding to the end of the mesocosm experiment. The model outputs presented here are complementary with the ones presented in Figure 2 of the main text. The first order (light grey) and total index (dark grey) were represented on each graph. Error bars represent the confidence interval of each indice.

Comparison of the results at three different time of simulation (70, 140 and 211 days):

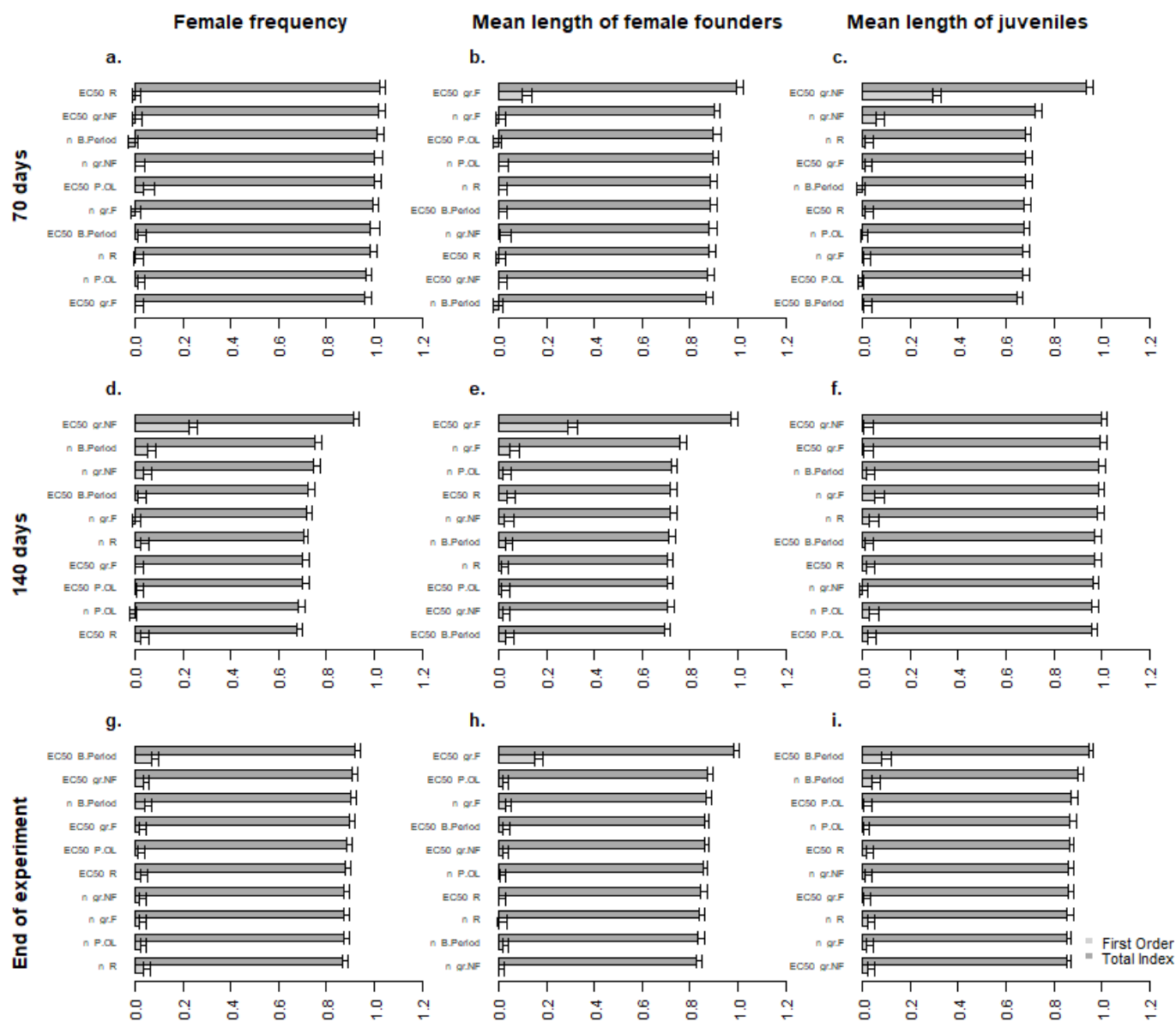


Figure S5. Comparison of the Sobol sensitivity analysis results for made at three time of simulations which represented the beginning of the breeding period (70 days), the end of the breeding period (140 days) and the end of the mesocosm experiment (211 days). The first order (light grey) and total index (dark grey) were represented on each graph. Error bars represent the confidence interval of each indice.

