Évaluation des effets cumulatifs de rejets de contaminants sur l'environnement biotique et abiotique d'un refuge thermique d'eau froide du saumon atlantique (*Salmo salar*)

Mémoire de maîtrise présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en océanographie

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences

PAR

© SANDRINE PICOTTE

Juillet 2026

Composition du jury :

El Mahdi Bendif, président du jury, Université du Québec à Rimouski

Richard St-Louis, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Souhir Marsit, codirectrice de recherche, Université du Québec à Rimouski

Valérie Langlois, examinatrice externe, Institut national de la recherche scientifique

Dépôt initial le 26 janvier 2026 Dépôt final le 03 juillet 2026

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

“The six stages of climate denial are: It's not real. It's not us. It's not that bad. It's too expensive to fix. Aha, here's a great solution (that actually does nothing). And – oh no! Now it's too late. You really should have warned us earlier”

- Dr Katharine Hayhoe

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce projet. En premier lieu, je remercie Environnement et Changement Climatique Canada ainsi que le Fond pour dommages à l'environnement (FDE) pour le financement qui a rendu possible ce projet de maîtrise.

En second lieu, je remercie du fond du cœur ma direction de recherche, Richard St-Louis et Souhir Marsit. Au-delà de l'encadrement scientifique, j'ai trouvé en vous un soutien constant, une présence rassurante et une source de motivation. Merci pour votre patience, votre générosité, votre confiance et vos encouragements, qui ont marqué mon parcours bien plus que vous ne pouvez l'imaginer. Merci pour votre présence, votre écoute, votre confiance et votre façon de me pousser à donner le meilleur de moi-même tout en restant bienveillants. J'ai énormément grandi grâce à votre accompagnement; je me sens chanceuse d'avoir été dirigée par des personnes aussi inspirantes.

En troisième lieu, je souhaite remercier les collaborateur.ices et partenaires au projet de recherche, Raphaële Terrail (Organisme des Bassins Versant du Nord-Est du Bas-St-Laurent (OBVNEBSL)), Simon Tweddell (OBVNEBSL) et Clara Julliard (OBVNEBSL), Emmanuelle Chrétien (Université du Québec à Rimouski), Jean-François Desgagné (ZEC Saumon Rimouski), Charles Tremblay (TERFA) ainsi que Claire Lafrance (ville de Rimouski) pour votre participation aux rencontres de suivi ainsi que votre intérêt et suggestions. Un merci spécial à Raphaële et Simon pour la gestion administrative et à Clara pour toute l'implication lors de campagnes d'échantillonnage ainsi que lors de traitements et analyses en laboratoire. Merci aussi à Elia Wagner-Beaulieu pour son aide lors de campagnes d'échantillonnage et sa présence en laboratoire.

En quatrième lieu, je souhaite remercier Geneviève Parent (Institut Maurice Lamontagne) et Laury-Ann Dumoulin (UQAR-ISMER) pour leur aide quant aux procédures de traitements et d'analyses de l'ADN environnemental. Je remercie aussi Camille Berthod et Souhir Marsit pour leur aide quant aux traitements bio-informatiques de l'ADNe sur RStudio et DADA2.

En cinquième lieu, je souhaite remercier mes merveilleux stagiaires, Clément Vandaine et Gabriel Côté, ainsi que les chargées du projet Clara Julliard et Anne Corminboeuf pour leur aide indispensable lors de campagnes d'échantillonnage ainsi que lors de traitements et analyses en laboratoire. Je souhaite aussi remercier Steeven Ouellet, Marie-Ève Anglehart et Jonathan Coudé du département de biologie, chimie et géographie pour leur support quant à l'utilisation des machines d'analyses et du matériel. Merci à Pascal Rioux et Mélanie Simard pour les différentes formations reçues.

Finalement, je souhaite remercier ma famille et mes ami.es pour leur soutien à travers ce chapitre de ma vie, leurs encouragements, leur écoute et aussi leurs commentaires constructifs pour les différentes épreuves rencontrées. Merci à mes parents Charles et Céline, mes sœurs, Élizabeth et Sarah. Un énorme merci à mes ami.es, Florentine, Cloé, Etienne, Clara et Suzie qui m'ont gardé la tête hors de l'eau quand les choses devenaient plus difficiles.

RÉSUMÉ

Les populations de saumon atlantique (*Salmo salar*) subissent un déclin important depuis 1970, partiellement dû à la détérioration des habitats en rivière. Lorsque les températures de l'eau excèdent leur seuil de stress thermique (21 °C), les saumons utilisent des zones localement plus froides (refuges thermiques). Toutefois, certains refuges peuvent être exposés à d'autres contraintes, notamment lorsque leur bassin versant est fortement anthropisé. C'est le cas du refuge thermique situé à la confluence de la rivière Rimouski et du ruisseau de la Savane (Cavée), qui draine des secteurs agricoles, une autoroute et un ancien lieu d'enfouissement sanitaire (LES), susceptibles de contribuer à l'apport de contaminants.

L'objectif de ce projet est d'évaluer les effets cumulatifs de rejets de contaminants sur ce refuge thermique via (i) une caractérisation annuelle (octobre 2023 – novembre 2024) de la contamination de la rivière Rimouski et du ruisseau de la Savane/Cavée ainsi que l'identification des sources probables, (ii) une évaluation des effets de la contamination sur les communautés benthiques bactériennes et fongiques (proies des alevins) par metabarcoding de l'ADN environnemental (ADNe), (iii) une évaluation de la réponse de stress cellulaire et métabolique des insectes aquatiques (proies des tacons) par des biomarqueurs protéiques (superoxyde dismutase, métallothionéines).

Nos résultats montrent une contamination en Fe, Mn, Cu, Pb, Cl, Na et As provenant du LES et/ou de l'autoroute, une contamination en Al, K, Rb des activités agricoles, et celle en Ba, SO_4 et NO_3 provenant de ces sources combinées. Avec ce gradient de contamination, une transition d'un état naturel des communautés bactériennes et fongiques du biofilm vers des communautés dominées par des taxons tolérants aux contaminants et potentiellement pathogènes, parasitaires et opportunistes est observée. Une bioaccumulation de Mn, Fe et Ba accompagnée d'effets chroniques et sous-létaux chez les larves de plécoptères dans les milieux contaminés est démontrée, posant un risque pour les tacons.

Ce projet montre que la contamination au refuge thermique étudié engendre des risques chimiques directs, des risques biologiques (parasites, pathogènes) et des risques chimiques indirects via le réseau trophique, avec des implications pour *S. salar*, en rivière comme en mer, mais aussi pour toute la faune et la flore environnante.

Mots clés : *Salmo salar*, ADNe, éléments traces métalliques, contamination environnementale, biofilm, SOD, MT, refuge thermique

ABSTRACT

Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations have been in significant decline since 1970, due in part to the deterioration of river habitats. When water temperatures exceed their thermal stress threshold (21°C), salmon use locally cooler areas (thermal refuges). However, some refuges may be exposed to other constraints, particularly when their watershed is heavily impacted by human activity. This is the case for the thermal refuge located at the confluence of the Rimouski River and the Savane/Cavée Creek, which drains agricultural areas, a highway, and a former landfill site, all of which can contribute to the introduction of contaminants.

The objective of this project is to assess the cumulative effects of contaminant releases on this thermal refuge through (i) annual characterization (October 2023 – November 2024) of contamination in the Rimouski River and the Savane/Cavée Creek, as well as the identification of probable sources, (ii) an assessment of the effects of contamination on benthic bacterial and fungal communities (prey of fry) by environmental DNA (eDNA) metabarcoding, and (iii) an assessment of the cellular and metabolic stress response of aquatic insects (prey of parr) using protein biomarkers (superoxide dismutase, metallothionein).

Our results show contamination by Fe, Mn, Cu, Pb, Cl, Na, and As from the landfill and/or the highway, contamination by Al, K, and Rb from agricultural activities, and contamination by Ba, SO_4, and NO_3 from these combined sources. With this contamination gradient, a transition from a natural state of bacterial and fungal biofilm communities to communities dominated by contaminant-tolerant and potentially pathogenic, parasitic, and opportunistic taxa is observed. A bioaccumulation of Mn, Fe, and Ba, accompanied by chronic and sublethal effects in stonefly larvae in contaminated environments, is demonstrated, posing a risk to parr.

This project shows that contamination at the studied thermal refuge generates direct chemical risks, biological risks (parasites, pathogens), and indirect chemical risks via the food web, with implications for *S. salar*, in rivers and at sea, as well as for all surrounding fauna and flora.

Keywords: *Salmo salar*, eDNA, trace elements, environmental contamination, biofilm, SOD, MT, thermal refuge

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS ix

RÉSUMÉ xiii

ABSTRACT xv

TABLE DES MATIÈRES xviii

LISTE DES TABLEAUX xxiii

LISTE DES FIGURES xxvi

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES xxxii

INTRODUCTION GÉNÉRALE 1

1. ÉTAT DES POPULATIONS DE SAUMON ATLANTIQUE (*SALMO SALAR*) DE L'ÉCHELLE MONDIALE À LOCALE 1

2. PERTINENCE ET IMPORTANCE DES REFUGES THERMIQUES D'EAU FROIDE 3

2.1 Principales sources de pollution de la rivière Rimouski et un de ses tributaires : le ruisseau de la Savane/Cavée 5
2.1.1. Lieu d'enfouissement sanitaire (LES) 8
2.1.2. Le transport routier 10
2.1.3. Les activités agricoles 12

3. PRESENTATION DES CONTAMINANTS ETUDIES 13

3.1. Ions majeurs 13
3.2. Éléments traces métalliques et métalloïdes 14
3.3. Effets cumulatifs des contaminants 15

4. SUIVI DE LA COMPOSITION DES COMMUNAUTES BACTERIENNES ET FONGIQUES DU BIOFILM GRACE A L'ADN ENVIRONNEMENTAL (ADNE) 16

4.1. L'ADN environnemental, une technique avantageuse de biosurveillance 17

5. SUIVI DE LA CONTAMINATION ET DES EFFETS SOUS-LETAUX DE LA CONTAMINATION CHEZ LES INVERTEBRES AQUATIQUES, PROIES DE *S. SALAR* 19

5.1. Utilisation de biomarqueurs cellulaires comme indicateurs de qualité du milieu et des effets chroniques et sous-létaux de la contamination 20

6. LACUNES DANS LA COMPREHENSION DES EFFETS DE CONTAMINANTS MULTIPLES DANS LES REFUGES THERMIQUES D'EAU FROIDE 21

7. OBJECTIFS ET HYPOTHESES 22

7.1. Objectif principal 22
7.2. Premier objectif 22
7.3. Deuxième objectif 23
7.4. Troisième objectif 24
7.4.1. Sous-objectif 3.1 24
7.4.2. Sous-objectif 3.2 24

CHAPITRE 1 Portrait de la contamination inorganique dans la rivière Rimouski et un de ses tributaires : le ruisseau de la savane/Cavée 26

MISE EN CONTEXTE 26

MATERIEL ET METHODES 29

1.2.1. Zone d'étude 29
1.2.2. Échantillonnage, traitements en laboratoire et analyses des contaminants inorganiques 30
1.2.3. Facteur d'enrichissement (FE) 33
1.2.4. Traitements statistiques 33

RESULTATS 34

1.3.1. Profil physico-chimique 34
1.3.2. Profils de contamination 37
1.3.2.1. Gradient spatial 37
Concentrations des anions majeurs dans l'eau 39
Concentration des cations majeurs dans l'eau et les sédiments de surface 41
Concentrations des éléments traces métalliques dissous dans l'eau et les sédiments de surface 43
1.3.2.2. Gradient temporel 46
1.3.3. Matrices de corrélations 46
1.3.4. Facteur d'enrichissement 47

DISCUSSION 49

1.4.1. Signatures chimiques observées et sources de contamination riveraine 49
1.4.1.1. Signature du LES 50

1.4.1.2. Signatures de l'autoroute....51
1.4.1.3. Signatures des activités agricoles....51
1.4.1.4. Signatures multiples....53
1.4.2. Effet de la saisonnalité sur les profils de contamination....53
1.4.3. Risques écotoxicologiques....54
Le phénomène de la salinisation des cours d'eau....55
Potentiel de bioaccumulation et bioamplification....56

CONCLUSIONS....56

CHAPITRE 2 Contamination-Driven Restructuring Of Bacterial And Fungal Biofilm Communities In A Thermal Refuge....59

RESUME EN FRANÇAIS DU PREMIER ARTICLE....60

CONTAMINATION-DRIVEN RESTRUCTURING OF BACTERIAL AND FUNGAL BIOFILM COMMUNITIES IN A THERMAL REFUGE FOR ATLANTIC SALMON....61

ABSTRACT....62

INTRODUCTION....63

MATERIAL AND METHODS....65

2.2.1. Study area....65
2.2.2. Sampling, laboratory treatment and analysis of inorganic contaminants....67
2.2.3. Biofilm sampling, DNA extraction and sequencing....68
2.2.4. Bioinformatics....70
2.2.5. Statistical analysis....71

RESULTS....72

2.3.1. Contaminants' concentrations and distribution along the spatial and temporal gradients....72
2.3.2. Diversity, richness and inferred abundance of bacterial and fungal communities in the Rimouski River and the Savane/Cavée Creek along the contamination gradient....72
2.3.3. Effects of seasonality, environmental factors and contaminantion gradients on bacterial and fungal community structure....76
2.3.4. Taxonomic composition and functional predictions of the bacterial and fungal communities along the contamination gradients....79

DISCUSSION....84

2.4.1. Environmental variables responsible for the composition of microbial communities in the biofilm....84

2.4.2. Microbial diversity, richness and evenness of the biofilm across the contaminant gradient 86
2.4.3. Taxonomic and ecological function composition of the bacterial communities of the biofilm 88
2.4.4. Taxonomic composition and ecological function predictions of the fungal communities of the biofilm along the contaminant and spatial gradients 91

CONCLUSION 94

ACKNOWLEDGMENTS 96

SUPPLEMENTARY MATERIAL 97

2.7.1. Appendix 1 97
2.7.2. Appendix 2 98
2.7.3. Appendix 3 99
2.7.4. Appendix 4 103
2.7.5. Appendix 5 106
2.7.6. Appendix 6 107
2.7.7. Appendix 7 116

CHAPITRE 3 Risques Cachés Dans Un Refuge Thermique Pour Le Saumon De L'atlantique : Bioaccumulation Et Effets Sous-Létaux D'un Cocktail De Contaminants Chez Les Larves De Plecopteres 133

RESUME EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE 134

HIDDEN RISKS IN A THERMAL REFUGE FOR ATLANTIC SALMON: BIOACCUMULATION AND SUBLETHAL EFFECTS OF CONTAMINANT COCKTAIL IN STONEFLIES 135

ABSTRACT 136

INTRODUCTION 137

MATERIAL AND METHODS 140

3.2.1. Study area 140
3.2.2. Sampling, laboratory treatment and analysis of inorganic contaminants 140
3.2.3. Stoneflies sampling 142
3.2.4. Laboratory treatment and analysis of inorganic contaminants in stoneflies' tissues 143
3.2.5. Biotests 143
3.2.6. Statistical analysis 145

RESULTS 146

3.3.1. Element concentrations in stoneflies 146
3.3.2. SOD activity in stoneflies along the spatial and temporal gradients 152
3.3.3. MT concentrations in stoneflies along the spatial and temporal gradients 154

DISCUSSION 156

3.4.1. Trace elements bioaccumulation in stoneflies and bioamplification risks through the food web 156
3.4.2. Oxidative stress response in stoneflies along the contaminant and temporal gradients 160
3.4.3. Stonefly larvae as bioindicators of chronic metallic contamination 162

CONCLUSION 164

ACKNOWLEDGMENTS 166

SUPPLEMENTARY MATERIAL 167

3.7.1. Appendix 1 167

CONCLUSION GÉNÉRALE 169

4.1. Portrait de la contamination selon les gradients spatio-temporels 169
4.2. Portrait de la composition taxonomique et fonctionnelle, de la diversité, de la richesse et de l'abondance des communautés bactériennes et fongiques du biofilm 170
4.3. Portrait des effets chroniques et sous-létaux de la contamination sur les insectes aquatiques 171
4.4. Portrait global des effets cumulatifs de rejets de multiples contaminants sur l'environnement abiotique et biotique d'un refuge thermique pour le *S. salar* 173
4.5. Limites de l'étude et perspectives 174

ANNEXE I 177

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 184

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Seuils de classification du facteur d'enrichissement FE (Sutherland, 2000). 33

Tableau 2. Critères de qualité des eaux et sédiments de surface en eau douce. Adaptées des valeurs fournies par le ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs (MELCCFP) et Environnement Canada (Canada, 2007). 38

Tableau 3. Moyennes des facteurs d'enrichissement (FE) des sédiments en fonction des groupes d'échantillonnage pour la période d'octobre 2023 à novembre 2024, utilisant les concentrations d'aluminium aux sites de référence comme valeur de fond géologique. 48

Table 4. Physico-chemical parameters at sampling sites. (SE is the standard error of particulate matter (PM)) 99

Table 5. Mean concentrations of dissolved major ions, trace elements and nutrients in water samples (Oct 2023, Nov 2023, March 2024 - Nov 2024) linked to bacterial and/or fungal community composition. SE represents the standard error. 103

Table 6. Mean concentrations of major and trace elements in sediment samples (Oct 2023, Nov 2023, March 2024 - Nov 2024) linked to bacterial and/or fungal community composition. SE represents the standard error. 104

Table 7. PERMANOVA results for effects of Group of sampling site, month, and their interaction (adonis2(formula = dist_perm ~ Site group * Month, permutations = 9999, by = "term", strata = meta_perm$Site)) 106

Table 8. Partial inventory of bacterial ASVs (16S) detected in sampled biofilms. Taxonomy is reported from phylum to species. Abundances are reported as total readings and as the average relative abundance (%) calculated across all samples. 107

Table 9. Partial inventory of fungal ASVs (ITS2) detected in sampled biofilms. Taxonomy is reported from phylum to species, in order of prevalence (prevalence ≥ 20). Prevalence corresponds to the number and percentage of samples where the ASV is detected. Abundances are reported as total readings and as the average relative abundance (%) calculated across all samples. 116

Table 10. Mean concentrations of different elements observed in aquatic Plecoptera sampled in July 2024 and were grouped by site categories and compared to concentrations in non-contaminated and contaminated sites for different taxa according to the literature. 149

Table 11. Efficiency of extraction method of Mussel Tissue Standard Reference Material ® 2976 according to expected versus measured mass fraction (mg/kg). 167

LISTE DES FIGURES

Figure 1. État des populations de saumon dans l'Atlantique Nord-ouest. Figure générée grâce aux données de MPO (MPO, 2025), MELCCFP (Cauchon, 2024), COSEPAC (COSEPAC, 2010), NOAA (Hawkes, 2024). 1

Figure 2. Refuge thermique étudié, à la confluence entre le ruisseau de la Cavée et la rivière Rimouski, (a) vue à vol d'oiseau sur carte, (b) vue sur le site, photo prise en juillet 2024. (c)(d) Montrent des saumons atlantiques (premiers stades de vies) observés en juillet 2025 au refuge thermique étudié, photo prise par Elia Wagner-Beaulieu. (e) Ruisseau de la Cavée, photo prise en novembre 2024. (f) Refuge thermique étudié, vue de haut. Photo prise en novembre 2024. 4

Figure 3. Carte identifiant les sources potentielles de contamination pour le refuge thermique étudié (identifié par un losange orangé). Le réseau hydrographique a été extrait de la Géobase de référence hydrographique du Québec (MELCCFP, 2023a). 6

Figure 4. Schéma conceptuel des principales sources et voies de contamination dans le ruisseau de la Savane/Cavée. Les apports issus de l'agriculture, du trafic routier et du lieu d'enfouissement sanitaire (LES) comprennent notamment des nutriments (N, P), pesticides, métaux traces, sels de voirie, hydrocarbures, composés synthétiques et microorganismes. Ces contaminants rejoignent le cours d'eau par érosion des sols, dépôt atmosphérique, ruissellement de surface, rejets directs et dégradation organique, puis sont transférés dans le réseau trophique par absorption directe chez les invertébrés et poissons, ingestion et transfert trophique, avec un potentiel pathogène et parasitaire pour les communautés aquatiques. 7

Figure 5. Schéma conceptuel simplifié d'un LES typique, montrant les principales composantes ainsi que les voies de transfert des contaminants potentielles. 9

Figure 6. Schématisation simplifiée des composantes du biofilm. 17

Figure 7. (a) Carte de la zone d'études. Les zones en rouges délimitent le LES, la ligne mauve représente l'autoroute A-20, et les lignes bordeaux représentent les canalisations. Les points d'échantillonnage sont représentés par des points de différentes couleurs, selon leur groupe (LES + autoroute : rouge,

référence : bleu, en aval des sites agricoles, et de la buse qui draine le LES et l'autoroute : orange). Carte adaptée du Plan de localisation, du projet Secteur de l'ancien L.E.S. de Rimouski, réalisée par Jason Leblond et Caroline Poirier, du Service génie et environnement de la ville de Rimouski en janvier 2024 (Leblond, 2024). Le réseau hydrographique a été extrait de la Géobase de référence hydrographique du Québec (MELCCFP, 2023a). (b) Photo de la buse du système de canalisation de l'autoroute et du LES. Photo prise en novembre 2023. (c) Photo de la seconde buse du ruisseau de la Cavée. Photo prise en novembre 2023. 27

Figure 8. Températures de l'eau (°C), mesurées aux différents sites d'échantillonnage pour la période estivale 2024 (juin - septembre). Parmi les sites d'échantillonnage, REF1-3 représentent les sites de référence ; AG1-2, les sites en zones agricoles ; LF, le site directement en aval de la buse du ruisseau de la Cavée (Figure 7a) ; les sites CAV1-2 situés dans le ruisseau de la Cavée, en aval du LES, de l'autoroute et des zones agricoles ; TR, le site du refuge thermique ; RIM, situé dans la rivière Rimouski, en aval du refuge thermique (Figure 9). 28

Figure 9. Carte incluant les positions des sites d'échantillonnage. (a) de vue plus éloignée, (b) de vue plus rapprochée dans le secteur du parc Beauséjour. (c) de vue des sites de références dans la réserve Duchénier, (d) de vue des sites en zone agricole 30

Figure 10. Présentation des paramètres physico-chimiques (température de l'eau (°C), conductivité (µs/cm), pH et MPS (mg/L)) des différents sites selon le moment d'échantillonnage (octobre 2023- novembre 2024), $n_{température} = 82$, $n_{conductivité}$ et $n_{MPS} = 99$, $n_{pH} = 108$. 36

Figure 11. Concentrations des anions et nutriments inorganiques dans l'eau aux sites d'échantillonnage pour la période octobre 2023 à novembre 2024. Les ions observés sont (a) Cl^-, (b) SO_4^{2-}, (c) NO_3^-, (d) NO_2^- pour le mois de septembre 2024, (e) PO_4^{3-}. AG : brun ; LF : rouge ; CS : orange ; REF : bleu. n = 62 40

Figure 12. Concentrations de différents éléments dans l'eau (boîtes moustaches vides) et les sédiments (boîtes moustaches pleines) aux différents sites d'échantillonnage pour la période d'octobre 2023 à novembre 2024. Les éléments sont : a) Al, b) B, c) Ba, d) Ca, e) Co, f) K, g) Mg, h) Mn, i) Na, j) Rb. Les lettres représentent les différences statistiques ($p < 0,05$) effectuées par ANOVA suivi de test post-hoc de Tukey. Les concentrations sont comparées par sites, séparément pour l'eau et les sédiments. $n_{eau}=70$, $n_{sédiments}=85$. 42

Figure 13. Concentrations de différents éléments traces métalliques dans l'eau (boîtes moustaches vides) et les sédiments (boîtes moustaches pleines) aux différents sites d'échantillonnage pour la période d'octobre 2023 à novembre 2024. Les éléments sont : a) Fe, b) Pb, c) Zn, d) Cu, e) Cr, f) As (dans les sédiments seulement). Les lettres représentent les différences statistiques ($p < 0,05$) effectuées par ANOVA suivi de test post-hoc de Tukey. Les concentrations sont comparées par sites, séparément pour l'eau et les sédiments. $n_{eau}=70$, $n_{sédiments}=85$. 44

Figure 14. Matrice de corrélations de Spearman des concentrations de divers éléments quantifiés, ainsi que de paramètres physico-chimiques mesurés. Seulement les corrélations significatives ($p < 0,05$) et supérieures à $|0,6|$ sont présentées. Chaque élément est suivi de la matrice, eau (_eau) ou sédiments de surface (_sed)..... 47

Figure 15. Localisation of sampling sites in the study area in Rimouski, Québec, Canada. The official agricultural zones were determined using the agricultural zone transposed to the Quebec land registry (CPTAQ, 2025), the land use was defined using the land use mapping data from the Quebec Ministry of Natural Resources and Forests (MRNF, 2025). 66

Figure 16. Alpha diversity, richness and abundance of bacterial and fungal communities according to sampling site (oct 2023-nov 2024). (A) Chao1 index, (B) Number of reads (abundance), (C) Shannon index and (D) Simpson index for bacterial communities, (E) Chao1 index, (F) Number of reads (abundance), (G) Shannon index and (H) Simpson index for fungal communities. AG1-AG2: sites in agricultural areas; LF: site downstream of closed landfill and highway; CAV1-2, TR, RIM: sites downstream of agricultural areas, closed landfill and highway; REF1-3: reference sites. 74

Figure 17. Taxonomic diversity and richness at the different sampling groups assessed by (a) The number of reads, (b) Chao1 index diversity index, (c) Shannon's diversity index and (d) Simpson's diversity index of bacterial communities according to the season and sampling group. (e) The number of reads, (b) Chao1 index diversity index, (c) Shannon's diversity index and (d) Simpson's diversity index of fungal communities according to the season and sampling group. AG: sites in agricultural areas, LF: site downstream of the closed landfill and highway, CS (cumulative stress): sites downstream of the agricultural areas, the closed landfill and highway, REF: reference sites. Spring was from March-May 2024, summer was from June-August 2024 and fall from September to November 2024. 75

Figure 18. RDA of abundance and taxonomic diversity of bacteria, and fungi, with monthly samples pooled by sampling sites, selected physico-chemical parameters of water and sediment quality of analysed river samples.

Ellipses represent the multivariate dispersion of sites around group centroid with 95% confidence level. Comparisons between sites were summarised using a compact letter display (Pairwise PERMANOVA), with bold and italic letters for fungi communities and only bold letters for bacterial communities. 78

Figure 19. Mean relative abundance of bacterial (a) phyla and (b) genus according to the sampling sites, pooled from October and November 2023, and from March 2024 to November 2024 samplings. Others contains taxa with relative abundance <1%. Mean relative abundance of fungal (c) phyla and (d) genus according to the sampling sites. 80

Figure 20. Mean relative abundance (a) of predicted ecological functions of bacterial communities and of (b) predicted trophic types and (c) functional guilds of fungal communities of the biofilm according to the sampling sites. Including samples from October and November 2023, and from March 2024 to November 2024. 82

Figure 21. (A) Close up of orange coloration of rocks and sediments at the thermal refuge site (TR). (B) Close up of biofilm on rocks at the TR. (C) (D) Plume of contamination in the Rimouski River transported by the Cavée creek. (E) Confluence of the Cavée creek and the Rimouski River (TR), where orange-colored deposits on rocks are observed. 98

Figure 23. Mean concentrations of different elements in the dissolved fraction in water (blue), in the labile fraction in surface sediments (orange) and in stoneflies tissues (green) in July 2024 151

Figure 24. Seasonal and spatial patterns of SOD activity in stonefly larvae sampled in from May to November 2024. (A) TSOD across sampling groups and months. (B) Cu/Zn-SOD across the same sampling groups and months. Bars show mean ± SE. Colours indicate sampling month. Different colored lowercase letters above bars indicate statistically significant differences among groups within a given month, while black lowercase letters indicate statistically significant differences between months among sampling groups (post hoc multiple comparisons following the PERMANOVA / pairwise tests; $p < 0.05$). (C) Comparison of TSOD and CuSOD activities pooled across sites for each month. Bars show mean ± SE; different lowercase letters indicate significant differences among months within each enzyme ($p < 0.05$). 154

Figure 25. Mean concentration of MT according to sampling groups from May to July 2024. Statistical differences were expressed by letters. Red letters represent Kruskal Wallis test results comparing MT activity between

groups, all months pooled. Black letters represent Kruskal Wallis test results comparing MT activity between groups within each month.....155

Figure 26. Relationship between metallothionein (MT) activity and the first principal component (PC1) of water-metal concentrations across months. Points represent site × month observations (mean MT activity per site-month), coloured by sampling site; panels show May, June and July. The solid black line indicates the fitted linear trend within each month. PC1 summarizes a multivariate gradient in water-metal composition, mainly contrasting Pb (positive loadings) versus Cu, Zn and Cr (negative loadings). MT activity is expressed as μg mg^{-1} protein.....156

Figure 27. Differences in exoskeletal coloration of stonefly larvae collected across different sampling sites. A) Plecoptera larvae from reference sites (right) showed typical pale to dark-banded coloration, whereas individuals collected downstream of the landfill exhibited a pronounced orange-brown coloration of the exoskeleton (left). B) Another Plecoptera larva sampled downstream of the landfill exhibiting orange-brown coloration of the exoskeleton. Photographs: Elia Wagner-Beaulieu. 168

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNe	ADN environnemental
CCME	Conseil canadien des ministres de l'environnement
CEF	Critère d'effets fréquents
CEP	Critère d'effets probables
CEO	Critère d'effets occasionnels
CER	Critère d'effets rares
CSE	Critère de seuil d'effet
EDTA	Acide éthylènediaminetétraacétique
GF-AAS	Spectroscopie d'absorption atomique par four graphite
HCl	Acide chloridrique
HNO_3	Acide nitrique
HPCI	Chromatographie ionique haute pression
LES	Lieu d'enfouissement sanitaire
MELCCFP	ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs

MPO ministère des Pêches et océans du Canada

MP-AES Spectroscopie d'émission atomique par plasma à micro-ondes

MT métallothionéines

SOD Superoxyde dismutase

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1. ÉTAT DES POPULATIONS DE SAUMON ATLANTIQUE (*SALMO SALAR*) DE L'ÉCHELLE MONDIALE À LOCALE

Dans les dernières décennies, les populations de saumon atlantique (*Salmo salar*) ont drastiquement réduit dans plusieurs de leurs aires de distributions. C'est le cas pour plusieurs populations d'Amérique du Nord (Cauchon, 2024; MPO, 2025), dont une importante fraction d'entre elles se situent désormais à des niveaux inférieurs ou égaux aux seuils de conservation, malgré des décennies de fermeture de la pêche et d'effort de restauration (Figure 1) (Canada, 2022; Long et al., 2023).

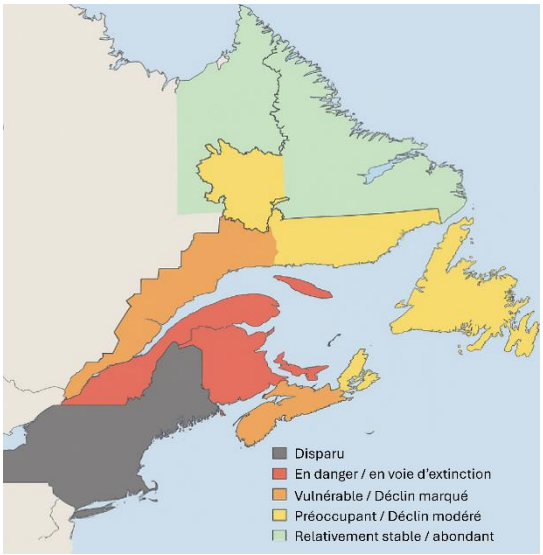


Figure 1. État des populations de saumon dans l'Atlantique Nord-ouest. Figure générée grâce aux données de MPO (MPO, 2025), MELCCFP (Cauchon, 2024), COSEPAC (COSEPAC, 2010), NOAA (Hawkes, 2024).

Dans l'est du Canada et du Québec, l'abondance s'est stabilisée à des niveaux historiquement bas (COSEWIC, 2018; MELCCFP, 2016; Reader et al., 2024). La population

du sud du Saint-Laurent a été indiquée comme en voie de disparition par le Comité sur la situation des espèces en péril au Canada (COSEPAC) en 2010 (Figure 1) (COSEWIC, 2018; MELCCFP, 2016; Reader et al., 2024). Plusieurs stocks québécois sont eux aussi en position vulnérable, se trouvant dans la zone critique du cadre de l'approche de précaution pour les années 2023 et 2024 (COSEWIC, 2018; MELCCFP, 2016; Reader et al., 2024). Plusieurs facteurs permettent d'observer cette situation préoccupante, dont l'estimation de la ponte par les adultes reproducteurs. Celles-ci étaient inférieures au point de référence limite (PRL) pour plusieurs rivières québécoises depuis 2023 (MPO, 2025).

Les mêmes tendances sont observées dans la rivière Rimouski, qui abrite une importante population de saumon atlantique anadrome qui fait l'objet d'une gestion intensive à des fins de conservation (Cauchon, 2024). Les montaisons, soit la migration des poissons remontant les cours d'eau pour frayer, ont été particulièrement faibles en 2024, avec 86 individus, comparativement à 510 en 2022, soit une diminution d'environ 83 % en 2 ans (Cauchon, 2024). Néanmoins, cette population, comme beaucoup d'autres au Québec, persiste malgré les déclins régionaux et les changements des régimes thermiques et hydrologiques des rivières (MELCCFP, 2016).

Ces populations font face à des changements drastiques dans les écosystèmes qu'ils habitent, de l'océan aux cours d'eau douce (Thorstad et al., 2021). La surpêche, le réchauffement climatique, la perte d'habitat et la dégradation de la qualité des milieux dulcicoles sont reconnus comme des facteurs clés du déclin des populations de saumon atlantique, particulièrement à la limite sud de leur aire de répartition, où interagissent des facteurs de stress thermiques et chimiques (Canada, 2022; Kurylyk et al., 2013). Les conditions environnementales dans les rivières fréquentées par les saumons atlantiques jouent un rôle crucial sur la mortalité des individus en mer (Gillis et al., 2023; Russell et al., 2012; Thorstad et al., 2021). Plus précisément, les patrons de température en rivière sont un facteur déterminant des réponses affectant la survie tel que la croissance, le développement (Jonsson & Jonsson, 2009) et le succès reproducteur (Reddin & Friedland, 1993). De plus,

l'augmentation des températures peut influencer l'écologie générale (relation prédateur-proie, le biofilm, etc.) des rivières ce qui affecte les saumons atlantiques (Rossi et al., 2024).

2. PERTINENCE ET IMPORTANCE DES REFUGES THERMIQUES D'EAU FROIDE

Les saumons atlantiques ont une tolérance thermique restreinte. Le seuil de température des effets sous-létaux est de 21 °C, alors que la température létale est généralement observée à environ 25 °C (MPO, 2012). Des températures hors de cette fenêtre peuvent induire des réponses de stress physiologique, métabolique et énergétique importantes qui diffèrent à travers leur cycle de vie (Breau et al., 2011; Fay et al., 2006). Or, les projections climatiques pour l'est du Canada indiquent un réchauffement continu et des vagues de chaleur estivales plus fréquentes avec des températures de l'eau des rivières surpassant les températures optimales et critiques pour le saumon atlantique (Linnansaari et al., 2023; MPO, 2012; O'Sullivan et al., 2023).

Afin de réduire les dépenses énergétiques et d'éviter des conséquences létales ou sous-létales associées à l'augmentation des températures de l'eau, les saumons atlantiques font de la thermorégulation comportementale. C'est-à-dire que les individus cherchent activement des micro-habitats où les températures sont plus fraîches qu'ailleurs dans la rivière, qu'on appelle refuges thermiques (Dugdale et al., 2013; Torgersen et al., 1999). Ces refuges thermiques sont souvent formés par des tributaires d'eau froide de source souterraine, en confluence avec un cours d'eau plus chaud. Ceux-ci sont des facteurs clés de la persistance des saumons atlantiques (Dugdale et al., 2013; Linnansaari et al., 2023; Torgersen et al., 1999), étant même considérés par plusieurs comme des habitats essentiels dont la dégradation pourrait entraîner des conséquences démographiques disproportionnées (Linnansaari et al., 2023; O'Sullivan et al., 2023).

C'est le cas du ruisseau de la Cavée qui se jette dans la rivière Rimouski (Québec, Canada), créant un refuge thermique fréquenté par le saumon atlantique (Figure 2 a). Les températures de l'eau à la confluence entre ces deux cours d'eau (11-15 °C) sont de 5 à 10

degrés inférieures aux températures de l'eau de la rivière (15-25 °C) durant les mois d'été 2024 (juin-août). Toutefois, ce refuge se démarque par une coloration orangée de l'eau, des sédiments de surface et des dépôts sur les roches, ainsi qu'une odeur nauséabonde prononcée (Figure 2 b,c,d,e,f).

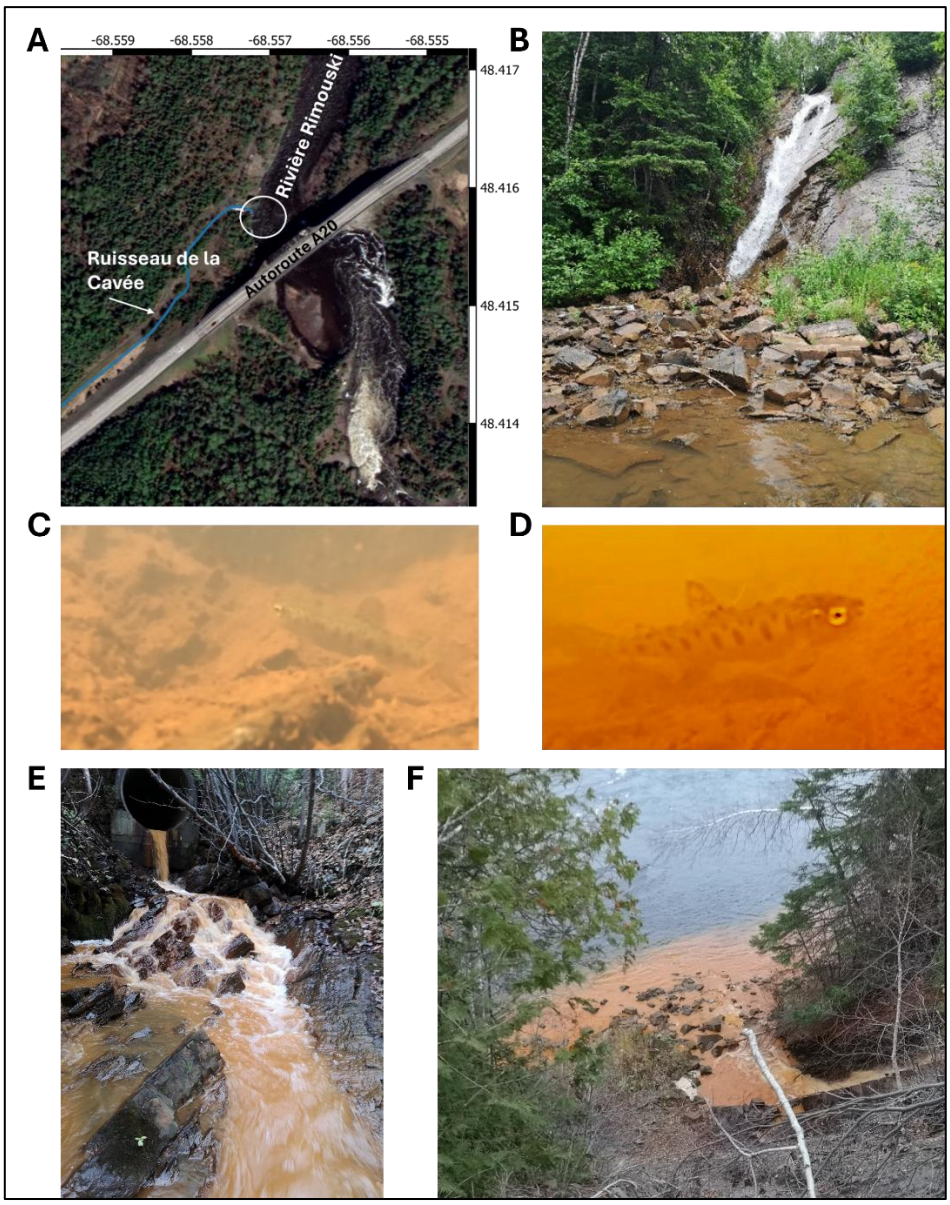


Figure 2. Refuge thermique étudié, à la confluence entre le ruisseau de la Cavée et la rivière Rimouski, (a) vue à vol d'oiseau sur carte, (b) vue sur le site, photo prise en juillet 2024. (c)(d) Montrent des saumons atlantiques (premiers stades de vies) observés en juillet 2025

au refuge thermique étudié, photo prise par Elia Wagner-Beaulieu. (e) Ruisseau de la Cavée, photo prise en novembre 2024. (f) Refuge thermique étudié, vue de haut. Photo prise en novembre 2024.

La coloration orangée ainsi que l'odeur associée au ruisseau de la Cavée suggère une contamination importante, notamment en oxydes de fer.

2.1 Principales sources de pollution de la rivière Rimouski et un de ses tributaires : le ruisseau de la Savane/Cavée

Malgré l'avantage thermique de ces refuges, de nombreux tributaires d'eau froide qui les créent drainent également des paysages fortement anthropisés. Le ruisseau de la Savane qui devient le ruisseau de la Cavée, un de ces petits tributaires alimentés par les eaux souterraines, dont la confluence avec la rivière forme un refuge thermique, est soumis à plusieurs pressions anthropiques susceptibles d'altérer la qualité de l'eau et des habitats aquatiques. Trois grandes sources potentielles de pollution se distinguent : l'ancien lieu d'enfouissement sanitaire (LES) municipal de Rimouski, la proximité d'une autoroute très fréquentée (Autoroute Jean-Lesage A-20) et la présence de zones agricoles en amont et le long des cours d'eau (Figure 3).

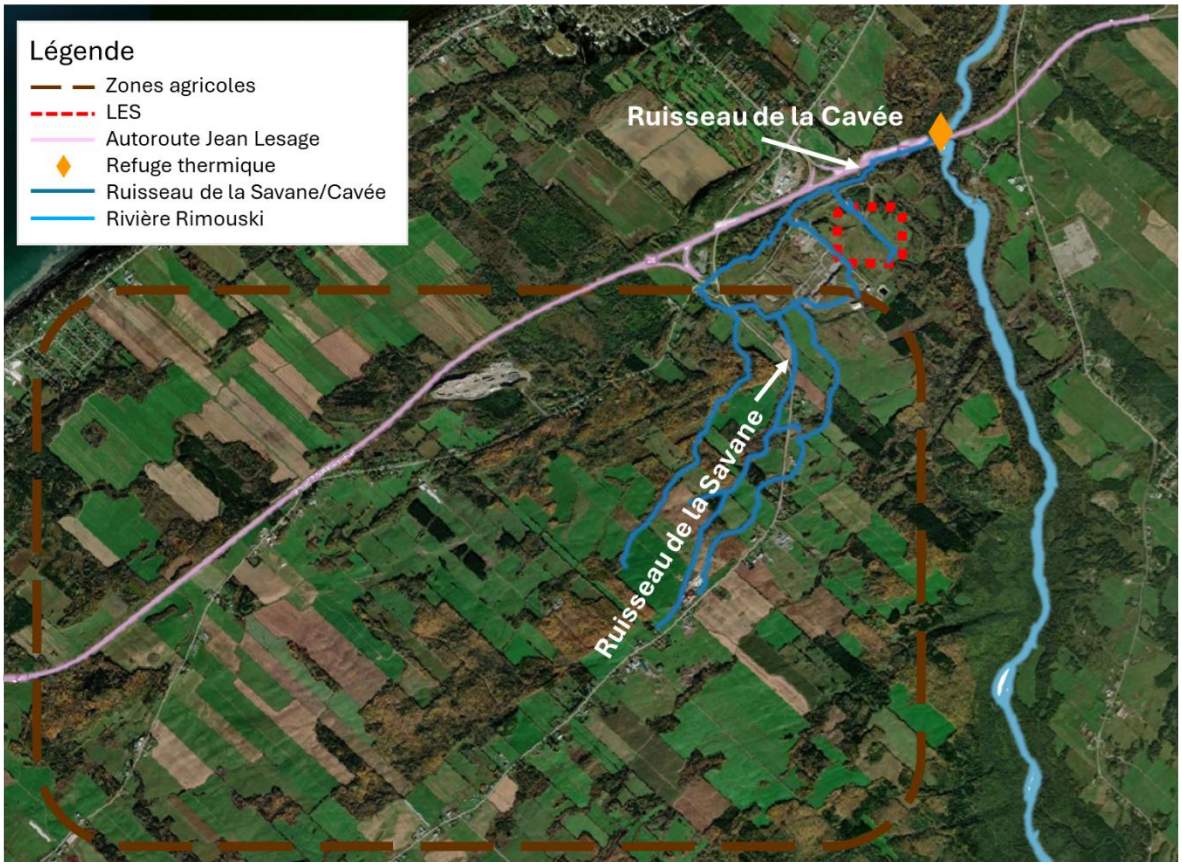


Figure 3. Carte identifiant les sources potentielles de contamination pour le refuge thermique étudié (identifié par un losange orangé). Le réseau hydrographique a été extrait de la Géobase de référence hydrographique du Québec (MELCCFP, 2023a).

Ces usages des terres constituent des sources potentielles de métaux provenant de la dégradation des déchets dans les sites d'enfouissement, de matière organique provenant des engrais et fumiers agricoles, de pesticides et d'hydrocarbures dérivés du pétrole, susceptibles d'être transportés sous forme dissoute ou particulaire jusqu'au refuge, et ce, de façon répétée (Figure 4) (Öman & Junestedt, 2008; Phaenark et al., 2024). Par conséquent, les saumons fréquentant ce refuge peuvent être simultanément protégés des températures élevées et exposés à un « cocktail » de contaminants (Figure 2 c,d), pouvant être particulièrement dommageable pour les premiers stades de vie de ces individus. Comprendre l'emplacement de ces sources, la saisonnalité de leurs apports et leur potentiel de contamination est essentiel

pour interpréter les gradients spatiaux et temporels observés dans les concentrations de contaminants, ainsi que leurs effets sur les communautés biologiques.

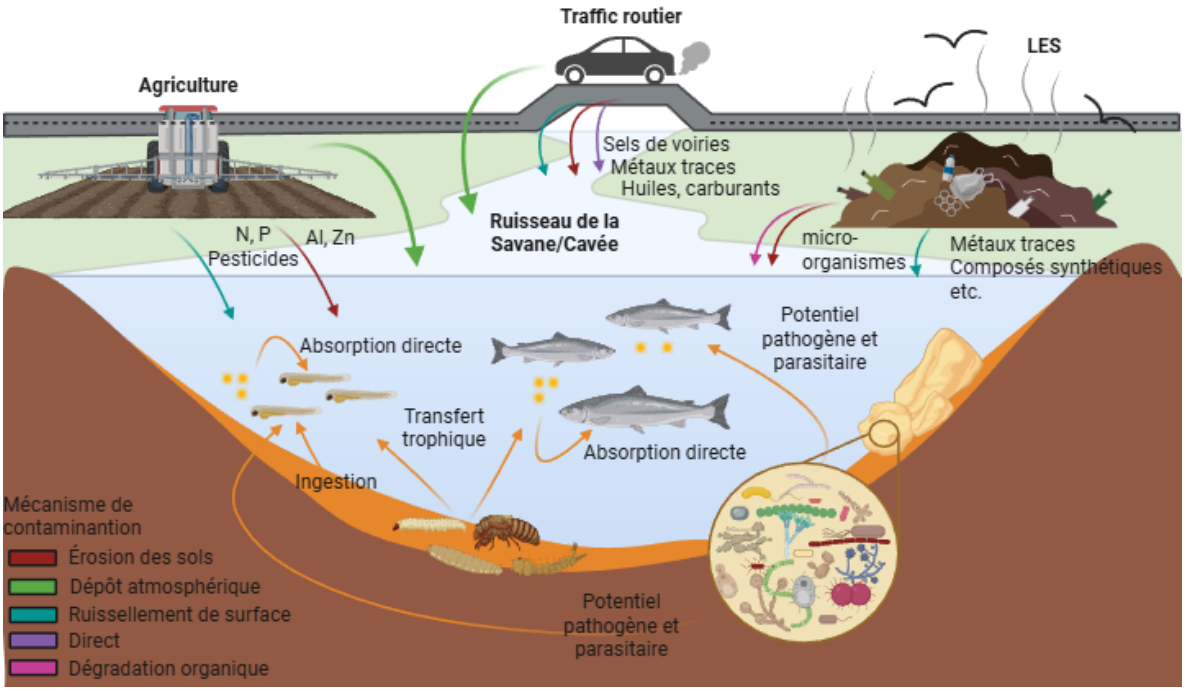


Figure 4. Schéma conceptuel des principales sources et voies de contamination dans le ruisseau de la Savane/Cavée. Les apports issus de l'agriculture, du trafic routier et du lieu d'enfouissement sanitaire (LES) comprennent notamment des nutriments (N, P), pesticides, métaux traces, sels de voirie, hydrocarbures, composés synthétiques et microorganismes. Ces contaminants rejoignent le cours d'eau par érosion des sols, dépôt atmosphérique, ruissellement de surface, rejets directs et dégradation organique, puis sont transférés dans le réseau trophique par absorption directe chez les invertébrés et poissons, ingestion et transfert trophique, avec un potentiel pathogène et parasitaire pour les communautés aquatiques.

Les risques écologiques associés à de tels refuges contaminés ne se limitent pas à la toxicité directe pour les poissons (Figure 4). Les alevins et les tacons, formant les stades de vie précoces du saumon atlantique, se nourrissent du biofilm recouvrant les roches (alevins) et sont des prédateurs généralistes à vision sélective dont le régime alimentaire est dominé par les macro-invertébrés aquatiques (alevins plus âgés et tacons), notamment les larves et

les nymphes d'insectes benthiques (Éphéméroptères, Plécoptères, Trichoptères, Diptères) (Amundsen et al., 2001; Grade & Letcher, 2006; Ojala, 2008; Orlov et al., 2006). Des études de terrain et expérimentales ont montré que les salmonidés peuvent continuer à se nourrir tout en occupant des refuges d'eau froide, si les températures sont dans la plage optimale des saumons (Gillis et al., 2023; Linnansaari et al., 2023). Ce phénomène a été observé lors de campagnes d'échantillonnage durant l'été 2025. Les insectes aquatiques représentent ainsi non seulement une source d'énergie primaire pour les premiers stades de vie du saumon atlantique, mais aussi un vecteur potentiel de transfert de contaminants dans ces réseaux trophiques (Hare, 1992; Souto et al., 2019).

2.1.1. Lieu d'enfouissement sanitaire (LES)

En raison de la proximité hydrologique et topographique entre le ruisseau de la Cavée et le LES (Figure 3), ce dernier constitue une source potentielle de contaminants pour le réseau hydrographique, particulièrement par l'intermédiaire des eaux souterraines et du ruissellement de surface (Figure 4).

La source principale de la pollution engendrée par les LES est la conséquence de la dégradation organique des matières résiduelles (Gareau, 2008; Quintus, 2007). Dans un LES, les matières résiduelles sont compactées mécaniquement en couches successives auxquelles on ajoute des matériaux de recouvrement (Figure 5). La limitation de la contamination de l'air, du sol et des eaux s'effectue par la captation partielle des polluants émis, grâce à l'atténuation naturelle et aux traitements des lixiviats (liquides de percolation de l'eau à travers les déchets enfouis) (Gareau, 2008). Les lixiviats peuvent être traités selon différentes options de traitements variant selon les spécificités de chaque site. À Rimouski, une partie des lixiviats du LES est acheminée vers des bassins de rétention et sont traités comme les eaux usées. Toutefois, ce LES est majoritairement un site par atténuation naturelle, ce qui implique que la filtration des eaux de lixiviation repose principalement sur le sol (BAPE, 2003), une méthode jugée peu efficace pour limiter la contamination de l'environnement (Quintus, 2007).