LOECs calculated with the mesocosm data or the DEB-IBM in control conditions

The LOECs were calculated using two different methods as presented in David et al. (2019). First, they were calculated using the observed data in the mesocosms along with a Dunnet's post hoc test (method used in de Kermoyan et al. (2013)). Second, they were calculated comparing the distribution of the control endpoints estimated by the DEB-IBM to the observations made in the exposed mesocosms using a Kolmogorov–Smirnov test. The level of significance for the tests was 5 %.

Table S3. LOECs using the observed control endpoints in mesocosms or using the simulated control endpoints as references for the statistical tests.

Endpoints	LOECs using the observed control endpoints	LOECs using the simulated control endpoints
N.tot	> 100	> 100
N.F.C00	> 100	> 100
N.M.C00	> 100	> 100
L.F.C00	> 100	100
L.M.C00	> 100	> 100
L.F.CXX	> 100	10
L.M.CXX	> 100	100
L.J	100	100
L.M.m	> 100	> 100
CV.F.C00	> 100	> 100
CV.M.C00	> 100	> 100
CV.F.CXX	> 100	100
CV.M.CXX	> 100	> 100
CV.J	100	100
CV.M.m	> 100	> 100
F.M.m	100	10
F.F	> 100	> 100
F.J	> 100	> 100

Populational dose-response curves

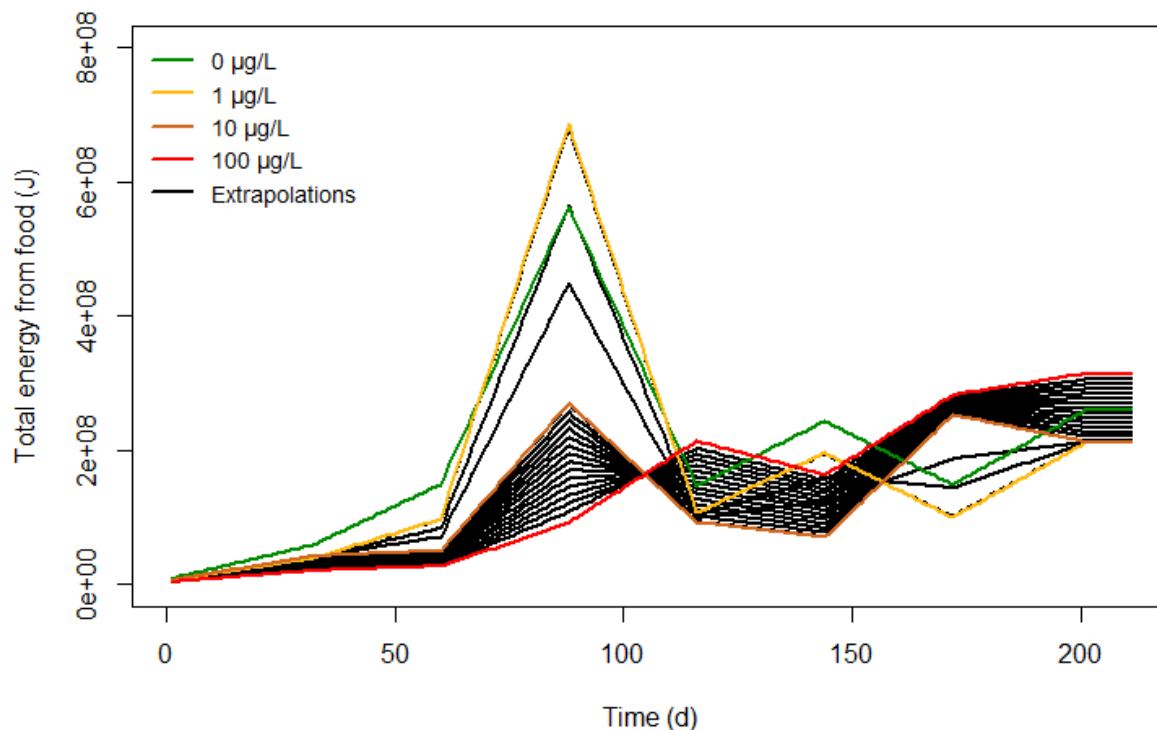


Figure S6. Food scenarios over time for each BPA treatment. The full lines in color represent the food scenarios which were calculated using the results of zooplankton and macroinvertebrate samples in the mesocosms (green: 0 µg/L, yellow: 1 µg/L, orange: 10 µg/L, red: 100 µg/L). The black full lines represent the extrapolated food scenarios for intermediate BPA concentrations (0.5, 1.5 and 2 µg/L and from 5 to 70 µg/L with a step of 5 µg/L).