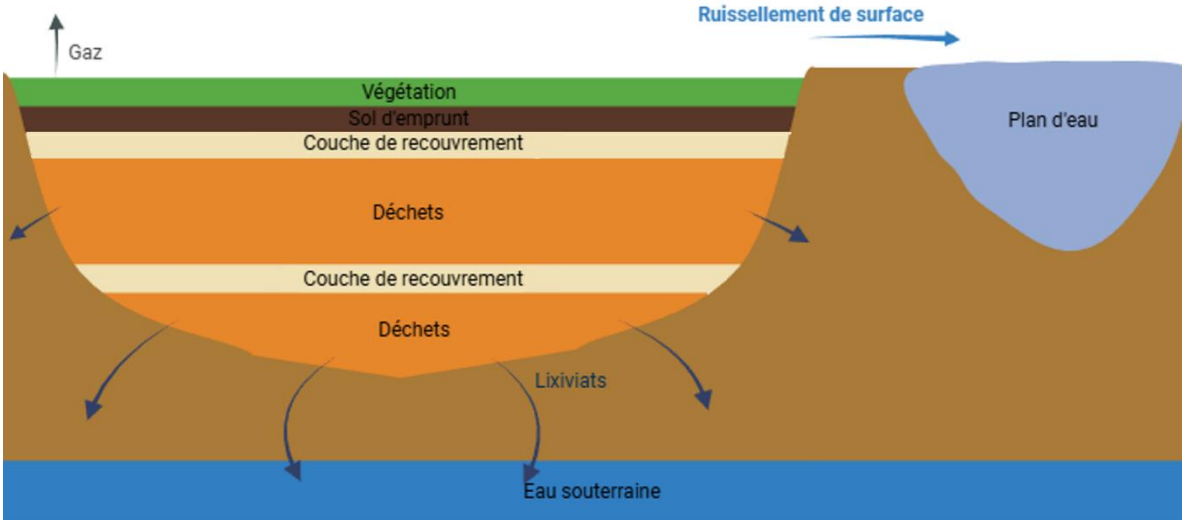


Figure 5. Schéma conceptuel simplifié d'un LES typique, montrant les principales composantes ainsi que les voies de transfert des contaminants potentielles.

Ce sont environ 35 000 tonnes de matières résiduelles provenant de déchets municipaux, commerciaux et industriels, enfouies annuellement au LES de Rimouski lors de sa période active, soit de 1981 à 2003 (BAPE, 2003). Ce LES par atténuation naturelle favorise la formation de lixiviats riches en matière organique dissoute, en sels, en éléments traces métalliques ainsi que bien d'autres contaminants organiques et synthétiques (chlorobenzènes, polluants organiques persistants, etc.) susceptibles de migrer vers les milieux dulcicoles adjacents (Öman & Junestedt, 2008). Les déchets enfouis continuent de se décomposer malgré la fermeture du site, ce qui maintient un potentiel de contamination à long terme pour l'environnement (Kjeldsen et al., 2002).

En plus de poser un risque chimique, les eaux de lixiviations ainsi que les bioaérosols posent un risque bactériologique car ces solutions chargées en toxines et espèces dégradant les matières résiduelles peuvent contaminer les eaux avoisinantes (Bélanger, 1995; Séguin, 1994). Il a été démontré que les dépotoirs sont des réservoirs importants de microorganismes pathogènes et/ou résistants à différents contaminants, tels que des antibiotiques, des éléments traces métalliques, des hydrocarbures, etc. Des organismes pathogènes tels que des coliformes (totaux et fécaux), des bactéries hémolytiques, *Salmonella Enterococci*,

Staphylococcus aureus, ainsi que plusieurs autres ont été détecté en très forte concentrations à proximité de dépotoirs en Chine (Wu et al., 2024). Il est même suggéré que les antibiotiques, les produits pharmaceutiques ainsi que les produits de soins personnels soient retirés des lixiviats afin d'éviter les transfert horizontal des gènes de résistances aux antibiotiques à des souches bactériennes pathogènes par exemple (Anand et al., 2021). Une autre étude démontre que plus de 80% des souches d'*E. coli* isolée des lixiviats de différents dépotoirs étaient résistants aux antibiotiques testés (doxycline, cephalothin, etc.) (Threedeach et al., 2012). Zhan et al. (2025) démontrent aussi un enrichissement de différents genres bactériens fortement résistants à la pollution comportant des espèces pathogènes, dont certaines appartenant aux genres *Pseudomonas,* et *Sphingomonas* aux sites des dépotoirs.

Il est donc supposé que le ruisseau de la Cavée, en aval du LES pose un risque bactériologique en plus de poser un risque chimique. Lorsque ces lixiviats rejoignent les cours d'eau, ils peuvent modifier la conductivité, le pH, la charge ionique et la concentration en métaux dissous ou particulaires, ce qui affecte directement les organismes aquatiques et les processus biogéochimiques (Kjeldsen et al., 2002; Parvin & Tareq, 2021).

2.1.2. Le transport routier

La seconde source de contamination identifiée provient du transport routier. Les axes routiers contribuent à la contamination des eaux douces par l'intermédiaire de plusieurs vecteurs, tels que l'abrasion des pneus, la corrosion des pièces métalliques (Adamiec et al., 2016; Huber et al., 2016), les fuites d'huiles et de carburant (Krein & Schorer, 2000; Mummullage et al., 2016), les émissions atmosphériques déposées au sol, ainsi que l'épandage de sels de voirie en hiver (Adamiec et al., 2016; Huber et al., 2016; Szklarek et al., 2022). Ces apports peuvent enrichir les eaux en éléments tels que le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le plomb et en composés tels que le 6-PPD, un antioxydant ajouté aux pneus, extrêmement toxique pour certaines espèces de saumons (Lo et al., 2023), ainsi qu'en hydrocarbures et en particules fines, susceptibles de s'accumuler dans les sédiments et les organismes benthiques (Adamiec et al., 2016; Huber et al., 2016). Ces substances peuvent

s'adsorber aux particules en suspension, se déposer dans les sédiments et être intégrées dans les réseaux trophiques aquatiques (Girardin et al., 2020) (Figure 4).

Au Québec, l'utilisation de sels de voirie, principalement le chlorure de sodium (NaCl), est largement répandu pour assurer la sécurité routière hivernale. Annuellement, ce sont plusieurs milliers de tonnes de sels de voiries qui sont répandus sur les routes dans la région de Rimouski. Une fraction significative de ces sels est entraînée vers les fossés et les petits tributaires lors des épisodes de fonte et de pluie, augmentant les concentrations en ions Na^+ et Cl^- dans les cours d'eau (Kaushal et al., 2018; Szklarek et al., 2022). Cette contribution peut être particulièrement marquée au printemps et en fin d'hiver, périodes où les épisodes de ruissellement sont les plus intenses. Ces sels peuvent avoir des effets dommageables sur les écosystèmes, notamment en perturbant le cycle d'oxygénation, affectant principalement les communautés benthiques (Charbonneau, 2006).

L'accumulation de sels de voirie peut aussi conduire à une salinisation progressive des eaux douces, un phénomène de plus en plus documenté dans les régions nordiques (Kaushal et al., 2018; Szklarek et al., 2022). En plus du NaCl, d'autres sels tels le dichlorure de calcium ($CaCl_2$) et le dichlorure de magnésium ($MgCl_2$) sont également répandus, ceux-ci présentant des toxicités et des effets physiologiques distincts sur les organismes aquatiques, notamment en raison de leurs différences de cations et de leurs fréquences d'utilisation saisonnière (Hintz & Relyea, 2019; Schuler et al., 2017). L'augmentation des concentrations de ces sels peut altérer la structure des communautés aquatiques, réduire la performance osmorégulatoire de certaines espèces sensibles et interagir avec la biodisponibilité des autres contaminants. À long terme, cette salinisation peut modifier le fonctionnement des écosystèmes, affecter les flux de nutriments et favoriser des espèces plus tolérantes au détriment des communautés typiques de rivières à faible conductivité (Kaushal et al., 2018; Szklarek et al., 2022).

À l'échelle locale, l'autoroute Jean-Lesage (A-20) traverse le bassin versant de la rivière Rimouski et du ruisseau de la Cavée à faible distance des cours d'eau. Les infrastructures routières représentent une source diffuse de contamination, particulièrement dans les régions où le trafic est soutenu tout au long de l'année (Girardin et al., 2020; Kaushal

et al., 2018). La topographie et les systèmes de drainage routier (fossés, ponceaux) favorisent le transfert des eaux de ruissellement, chargées en contaminants, vers les milieux aquatiques voisins (Kaushal et al., 2018). La proximité de l'autoroute avec les sites d'échantillonnage de la rivière Rimouski et du ruisseau de la Cavée est donc soupçonnée de contribuer aux gradients de contamination observés dans les eaux, les sédiments et les invertébrés aquatiques.

2.1.3. Les activités agricoles

Une autre source de contamination potentielle identifiée provient de l'activité agricole. Le bassin versant de la rivière Rimouski et du ruisseau de la Savane/Cavée comprend des secteurs agricoles situés en amont et le long des cours d'eau. Ces zones représentent une composante importante de l'occupation du territoire (Figure 3). En 2017, les secteurs occupant la plus grande superficie agricole sont les secteurs des fourrages (foin sec, ensilage, maïs-ensilage, autres), ainsi que les céréales et protéagineux (orge, avoine, blé, etc. servant principalement à l'alimentation animale) qui représentent respectivement environ 69 et 26 % de la superficie agricole de la région (MAPAQ, 2019). Ces cultures fourragères et céréalières du bassin versant reçoivent des engrais minéraux (N, P, K) (Bérubé et al., 2019) et des pesticides, principalement des herbicides, dont des produits à base de glyphosate, farine de gluten de maïs et S-métolachlore (MELCCFD, 2025).

Ces produits sont souvent détectés dans les eaux de surface en aval des aires agricoles à l'échelle provinciale (Giroux, 2022). De plus, l'épandage de fumiers et l'utilisation de produits phytosanitaires peuvent introduire des contaminants organiques et, dans certains cas, des éléments traces, tels que le Cu et le Zn dans les plans d'eau (Sheppard & Sanipelli, 2012). La présence de champs en pente, de fossés de drainage (Monsieurs et al., 2015) et de bandes riveraines parfois réduites favorise le transfert des eaux de ruissellement vers les rivières lors des épisodes de pluie ou de fonte nivale (Baulch et al., 2019; Wilson et al., 2019) (Figure 4).

Ces pressions complémentaires d'apports en nutriments et en mélanges de pesticides peuvent changer à la fois la structure et les fonctions des écosystèmes riverains. En conditions

d'enrichissement en nutriments, les communautés du biofilm par exemple peuvent être dominées par des taxons opportunistes et la diversité du périphyton peut changer (Carrell et al., 2021).

En conditions de contamination en pesticides (plus particulièrement en herbicides et fongicides), une sélection d'organismes tolérants ainsi qu'une induction de tolérance sont fréquemment observées suite à la chronicité de l'exposition (Tlili et al., 2016; Tlili et al., 2011). Parallèlement, l'exposition à des insecticides, peut aussi avoir des effets néfastes sur les écosystèmes riverains. Cela peut réduire l'abondance des insectes aquatiques, une ressource alimentaire importante pour les poissons, ce qui peut entraîner donc des effets indirects sur leurs prédateurs, en réduisant la disponibilité et la qualité de la nourriture, donc sur la survie et la croissance de leurs proies, puis sur l'écosystème entier (Sánchez-Bayo et al., 2016; Schmidt et al., 2022). L'exposition aux pesticides peut aussi entraîner des effets sous-létaux sur la physiologie et le comportement des saumons, notamment par l'altération du système olfactif et des réponses endocriniennes des juvéniles de saumons (Anzalone et al., 2022; Baldwin et al., 2009; Magnuson et al., 2023; Wang et al., 2016).

3. PRESENTATION DES CONTAMINANTS ETUDIES

Les contaminants étudiés dans ce projet peuvent être regroupés en deux grandes catégories, soit les ions majeurs, qui déterminent en grande partie la chimie de base de l'eau, et les éléments traces, présents à de plus faibles concentrations mais susceptibles d'entraîner des effets toxiques significatifs. L'analyse de ces contaminants dans l'eau, dans les sédiments de surface ainsi que dans les insectes aquatiques permet d'évaluer à la fois l'ampleur de la contamination, ses sources, l'exposition environnementale et leur potentiel de transfert au sein du réseau trophique.

3.1. Ions majeurs

Les ions majeurs incluent les cations de sodium (Na^+), de potassium (K^+), de magnésium (Mg^{2+}), de calcium (Ca^{2+}) et les anions chlorures (Cl^-), sulfates (SO_4^{2-}), nitrites

(NO_2^-), nitrates (NO_3^-) et phosphates (PO_4^{3-}). Ces ions déterminent la conductivité, la dureté et l'équilibre ionique des eaux douces (Appelo & Postma, 2004). Des concentrations élevées des ions Na^+ et Cl^- peuvent être associées à l'épandage des sels de voirie (Kaushal et al., 2018; Szklarek et al., 2022), et sont aussi utilisés comme principaux traceurs de lixiviats (Hua, 2021; USEPA, 1977). Mg^{2+} et Ca^{2+} contribuent à la dureté de l'eau et proviennent de la dissolution des roches et des sols, mais leurs concentrations peuvent également être modifiées par les activités anthropiques (Appelo & Postma, 2004). Les ions SO_4^{2-}, NO_2^-, NO_3^- et PO_4^{3-} sont étroitement liés aux pratiques agricoles et à l'utilisation d'engrais, ainsi qu'aux effluents domestiques ou municipaux (Baird & Cann, 2016; Wilson et al., 2019). Ce sont des nutriments essentiels qui peuvent être des polluants nocifs pour l'écosystème lorsqu'ils sont présents en excès.

3.2. Éléments traces métalliques et métalloïdes

Les éléments traces métalliques étudiés incluent notamment l'arsenic (As), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le chrome (Cr), le cadmium (Cd), le plomb (Pb), ainsi que les métaux et métalloïdes suivants : le fer (Fe), le manganèse (Mn), le bore (B), le baryum (Ba), le rubidium (Rb) et le cobalt (Co). Certains de ces éléments sont essentiels à faible concentration, tels que le Cu, le Zn, le Fe et le Mn, car ils interviennent dans de nombreux processus enzymatiques et métaboliques chez les organismes vivants, tandis que d'autres, comme le Cd, le Pb et l'As, sont considérés comme non essentiels et potentiellement toxiques même à faibles doses (Ali & Khan, 2019; Farias et al.; Lall & Kaushik, 2021). Le Fe et le Mn, très fréquemment retrouvés en concentrations élevées dans les lixiviats jouent également un rôle clé dans les processus d'oxydoréduction (REDOX) des panaches de lixiviats et peuvent refléter les conditions d'oxygénation et la dynamique des sédiments (Beinabaj et al., 2023; He et al., 2023; Naeher et al., 2013; Wdowczyk & Szymańska-Pulikowska, 2020). Le Zn, le Pb, le Cu et le Cr sont des éléments typiques des lixiviats de dépotoirs municipaux, provenant de la dégradation de batteries, d'électroniques, etc. (Beinabaj et al., 2023; Golwala et al., 2022; Öman & Junestedt, 2008; Wdowczyk & Szymańska-Pulikowska, 2020). Le B et le Ba sont souvent utilisés comme indicateurs de contamination par des lixiviats de sites

d'enfouissement provenant de la dégradation de détergents, verres, céramiques, etc. (Falwell et al., 1991; Tredoux et al., 2004; Wdowczyk & Szymańska-Pulikowska, 2020). Le Rb et le Co peuvent quant à eux être associés à certaines sources géologiques et industrielles (Appelo & Postma, 2004).

L'évaluation de la présence de ces éléments, ainsi que d'autres, dans les insectes aquatiques fournit une indication du degré de bioaccumulation le long du gradient de contamination. Ces organismes, en contact étroit avec les sédiments et la colonne d'eau, constituent ainsi de bons bioindicateurs de l'exposition chronique aux métaux (Khan et al., 2018; Phaenark et al., 2024).

3.3. Effets cumulatifs des contaminants

Les contaminants d'origine agricole, routière et liés aux dépotoirs ne se présentent généralement pas de manière isolée dans le milieu, mais souvent sous forme de mélanges complexes d'ions majeurs, de métaux et de composés organiques. Les effets cumulatifs de ces contaminants peuvent être additifs, synergiques ou antagonistes et peuvent se traduire par des impacts importants sur les environnements dulcicoles en perturbant les processus physiologiques, cellulaires et moléculaires des organismes vivants (Rodea-Palomares et al., 2015; Uwizeyimana et al., 2017). L'abondance et la diversité des communautés composant le biofilm qui recouvre le lit de la rivière (bactéries, archées, protistes, champignons, etc.) peuvent être modifiées par la pollution (Azarbad et al., 2013). Puisque ces communautés jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement de l'écosystème (décomposition de la matière organique, remise en suspension des éléments nutritifs), toute perturbation au niveau des premiers maillons de la chaîne trophique pourrait déclencher des réactions en cascade affectant l'ensemble de l'écosystème dont l'habitat du saumon (Sridhar et al., 2001).

L'évaluation conjointe de la chimie de l'eau, de la composition bactérienne et fongique du biofilm, de la bioaccumulation dans les insectes et des biomarqueurs de stress permet ainsi d'approcher la complexité de ces expositions multiples (Li et al., 2018).

4. SUIVI DE LA COMPOSITION DES COMMUNAUTES BACTERIENNES ET FONGIQUES DU BIOFILM GRACE A L'ADN ENVIRONNEMENTAL (ADNE)

Ces divers contaminants peuvent s'introduire dans la chaîne alimentaire à tous les niveaux trophiques et se bioaccumuler dans les organismes vivants par ingestion (Hu et al., 2021). Ils peuvent également se bioamplifier tout au long de la chaîne alimentaire, constituant une menace directe pour la vie aquatique (Wen et al., 2024). L'impact des contaminants sur les plantes et les animaux est bien documenté, à l'instar notamment des études sur les communautés bactériennes et fongiques des biofilms.

Illustrant davantage ces dynamiques, une étude récente a démontré le rôle des biofilms dans le transfert des contaminants le long de la chaîne trophique (Wen et al., 2024). Les biofilms, des assemblages de polysaccharides complexes (permet de structurer et de rassembler les microorganismes), d'enzymes, de lipides, d'ARN et ADN libre et de microorganismes (bactéries, champignons, diatomées, etc.) sont caractérisés par leur grande complexité structurale (Watnick & Kolter, 2000) et peuvent abriter une grande variété de contaminants, tels que des métaux traces et des pesticides (Figure 6) (Luo et al., 2022). Des sédiments pollués par différents contaminants peuvent affecter la diversité, l'abondance et l'activité des communautés de biofilms fluviaux (Azarbad et al., 2013; Faburé et al., 2015; Wen et al., 2024). La qualité des biofilms varie aussi selon des gradients temporels, affectant son rôle dans la bioaccumulation des contaminants aux niveaux trophiques supérieurs (Wen et al., 2024).

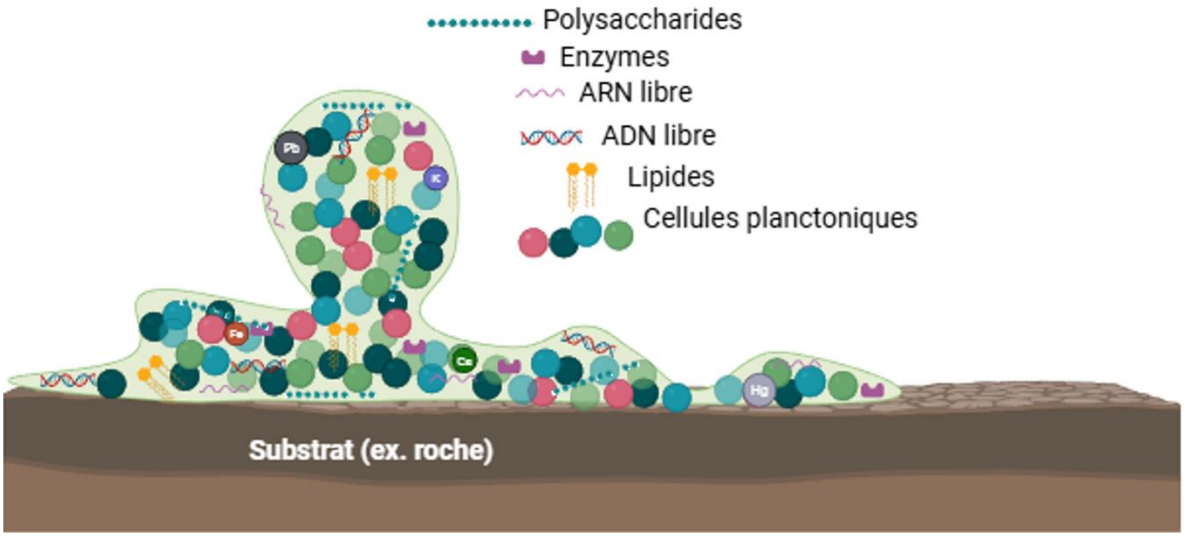


Figure 6. Schématisation simplifiée des composantes du biofilm.

Les champignons et les bactéries, membres clés des biofilms, remplissent des fonctions cruciales dans les milieux dulcicoles. Ces organismes initient la décomposition de la matière organique, créant ainsi un substrat pour d'autres organismes, tels que les invertébrés (Sridhar et al., 2001), produisent des substances humiques autochtones (Damare & Raghukumar, 2008) et participent au cycle des nutriments (Buesing & Gessner, 2006). De nombreux auteurs ont même suggéré d'utiliser ces organismes comme bioindicateurs du stress anthropique pour le suivi de l'état écologique des écosystèmes aquatiques (Biedunkiewicz, 2011; Warnasuriya et al., 2023).

4.1. L'ADN environnemental, une technique avantageuse de biosurveillance

L'ADN environnemental (ADNe) est défini comme l'ensemble de l'ADN libéré par les organismes dans le milieu (cellules, excrétions, fragments tissulaires, etc.) (Barnes & Turner, 2016; Thomsen & Willerslev, 2015). Le metabarcoding de l'ADNe, permet de caractériser la diversité des communautés biologiques à partir d'échantillons d'eau ou de sédiments, sans nécessiter la culture ou l'isolement préalable des organismes (Thomsen & Willerslev, 2015). Cette méthode offre plusieurs avantages, elle est non invasive, intègre l'information spatiale et temporelle sur la présence des organismes et permet de détecter un

grand nombre de taxons, y compris des espèces rares ou difficiles à identifier morphologiquement (Barnes & Turner, 2016). L'ADNe est donc un outil essentiel alternatif pour le suivi des populations vulnérables. Dans le contexte de la rivière Rimouski et du ruisseau de la Savane/Cavée, l'ADNe constitue un outil puissant pour évaluer la composition des communautés du biofilm et détecter d'éventuels changements de structure associés aux gradients de contamination.

L'analyse des séquences issues de l'ADNe permet également de détecter la présence de taxons potentiellement pathogènes ou parasitaires pour les invertébrés et les poissons (incluant le saumon atlantique) en s'appuyant sur les mêmes principes de détection sensible que pour la biodiversité générale (Thomsen & Willerslev, 2015). Une augmentation de la fréquence ou de l'abondance relative de certains champignons ou bactéries pathogènes (ex. *Mycobacterium celatum, Bacillus anthracis, Fusarum solani*) peut être liée à des conditions environnementales dégradées ou à un stress accru des hôtes (Barnes & Turner, 2016; Labouyrie et al., 2023). Ainsi, le suivi du potentiel parasitaire par ADNe fournit une dimension complémentaire à la simple caractérisation physico-chimique de l'eau, en informant sur les risques sanitaires pour les organismes aquatiques.

Une récente étude métagénomiques, en Chine, sur des lixiviats de deux dépotoirs a démontré que les lixiviats hébergent une forte proportion de pathogènes potentiels (ex. *Klebsiella pneumoniae, Bordetella pertussis, Pseudomonas aeruginosa*) et a identifié des gènes de résistance aux antibiotiques parmi plusieurs taxons (Wan et al., 2021). Ces résultats sont supportés par d'autres études, qui ont aussi observé la présence de communautés bactériennes et fongiques riches, incluant des pathogènes humains et opportunistes, à des sites sous influence de dépotoirs (Zhan et al., 2025). Ces communautés sont aussi influencées par l'exposition aux rejets agricoles (engrais, pesticides). Les champignons sont particulièrement sensibles aux fongicides, ce qui change la structure de la communauté vers des taxa tolérants (Zubrod et al., 2019). Dans de telles conditions, la communauté du biofilm peut aussi devenir plus dominée par des taxa opportunistes et la diversité peut changer (Carrell et al., 2021).

Non seulement les communautés du biofilm du lit de la rivière peuvent nuire aux organismes fréquentant le refuge thermique, dont les saumons atlantiques, par leur rôle de parasite et pathogène, mais le biofilm peut contenir des contaminants et participer au transfert trophique de ceux-ci (Wen et al., 2024). En effet, la présence de contaminants dans le biofilm ainsi que le changement de ses consortiums d'espèce pourraient nuire aux alevins ainsi qu'aux larves d'insectes aquatiques benthiques puisque celles-ci dépendent du biofilm comme ressource alimentaire.

5. SUIVI DE LA CONTAMINATION ET DES EFFETS SOUS-LETAUX DE LA CONTAMINATION CHEZ LES INVERTEBRES AQUATIQUES, PROIES DE *S. SALAR*

Les invertébrés aquatiques benthiques quant à eux, constituent une ressource alimentaire essentielle pour les alevins plus âgés et les tacons de saumon atlantique, qui se nourrissent principalement de macro-invertébrés dérivants ou prélevés sur le substrat (Johnson, 2013; Keeley & Grant, 1997). Ils jouent un rôle central dans le transfert de matière et d'énergie dans les réseaux trophiques. Leur abondance, leur qualité nutritionnelle et leur niveau de contamination conditionnent directement la qualité de l'habitat trophique offert aux saumons.

Les métaux traces et autres contaminants peuvent profondément modifier les communautés d'insectes aquatiques et leur qualité en tant que proies. Les métaux (As, Cu, Pb, Zn, etc.) s'accumulent dans l'exosquelette et les tissus internes des insectes par ingestion et absorption aqueuse, selon des profils de bioaccumulation spécifiques à chaque taxon et métal (Cain et al., 2004; Cid et al., 2010; Hare, 1992), ce qui implique que ce sont d'excellents bioindicateurs de la contamination métallique des cours d'eau (Souto et al., 2019). Les contaminants peuvent modifier la survie, la croissance et le comportement des insectes aquatiques (Hare, 1992; Phaenark et al., 2024; Souto et al., 2019), altérant ainsi leur valeur nutritionnelle (Cousin & Cachot, 2014).

Lorsque ces insectes chargés de contaminants sont ingérés par les saumons, ces contaminants sont transférés le long de la chaîne alimentaire, entraînant une bioaccumulation

potentielle dans les tissus des poissons et constituant une voie d'exposition supplémentaire (Cheng et al.; Oros, 2025). Dans le contexte du refuge thermique étudié, où l'alimentation est spatialement concentrée dans un environnement contaminé, le potentiel de transfert trophique des contaminants vers les saumons soulève des inquiétudes.