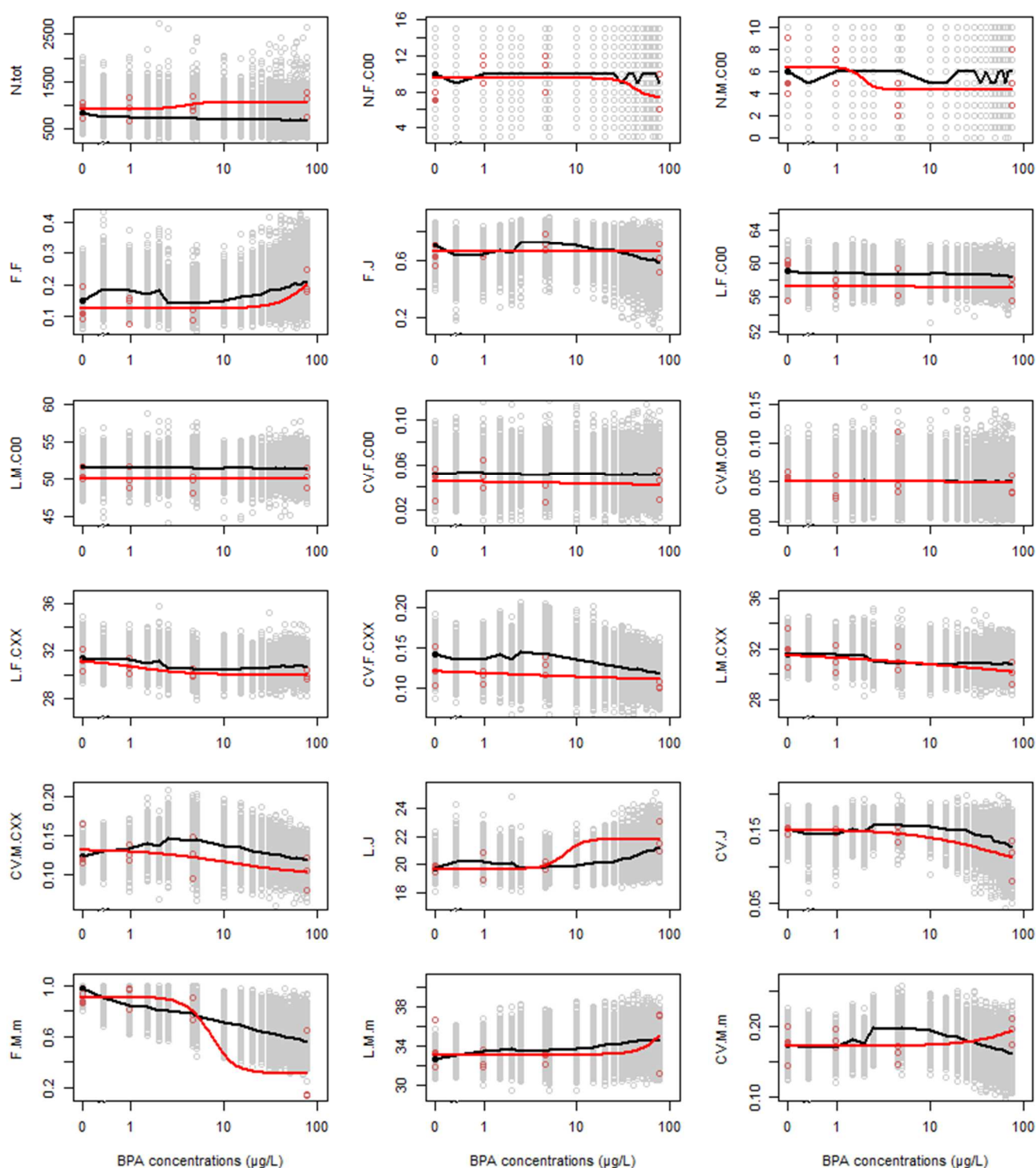


Figure S7. Dose-response curves for each population level endpoint. The red points represent the real observations in the mesocosms for each BPA treatment and the red line the dose-response curve fitted on those observed data. The grey points represent the simulated endpoints with the DEB-IBM and the black line the extrapolated dose-response curves using the simulated data.

Comparison of the simulation with and without an effect on R for the founders

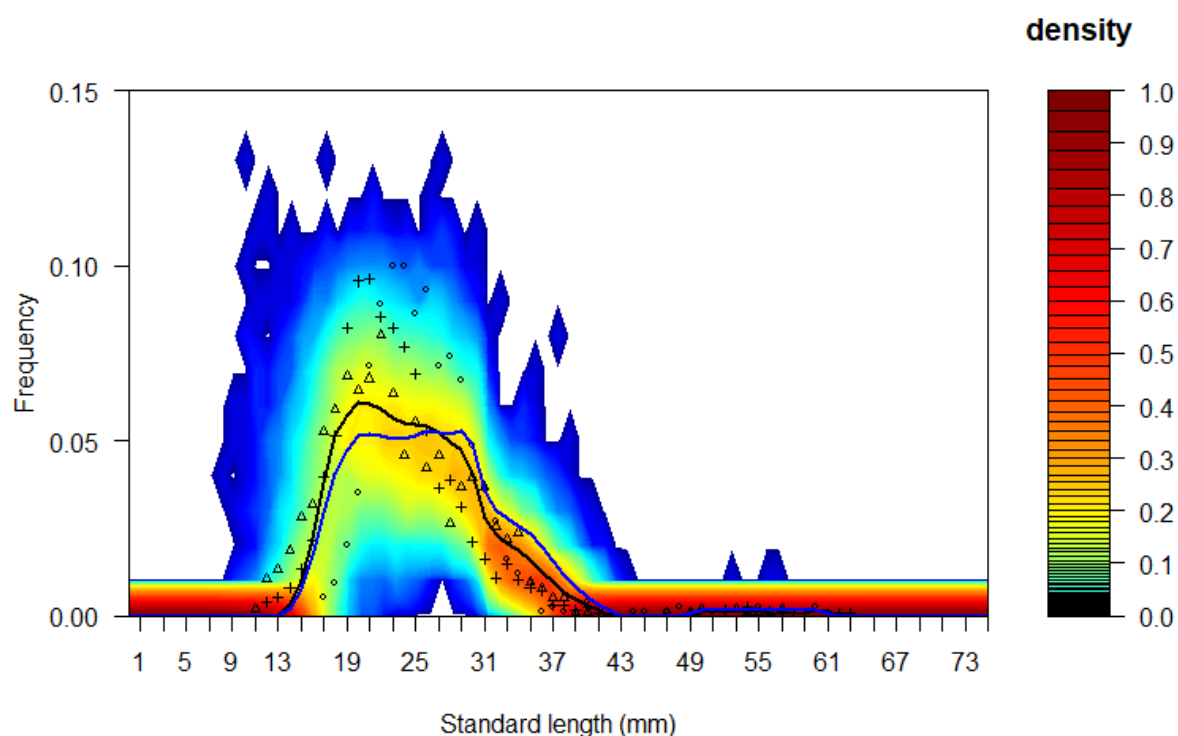


Figure S8. Comparison of the probabilistic distributions of the length frequency predicted by the model length compared to frequency distributions observed for each toxic condition for the 100 $\mu\text{g/L}$ condition. Different point types represent the length frequency distributions of the different observed populations. Full black and blue lines represent the median length frequency distributions of the simulated populations with and without an impact on the gonads of founders respectively. Color level represents the frequency of simulated populations ($n = 1000$) having a given percentage of individuals for a given class length. Frequency inferior to $< 1e-04$ are represented in white.

Table S4. RE of the model predictions with and without a BPA impact on the gonads of founders