5.1. Utilisation de biomarqueurs cellulaires comme indicateurs de qualité du milieu et des effets chroniques et sous-létaux de la contamination

Les contaminants métalliques, les sels et certains composés organiques, en plus de la température et du pH, ainsi que les réponses métaboliques secondaires peuvent induire un stress oxydatif chez les invertébrés aquatiques en perturbant l'équilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les défenses antioxydantes (Messi et al., 2025; Suzuki et al., 2019). Cela indique des effets sous-létaux d'exposition aux contaminants. Les ROS sont neutralisées par des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD). Plus précisément, la SOD catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène, qui sont des composés moins toxiques que l'anion superoxyde, constituant une première ligne de défense contre les ROS (Hook et al., 2014). C'est pourquoi la mesure de l'activité de la SOD et d'autres enzymes antioxydantes est largement utilisée comme biomarqueur de stress oxydatif en réponse à l'exposition à divers contaminants dans les systèmes aquatiques (Hook et al., 2014). En effet, des variations de son activité ont été fréquemment observées chez les organismes vivant dans des systèmes dulcicoles contaminés (Borković-Mitić et al., 2024; Suzuki et al., 2019).

Parallèlement, une contamination en métaux traces peut stimuler la synthèse des métallothionéines (MT), des protéines non enzymatiques de faible poids moléculaire riches en cystine qui fixent les métaux. Ces protéines sont largement utilisées comme biomarqueurs d'exposition aux métaux chez les poissons et les invertébrés (Amiard et al., 2006; da Luz et al., 2025; Gora et al., 2025). Elles sont impliquées dans la régulation et la détoxification des métaux essentiels et non essentiels. Leur synthèse est fortement induite par l'exposition à des

métaux tels que le Cu, le Zn ou encore le Cd, ce qui en fait des biomarqueurs sensibles de la contamination métallique chez les invertébrés aquatiques (Amiard et al., 2006).

L'induction de la MT ainsi que de la SOD établissent conjointement un lien mécanistique entre l'exposition à des mélanges complexes de contaminants et les effets sous-létaux sur les organismes aquatiques qui constituent la base du régime alimentaire du saumon. Ces effets sous-létaux peuvent influencer la croissance et le développement des invertébrés aquatiques en plus d'influencer la structure de ces communautés (Keeley & Grant, 1997). Des travaux sur l'écologie alimentaire des juvéniles de saumon montrent que la composition des assemblages de macro-invertébrés et leur valeur nutritive, réduite en raison des effets sous-létaux de la contamination, influencent à leur tour la croissance et la condition des poissons (Keeley & Grant, 1997).

6. LACUNES DANS LA COMPREHENSION DES EFFETS DE CONTAMINANTS MULTIPLES DANS LES REFUGES THERMIQUES D'EAU FROIDE

Malgré l'importance reconnue des refuges thermiques d'eau froide pour la conservation du saumon atlantique, relativement peu d'études ont examiné explicitement comment une contamination chronique, provenant de plusieurs sources et transportée par des tributaires qui forment ces refuges peut affecter la qualité physico-chimique de l'habitat et l'état des communautés servant de ressource alimentaire au saumon atlantique (biofilm et insectes aquatiques) (Gillis et al., 2023). Les études existantes se concentrent souvent sur l'évaluation d'un ou deux contaminants à la fois sur des poissons en conditions de laboratoire, qui sont moins exigeantes que les conditions des milieux naturels, qui sont plus complexes et multifactorielles, sous-estimant les réponses des organismes. De plus, les organismes de petites tailles, dont les larves d'insectes aquatiques ainsi que les champignons et les bactéries, sont souvent délaissés, au détriment d'organismes tels que les poissons, ce qui limite nos connaissances.

Les travaux existants sur la rivière Rimouski se sont principalement concentrés sur la dynamique des populations, la gestion des pêcheries et le succès reproducteur, en accordant

moins d'attention aux voies de contamination au sein des habitats essentiels (Bouchard et al., 2022b). Cela révèle des lacunes majeures dans notre compréhension de l'interaction entre les multiples facteurs de stress anthropiques dans une rivière à saumon atlantique, puisque les effets additifs, synergiques ou antagonistes demeurent inconnus lorsque les études se limitent à évaluer l'effets des contaminants isolément.

De plus, ces études délaissent aussi souvent le gradient temporel ou effet de la saisonnalité, alors que cela est un facteur important pour comprendre les différentes dynamiques écosystémiques en milieux contaminés.

7. OBJECTIFS ET HYPOTHESES

7.1. Objectif principal

L'objectif principal de ce projet de recherche est d'évaluer les impacts cumulatifs de différentes sources de contamination de la rivière Rimouski et d'un de ses tributaires, le ruisseau de la Savane/Cavée sur l'environnement biotique et abiotique d'un refuge thermique pour le saumon atlantique (*S. salar*).

7.2. Premier objectif

Le premier objectif est de caractériser, sur un cycle annuel (octobre 2023 à novembre 2024), les différentes sources de contaminations potentielles de la rivière Rimouski et du ruisseau de la Savane/Cavée. Différents éléments clés dans l'eau ainsi que dans les sédiments ont été quantifiés pour répondre à cet objectif.

L'hypothèse émise est qu'un gradient de contamination sera observé sur la distribution spatiale, c'est-à-dire que les concentrations des contaminants augmenteront à force que l'on se rapproche de la source de contamination anthropique (LES, autoroute, zones agricoles). Nous anticipions i) une augmentation des concentrations en éléments traces métalliques (As, Pb, Cu, Zn, Fe, etc.) à proximité du LES, ii) une augmentation des concentrations en Na et

en Cl, reliées au LES ainsi qu'à l'épandage des sels de déglaçages, et iii) une augmentation des concentrations en SO_4^{2-}, NO_2^-, NO_3^-, principalement issus d'engrais, à proximité des zones agricoles.

De plus, il était attendu que les concentrations des différents contaminants observés varient en fonction du gradient temporel. Cette variabilité temporelle pourrait être observée aux épisodes de ruissellement, par une augmentation des concentrations de contaminants, à la période d'application des engrais (avril à septembre) par une augmentation des concentrations de SO_4^{2-}, NO_2^-, NO_3^-, ainsi qu'aux périodes d'épandages des sels de déglaçages (décembre à mars), par l'augmentation des concentrations de Na et en Cl. Les résultats du premier objectif sont présentés dans le premier chapitre.

7.3. Deuxième objectif

Le deuxième objectif est d'évaluer les impacts cumulatifs des différentes sources de contamination sur la diversité, la richesse ainsi que sur la composition taxonomique et fonctionnelle des communautés bactériennes et fongiques du biofilm, dans un contexte de transfert trophique. Le metabarcoding de l'ADNe ciblant les bactéries et les champignons a été réalisé afin de répondre à cet objectif. Les résultats du deuxième objectif sont présentés au chapitre 2 sous forme d'article scientifique.

L'hypothèse première était que la diversité ainsi que la richesse varient en fonction d'un gradient spatial suivant la contamination. Il était attendu que les communautés bactériennes et fongiques soient différentes en fonction du gradient de contamination, avec une fraction plus importante microorganismes opportunistes, pathogènes et parasites aux sites influencés par les contaminants d'origine anthropiques, tel que des espèces de bactéries appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Enterococcus* (Wu et al., 2024), et de champignons appartenant aux genres *Candida* et *Fusarium* (Zhang et al., 2025). Il était aussi attendu que les communautés varient en fonction de la saisonnalité, avec une plus grande proportion de taxa dégradant la matière organique durant l'été et l'automne.

7.4. Troisième objectif

Le troisième objectif est d'évaluer les impacts cumulatifs des différentes sources de contamination sur les proies principales des tacons, soit les larves de plécoptères. Différents éléments clés dans les insectes ont été quantifiés pour répondre à cet objectif.

Les résultats du troisième objectif sont présentés au chapitre 3 sous forme d'article scientifique.

7.4.1. Sous-objectif 3.1

Le premier sous-objectif est de caractériser la contamination chez les proies des saumons atlantiques par la quantification des concentrations de différents éléments inorganiques dans les tissus des plécoptères, ainsi que par l'évaluation du potentiel de bioaccumulation.

L'hypothèse émise était que les concentrations d'éléments traces métalliques seront plus élevées chez les individus récoltés aux sites en aval du LES qu'aux sites de références. En contrepartie, il était attendu que les concentrations d'éléments nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme et du métabolisme soient plus élevées chez les individus récoltés aux sites de références qu'aux sites contaminées.

7.4.2. Sous-objectif 3.2

Le deuxième sous-objectif est d'évaluer les effets sous-létaux (stress cellulaire et métabolique) des différents contaminants chez les larves de plécoptères. L'activité enzymatique de la SOD, ainsi que les concentrations de MT ont été quantifiées afin de répondre à ce sous-objectif.

L'hypothèse émise était que la concentration de MT suivrait le gradient des contaminants métalliques. Il était aussi attendu que l'activité enzymatique de la SOD augmente en période estivale ainsi que selon le gradient de concentrations de contaminants.

Ce projet de maîtrise s'inscrit dans un projet plus large réalisé lors de la période de 2023 à 2026 en partenariat avec l'Organisme des Bassins versants du Nord-Est du Bas Saint-Laurent financé par le Fonds pour dommages à l'environnements, un programme du gouvernement du Canada administré par Environnement et Changement climatique Canada. Ce projet visait à fournir un outil d'évaluation environnemental en proposant des indicateurs de contamination, notamment ceux associés à un ancien LES ainsi que des mesures de gestion visant à atténuer leurs effets afin d'assurer la préservation à long terme des refuges thermiques de la rivière Rimouski (OBVNEBSL, 2026). Ce projet incluait aussi une autre maîtrise dont les objectifs étaient de (i) déterminer l'effet des polluants sur l'abondance et la diversité des macro-invertébrés aquatiques et des diatomées de la rivière Rimouski ainsi que de (ii) comparer l'utilisation de la confluence du ruisseau de la Savane par le saumon atlantique lors de vague de chaleur à celles d'autres tributaires de la rivière Rimouski.

CHAPITRE 1
PORTRAIT DE LA CONTAMINATION INORGANIQUE DANS LA RIVIERE RIMOUSKI ET UN DE SES TRIBUTAIRES : LE RUISSEAU DE LA SAVANE/CAVEE

MISE EN CONTEXTE

Malgré l'avantage des refuges thermiques d'eau froide pour les saumons atlantiques en conditions de stress thermique dans les rivières, de nombreux tributaires d'eau froides qui sont à la source de ces refuges drainent des paysages fortement anthropisés. Le ruisseau de la Savane (à la hauteur des sites en zones agricoles), qui devient le ruisseau de la Cavée (à la hauteur de l'ancien LES de Rimouski), un tributaire de la rivière Rimouski qui est alimenté par les eaux souterraines n'y fait pas exception (Figure 7). Celui-ci est soumis à plusieurs pressions anthropiques susceptibles d'altérer la qualité de l'eau et des habitats aquatiques. On compte notamment, l'ancien LES de Rimouski (48.407967, -68.565429), l'autoroute ainsi que l'influence d'activités agricoles importantes (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

Lors de la construction de l'autoroute, un système de canalisation souterrain en béton a été mis en place pour diriger les eaux de ruissellement de l'autoroute vers le ruisseau de la Cavée (Figure 7 a, tracé rouge foncé). Les lixiviats du LES sont aussi en partie canalisés vers la conduite souterraine de l'autoroute avant que ces écoulements combinés se déversent à l'air libre par une buse (Figure 7 a) et rejoignent le ruisseau de la Cavée, qui ultimement, se jette dans la rivière Rimouski par une cascade. Donc, le site d'échantillonnage à la sortie de la buse (Figure 7 b), se trouve dans le ruisseau de la Cavée et reçoit les apports continus de contamination des lixiviats LES et les apports ponctuels de l'autoroute (épisodes de pluie ou de neige).

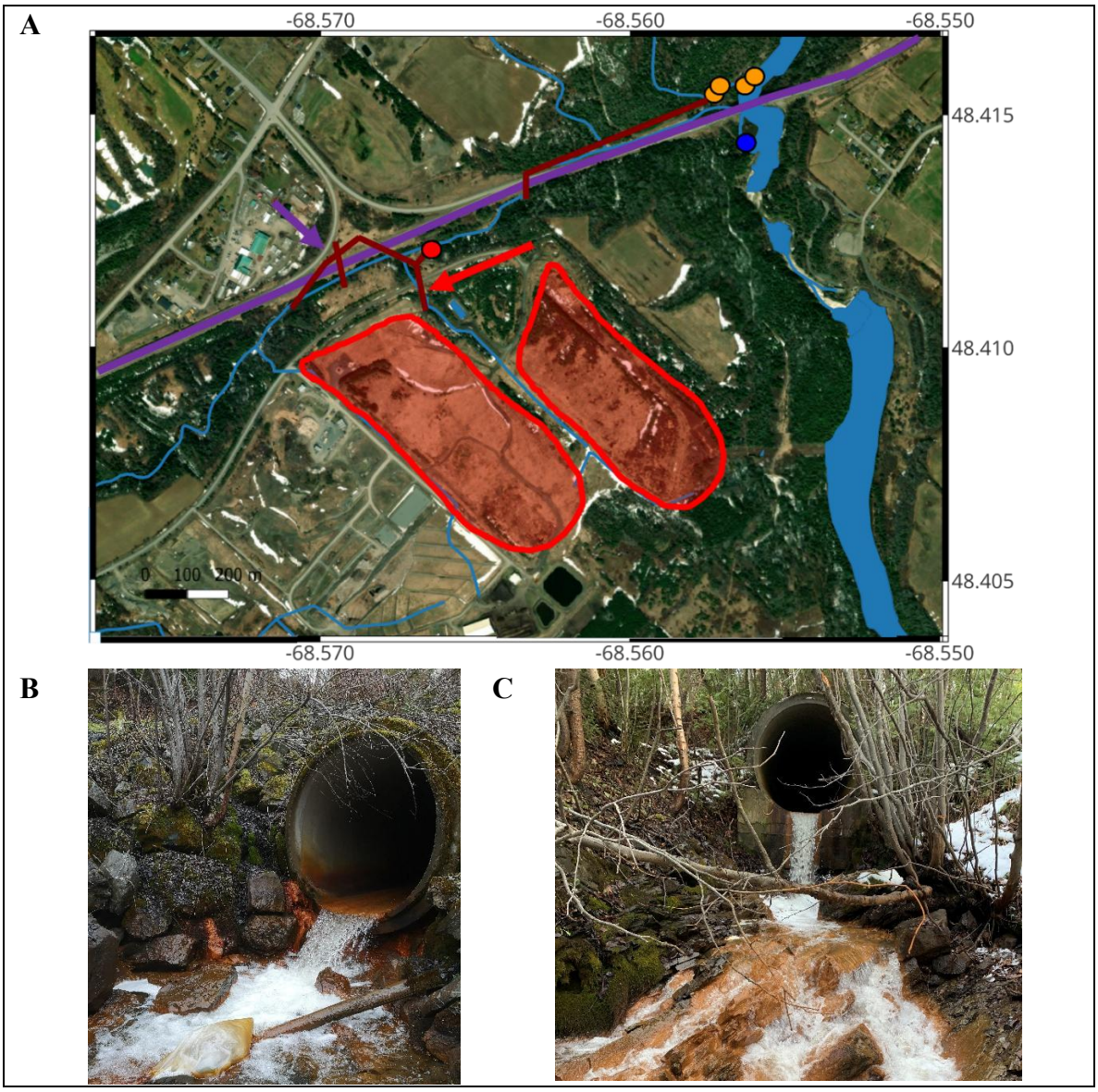


Figure 7. (a) Carte de la zone d'études. Les zones en rouges délimitent le LES, la ligne mauve représente l'autoroute A-20, et les lignes bordeaux représentent les canalisations. Les points d'échantillonnage sont représentés par des points de différentes couleurs, selon leur groupe (LES + autoroute : rouge, référence : bleu, en aval des sites agricoles, et de la buse qui draine le LES et l'autoroute : orange). Carte adaptée du Plan de localisation, du projet Secteur de l'ancien L.E.S. de Rimouski, réalisée par Jason Leblond et Caroline Poirier, du Service génie et environnement de la ville de Rimouski en janvier 2024 (Leblond, 2024). Le réseau hydrographique a été extrait de la Géobase de référence hydrographique du Québec (MELCCFP, 2023a). (b) Photo de la buse du système de canalisation de l'autoroute et du LES. Photo prise en novembre 2023. (c) Photo de la seconde buse du ruisseau de la Cavée. Photo prise en novembre 2023.

Avant de débuter l'étude, le site du refuge thermique était suspecté d'être utilisé par les saumons atlantiques lors de stress thermique (> 21 °C) dans la rivière Rimouski. Lors de campagnes d'observation menées en juin et juillet 2025, des alevins et tacons de saumons atlantiques ont été observés se réfugiant du stress thermique de la rivière à la confluence entre celle-ci et le ruisseau de la Cavée (Figure 2 c, d). Les températures de l'eau mesurées au refuge thermique se trouvaient en-deçà du seuil de stress thermique des saumons atlantiques (21 °C), ce qui permettait aux tacons de se nourrir à cet endroit, phénomène qui a été observé. En effet, les températures mesurées au site du refuge thermique (TR, lignes et points orangé, Figure 8) durant les mois d'été étaient nettement inférieures aux températures mesurées dans la rivière Rimouski (RIM, REF1 et REF3, Figure 8).

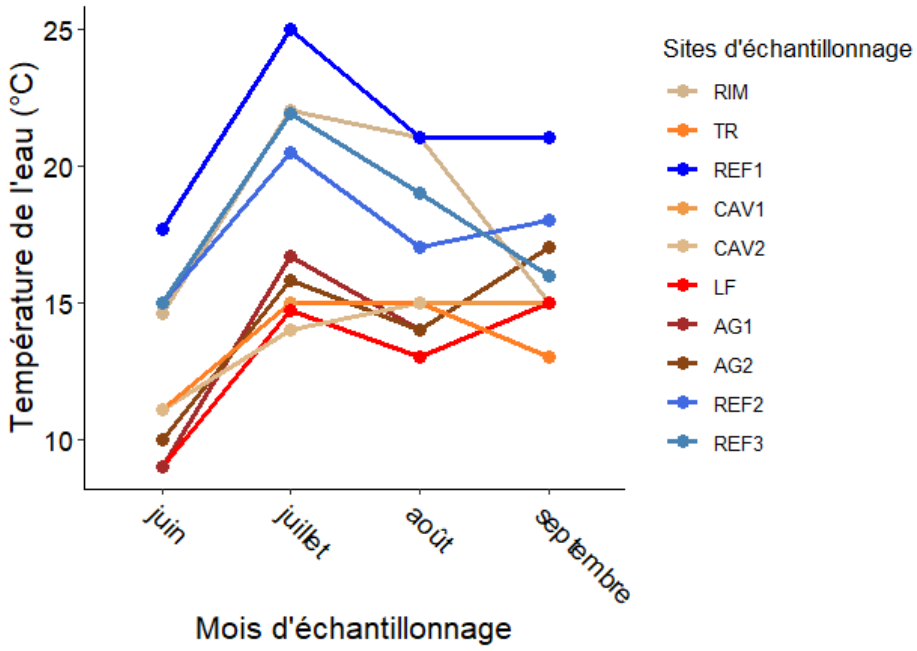


Figure 8. Températures de l'eau (°C), mesurées aux différents sites d'échantillonnage pour la période estivale 2024 (juin - septembre). Parmi les sites d'échantillonnage, REF1-3 représentent les sites de référence ; AG1-2, les sites en zones agricoles ; LF, le site directement en aval de la buse du ruisseau de la Cavée (Figure 7a) ; les sites CAV1-2 situés dans le ruisseau de la Cavée, en aval du LES, de l'autoroute et des zones agricoles ; TR, le

site du refuge thermique ; RIM, situé dans la rivière Rimouski, en aval du refuge thermique (Figure 9).

L'objectif de ce chapitre est de caractériser sur un cycle annuel (octobre 2023 à novembre 2024) les sources de contaminations potentielles de la rivière Rimouski et du ruisseau de la Savane/Cavée. Les éléments inorganiques observés sont des anions inorganiques dans l'eau (Cl^-, SO_4^{2-}, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}), des cations majeurs dans l'eau et dans les sédiments (Mg^{2+}, Ca^{2+}, Na^+, K^+) ainsi que des éléments potentiellement toxiques dans l'eau et dans les sédiments (Fe, Pb, Cu, Cr, Co, Zn, As, Mn, Al, Ba, B). Certains éléments et composés étudiés sont essentiels aux écosystèmes aquatiques, mais peuvent devenir des polluants nocifs lorsqu'ils sont présents en excès dans un milieu. Cette caractérisation permettait d'identifier les sources de contamination potentielles en observant les signatures chimiques de chaque élément, en plus de démontrer l'ordre de grandeur de contamination à chaque site.

MATERIEL ET METHODES

1.2.1. Zone d'étude

Le ruisseau de la Savane, qui devient le ruisseau de la Cavée, un tributaire de la rivière Rimouski, s'écoule à proximité du LES de Rimouski (48.407967, -68.565429), de zones agricoles et de l'autoroute A-20. Les rejets issus de ces zones peuvent affecter ces milieux aquatiques, entraînant une contamination de l'eau et des sédiments.

Les sites d'échantillonnage ont été séparés en 4 groupes (Figure 9). (i) Le groupe REF compte les sites de références (REF1-3), en amont de toute source de contamination. REF1 se trouve dans la rivière Rimouski, environ 120 m en amont du refuge thermique. REF2 se situe dans la rivière Macpès, un tributaire de la rivière Rimouski dans le milieu naturel de la réserve Duchénier. REF3 se trouve dans la rivière Rimouski, à sa confluence avec la rivière Macpès. (ii) Le groupe AG compte les sites en zones agricoles (AG1-2). (iii) Le groupe LF comte le site en aval du ponceau drainant les eaux du LES et de l'autoroute (LF : landfill).

(iv) Le groupe CS (cumulative stress) compte les sites en aval de toutes les sources de contaminations (agriculture, LES, autoroute). CAV1-2 se trouvent dans le ruisseau de la Cavée, après la buse qui permet au ruisseau de traverser l'autoroute, en amont du refuge thermique. TR (refuge thermique) se trouve à la confluence entre le ruisseau de la Cavée et la rivière Rimouski. RIM se trouve dans la rivière Rimouski, environ 60 m en aval du refuge thermique.

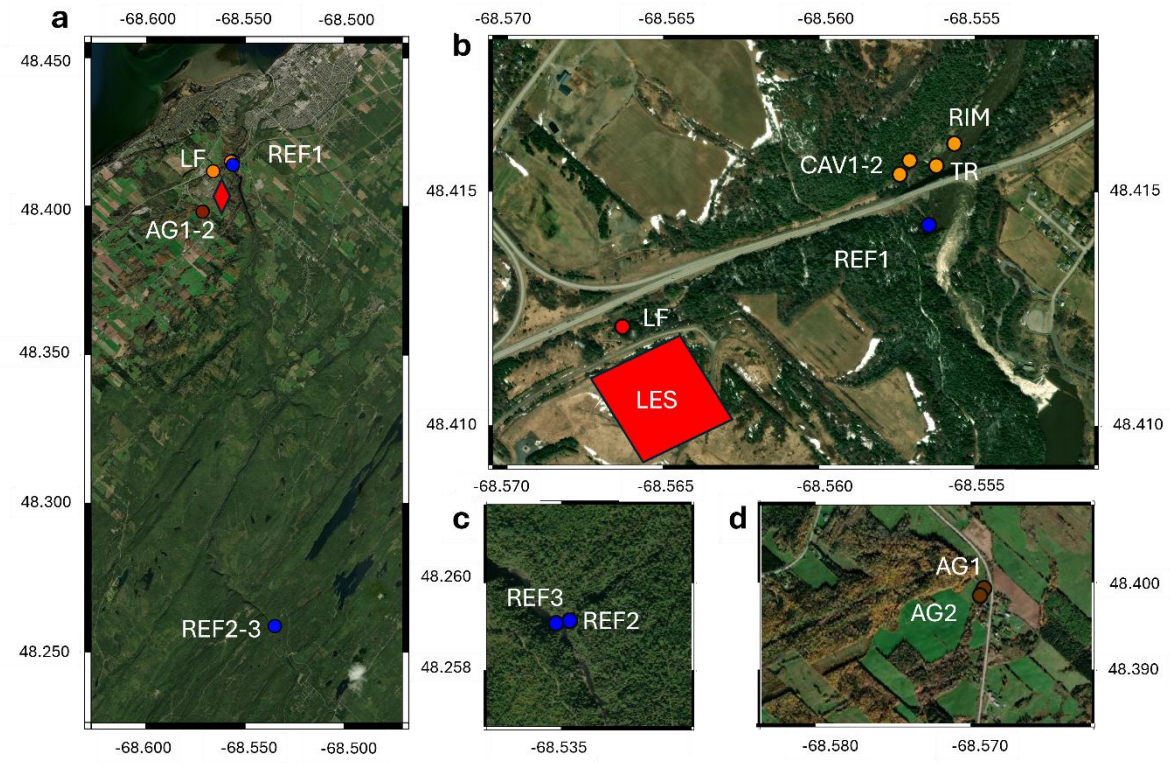


Figure 9. Carte incluant les positions des sites d'échantillonnage. (a) de vue plus éloignée, (b) de vue plus rapprochée dans le secteur du parc Beauséjour. (c) de vue des sites de références dans la réserve Duchénier, (d) de vue des sites en zone agricole.

1.2.2. Échantillonnage, traitements en laboratoire et analyses des contaminants inorganiques

Une fois par mois, d'octobre 2023 à novembre 2024, lorsque les conditions météorologiques et hydrologiques le permettaient, 24 échantillons d'eau, 30 de sédiment de

surface étaient prélevés. Au total, 297 échantillons d'eau, 309 de sédiment ont été collectés. Les paramètres physico-chimiques suivant étaient mesurés : pH, conductivité, température, vitesse de courant.

1.2.2.1. Fraction dissoute de l'eau

L'eau a été prélevée à l'aide de bouteilles Nalgene de 500 mL à tous les sites, à l'exception des sites CAV2 et AG2. Ce choix était justifié par les variations extrêmement faibles (pour la période octobre 2023-décembre 2023), ainsi que la proximité géographique entre les sites homologues (CAV1-2 ; AG1-2). Avant l'échantillonnage, les bouteilles étaient immergées dans un bain acide (HNO_3 10 %) pendant 24 h, rincées à l'eau ultra-pure (Type I), puis conditionnées par trois rinçages avec l'eau du site. Les échantillons ont été prélevés en triplicata.

Environ 500 mL d'eau de chaque échantillon ont été filtrés sur filtres Whatmann GF/F (42,5 mm, 1825-042, Cytiva) à l'aide d'une pompe à vide et d'un système de filtration en verre. L'appareil était nettoyé à l'isopropanol et rincé à l'eau ultra-pure (Type I) entre chaque échantillon.

Quarante millilitres d'eau filtrée ont été transférés dans des tube Falcon de 50 mL et acidifiés avec 1 mL d'acide nitrique concentré (Sigma Aldrich, grade ACS) pour stabiliser les métaux, puis conservés à 4 °C jusqu'aux analyses. Un blanc de méthode (500 mL d'eau ultra-pure (Type I) filtrée) a été préparé à chaque campagne mensuelle.

Les anions majeurs (Cl^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}) ont été quantifiés par chromatographie ionique haute pression (Thermo Scientific, Dionex Integrion HPIC) couplée à un échantillonneur automatique (Dionex AS-AP) à partir des échantillons d'eau filtrée. Les anions inorganiques étaient séparés sur une colonne d'échanges d'anions (Thermo Scientific, Dionex IonPac AS18, 4 × 250 mm, 285 µeq) ainsi que d'une pré-colonne (Thermo Scientific, Dionex Ionpac AG18 060551), muni d'un suppresseur d'anions à régénération dynamique (Thermo Scientific, Dionex ADRS 600 (4 mm)).

Les éléments traces métalliques et cations majeurs (Al, B, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, K, Mn, Mg, Na, Pb, Rb, Zn) dans l'eau filtrée et acidifiée ont été quantifiés par spectrométrie d'émission atomique à plasma micro-ondes (MP-AES, Agilent 4200) couplée à un échantillonneur automatique (CETAC ASX-520). Les concentrations ont été calculées à partir de courbes d'étalonnage spécifiques, et chaque mesure a été réalisée en triplicata.

1.2.2.2. Fraction labile des sédiments de surface

Les sédiments de surface ont été prélevés à tous les sites à l'aide d'une seringue de 5 mL dont le haut avait été coupé, puis transférés dans des tubes Falcon de 15 mL. Les tubes avaient été préalablement immergés 24 h dans un bain acide (HNO_3 10 %) et rincés à l'eau ultra-pure (Type I). Les prélèvements ont été réalisés en triplicata. Les échantillons de sédiment ont été conservés à –20 °C jusqu'à leur lyophilisation (48 h), puis entreposés dans un endroit sec à 20 °C.

Environ 150 mg de sédiments lyophilisés ont été pesés et placés dans des bombes à micro-ondes. Trois millilitres d'HNO_3 et un millilitre d'acide chlorhydrique (25%, Sigma Aldrich, grade ACS) ont été ajoutés à chaque échantillon. Les composés inorganiques ont été extraits par digestion acide assistée par micro-ondes (Anton Paar, Microwave digestive platform, Multiwave 5001) selon le protocole suivant : montée progressive à 175 °C en 18 min et maintien pendant 4 min. Des blancs de méthode et un matériel de référence standard (NIST-1944) ont été inclus à raison d'un par série de 8 échantillons. Le digestat a été dilué (1:10) dans l'eau ultra-pure (Type I), centrifugé pendant 3 minutes à 2500 g, puis 20 mL de surnageant ont été recueillis, dilués avec 20 mL d'eau ultra-pure (Type I) et conservés à 4 °C jusqu'à l'analyse. Les éléments métalliques et cations majeurs dans les digestats de sédiments ont été quantifiés selon la même méthode que pour l'eau. L'arsenic a été quantifié par spectroscopie d'absorption atomique à four graphite (GF-AAS, Agilent 200 Series AA). Les concentrations ont été calculées à partir de courbes d'étalonnage spécifiques, et chaque mesure a été réalisée en triplicata.

1.2.3. Facteur d'enrichissement (FE)

Pour les sédiments, un facteur d'enrichissement (FE) a été calculé selon l'équation suivante (Sutherland, 2000) : $FE = \frac{\left(\frac{C_{métal}}{C_{Al}}\right)échantillon}{\left(\frac{B_{métal}}{B_{Al}}\right)référence}$ où

$C_{\text{métal}}$= concentration du métal (ex. Zn, Pb, Cu)

C_{Al}= concentration de l'élément de référence (Al) dans l'échantillon

B_{ref}= concentration de fond de l'éléments aux sites de référence (REF1-3)

B_{ref}= concentration d'aluminium dans les sédiments des sites de référence (REF1-3)

Tableau 1. Seuils de classification du facteur d'enrichissement FE (Sutherland, 2000).

	Niveau d'enrichissement					
	Aucun	Mineur	Modéré	Sévère	Très sévère	Extrêmement sévère
Valeurs EF	< 1	1-3	3-5	5-25	25-50	> 50

1.2.4. Traitements statistiques

Afin de comparer les concentrations des différents éléments en fonction des sites et de la saisonnalité, les postulats de normalité et d'homoscédasticité de l'ANOVA ont été vérifiés respectivement par le test de Shapiro-Wilk et le test de Levene. Puisque les concentrations observées respectaient ces postulats, ces données ont été comparées à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA). Afin d'identifier les différences significatives entre les groupes, le test statistique post-hoc de Tukey a été utilisé. Des tests de corrélations de Spearman ont été réalisées afin d'observer les relations entre les différents éléments.

La structure globale de la composition chimique a été évaluée par PERMANOVA (distances euclidiennes) calculées à partir des concentrations standardisées. Le modèle incluait la catégorie de sites (AG, REF, LF, CS) et le mois d'échantillonnage ainsi que leur

interaction, avec 999 permutations et permutations restreintes à l'intérieur des sites pour tenir compte des mesures répétées. L'homogénéité des dispersions multivariées entre types de sites a été vérifiée à l'aide de la fonction betadisper suivie d'une ANOVA sur les distances au centroïde. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide de R version 4.4.3 et RStudio version 1.0.136.

RESULTATS

1.3.1. Profil physico-chimique

Les paramètres physico-chimiques (température, conductivité, pH, MPS), caractérisés afin de comparer les différents habitats, varient selon un gradient spatial ainsi que selon un gradient temporel (Figure 10).

Les températures mesurées au site TR sont 5 à 10 °C plus fraîches durant les mois de juin à août qu'aux sites dans la rivière Rimouski (RIM, REF1, REF3). On remarque que les températures mesurées dans la rivière durant cette période excèdent les températures induisant des effets physiologiques néfastes pour le saumon (21 °C), s'approchant de la température létale (25 °C). Cela témoigne de l'importance du refuge thermique étudié.

Globalement, la conductivité aux sites des groupes LF et CS (à l'exception du RIM), sont significativement plus élevée qu'aux sites des groupes AG et REF pour la période de juin à novembre 2024. Cette relation témoigne d'une charge en ions dissous plus importante aux sites des groupes LF et CS (à l'exception de RIM), suggérant des apports anthropiques riches en sels et métaux, provenant du LES et/ou de l'autoroute.

Le pH reste relativement stable dans le temps, avec de faibles variations saisonnières et inter-sites (LF < AG < CS), où les sites REF présentent les plus grandes variations saisonnières. Les MPS montrent de fortes variabilités temporelles d'octobre à juin, avec des pics ponctuels à l'automne et au printemps, ce qui suggère des apports plutôt liés à des événement hydrologiques (ex. précipitations, ruissellement) qu'à une pression chronique. La

faible variabilité saisonnière de la conductivité, du pH ainsi que des MPS au site LF (Figure 10) suggère un profil physico-chimique stable, suggérant que l'influence du LES domine sur celles ponctuelles de l'autoroute qui dépendent des événements de précipitation.

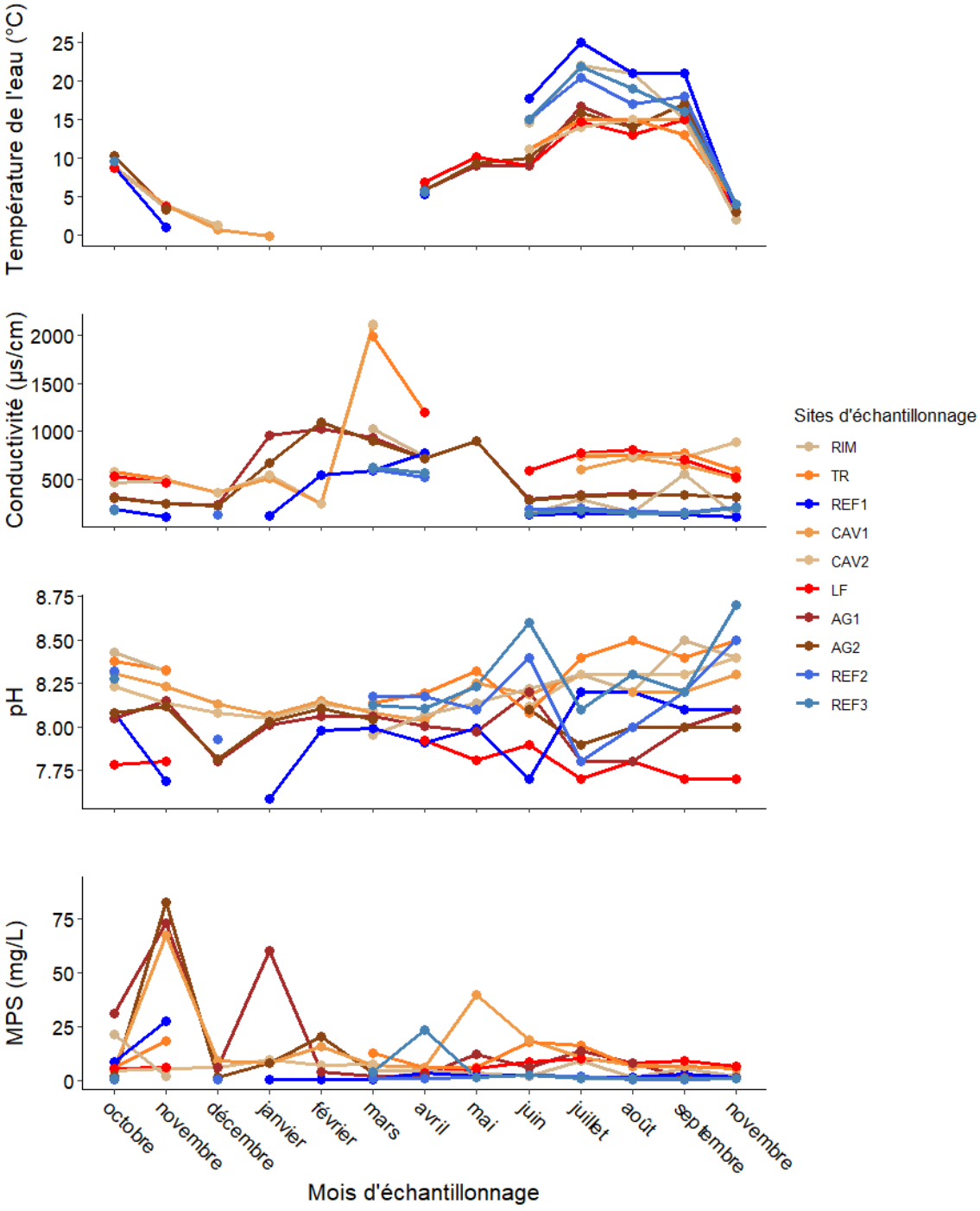


Figure 10. Présentation des paramètres physico-chimiques (température de l'eau (°C), conductivité (µs/cm), pH et MPS (mg/L)) des différents sites selon le moment

d'échantillonnage (octobre 2023- novembre 2024), $n_{température}$ = 82, $n_{conductivité}$ et n_{MPS}= 99, n_{pH} = 108.

1.3.2. Profils de contamination

Afin de tester si les profils chimiques différaient entre les sites, une PERMANOVA a été réalisée sur la matrice de dissimilarité. Cette PERMANOVA à mesures répétées (stratifiée par site) a montré des effets du groupe de site (AG vs LF vs CS vs REF) (R^2 = 0,04, p = 0,001) et du mois d'échantillonnage (R^2 = 0,11, p = 0,001). Toutefois, les analyses de dispersion multivariée (betadisper) montrent que ces groupes diffèrent aussi par leur variabilité interne (sédiments : F = 9,37. p < 0,001 ; eau : F = 16,35. p < 0,001), particulièrement aux sites situés en aval du LES et de l'autoroute (LF, CS).

Lorsque la PERMANOVA à mesures répétées (stratifiée par site) était effectué sur chacune des matrices (eau, sédiments) séparément, les modèles montraient que le mois d'échantillonnage expliquait la plus grande variation totale des concentrations dans les sédiments (R^2 = 0,41 ; F = 9,73; p = 0,001) et dans l'eau (R^2 = 0,32 ; F = 5,93 ; p = 0,001), suivi du groupe de site (sed : R^2 = 0,20 ; F = 28,12 ; p = 0,001; eau : R^2 = 0,24 ; F = 24,20; p = 0,001) et de l'interaction entre ces facteurs (sed : R^2 = 0,16 ; F = 2,26 ; p = 0,001; eau : R^2 = 0,19 ; F = 1.82 ; p = 0,001). Au total, le modèle explique 77 % et 75 % de la variabilité multivariée des profils chimiques dans les sédiments et dans l'eau, respectivement.

Afin de mieux interpréter ces différences de profils chimiques entre groupes de sites et dans le temps, il est nécessaire d'examiner plus en détail les concentrations individuelles des éléments et de les confronter aux critères de qualité environnementale.

1.3.2.1.Gradient spatial

Plusieurs des éléments étudiés (Cl^-, SO_4^{2-}, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, Ca, Na, K, Fe, Pb, Cu, Cr, Co, Zn, As, Mn, Al, Ba, B) sont potentiellement toxiques dans l'eau et/ou les sédiments pour les organismes vivants. C'est pourquoi des critères de qualité de l'eau et des sédiments

sont établis par le MELCCFP. Le Tableau 2 regroupe des critères de préventions de la contamination pour les organismes aquatiques, la protection de la vie aquatique (effets chroniques) et offre les critères les plus exigeants.

Tableau 2. Critères de qualité des eaux et sédiments de surface en eau douce. Adaptées des valeurs fournies par le ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs (MELCCFP) et Environnement Canada (Canada, 2007).

Éléments	Qualité de l'eau douce ($mg*L^{-1}$)	Qualité des sédiments d'eau douce ($mg*kg^{-1}$)				
		CER	CSE	CEO	CEP	CEF
Aluminium	0,1	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Arsenic	0,01	4,1	5,9	7,6	17	23
Bore	0,2	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Baryum	1	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Calcium	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Chrome	0,011	25	37	57	90	120
Cobalt	0,0007-0,0019*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Cuivre	0,00041	22	36	63	200	700
Fer	0.3	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Magnésium	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Manganèse	0.05	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Potassium	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Plomb	0,01	25	35	52	91	150
Sodium	200	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Zinc	0,081 [c]	80	120	170	310	770
Chlorures	120	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Nitrates	3	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Nitrites	0,2	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Phosphates	0,03	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Sulfates	500	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*

*dépend de la dureté de l'eau

CER : concentration d'effets rares, CSE : concentration seuil d'effets, CEO : concentration d'effets occasionnels, CEP : concentration d'effets probables, CEF : concentrations d'effets fréquents

Au site TR, les concentrations de Cu, Ba (juillet-août), Mn, NO_3 (mai-juillet) et NO_2 (septembre 2024) dans l'eau ont dépassé les critères de toxicité chronique pour les organismes aquatiques. Les concentrations de Fe dans les sédiments ont dépassé le seuil proposé par Persaud et al. (1993). Les valeurs de Pb ont dépassé la concentration seuil d'effet (CSE) en septembre et novembre 2024 et les concentrations d'effets occasionnels (CEO) en juillet

2024. Certaines valeurs de Cr et Zn ont dépassé les concentrations d'effets rares (CER), et en septembre 2024, la concentration de Zn a dépassé le CSE. Les concentrations de Cu ont dépassé le CER en juillet, septembre et novembre 2024. Les concentrations d'As ont dépassé le CEO en mars 2024, les concentrations d'effets probables (CEP) en mai et juin 2024 et les concentrations d'effets fréquents (CEF) pour les autres mois d'échantillonnage.

Concentrations des anions majeurs dans l'eau

Les concentrations mesurées des anions majeurs (novembre 2023 et mars 2024 à novembre 2024) variaient significativement selon les sites d'échantillonnage ($p < 0,05$) (Figure 11), à l'exception des concentrations de PO_4^{2-} et de NO_2^- (Figure 11 d, e).

Les concentrations en Cl^- (Figure 11 a) étaient significativement plus élevées aux sites des groupes LF et CS, comparativement aux sites du groupe REF ($p < 0,05$), suggérant une origine du LES et/ou de l'autoroute. Bien que les concentrations de Cl^- étaient supérieures aux sites agricoles qu'aux sites de référence, cette différence n'était pas significative.

Les concentrations en SO_4^{2-} (Figure 11 b) des sites des groupes AG, LF et CS étaient significativement plus élevées ($p < 0,05$) qu'aux sites REF1-3. Ces patrons indiquent une signature commune de contamination pour les secteurs anthropisés, possiblement liée aux apports agricoles et aux lixiviats du LES.

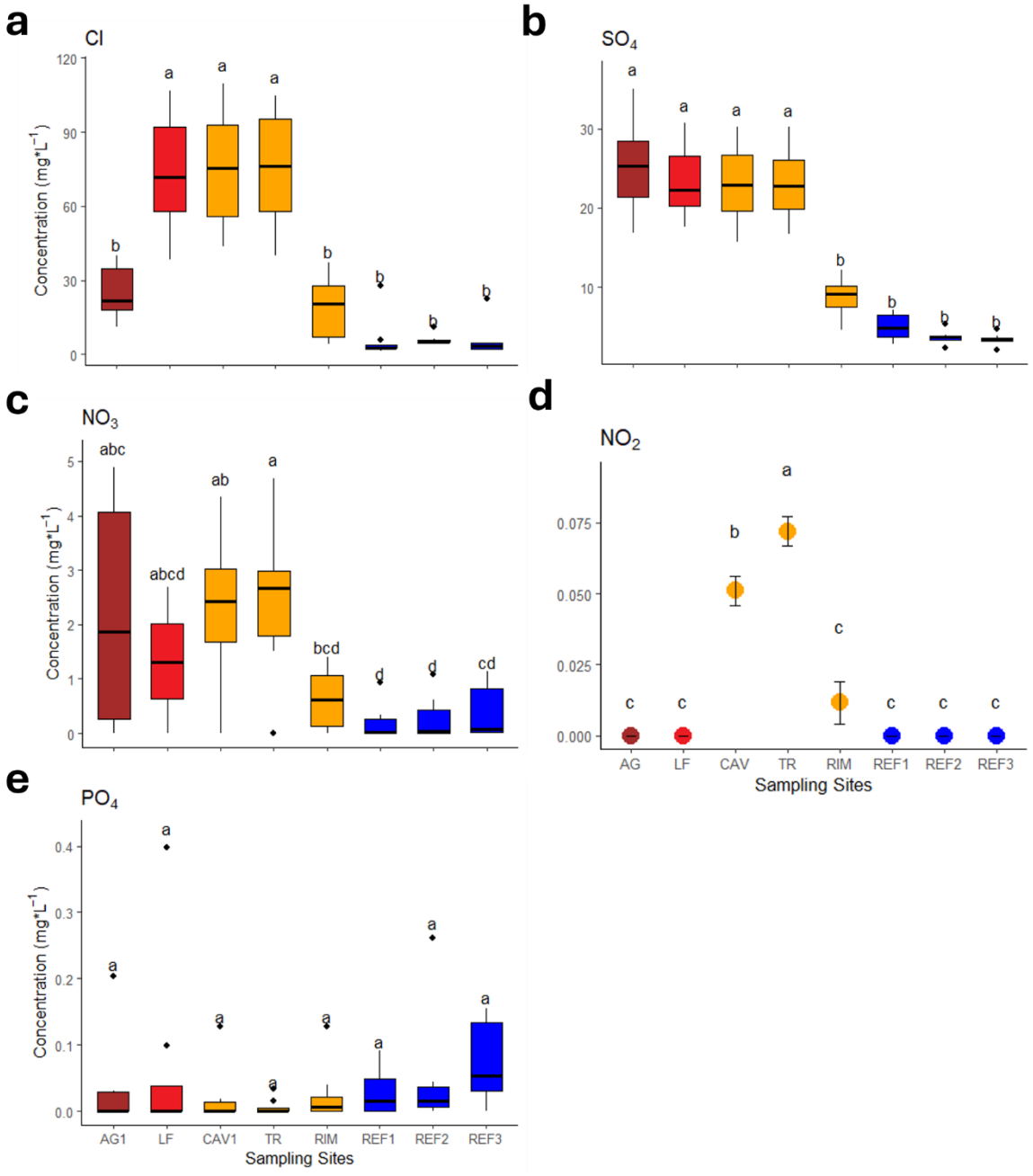


Figure 11. Concentrations des anions et nutriments inorganiques dans l'eau aux sites d'échantillonnage pour la période octobre 2023 à novembre 2024. Les ions observés sont (a) Cl^-, (b) SO_4^{2-}, (c) NO_3^-, (d) NO_2^- pour le mois de septembre 2024, (e) PO_4^{3-}. AG : brun ; LF : rouge ; CS : orange ; REF : bleu. n = 62

Les concentrations en NO_3^- (Figure 11c) suivaient une tendance similaire, où les sites des groupes AG, LF et CS présentaient des concentrations significativement plus élevées qu'aux sites de référence (< 1 mg L^{-1}), dépassant localement la valeur seuil de 3 mg L^{-1} pour la protection de la vie aquatique (Tableau 2). De plus, les concentrations à AG1 varient grandement, témoignant d'enrichissement saisonniers. Ces résultats traduisent une forte contribution des activités anthropiques aux apports en NO_3^- dans les eaux de surface.

Pour les NO_2^-, septembre 2024 est le seul mois d'échantillonnage où ces anions ont été observées, et seulement pour les sites du groupe CS (TR : 0,072 ± 0,005; CAV1 :0,051 ± 0,005; RIM :0,012 ± 0,007) (Figure 11d). Les valeurs observées à TR et CAV1 étaient supérieures au seuil de prévention de la contamination des organismes aquatiques (Tableau 2).

Nous observons une signature chimique typique des rejets liés au LES et au ruissellement routier pour le Cl^-, alors qu'une signature de ces rejets et de l'activité agricole est observée pour NO_3^- et SO_4^{3-}. Ces patrons reflètent un gradient de contamination décroissant depuis les sources anthropiques (agricoles + LES et/ou autoroute) vers les sites de référence situés en amont ou en dehors des zones impactées. Au site TR, les concentrations de Cl^-, SO_4^{2-}, NO_3^2 étaient statistiquement plus élevées ($p < 0,05$) qu'aux sites de référence.

Concentration des cations majeurs dans l'eau et les sédiments de surface

Les concentrations d'Al dans l'eau et les sédiments aux sites AG1-2 étaient plus élevés qu'aux sites REF1-3. Cette différence était significative pour les concentrations dans les sédiments ($p < 0,05$) (Figure 12a). Dans les sédiments, Al variait peu dans les sites de référence, mais montrait une hausse marquée de mars à juin 2024 à AG1-2. Le B présentait un patron inverse, avec des concentrations dissoutes qui étaient les plus élevées à CAV et TR et significativement supérieures à celles des sites REF1-3, suggérant une signature du LES/autoroute (Figure 12b).

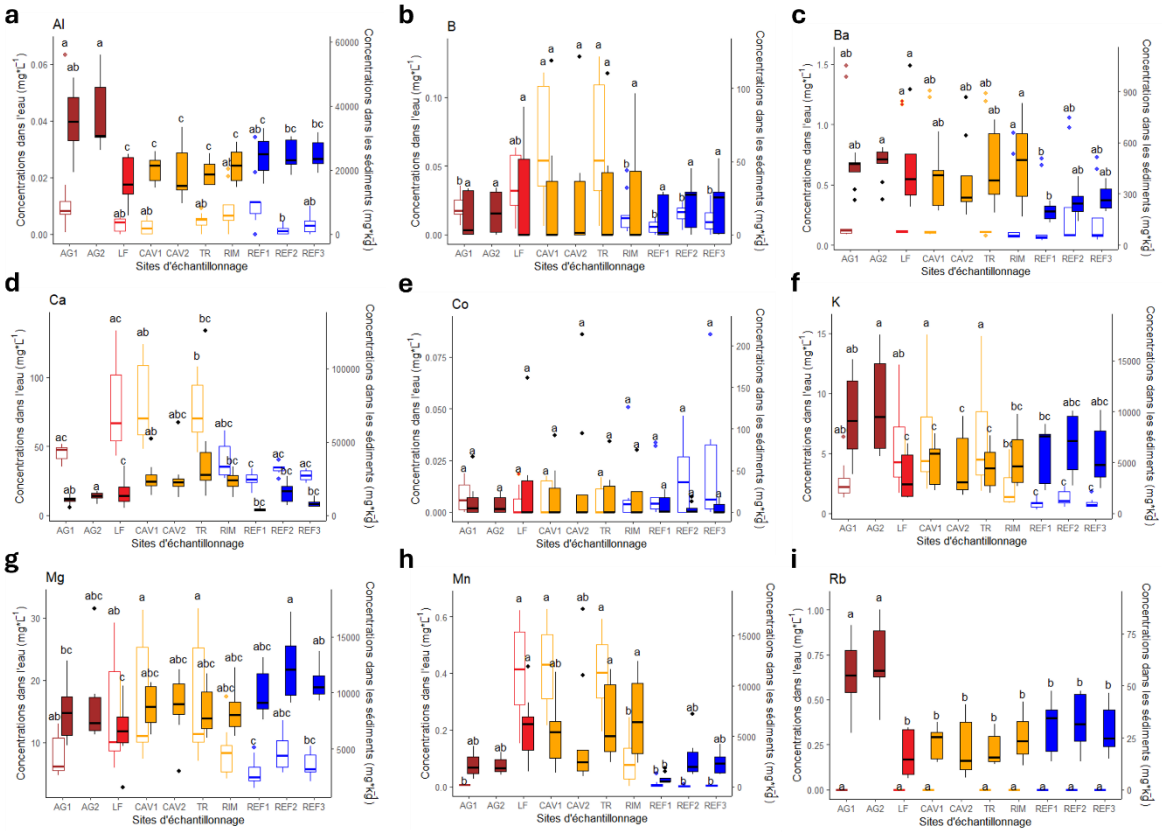


Figure 12. Concentrations de différents éléments dans l'eau (boîtes moustaches vides) et les sédiments (boîtes moustaches pleines) aux différents sites d'échantillonnage pour la période d'octobre 2023 à novembre 2024. Les éléments sont : a) Al, b) B, c) Ba, d) Ca, e) Co, f) K, g) Mg, h) Mn, i) Na, j) Rb. Les lettres représentent les différences statistiques ($p < 0,05$) effectuées par ANOVA suivi de test post-hoc de Tukey. Les concentrations sont comparées par sites, séparément pour l'eau et les sédiments. n_{eau}=70, $n_{sédiments}$=85.