Impact on founder gonads	With	Without
RE	20 %	14 %
NRMSD	0.26	0.22

Dose-response curves for the BPA effects

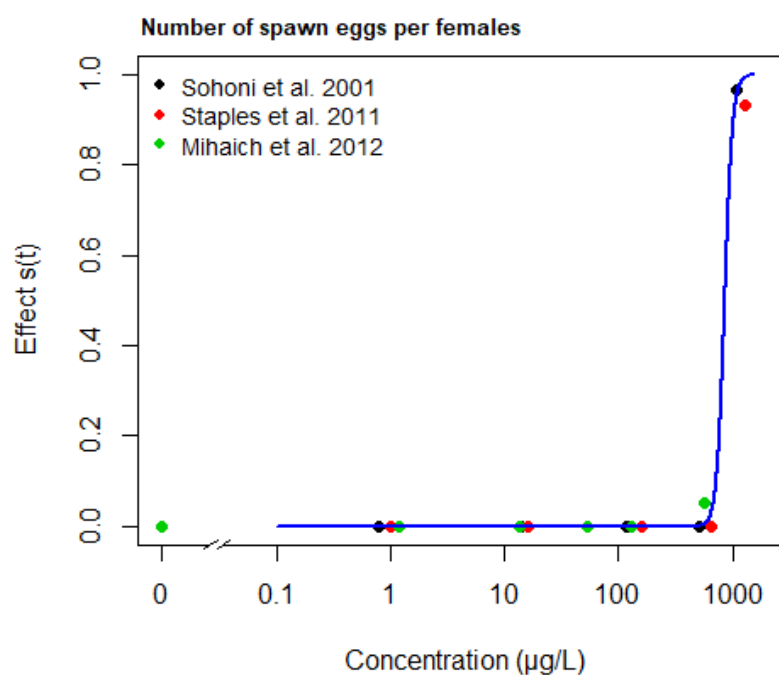


Figure S9. Dose-responses fitted on data from literature representing the BPA effects on the number of spawn eggs per female for F0 generations. Data are from three studies on fathead minnow.

Script of the model

See additional files.

References

David, V., Joachim, S., Tebby, C., Porcher, J.-M. and Beaudouin, R. (2019). Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model. *Ecological Modelling*, 398, 55-66. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.02.008>.

de Kermoyan, G., Joachim, S., Baudoin, P., Lonjaret, M., Tebby, C., Lesaulnier, F., Lestremou, F., Chatellier, C., Akrou, Z., Pheron, E., Porcher, J. M., Pery, A. R. and Beaudouin, R. (2013). Effects of bisphenol A on different trophic levels in a lotic experimental ecosystem. *Aquatic toxicology*, 144-145, 186-198. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.09.034.

Publications scientifiques

Articles scientifiques :

- David Viviane, Goussen Benoît, Tebby Cléo, Joachim Sandrine, Porcher Jean-Marc, Beaudouin Rémy. 2018. Modelling historical mesocosm data : Application of a fish bioenergetics model in seminatural conditions. *Ecology of Freshwater Fish* (DOI : 10.1111/eff.12418).
- David Viviane, Joachim Sandrine, Tebby Cleo, Porcher Jean-Marc, Beaudouin Rémy. 2019. Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model. *Ecological Modelling* (<https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.02.008>).
- David Viviane, Joachim Sandrine, Porcher Jean-Marc, Beaudouin Rémy. 2019. Modelling BPA effects on three-spined stickleback population dynamics in mesocosms to improve the understanding of population effects. *Science of The Total Environment* (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.274>).
- David Viviane, Joachim Sandrine, Catteau Audrey, Nott Katherine, Ronkart Sébastien, Robert Christelle, Gillart Nathalie, Bado-Nilles Anne, Chadili Edith, Palluel Olivier, Turies Cyril, Julian Naïs, Castiglione Julie, Dedourge-Geffard Odile, Hani Younes, Geffard Alain, Porcher Jean-Marc, Beaudouin Rémy. 20XX. Effects of chronic exposure to a pharmaceutical mixture on the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) population dynamics in lotic mesocosms. *Aquatic Toxicology* (Submitted).
- Joachim, Sandrine, Beaudouin Rémy, Daniele Gaele, Geffard Alain, Bado-Nilles Anne, Debourge-Geffard Olivier, Fieu Maeva, Bonnard Marc, Tebby Cléo, Palos-Ladeiro Melissa, Turies Cyriel, Vulliet Emmanuelle, David Viviane, Palluel Olivier, Baudoin Patrick, James-Cases Alice, Andres Sandrine, Porcher Jean-Marc. Effects of diclofenac on sentinel species and aquatic communities in semi-natural conditions. *Aquatic Toxicology* (en préparation)

Communications orales :

- David Viviane, Beaudouin Rémy. Compréhension et prédiction des effets de substances chimiques sur la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en mésocosme. Société d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée (SEFA). Lille, France.
- David Viviane, Beaudouin Rémy. 2018. Development of a population model for three-spined sticklebacks in mesocosms to improve risk assessment. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC). Roma, Italy.

- David Viviane, Beaudouin Rémy. 2018. Compréhension et prédiction des effets du bisphénol A sur la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en mésocosmes. Société d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée (SEFA). Montpellier, France.
- David Viviane, Beaudouin Rémy. 2019. Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model. International Society for Ecological Modelling (ISEM). Zalzburg, Austria.
- Beaudouin Rémy, David Viviane. 2019. Modelling BPA effects on the three-spined stickleback population dynamics in mesocosms to better understand the populational effects. International Society for Ecological Modelling (ISEM). Zalzburg, Austria.
- Beaudouin Rémy, David Viviane. 2019. Analyse des expériences en mésocosme basée sur la modélisation. Société d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée (SEFA). Lyon, France.