Le Ba ne montrait de différences significatives entre les sites seulement pour juillet–août 2024, où les concentrations observées aux sites des groupes AG, LF et CS dépassaient les critères de toxicité chronique (Tableau 2). Dans les sédiments, les concentrations de Ba étaient significativement plus élevées à AG2, LF et RIM qu'à REF1 (Figure 12c). Le Rb n'était détecté que dans les sédiments, avec des concentrations significativement plus élevées aux sites agricoles (AG1-2), cohérentes avec une source liée aux engrais potassiques (Figure 12i). Supportant cette hypothèse, Rb montrait de fortes fluctuations à AG1-2.

Le K dans les sédiments suivait la même signature spatiale que Rb (Figure 12f), alors que dans l'eau les sites des groupes AG, LF et CS présentaient des concentrations significativement supérieures qu'aux sites REF1-3. Ces différentes dynamiques du K en fonction du milieu suggère des apports ponctuels (ruissellement, lixiviats), tandis que les sédiments agricoles retiennent davantage K^+ par des échanges cationiques. Le Mg dissous est significativement plus élevé aux sites des groupes LF et CS que dans les sites REF (Figure 12g), alors que dans les sédiments, l'inverse était observé (LF significativement plus faible que REF2-3) (Figure 12). Cette relation suggère que les apports en Mg dissous, sont principalement sous forme ionique (Mg^{2+}, fortement soluble) et d'origine anthropique (LES), alors que le Mg dans les sédiments aux sites de références provient de la géologie naturelle, expliquant la meilleure rétention particulaire. Enfin, les concentrations de Ca, Na et Mn dans l'eau comme dans les sédiments, étaient statistiquement plus élevés aux sites des groupes LF et CS qu'aux sites REF1-3 (Figure 12).

Globalement, ces patrons confirment des signatures chimiques distinctes : une empreinte du LES/autoroute pour Ca, Na, Mn, B, Mg, et une empreinte agricole pour Al, K et Rb. Au site TR, les concentrations de B (eau) et de K (eau) étaient statistiquement plus élevées ($p < 0,05$) qu'aux sites de référence.

Concentrations des éléments traces métalliques dissous dans l'eau et les sédiments de surface

Les concentrations en éléments traces métalliques dans l'eau ainsi que dans les sédiments de surface variaient significativement entre les sites d'échantillonnage ($p < 0,05$) (Figure 13). Dans l'ensemble, les sites des groupes LF et CS présentaient des concentrations plus élevées pour la majorité des métaux qu'aux sites REF1-3.

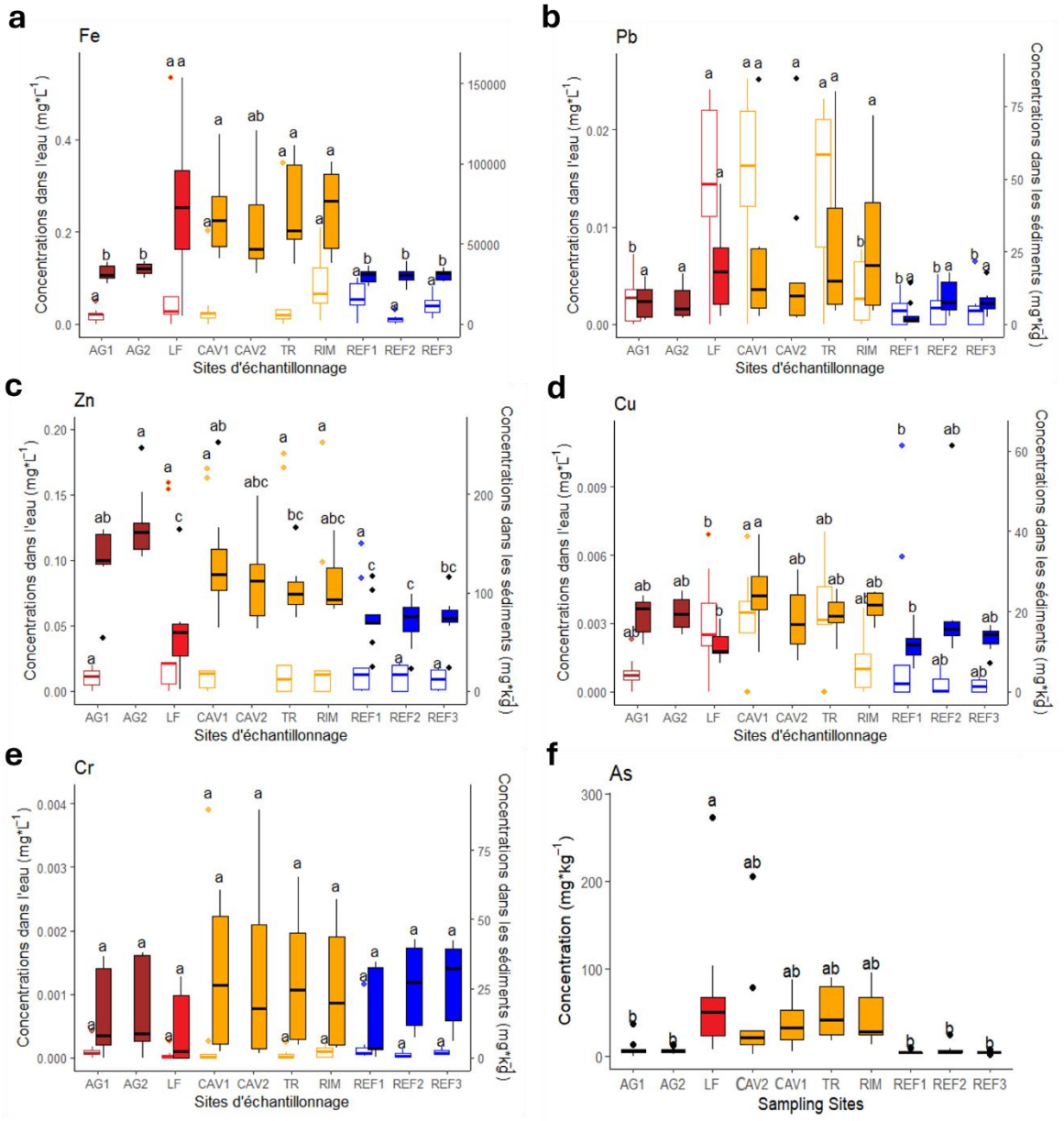


Figure 13. Concentrations de différents éléments traces métalliques dans l'eau (boîtes moustaches vides) et les sédiments (boîtes moustaches pleines) aux différents sites d'échantillonnage pour la période d'octobre 2023 à novembre 2024. Les éléments sont : a) Fe, b) Pb, c) Zn, d) Cu, e) Cr, f) As (dans les sédiments seulement). Les lettres représentent les différences statistiques ($p < 0,05$) effectuées par ANOVA suivi de test post-hoc de Tukey.

Les concentrations sont comparées par sites, séparément pour l'eau et les sédiments. n_{eau}=70, $n_{sédiments}$=85.

Les concentrations de Fe, Zn, Cr dissous ne différaient pas significativement entre les sites (Figure 13). Les milieux échantillonnés sont très oxygénés, favorisant la précipitation des oxydes de fer et expliquant les concentrations de fer dissous en deçà du seuil de détection. En revanche, le Pb et le Cu dissous étaient significativement plus élevés aux sites des groupes LF et CS qu'aux sites de référence (Figure 13). Dans les sédiments de surface, aux sites des groupes LF et CS, le Fe et l'As atteignaient des valeurs typiques de milieux fortement contaminés, tandis que les concentrations de Zn étaient significativement plus élevé aux sites AG1-2 qu'aux sites REF1-3. Aucune différence significative n'a été détectée pour le Pb, le Cu et le Cr dans les sédiments.

Plusieurs concentrations mesurées dépassaient les critères de toxicité chronique. Les concentrations de Pb et de Cu dissous excédaient fréquemment les seuils du CCME aux sites des groupes LF et CS. Dans les sédiments, les concentrations observées dépassent les seuils d'effets pour le Pb (CEO), le cuivre (CEO) et l'arsenic (CEF) (Tableau 2). Les concentrations de Zn dans les sédiments étaient souvent supérieures au CSE dans les sites anthropisés (AG, LF, CS). Les concentrations de Fe excédaient parfois 40 000 mg kg^{-1}, niveau associé à des effets sévères sur les organismes vivants (Persaud et al., 1993).

Dans l'ensemble, ces résultats mettent en évidence un gradient de contamination métallique décroissant depuis les sites en aval du LES et/ou de l'autoroute vers les sites de référence. Une signature typique des rejets liés au LES et au ruissellement routier (infrastructures métalliques, huiles et matériaux de construction, etc.) est observée pour l'As, le Fe, le Pb et le Cu. Les tendances observées de distribution spatiale des concentrations de Zn dans la fraction labile du sédiment de surface suggèrent une signature des utilisations de pesticides en agriculture.

Au site TR, les concentrations de Fe (sédiments) et de Pb (eau) étaient statistiquement plus élevées ($p < 0,05$) qu'aux sites de référence.

1.3.2.2.Gradient temporel

Nos résultats démontrent que la saisonnalité est le principal facteur structurant du profil chimique des sites (PERMANOVA), traduisant l'influence dominante des processus hydrologiques et biogéochimiques annuels. Les concentrations dans l'eau des éléments traces (Cu, Zn, Pb) et des métaux sensibles aux processus d'oxydoréduction (Mn, Fe, Co) d'apports anthropiques présentent des variations saisonnières prononcées, avec des pics importants observés à l'automne ainsi qu'au printemps (ANNEXE I).

À l'inverse, les sédiments montrent des concentrations plus stables dans le temps, ce qui suggère une intégration temporelle des apports. Certains éléments, comme Rb et Al, ne présentent que des variations importantes dans les sédiments, suggérant un effet tampon des sédiments. Leur distribution reflète l'intégration à long terme des apports, plutôt que des fluctuations saisonnières rapides observées dans la colonne d'eau.

Les patrons observés reflètent une hétérogénéité accrue des conditions chimiques dans les groupes AG, LF et CS, comparativement au groupe REF, suggérant que la contamination n'est pas constante, mais possiblement liée à des changements dans les conditions hydrodynamiques des plans d'eau (débit, niveau de précipitations, crues, etc.), les apports ponctuels de contaminants (ruissellements agricoles et routiers, lessivages) et la dynamique de remobilisation des éléments dans les sédiments.

1.3.3. Matrices de corrélations

Afin d'explorer les relations linéaires entre les concentrations des différents éléments, une matrice de corrélation de Spearman a été réalisée pour l'eau et pour les sédiments. Cette matrice met en évidence des regroupement distincts (Figure 14). Un premier bloc est constitué des éléments suivants : Ca (eau), Cl^- (eau), K (eau), Mg (eau), Mn (eau), Na (eau), As (sed), Fe (sed) et Mn (sed). Étant fortement corrélés entre eux, ces éléments suggèrent une source d'apport commune, soit le LES, ainsi que l'autoroute accessoirement. Un second

bloc est constitué des concentrations d'Al, Rb et K dans les sédiments. Leur co-variation positive suggère que les apports détritiques due à l'érosion ou au lessivage des sols proviennent d'un même assemblage de matériaux silicatés dans les sols.

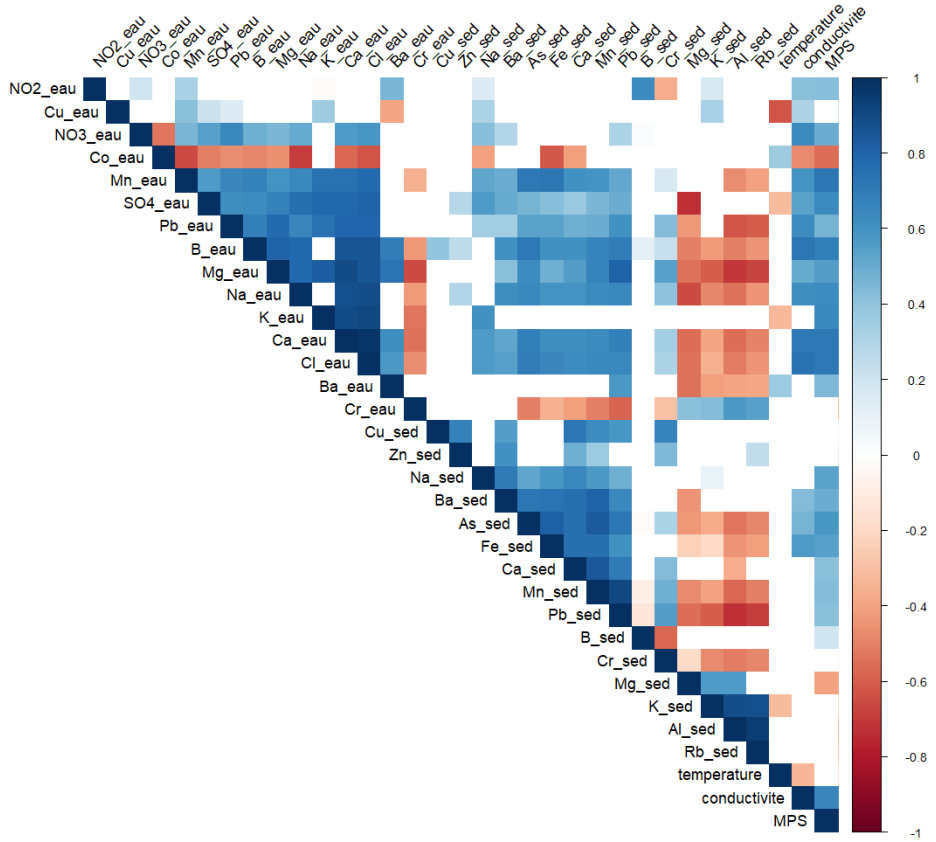


Figure 14. Matrice de corrélations de Spearman des concentrations de divers éléments quantifiés, ainsi que de paramètres physico-chimiques mesurés. Seulement les corrélations significatives ($p < 0,05$) et supérieures à |0,6| sont présentées. Chaque élément est suivi de la matrice, eau (_eau) ou sédiments de surface (_sed).

1.3.4. Facteur d'enrichissement

Les facteurs d'enrichissement (FE) ont été utilisés pour distinguer les variations suggérant des apports d'origine anthropique dans les sédiments de celles liées au fond géochimique naturel (Sutherland, 2000). Les FE calculés à partir de l'Al comme valeurs de

référence issues des sites de référence montrent des contrastes marqués entre les groupes de sites (Tableau 3).

Aux sites du groupe LF, les valeurs moyennes de FE indiquaient un enrichissement minimal (< 2) en Cu, K, Mg, Zn, un enrichissement modéré en B, Ba, Ca, Fe, Mn, Na, Pb (2-5), ainsi qu'un enrichissement significatif en As (19,64), et Co (7,06) (Tableau 3). Aux sites du groupe CS, les valeurs moyennes de FE montraient un enrichissement minimal en B, Ba, Cr, Cu, K, Mg, Zn (< 2), un enrichissement modéré en Ca, Co, Fe, Mn, Na, Pb et un enrichissement significatif en As (8.95). Aux sites AG1-2, les FE moyens présentaient des enrichissements minimaux en As, Ba, Co, K, Na, Rb et Zn (< 2). Les valeurs des autres éléments mesurés correspondaient aux concentrations des sites de références. Les sites de référence restaient proches du fond naturel.

Tableau 3. Moyennes des facteurs d'enrichissement (FE) des sédiments en fonction des groupes d'échantillonnage pour la période d'octobre 2023 à novembre 2024, utilisant les concentrations d'aluminium aux sites de référence comme valeur de fond géologique.

	Groupe d'échantillonnage			
Éléments	**AG**	**LF**	**CS**	**REF**
As	1,03	19,64	8,95	1,00
B	0,53	2,18	1,41	1,00
Ba	1,22	2,93	1,94	1,00
Ca	0,97	2,29	3,27	1,01
Co	1,08	7,06	3,91	1,00
Cr	0,68	0,69	1,56	1,00
Cu	0,91	1,10	1,55	1,00
Fe	0,77	3,70	2,63	1,00
K	1,33	0,76	1,27	1,00
Mg	0,54	0,87	1,07	1,00
Mn	0,71	4,17	3,26	1,01
Na	1,49	2,34	2,59	1,00

Pb	0,73	3,99	3,71	1,01
Rb	1,29	0,84	0,86	1,00
Zn	1,53	1,23	1,82	1,00

Le contraste observé entre les FE moyens des groupes LF + CS contre AG + REF suggère une contamination provenant de ruissellement (infrastructures routières) et/ou de lixiviats associés au LES, plutôt qu'un signal géogénique uniforme, comme cela semble être le cas pour AG + REF. Les enrichissements significatifs observés pour l'As et le Co et hautement modéré pour le Fe, le Mn et le Pb indiquent une anomalie marquée par rapport au fond géologique (REF dans ce cas-ci). L'As et le Co sont fréquemment associés aux oxydes de Fe/Mn. Leur hausse pourrait résulter à la fois d'apports anthropiques (LES, ruissellement routier, etc.) ainsi que d'une mobilisation sur phases Fe-Mn, ce qui est confirmé par l'observation des corrélations entre Fe-Mn-As-Co dans les sédiments (Figure 14).

DISCUSSION

1.4.1. Signatures chimiques observées et sources de contamination riveraine

Les valeurs observées de différents éléments et ions dans la fraction dissoute de l'eau ainsi que dans la partie labile du sédiment suivaient pour la plupart un gradient spatial et temporel de contamination cohérant avec les principales pressions anthropiques identifiées (LES, autoroute, agriculture) sur le bassin versant de la rivière Rimouski. Les gradients mis en évidence par la PERMANOVA et les analyses multivariées, démontrent que les sites de référence se distinguent par une composition chimique plus homogène et moins enrichie, alors que les sites en aval du LES et en zones agricoles présentent des signatures métalliques plus marquées et plus variables dans le temps.

1.4.1.1. Signature du LES

Les tendances observées des concentrations de Cu, Fe, Pb, Mn, Cl, Na, Mg suggéraient une première signature chimique, tenant sont origine du LES. Les enrichissements modérés ($3 \leq FE \leq 5$) de Fe, Mn et de Pb ainsi que les enrichissements modérément sévères d'As et de Co dans les sédiments aux sites en aval du LES suggèrent fortement que les apports de ces éléments sont d'origine anthropique. Cela appuie l'hypothèse que le LES est à l'origine de la contamination de ces éléments dans l'habitat du saumon.

Il est attendu de voir des signatures chimiques à ces sources puisque ces tendances ont été documentées pour des modèles similaires à travers le monde (Beinabaj et al., 2023; Nagarajan et al., 2012; Öman & Junestedt, 2008; Parvin & Tareq, 2021; Wdowczyk & Szymańska-Pulikowska, 2020). En effet, plusieurs études démontrent le potentiel des lixiviats de dépotoirs de contaminer les cours d'eau avoisinants (Gunarathne et al., 2024; Öman & Junestedt, 2008; Silwani et al., 2025; Wdowczyk & Szymańska-Pulikowska, 2020). Les concentrations plus élevées de métaux (ex. As, Cu, Fe, Pb et Mn) à proximité du LES sont compatibles avec la composition typique des lixiviats de dépotoirs municipaux. De nombreuses études montrent que les lixiviats de lieux d'enfouissement contiennent des niveaux importants de métaux (Fe, Mn, Cu, Pb, Zn, parfois As et Ba) ainsi que de forts chargements en ions majeurs (Cl^-, Na^+, Mg^{2+}, SO_4^{2-}, NO_3^-), qui peuvent contaminer les eaux souterraines et de surface, surtout dans le cas de lieux d'enfouissement à atténuation naturelle, comme l'ancien LES de Rimouski (Nagarajan et al., 2012; Wang & Qiao, 2024).

L'infiltration de l'eau de pluie à travers les déchets favorise la solubilisation des sels, de la matière organique et des métaux, générant un lixiviat concentré qui migre ensuite vers les exutoires de surface. Une fois dans le cours d'eau, ces métaux peuvent s'adsorber sur les oxydes de Fe et Mn ou sur la matière organique particulaire, ce qui explique leur présence dans la fraction labile des sédiments en aval du LES (Abdulrida et al., 2024; Abiriga et al.,

2021). Les corrélations fortement positives observées pour le Ca, Cl^-, Mg, Mn, Na, As, Fe, Mn soutiennent cette source commune du LES.

1.4.1.2. Signatures de l'autoroute

L'autoroute constitue une autre source pour plusieurs des mêmes éléments lors d'épisodes de précipitations. Le ruissellement routier est reconnu comme riche en métaux issus de l'usure des freins, des pneus, des carburants et des infrastructures (Cu, Zn, Pb, Fe, Mn, Ba) ainsi qu'en chlorures (Kelting & Laxon, 2010; McTaggart, 2019). De plus, l'utilisation massive de sels de déglaçage (principalement NaCl, parfois mélangés à des sels de Ca ou de Mg) lors de la période hivernale, entraîne des apports élevés en Na^+ et Cl^- vers les fossés et les petits cours d'eau, et ces sels peuvent augmenter la mobilité des métaux déjà présents dans les sols et les sédiments (Ebrahimi Gardeshi et al., 2024; Evans & Frick, 2001). Donc, la contamination dérivée du transport routier serait saisonnière et dépendante d'épisodes de précipitations, contrairement à la contamination dérivée du LES dont l'influence est plus permanente, reflétant une source continue plutôt qu'événementielle, comme suggéré par nos résultats.

Ainsi, la co-occurrence observée entre les concentrations de Cu, Fe, Pb, Mn, Cl^- et Na^+ dans la fraction dissoute et labile est cohérente avec une double influence du LES (via le lixiviat) et du réseau routier (via le ruissellement et les sels de voirie), avec une contribution du LES vraisemblablement dominante.

1.4.1.3. Signatures des activités agricoles

À l'inverse, les enrichissements mineurs en Rb, K, Al et Zn (EF < 3), observés principalement en zones agricoles, s'expliquent bien par les pratiques de fertilisation et d'amendement, ainsi que par l'érosion accrue des sols cultivés. Les engrais potassiques sont généralement des sels simples et constituent une source directe de K^+ et de SO_4^{2-} ou NO_3^- selon la formulation (KCl, K_2SO_4, KNO_3, etc.) (Howarth et al., 2005). Des travaux sur la

composition des fertilisants montrent par ailleurs que certains engrais à base de sulfate de potassium (K_2SO_4) peuvent contenir des quantités notables de Rb, tandis que des engrais phosphatés ou azotés (superphosphates, calcium-cyanamide) apportent du Ba en co-traceur (Senesi et al., 1983; Senesil et al., 1999). Ces résultats sont en accord avec l'association observée de Rb, K, Al et Ba aux sites en zones agricoles. En effet, leur co-variabilité observée suggère des apports communs dû à l'érosion ou le lessivage des sols agricoles, du même assemblage de matériaux silicatés du sol. De plus, ces éléments lithogènes sont portés par les mêmes phases minérales, donc ils ont tendance à varier ensemble.

La combinaison d'un enrichissement en NO_3^- et SO_4^{2-} dans les secteurs agricoles est cohérente avec un signal de fertilisation. En effet, le NO_3^- est un traceur classique de la fertilisation azotée. L'azote sous forme d'urée ou d'ammonium est rapidement nitrifié en NO_3^- dans les sols, puis exporté vers les eaux de surface par lixiviation et drainage, surtout lorsque les apports dépassent les besoins des cultures ou que les conditions hydrologiques favorisent les pertes (pluies intenses, sols saturés) (Salem et al., 2020). Les engrais sulfatés (ex. K_2SO_4, KNO_3) contribuent aussi aux apports en SO_4^{2-} dans les eaux de ruissellement (Salem et al., 2020).

Enfin, les concentrations élevées de Zn et Al dans les zones agricoles peuvent résulter à la fois des apports directs et des processus de mobilisation. Le Zn est fréquemment présent dans les engrais, les lisiers, les boues d'épuration et d'autres amendements organiques, ce qui conduit à son accumulation progressive dans les sols cultivés et à son export ultérieur par ruissellement et transport particulaire (Raven & Loeppert, 1997; Salem et al., 2020). L'Al, quant à lui, est surtout mobilisé par l'acidification et l'érosion des horizons de surface. La mise en culture, le travail du sol et la réduction de la couverture végétale favorisent l'export de particules fines (argiles, oxydes d'Al et de Fe) vers les cours d'eau, ce qui se traduit par un enrichissement en Al dans la fraction labile des sédiments en aval des parcelles cultivées (Salem et al., 2020). De plus, il existe des pesticides inorganiques à base de métaux, dont des rodonticides (phosphure de zinc, phosphure d'aluminium).

1.4.1.4. Signatures multiples

Le fait que certains éléments comme le Ba, SO_4^{2-} et NO_3^- soient associés à la fois aux sites en aval du LES/autoroute et des zones agricoles suggère une signature chimique mixte. Ces éléments peuvent être apporté à la fois par des fertilisants commerciaux, par des engrais minéraux, par certains déchets mis en enfouissement, et par dégradation de la matière organique (Nagarajan et al., 2012; Senesi et al., 1983). Dans ce contexte, les gradients observés dans la fraction dissoute de l'eau et labile des sédiments ne reflètent pas une source unique, mais plutôt la superposition de plusieurs pressions anthropiques dont les signatures chimiques se recoupent. Cette convergence rend d'autant plus importante l'analyse conjointe des profils spatiaux, des patrons temporels et de l'occupation du sol pour interpréter les sources de contamination et leurs mécanismes de transfert dans le continuum eau–sédiment.

1.4.2. Effet de la saisonnalité sur les profils de contamination

Les résultats de cette étude indiquent que la composition chimique de l'eau et des sédiments est structurée à la fois par le gradient spatial de contamination (sites de référence vs sites impactés) et par une forte variabilité temporelle, la composante saisonnière expliquant à elle seule une plus grande part de variance que le groupe de site. L'interaction significative entre le type de site et le mois suggère que l'intensité du gradient de contamination n'est pas constante dans le temps. C'est-à-dire que les différences entre les sites de référence et les sites impactés se renforcent ou s'atténuent selon la période de l'année, possiblement en lien avec les conditions hydrologiques (débit, crues), les apports ponctuels de contaminants (ruissellement agricole, lessivage) et la dynamique de rétention ou de remobilisation des éléments dans les sédiments. Ainsi, la structure chimique des sédiments reflète un compromis entre des pressions anthropiques persistantes et des processus saisonniers qui modulent l'expression du gradient de contamination.

1.4.3. Risques écotoxicologiques

Bien que plusieurs des éléments étudiés sont des éléments traces essentiels (Fe, Zn, Cu, Mn) ou des nutriments essentiels (SO_4^{2-}, NO_2^-, NO_3^{2-}) pour les organismes vivants, ceux-ci peuvent devenir potentiellement toxique lorsque présent en excès (Sauliutė & Svecevičius, 2015). Dans les sites étudiés en aval du LES, de l'autoroute ainsi que des zones agricoles, plusieurs de ces éléments ou ions sont retrouvés en excès (Figure 11 ; Figure 12 ; Figure 13).

En effet, les concentrations mesurées de Pb, Zn, Cu, NO_3^{2-} et NO_2^- dans l'eau avaient des concentrations supérieures aux critères de toxicité chronique, dont les sites en aval du LES et/ou de l'autoroute, dont le refuge thermique utilisé par les saumons atlantiques (Tableau 2). Parallèlement, les concentrations de Pb, As, Cu, Cr dans les sédiments aux mêmes sites excédaient différents critères d'effets (CSE à CEF) sur les organismes aquatiques (Tableau 2). Il est donc attendu que l'impact de cette contamination sur les organismes vivants soit fortement néfaste, spécialement pour les espèces sensibles ou en danger, comme c'est le cas pour la population de saumons atlantique qui fréquente la Rivière Rimouski. Compte tenu de la taille de l'éventail de contaminants présents, il est estimé qu'il y ait des interactions entre les contaminants, dont des interactions synergiques.

Parmi les impacts estimés, on compte des troubles ionorégulateurs et respiratoires (Lewis Jr & Morris, 1986; Playle, 1998; Remya et al., 2015), des inhibitions enzymatiques, du stress oxydatif (Eroglu et al., 2015), des troubles reproducteurs (Rachamalla et al., 2025), des délais de développement (Jezierska et al., 2009; Rachamalla et al., 2025), des malformations (Sfakianakis et al., 2015), etc. Or, la biodisponibilité des contaminants, donc leur toxicité, varie avec plusieurs paramètres, dont le potentiel REDOX, le pH, la matière organique, la présence d'autre contaminants, etc. (Rainbow, 2007; Rodea-Palomares et al., 2015). De plus, la présence de plusieurs contaminants aux mêmes sites peut produire des effets d'addition, ou d'interactions synergiques et antagonistes très difficiles à prévoir (Backhaus & Faust, 2012). Ces contaminants peuvent atteindre les organismes par plusieurs voies d'exposition, notamment par l'absorption directe depuis l'eau (branchies, contact

dermique, etc.), l'ingestion de particules sédimentaires et via l'eau porale, ainsi que via l'alimentation (transfert trophique).

La présence d'As est particulièrement inquiétante pour les organismes aquatiques. Aux sites en aval du LES, les concentrations d'As mesurées dans les sédiments dépassaient le CEF de la CCME (Tableau 2), soit le plus haut critère. Par ailleurs, les FE observés à ces sites suggèrent un enrichissement modérément sévère, renforçant l'hypothèse d'apports anthropiques. Dans les milieux aquatiques, les sédiments constituent une voie d'exposition majeure, car l'As présente une forte affinité pour les oxydes de Fe/Mn. Cet élément peut affecter directement les invertébrés benthiques, dont les proies des saumons, entraînant des changements comportementaux, et même la mortalité des individus, diminuant leur abondance, en plus de se transférer ensuite aux saumons par transfert trophique lors de l'alimentation (Zhang et al., 2022). Conjointement, les salmonidés exposés à des concentrations chroniques élevées d'As (à la hauteur de celles observées dans les sédiments aux sites en aval du LES) subissent des effets sous-létaux tels que la réduction de la croissance et de l'alimentation (Erickson et al., 2019), des atteintes physiologiques ainsi qu'une baisse du succès reproducteur (Kocabaş et al., 2022; Silva et al., 2023).

Le phénomène de la salinisation des cours d'eau

Un autre danger pour les communautés des écosystèmes riverain est la salinisation des cours d'eau. Celle-ci correspond à l'augmentation progressive des concentrations en sels dissous (surtout Na^+ et Cl^-, mais aussi Ca^{2+}, Mg^{2+}, SO_4^{2-}, etc.), souvent liée aux sels de voirie, aux rejets urbains et industriels, ainsi qu'aux drainage agricoles, et dans le cadre de cette étude, principalement liée aux LES. La salinisation de l'eau modifie sa conductivité et peut dépasser les seuils de tolérance de nombreuses espèces d'eau douce, entraînant une réduction de la diversité et un déplacement des communautés vers des taxa plus tolérants. La hausse de salinité peut affecter aussi la toxicité d'autres contaminants (ex. métaux, ammonium), la structure des biofilms et la décomposition de la matière organique, en modifiant l'osmose et le métabolisme des organismes (Hintz & Relyea, 2019; Kaushal et al., 2018; Schuler et al.,

2017). À long terme, ces changements peuvent altérer le fonctionnement des réseaux trophiques et les services écosystémiques riverains (épuration, habitats pour la faune, etc.) (Hintz & Relyea, 2019; Schuler et al., 2017).

Potentiel de bioaccumulation et bioamplification

Un autre risque pour les organismes aquatiques est la bioaccumulation. Celle-ci, toutes voies confondues, est attendue pour plusieurs éléments, dont plusieurs métaux. La bioamplification le long du réseau trophique aussi pose un problème réel (ex. As, Pb (Saidon et al., 2024)). La dynamique d'accumulation de ces éléments traces métalliques varie en fonction du taux d'accumulation et d'élimination par l'organisme, qui diffère selon les espèces (Ali & Khan, 2018). Si ces contaminants ne sont pas éliminés par les organismes aquatiques, leurs concentrations tendent à augmenter le long de la chaîne alimentaire aquatique, rendant les prédateurs, dont les saumons, parmi les organismes les plus vulnérables aux effets toxiques (Hare, 2013). Aussi, le potentiel de bioamplification à travers la chaîne alimentaire aquatique est fortement influencée par les paramètres environnementaux (Saidon et al., 2024).

CONCLUSIONS

Les résultats de ce chapitre ont été intégrés dans un plan de gestion remis à Environnement et changements climatiques Canada (OBVNEBSL, 2026). Ceux-ci montrent que la composition chimique de l'eau et des sédiments de surface dans le continuum du ruisseau de la Savane/Cavée jusqu'à sa confluence avec la rivière Rimouski, est structurée principalement par un gradient spatial de contamination ainsi qu'un gradient temporel, avec une variabilité plus forte et plus hétérogène dans les secteurs anthropisés (AG, LF, CS), suggérant des apports intermittents (ex. ruissellements, lessivages).

Des signatures distinctes et FE ont permis d'en identifier les sources. Le LES serait à l'origine principale de la contamination en As, Cu, Fe, Pb, Mn, Cl^-, Na, Mg, Ca, B et Mn, alors que l'autoroute participerait aussi, à moins grande échelle, à la contamination en Na,

Cl^-, Ca, Cu et Pb des cours d'eau étudiés lors d'épisodes de précipitations. Les activités agricoles seraient à l'origine de l'enrichissement mineur en Rb, K, Zn et Al, alors qu'une signature mixte du LES et des activités agricoles a été établies pour Ba, NO_3 et SO_4.

Les concentrations de plusieurs de ces contaminants dépassent les critères de toxicité chronique dans l'eau (Pb, Cu, Zn, NO_3^- et NO_2^-) et dans les sédiments (Pb, Cu, Cr, As, Fe, Zn et Ba à certains moments), y compris au refuge thermique utilisé par les tacons, ce qui indique un risque réel pour la vie aquatique. En plus d'être directement affecté par les contaminants, les saumons peuvent être indirectement impactés via leur alimentation (ex. proies de moins bonne qualité).

Dans ce contexte, le refuge thermique étudié apparaît comme un habitat thermiquement favorable, mais chimiquement vulnérable, où la superposition de multiples contaminants (métaux, nutriments, sels) et leurs interactions potentielles (additives ou synergiques) représentent une menace particulière pour les organismes sensibles et les prédateurs supérieurs.

CHAPITRE 2
CONTAMINATION-DRIVEN RESTRUCTURING OF BACTERIAL AND FUNGAL BIOFILM COMMUNITIES IN A THERMAL REFUGE

L'article suivant : « Contamination-driven Restructuring of Bacterial and Fungal Biofilm Communities in a Thermal Refuge », sera envoyé pour révision par les pairs, pour une publication dans la revue *Environmental DNA*. En tant que première auteure, j'ai contribué à l'essentiel de l'ajustement des méthodes, de l'exécution des traitements et analyses en laboratoire et statistiques, des interprétations, ainsi que de la conception des figures. Les professeurs Richard St-Louis et Souhir Marsit, co-derniers auteurs, ont participé aux interprétations ainsi qu'à la révision de l'article. La professeure Souhir Marsit, a aussi participé aux analyses génétiques et bio-informatiques. Le professeur Richard St-Louis a aussi participé à l'élaboration initiale du projet de recherche.

Les résultats de ces travaux de recherches ont fait l'objet de communications orales lors de la réunion scientifique annuelle de Québec Océan les 26 et 27 février 2025 à Rivière-du-Loup, au colloque conjoint de Chapitre Saint-Laurent et Écotoq du 9 au 11 juin 2025 à Montréal, ainsi qu'à la réunion annuelle du *Canadian Ecotoxicology Workshop* (CEW) du 5 au 8 octobre 2025 à Victoria (Colombie-Britannique).

RESUME EN FRANÇAIS DU PREMIER ARTICLE

Les champignons et les bactéries sont des éléments clés des biofilms benthiques et jouent un rôle essentiel dans les écosystèmes d'eau douce. Les assemblages de biofilms sont sensibles à de multiples facteurs de stress, notamment les oligo-éléments, les nutriments et les sels de voirie. Dans le bassin versant de Rimouski (Canada), les lixiviats d'une ancienne décharge, les eaux de ruissellement des autoroutes et les activités agricoles atteignent les cours d'eau adjacents. Des sites du ruisseau de la Cavée et de la rivière Rimouski, y compris un refuge thermique, présentent des concentrations élevées de métaux (As, Fe, Pb, Cu) et de nutriments dans l'eau et les sédiments de surface, avec plusieurs valeurs dépassant les seuils canadiens d'effets chroniques pour les organismes aquatiques. Puisque les biofilms contribuent aux réseaux trophiques d'eau douce par la production primaire, la décomposition et le recyclage des nutriments, les changements dans leur composition peuvent se répercuter à travers la chaîne trophique. Il est crucial de comprendre comment les mélanges de contaminants affectent leur composition.

Cette étude a examiné l'impact d'un « cocktail » de contaminants sur les communautés bactériennes et fongiques des biofilms selon des gradients spatiaux et saisonniers, y compris dans un refuge thermique pour le saumon atlantique. Grâce au metabarcoding de l'ADN environnemental, nous avons étudié la composition taxonomique et inféré la structure fonctionnelle des bactéries et des champignons.

Nos résultats montrent que la richesse et la composition des communautés varient en fonction des profils de contaminants. La richesse taxonomique des bactéries et des champignons atteint un maximum aux sites impactés par les éléments traces métalliques. Du point de vue de la composition, les sites contaminés présentent des abondances relatives plus élevées de taxons opportunistes, tolérants aux contaminants, parasites et potentiellement pathogènes. Les analyses multivariées indiquent que les métaux (As, Pb, Fe, Al, Cu, Mn) et les ions/nutriments (SO_4^{2-}, Cl^-, NO_3^-) expliquent significativement la variation des communautés.

Globalement, ces résultats suggèrent que l'enrichissement en métaux et en nutriments déstabilise les assemblages naturels de biofilms et oriente les communautés vers des taxa tolérants à la pollution et potentiellement pathogènes, ce qui a des implications sur la qualité des biofilms et les niveaux trophiques supérieurs.

CONTAMINATION-DRIVEN RESTRUCTURING OF BACTERIAL AND FUNGAL BIOFILM COMMUNITIES IN A THERMAL REFUGE FOR ATLANTIC SALMON

Sandrine Picotte[1,2], Clara Julliard[3], Raphaële Terrail[3], Richard St-Louis[2 *], Souhir Marsit[2 *],

[1] Institut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, 310 Allée des Ursulines, Rimouski (Québec), G5L 2Z9, Canada

[2] Département de biologie, chimie et géographie, Université du Québec à Rimouski, 300 Allée des Ursulines, Rimouski (Québec), G5L 2Z9, Canada

[3] Organisme des bassins versants du Nord-Est du Bas Saint-Laurent, 5 Rue St Paul bureau 3, Rimouski (Québec), QC G5L 1S8, Canada

[*] Both are co-senior authors, as they contributed equally to the supervision of this work. Their names appear in alphabetical order.

ABSTRACT

Fungi and bacteria are keystone components of benthic biofilms and play essential roles in freshwater ecosystems. Biofilm assemblages are sensitive to multiple stressors, including trace elements, nutrients and road salts. In the Rimouski (Canada) watershed, leachates from a closed sanitary landfill, highway runoffs and agricultural activities reach adjacent watercourses. Sites in the Cavée Creek and the Rimouski River, including a thermal refuge, show elevated concentrations of metals (As, Fe, Pb, Cu) and nutrients in water and surface sediments, with several values exceeding Canadian chronic-effect thresholds for aquatic organisms. Because biofilms contribute to freshwater food webs through primary production, decomposition, and nutrient recycling, shifts in their composition can propagate through the trophic chain. Understanding how contaminant mixtures affect their composition and functioning is critical.

This study investigated the impact of a contaminant "cocktail" on bacterial and fungal biofilm communities along spatial and seasonal gradients, including an Atlantic salmon thermal refuge. Using eDNA metabarcoding, we investigated taxonomic composition and inferred functional structure for both bacteria and fungi.

Our results show that community richness and composition varied with contaminant profiles. Taxonomic richness for bacteria and fungi peaked at metal-impacted sites. Compositionally, contaminated sites showed higher relative abundances of opportunistic, contaminant-tolerant, parasitic, and potentially pathogenic taxa. Multivariate analyses indicated that metals (As, Pb, Fe, Al, Cu, Mn) and ions/nutrients (SO_4^{2-}, Cl^-, NO_3^-) significantly explained community variation.

Overall, these findings suggest that metal and nutrient enrichment destabilize natural biofilm assemblages and shift communities toward pollution-tolerant and potentially pathogenic taxa, with implications for biofilm quality and higher trophic levels.

Keywords: eDNA, bacteria, fungi, environmental contamination, landfill, parasites, pathogens

INTRODUCTION

Anthropogenic contaminants such as trace elements and major ions can enter riverine environments from residential and industrial wastewater discharges, landfills leachate as well as fertilizers and pesticides use in agriculture (Wen et al., 2024) through soil erosion, rainfall, surface runoffs and other climate driven factors (Wen et al., 2024). These contaminants can enter the food chain at every trophic level and bioaccumulate in living organisms through consumption (Hu et al., 2021). They can also bioamplify through the food chain, posing a direct threat to aquatic life in streams (Wen et al., 2024). The impact of contaminants on plants and animals is well documented, while those on bacterial and fungal communities are scarcer.

Further illustrating these dynamics, a recent study demonstrated the role of biofilms in contaminant transfer along the trophic chain (Wen et al., 2024). Biofilms are microbial assemblages characterized by their high structural complexity (Watnick & Kolter, 2000) and can harbor a diverse range of contaminants, such as trace metals and pesticides (Luo et al., 2022). Studies show that sediments polluted by different contaminants (e.g., Pb, Zn, As, Cu) affect the rivers' biofilm communities in its diversity, abundance, and activity (Azarbad et al., 2013; Faburé et al., 2015; Wen et al., 2024). Since these organisms form the firsts links in the trophic chain, understanding how environmental contamination conditions affect biofilm composition is crucial. A recent study successfully showed how the biofilm quality varies along spatial and temporal gradients and its role in bioaccumulation of contaminants through the higher trophic levels (Wen et al., 2024).

Fungi and bacteria constitute keystone components of biofilms; despite the potential of certain taxa to cause disease in flora and fauna, they play essential roles in sustaining life in freshwater ecosystems. These organisms initiate the decomposition of organic matter, creating substrate for other organisms, such as invertebrates (Sridhar et al., 2001), produce autochthonic humic substances (Damare & Raghukumar, 2008), and participate in the circulation of nutrients (Buesing & Gessner, 2006). Many authors even suggested to use these

organisms as bioindicators of anthropogenic stress in the monitoring of the ecological state of aquatic ecosystems (Biedunkiewicz, 2011; Warnasuriya et al., 2023).

They are therefore not only indicators of ecosystem condition, but key mediators of habitat quality in cold-water river systems used by Atlantic salmon (*Salmo salar*). In salmon rivers, thermal refuges (cooler micro-habitats formed by groundwater inputs, tributary plumes, or hyporheic exchange) are essential for all life stages of salmons during thermal stress periods when the water temperature exceeds 21°C (Gillis et al., 2023; MPO, 2012), and biofilms are ubiquitous on the substrates that structure these refuges. These communities help regulate the quality and quantity of basal food resources that constitute a major part of salmon diet (Johnson, 2013; Keeley & Grant, 1997). Changes in biofilm community structure and function in response to contaminants or thermal stress can thus alter both the energetic base of the food web and the physicochemical conditions within refuges (Wen et al., 2024). For instance, a shift from diverse, complementary bacterial and fungal assemblages toward stress-tolerant or pollution-adapted taxa (Azarbad et al., 2013; Wen et al., 2024; Zhang et al., 2020). This may decrease the availability of high-quality prey, ultimately affecting salmon growth, condition, and survival. In this context, characterizing biofilm communities in thermal refuges offers a powerful way to link anthropogenic pressures, habitat quality and the capacity of riverine ecosystems to support Atlantic salmon populations.

In this study we investigated the cumulative effects of contamination in the Rimouski River and one of its tributaries, the Savane/Cavée creek (Québec, Canada) on the bacterial and fungal communities during an annual cycle (October 2023 – November 2024) using DNA metabarcoding. The Savane/Cavée Creek borders agricultural areas, a highway corridor, and a closed sanitary landfill, making it vulnerable to agricultural runoff, roadway contaminants, and landfill-derived leachate. We first assessed the concentrations of several contaminants (trace elements, metals, metalloids, and nutrients) in water and surface sediments in the Rimouski River and the Savane creek during an annual cycle. We also investigated the influence of the contaminants on the taxonomic and functional composition and diversity of bacterial and fungal communities during the annual cycle.

2.2.1. Study area

The Savane creek, which becomes the Cavée creek, a tributary of the Rimouski River, flows by the closed landfill in Rimouski (48.407967, -68.565429), agricultural sites and the A-20 highway. The discharges would impact those bodies of water causing water and sediment pollution.

We investigated ten sampling sites that were divided into four groups based on their position compared to the different pollution sources (Figure 15). (1) Group REF was composed of reference sites (REF1-3), situated upstream of all three pollution sources. REF1 was situated in the Rimouski River, approximately 120 m upstream of the confluence of the Cavée creek and the Rimouski River. REF2 was in the Macpès River, a tributary of the Rimouski River. REF3 was in the Rimouski River, at its confluence with the Macpès River. (2) Group AG was composed of agricultural sites (AG1-2), situated downstream of active agricultural areas. (3) Group LF (landfill) was composed of site LF, situated downstream of the closed landfill and highway runoffs. (4) Group CS was composed of sites under cumulative stress from all pollution sources. Group CS is constituted of CAV1-2 (both in the Cavée creek), TR (thermal refuge site) and RIM (in the Rimouski River, downstream of the thermal refuge site), situated downstream of the agricultural areas and of the closed municipal landfill and highway.

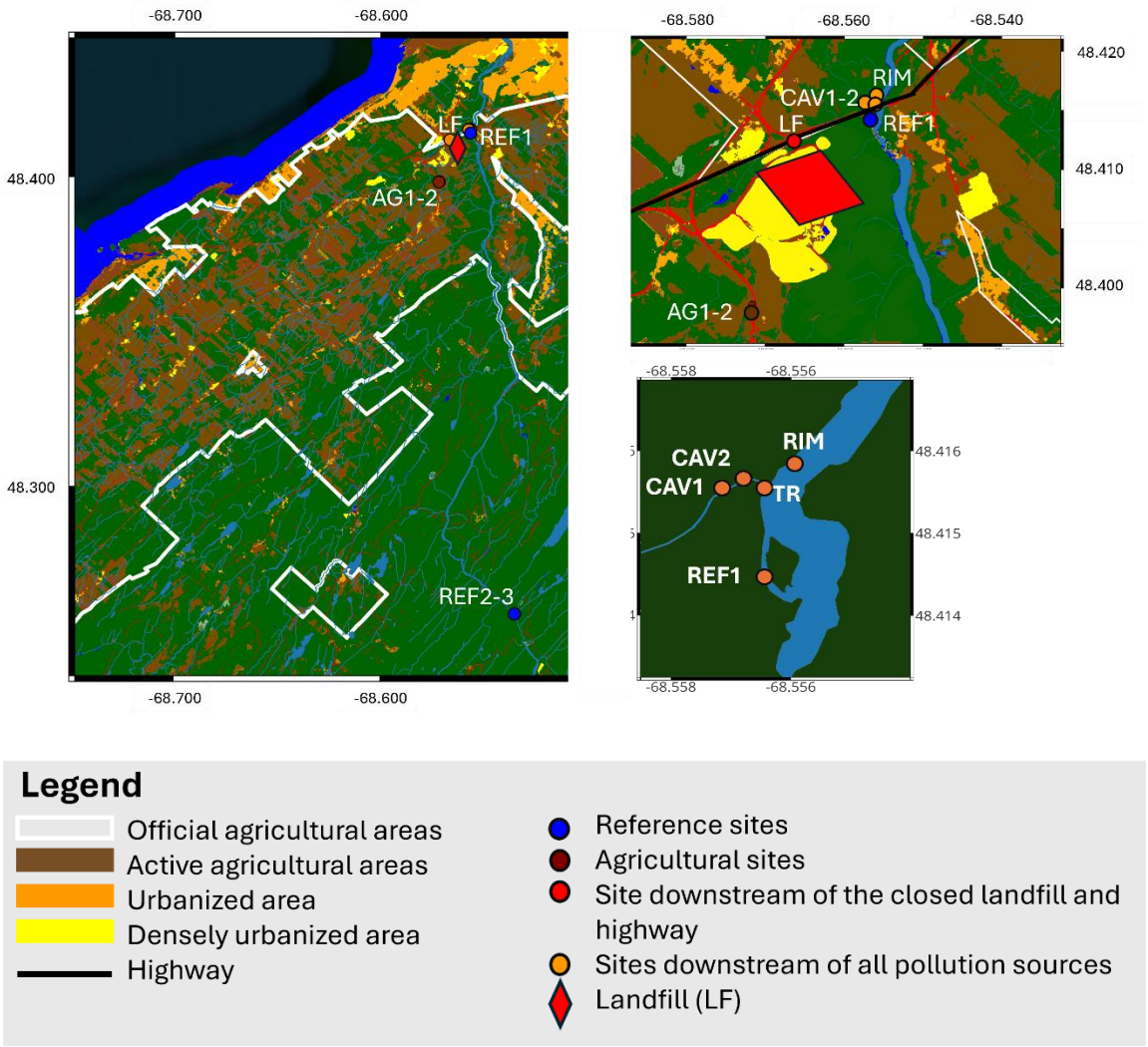


Figure 15. Localisation of sampling sites in the study area in Rimouski, Québec, Canada. The official agricultural zones were determined using the agricultural zone transposed to the Quebec land registry (CPTAQ, 2025), the land use was defined using the land use mapping data from the Quebec Ministry of Natural Resources and Forests (MRNF, 2025).

Once every month form October 2023 to November 2024, if accessible because of the meteorological and hydrological conditions, water, surface sediment, and biofilm samples were collected at each site in triplicate. During this annual period, a total of 297 water samples, 309 surface sediment samples, 312 biofilm samples were collected.

2.2.2. Sampling, laboratory treatment and analysis of inorganic contaminants

2.2.2.1. Water samples

Water was collected at sampling sites RIM, TR, CAV1, LF, AG1 and REF1-3 using 500 mL Nalgene bottles. Prior to sampling, the bottles were immerged in an acid bath (HNO_3 10%) for 24 h and rinsed using ultra-pure (Type I) grade water and then conditioned by being rinsed 3 times with water at the sampling site. The sampling was done in triplicate.

Approximately 500 mL of water from each site's triplicate was measured and filtered on Whatmann Grade GF/F filters (42.5 mm circle, 1825-042, cytivia) using a vacuum pump and a glass vacuum filtration device. The glass vacuum filtration device was washed with isopropanol and conditioned with ultra-pure (Type I) grade water prior to filtrations. 40 mL of filtered water was transferred to a clean 50 mL falcon tube to which was added 1 mL of nitric acid (HNO_3, 70%, ACS grade, Sigma Aldrich) to stabilize the metals in solution and stored at 4°C until analysis. For each month of sampling, 500 mL of ultra-pure (Type I) grade water was filtered, producing a method blank.

Major anions contents in filtered water samples were quantified using high pressure ion chromatography (Thermoscientific, Dionex Integrion HPIC System) coupled to (Thermoscientific, Dionex AS-AP). Information on columns and suppressors used are presented in supplementary data (Appendix 1). The ions quantified were chloride (Cl^-), nitrite (NO_2^-), nitrate (NO_3^-), phosphate (PO_4^{3-}), and sulfate (SO_4^{2-}). The concentration of these ions was determined using a calibration curve for each element using a standard solution. Each measure was taken in triplicate.