Posters :

- David Viviane, Grech Audrey, Beaudouin Rémy. 2018. Stickleback mathematical models to improve ecotoxicological risk assessments: from toxicokinetic to population dynamics. 9th Stickleback Conference. Kyoto, Japan
- Joachim Sandrine, David Viviane, Nott Kathrine, Chaumot Arnaud, Queau Hervé, Delorme Nicolas, Sossey Khadija, Baudoin Patrick, Turies Cyril, Catteau Audrey, Bado-Nilles Anne, Fouarge M., Geffard Olivier, Porcher Jean-Marc, Geffard Alain, De Laender Frederik, Beaudouin Rémy. 2018. Effects of a mixture of pharmaceuticals in a freshwater model ecosystem. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC). Roma, Italy.

Titre : Compréhension et prédiction des effets des substances chimiques sur la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en mésocosme

Mots-clés : Ecotoxicologie, Modélisation individu-centrée, Dynamique de population, Epinoche à trois épines, Mésocosme

Résumé : En écotoxicologie, les expériences en écosystème artificiel (mésocosme) présentent un intérêt certain car elles permettent d'évaluer les effets directs et indirects des contaminants à des niveaux d'organisation biologique tels que les individus, les populations et les écosystèmes. Cependant, les études en mésocosme sont caractérisées par une faible puissance statistique et un risque élevé de ne pas détecter de différence entre les mésocosmes contrôles (sans contaminant) et ceux contaminés lorsqu'il y en a un. Dans ce contexte, les modèles individu-centrés basés sur la théorie de « dynamic energy budget » ont été suggérés être des outils pertinents pour permettre une meilleure analyse des résultats d'expériences en mésocosme. L'objectif de cette thèse était donc de développer un tel modèle simulant la dynamique de population de l'épinoche à trois épines en rivière artificielle. Les connaissances sur le modèle biologique utilisé, l'épinoche à trois épines, ainsi que plusieurs jeux de données disponibles provenant d'expériences en mésocosmes avant ou sans substances chimiques testées ont été utilisés pour développer ce modèle individu-centré. Celui-ci a tout d'abord été développé, calibré et évalué sur des données de dynamiques de population d'épinoches à trois épines en condition contrôle en mésocosme. Dans un second temps, le modèle a été appliqué à plusieurs cas d'étude où différentes substances chimiques ont été testées en mésocosme. Les résultats de simulation ont montré que l'approche par modélisation individu-centrée semble prometteuse pour améliorer les évaluations actuelles des effets des substances chimiques. Celle-ci a notamment permis une meilleure compréhension des modes d'action des toxiques et une extrapolation pertinente des données d'écotoxicité mesurées en laboratoire sur les organismes au niveau populationnel.

Title: Understanding and predicting effects of chemicals on population dynamics of three-spined stickleback in mesocosms

Key-words: Ecotoxicology, Individual-based modelling, Population dynamics, Three-spined stickleback, Mesocosm

Summary: In ecotoxicology, experiments in artificial ecosystems (mesocosms) are of a great interest because they allow to evaluate the direct and indirect effects of toxicants at different levels of biological organization such as individuals, populations and ecosystems. However, mesocosm experiments are characterized by a low statistical power and a high risk of not detecting differences between control (without contaminant) and contaminated mesocosms when there is one. In this context, individual-based models based on the dynamic energy budget theory have been suggested as relevant tools to improve the analysis of mesocosm experiment results. Thus, the objective of this PhD was to develop an individual-based model simulating the three-spined stickleback population dynamics in artificial streams. The knowledge on the biological model used, the three-spined stickleback, as well as the use of several available datasets from mesocosm experiments with or without tested chemicals allowed us to develop this model. Our individual-based model was first developed, calibrated and evaluated on data from three-spined stickleback population dynamics in mesocosms in control conditions. In a second step, the model was applied to several case studies where different chemical substances were tested in mesocosms. Simulation results have shown that the individual-based modelling approach seems promising for improving current assessments of the effects of chemicals. Indeed, our model helped us to have a better understanding of the modes of action of toxicants and a relevant extrapolation of ecotoxicity data measured in the laboratory on organisms to the population level.