Trace metals and major cations contents in the acidified water samples were quantified using a Microwave Plasma Atomic Emission Spectrophotometer (MP-AES, Agilent Technologies, model 4200) connected to an autosampler (CETAC, ASX-520). The elements quantified were Al, B, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, K, Mn, Mg, Na, Pb, Rb, and Zn. The concentration of these elements was determined using a calibration curve for each element using a standard

solution. Each measure was taken in triplicate. As contents in the acidified water samples were quantified using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy (GF-AAS) (Agilent technologies, 200 Series AA). The concentration of As was determined using a calibration curve for each element using a standard solution. Each measure was taken in triplicate. One method blank was done every 15 samples to account for background contamination.

2.2.2.2. Surface sediment samples

The surface sediment was collected at all ten sampling sites using a 5 mL syringe with its top cut and transferred to a 15 mL falcon tube. The falcon tubes were immerged into an acid bath (HNO_3 10%) for 24 h and rinsed with ultra-pure (Type I) grade water prior to sampling. The sampling was done in triplicate. The sediment samples were stored at -20°C until being freeze-dried for 48 h and then stored in a dry space at 20°C.

The concentrations in sediments of the same 15 elements investigated in water samples, were determined using microwave assisted acid digestion (Anton Paar, Microwave digestive platform, Multiwave 5001) following a slightly modified version from (Brice et al., 2026), where 3 mL of nitric acid (70%, ACS grade, Sigma Aldrich) and 1 mL of hydrochloric acid (25%, ACS grade, Sigma Aldrich) was added to each sample of approximately 150 mg of freeze-dried sediments. Blanks were prepared similarly to the samples but with no sediments. Blank values were used to correct measured concentrations by subtracting background contamination. For every 8 samples, one blank and one standard reference materiel (NIST-1944) was tested to assess the extraction method efficiency.

Trace metals and major cations contents in the digestate were quantified using the same analysis methods as for the acidified water samples.

2.2.3. Biofilm sampling, DNA extraction and sequencing

Samples were collected monthly at all 10 described sites, when possible. Using a 5 mL sterile syringe, the epilithic biofilms collected from rock surfaces and epipelic biofilms

collected at the water-surface sediment interface was transferred to a 50 mL sterile falcon tube until it was full. Bacterial and fungal communities were characterized in epilithic biofilms collected from rock surfaces and epipelic biofilms collected at the water–sediment interface.

At each site, the sampling was done in triplicate. In the laboratory, samples were centrifuged for 3 min at 3500 rpm (MBI LabEquipment, Sigma 3-18KS). The supernatant was discarded, and the pellet was stored at -80°C until DNA extraction.

DNA was extracted using the DNeasy Power Soil Pro Kit (Quiagen) following the manufacturer's instructions. The method was adjusted by adding 200 µl of EDTA (0.0625 M) to every 250 mg soil sample in the PowerBead Pro Tube to improve the extraction in metal contaminated soils (Dumoulin et al., 2024). The tubes were then vortexed at minimum speed for 10 min. The manufacturer's instructions were followed until the final elution. 30 µl of molecular grade RNase/DNase free water was added to each membrane Spin Column before the final elution. The 1.5 mL elution tubes containing the DNA extract were stored at -20°C until analysis. Blanks were prepared similarly to the samples but with no sediments to monitor potential laboratory contamination during extraction. DNA quality and ratios were assessed using NanoDrop microvolume spectrophotometer (NanoPhotometer NPR80, IMPLEN).

All DNA amplification and sequencing steps were done by Integrated Microbiome Resource (IMR) at Dalhousie University, Halifax, Nova-Scotia, Canada.

For bacterial 16S rRNA gene amplification of the V3-V4 region, the universal primers 341F (CCTACGGGNGGCWGCAG) and 805R (GACTACHVGGGTATCTAATCC) were used. PCR conditions followed existing methods (Comeau & Kwawukume, 2023). For fungi the internal transcribed spacer region 2 (ITS2), the ITS86(F) (GTGAATCATCGAATCTTTGAA) and ITS4(R) (TCCTCCGCTTATTGATATGC) primers were used (Op De Beeck et al., 2014).

The bacterial V3-V4 region and fungal ITS2 sequences were sequenced using Illumina MiSeq approach.

2.2.4. Bioinformatics

The set of Illumina-sequenced paired-end FASTQ files from bacterial and fungal amplicons received from IMR were demultiplexed by sequencing facility and barcode sequences were removed before analysis. Sequence processing was performed using the DADA2 package (version 1.34.0) (DADA algorithm) (Callahan et al., 2016) on RStudio (version 4.4.3), following the DADA2 Pipeline Tutorial 1.16 (bacteria) (Callahan, 2016) and the DADA2 ITS Pipeline Workflow (fungi) (Callahan). For the fungal dataset, forward and reverse primer sequences were removed using cutadapt (version 5.1) before quality filtering (Martin, 2011). Bacterial and fungal reads were filtered according to their quality profiles, and error rates were learned separately for forward and reverse reads. Amplicon sequence variants (ASV) were then inferred independently within each sample using the DADA2 error model. Paired-end reads were merged using a minimum overlap of 10 bp and no mismatches within the overlapping region. Chimeric sequences were identified and removed using the consensus method implemented in DADA2. The resulting exact sequence variants were used to construct separate bacterial and fungal ASV tables. A total of over 2 million raw sequencing reads were generated across the V3 and V4 regions of the 16S rDNA of bacteria, with an average of 25 800 reads per sample (merged sequence lengths ranging from 400 to 425 bp), and over 4 million across the ITS2 (fungi), with an average of 47 000 reads per sample (merged sequence lengths ranging from 100 to 550 bp). Following sequence processing and chimera removal, approximately 40% of bacterial reads and 69% of fungal reads were retained.

The taxonomy was assigned to the output sequences (ASVs) using the SILVA database (version 132) for 16S (V3-4 regions) rRNA (bacteria) and the UNITE database (version 10.0) (Abarenkov et al., 2024) for ITS2 (fungi). Because of the taxonomic resolution of partial 16S rRNA gene sequences is generally limited, bacterial taxonomic patterns were

primarily interpreted at the genus level or higher. ITS2 sequences may provide finer taxonomic resolution for fungi, but species-level assignments were considered cautiously because their reliability varies among fungal groups and depends on reference-database coverage. The ecological functions were assigned to the bacterial output sequences (ASV) using the FAPROTAX database (version 1.2.12) (Louca et al., 2016). Functional prediction of dominant fungal ASVs was conducted using FUNGuild (Nguyen et al., 2016). These functional assignments were treated as predictions rather than direct measurements of microbial functions.

2.2.5. Statistical analysis

Alpha diversity metrics were calculated based on the normalized ASV tables. Shannon's entropy diversity index (Shannon, 1948), Simpson diversity (Simpson, 1949), Chao1 (Chao, 1984) richness were used to compare samples collected across the contaminant and spatial gradients.

Differences in trace elements concentrations between groups were conducted using one-way analysis of variance (ANOVA) when assumptions of normality and variance homogeneity were met, and Kruskal-Wallis test when these assumptions were not satisfied. Postulates were verified using Shapiro-Wilk test (normality) and Bartlett test (variance homogeneity).

Differences in taxonomic and functional community composition (bacteria and fungi) among site groups and months were tested using permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) on Bray–Curtis dissimilarities computed from Hellinger-transformed ASV counts. Homogeneity of multivariate dispersion among groups was assessed with the function betadisper. Redundancy analysis (RDA) was performed to investigate the relationships between bacterial and fungal community composition and environmental variables.

For all statistical analysis, $p < 0.05$ was considered statistically significant. Statistical analyses were performed using R version 4.4.3 and RStudio version 1.0.136.

RESULTS

2.3.1. Contaminants' concentrations and distribution along the spatial and temporal gradients

The examination of physico-chemical and contamination profiles revealed differences among sampling sites and along the temporal gradient (Table 4, Appendix 2).

Contaminant concentrations and distribution revealed different chemical signatures, identifying contaminant sources (Table 5 and Table 6, **Appendix 3**). A landfill and/or highway footprint has been established for As, Cu, Fe, Pb, Mn, Cl, Na, Mg, Ca, and Mn (leachate, de-icing salts, tire and break wear, corrosion of metallic infrastructures), an agricultural footprint was established for Rb, K, Zn, and Al (mineral fertilizers, soil amendment inputs), while a mixed signal has been established for Ba, NO_3^{2-}, and SO_4^{2-} (agriculture fertilization, atmospheric deposition, urban/roadway inputs).

Concentration of contaminants varied throughout the sampling year. The higher concentrations were often observed during the summer months (June-July-August 2024), which coincides with the highest temperatures recorded and the lowest water levels observed (Table 4, Appendix 2).

2.3.2. Diversity, richness and inferred abundance of bacterial and fungal communities in the Rimouski River and the Savane/Cavée Creek along the contamination gradient

The bacterial and fungal taxonomic diversity and richness were assessed by the Shannon and Simpson diversity index and the Chao1 richness estimator. When all monthly samples were pooled together, the alpha diversity metrics varied significantly among sites and site groups. Sites in groups LF and CS (CAV1-2, TR, RIM) exhibited significantly higher ($p < 0.05$) richness (Chao1) and number of reads than reference sites (REF1-3) and sites in

agricultural areas (Group AG: AG1-2) (Figure 16 A,E), suggesting greater ASV richness. The abundance of communities is here inferred using the number of reads, which is an indicator of the abundance, but not a robust one.

No statistically significant differences were observed when all monthly samples were pooled for the Simpson diversity index (Figure 16 D,H), while values remained high across all sites, indicating that there are no dominant species, and the overall dominance structure is similar. Shannon diversity Index values for LF and CS sites groups were higher than sites in groups AG and REF (Figure 16 C, G), indicating a richer and more equitable community. Although this difference was only significant ($p < 0.05$) for bacterial communities.

The combination of inorganic contaminant inputs at LF and CS sites can increase resource availability, multiply ecological niches, and promote the coexistence of a greater number of taxa, particularly for bacteria. This pattern is consistent with the high metabolic versality of bacteria, including taxa capable of exploiting inorganic energy sources and using alternative terminal electron acceptors under low-oxygen conditions (e.g. Fe(III), sulfate). In this context, elevated concentrations of contaminants may create selective opportunities for bacteria able to tolerate, transform or metabolize these compounds.

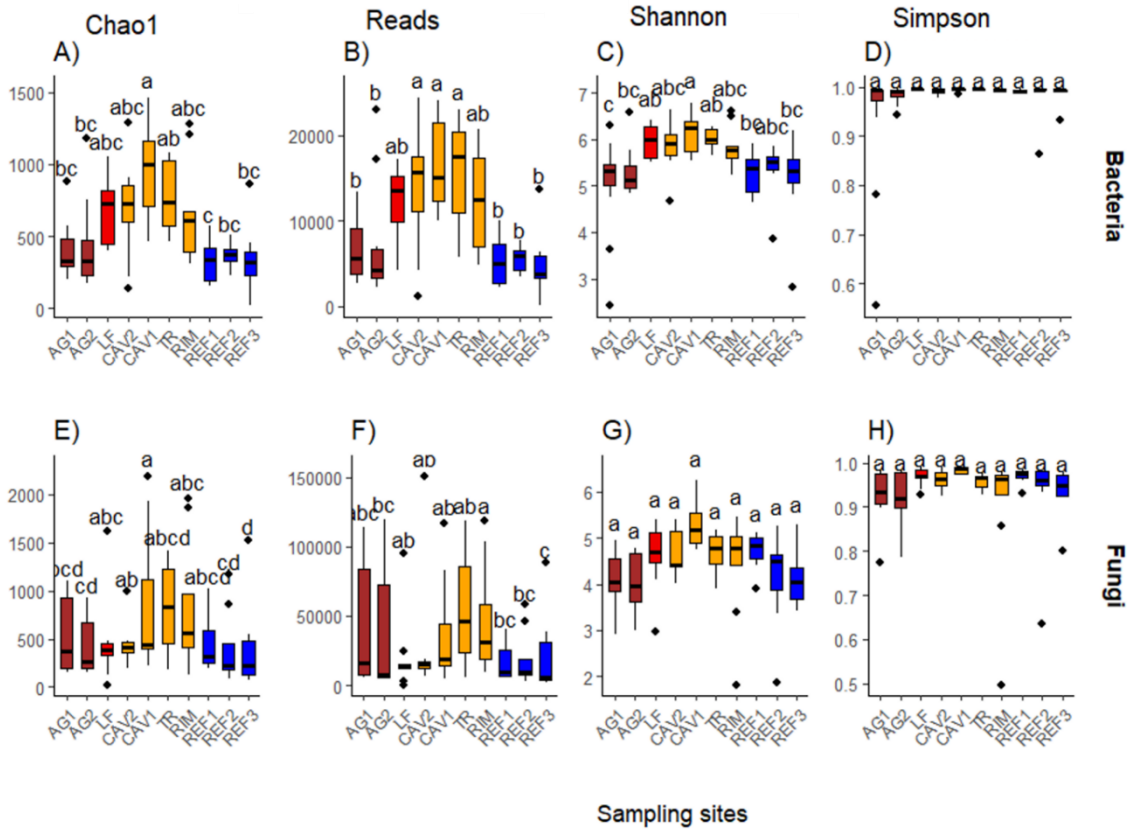


Figure 16. Alpha diversity, richness and abundance of bacterial and fungal communities according to sampling site (oct 2023-nov 2024). (A) Chao1 index, (B) Number of reads (abundance), (C) Shannon index and (D) Simpson index for bacterial communities, (E) Chao1 index, (F) Number of reads (abundance), (G) Shannon index and (H) Simpson index for fungal communities. AG1-AG2: sites in agricultural areas; LF: site downstream of closed landfill and highway; CAV1-2, TR, RIM: sites downstream of agricultural areas, closed landfill and highway; REF1-3: reference sites.

When seasonal patterns were considered, the overall gradients described above were maintained, although the magnitude of alpha diversity varied among seasons and site groups. For bacterial communities, richness (Chao1) and inferred abundance (reads), remained consistently higher at sites in groups LF and CS than at AG and REF across seasons (Figure 17 a, b, e, f). Only modest intra-annual fluctuations in Shannon and Simpson indexes were observed (Figure 17 c, d, g, h), suggesting that seasonality had a limited effect on community evenness compared with site related environmental gradients. In contrast, fungal

communities showed a stronger temporal signal, with number of reads and Chao1 values increasing in fall, particularly at sites in groups LF and CS, indicating a seasonal enrichment in fungal ASV richness and inferred abundance at most impacted sites. Despite these variations in richness and inferred abundance, Simpson's index remained high for both bacteria and fungi, suggesting a relatively even community distribution across sites in all seasons. Higher inferred abundance (reads) and richness (Chao1) of fungi in fall could suggest increased inputs of fresh organic matter and nutrients, which provide a wider range of substrates and microhabitats for heterotrophic fungi.

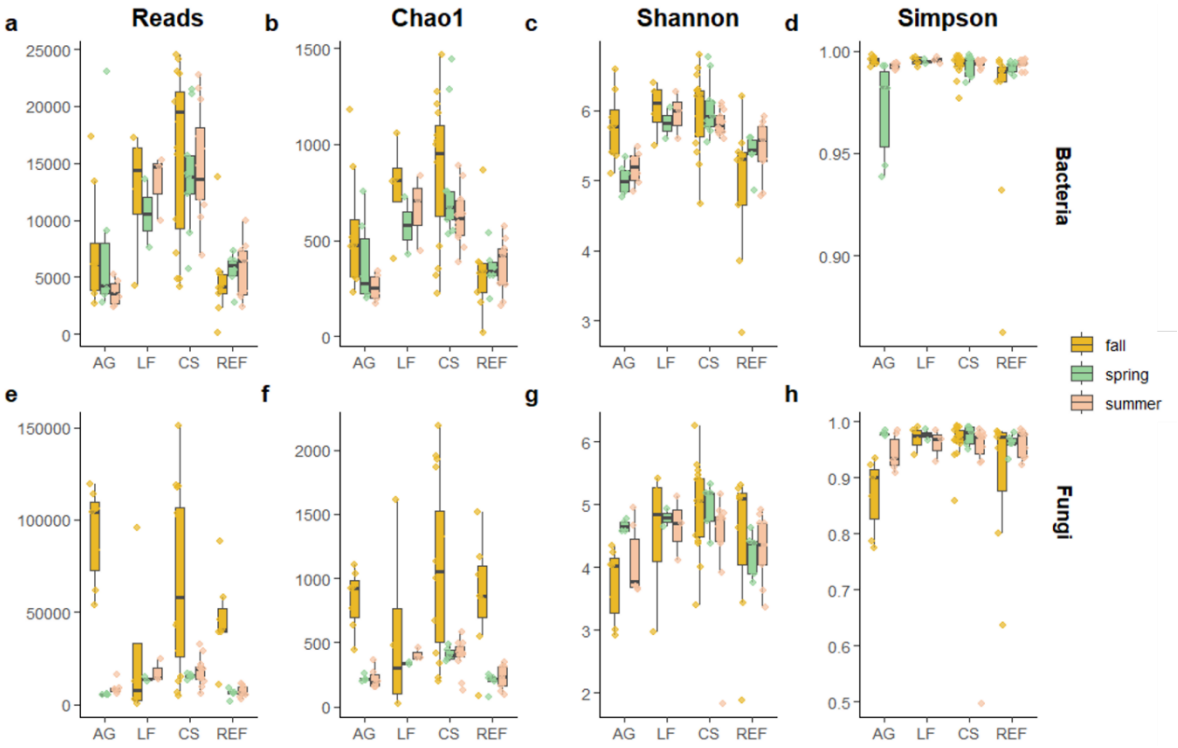


Figure 17. Taxonomic diversity and richness at the different sampling groups assessed by (a) The number of reads, (b) Chao1 index diversity index, (c) Shannon's diversity index and (d) Simpson's diversity index of bacterial communities according to the season and sampling group. (e) The number of reads, (b) Chao1 index diversity index, (c) Shannon's diversity index and (d) Simpson's diversity index of fungal communities according to the season and sampling group. AG: sites in agricultural areas, LF: site downstream of the closed landfill and highway, CS (cumulative stress): sites downstream of the agricultural areas, the closed

landfill and highway, REF: reference sites. Spring was from March-May 2024, summer was from June-August 2024 and fall from September to November 2024.

2.3.3. Effects of seasonality, environmental factors and contaminantion gradients on bacterial and fungal community structure

Differences in community fungal composition among sites were first tested using PERMANOVA on Bray–Curtis dissimilarities of Hellinger-transformed ASV counts. The overall effect of sampling site was significant (PERMANOVA, $F = 2.0845$, $R^2 = 0.1919$, $p = 1^{-04}$). Sites in group CS formed a homogeneous group, while LF was statistically similar to sites CAV1-2 ($p > 0.05$) but statistically different from sites RIM and TR ($p < 0.05$), suggesting an impact of the closed landfill and highway on sites CAV1-2. Sites AG1-2 and sites REF2-3 each formed distinct groups that differed significantly from most other sites ($p < 0.05$). The statistically significant differences between sites REF2 and REF1; LF and RIM + TR, could be partially explained by the different environments where they were sampled (sediment type and size, water depth and temperature, flow velocity, creek vs river etc.).

PERMANOVA on Bray–Curtis dissimilarities of Hellinger-transformed bacterial ASV counts showed similar patterns, with sites in groups AG, LF, and CS that were significantly different from REF sites (Figure).

PERMANOVA also revealed an effect on bacterial and fungal community composition of sampling site group ($F = 5.72$, $R^2 = 0.13$, $p < 0.0001$) and of sampling month ($F = 3.06$, $R^2 = 0.20$, $p < 0.0001$), the latter explaining a larger proportion of the variance than the spatial gradient between site groups (Table 7, **Appendix 5**). The sampling site group and Month interaction was also significant ($F = 1.55$, $R^2 = 0.30$, $p < 0.0001$), indicating that the differences in composition between site groups are not constant throughout the year. In total, these factors explain approximately 63% of the variability in community composition. Groups LF and CS showed the greatest intra-group variability, suggesting a higher heterogeneity in bacterial and fungal community composition within these sites.

A redundancy analysis (RDA) was then applied to ASV-based community data to assess how environmental gradients influence community structure for bacteria and fungi (Figure).

Bacterial communities were significantly related to Mn, Ba, Co, and Cu in water ($p < 0.01$) and to Rb, Ca, Mg, Co, and Al in sediments ($p < 0.05$), and the month also had a significant effect ($p = 0.004$), in agreement with the PERMANOVA results. No significant relationship was detected, although a trend was observed for As in sediments ($p = 0.058$). When the temporal gradient was normalised, bacterial communities were significantly linked to As, B and Al concentrations in sediments ($p < 0.03$) and Mn concentrations in water ($p = 0.028$). The first two RDA axes together accounted for 44.4% of the variance in community composition across water and surface sediments (Figure). Along RDA1, sites in group AG clustered with higher Al and Rb, whereas REF sites plotted on the opposite side of the ordination and were associated with higher pH and Mg. In contrast, sites in groups LF and CS were separated on the negative side of RDA1, in the direction of As, Mn, and Ca.

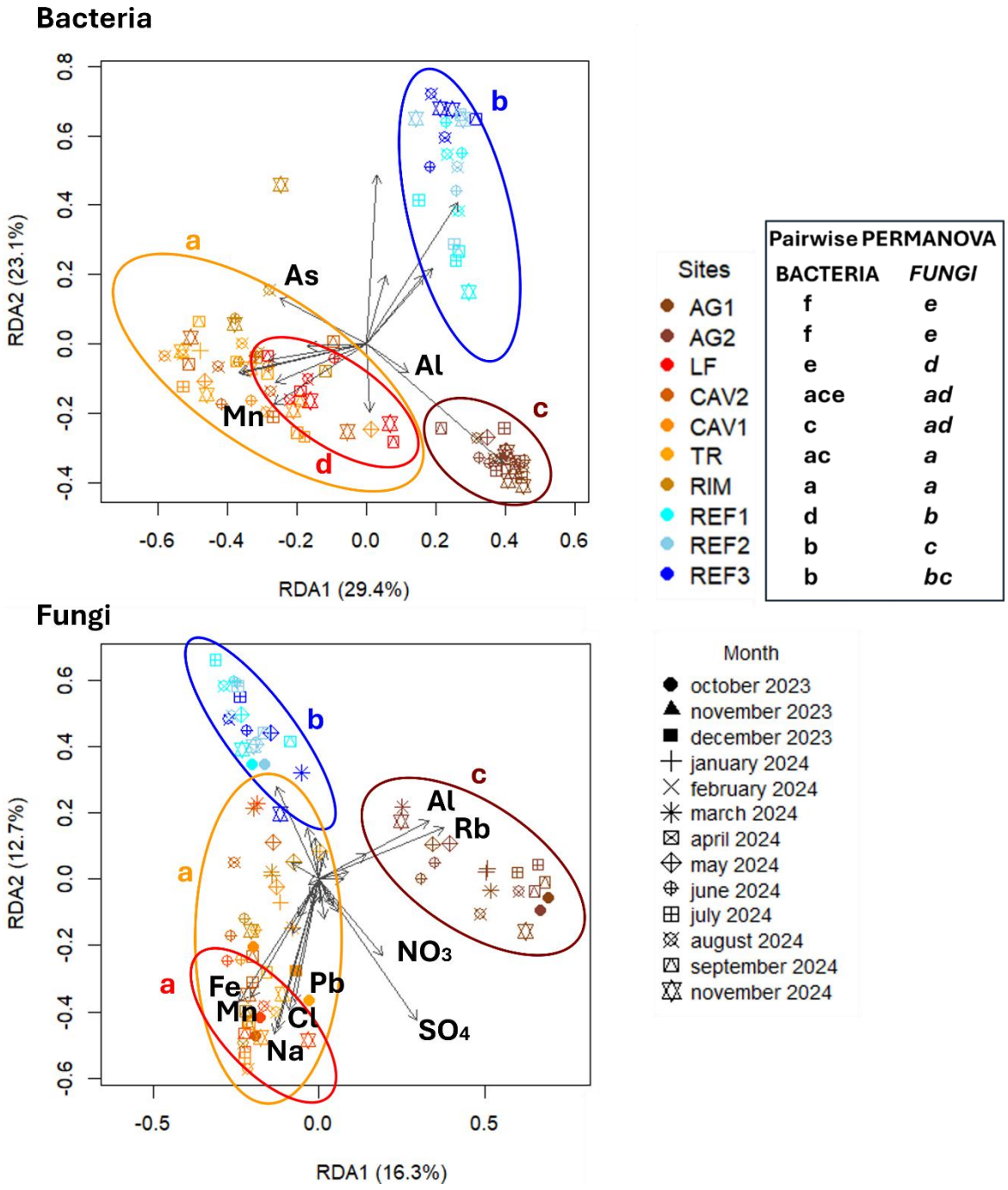


Figure 18. RDA of abundance and taxonomic diversity of bacteria, and fungi, with monthly samples pooled by sampling sites, selected physico-chemical parameters of water and sediment quality of analysed river samples. Ellipses represent the multivariate dispersion of sites around group centroid with 95% confidence level. Comparisons between sites were

summarised using a compact letter display (Pairwise PERMANOVA), with bold and italic letters for fungi communities and only bold letters for bacterial communities.

Fungal community composition showed a similar structuring by environmental gradients, with the first two RDA axes explaining 29% of the variance (RDA1 = 16.3%, RDA2 = 12.7%; Figure). Sites in group AG were in the upper left quadrant and were associated with Al and K, while LF and CS sites clustered in the lower left quadrant, correlated with elevated Ca, Mn, Na, Pb, and As concentrations. REF sites again formed a distinct cluster characterised by higher Mg concentrations in sediments. When the temporal gradient was normalised, fungal communities were significantly related to SO_4, Cl, Ba, Pb, Mn, Zn, B, and K ($p < 0.001$), NO_3 ($p < 0.009$), Co ($p = 0.002$), and Na ($p = 0.042$) concentrations in water, as well as Fe, Mg, Na, Cr, and Rb concentrations in sediments ($p < 0.01$).

These results indicate that trace metals concentrations are major drivers of spatial variation in community structure.

2.3.4. Taxonomic composition and functional predictions of the bacterial and fungal communities along the contamination gradients

Bacterial and fungal community compositions of the biofilm collected in the Rimouski River and the Savane/Cavée creek were assessed to illustrate the differences along a contaminant gradient. Taxonomic analysis of 16S rRNA (V3–V4) sequences showed that samples collected from October 2023 to November 2024 were dominated by eight bacterial phyla (Figure 19 a), with Proteobacteria (35.0% on average) and Actinobacteria (31.1%) clearly prevailing, followed by Cyanobacteria (7.9%), Chloroflexi (5.5%), Verrucomicrobia (5.0%), Acidobacteria (5.0%), Planctomycetes and Bacteroidetes (3.2%), while the remaining 3.8% was distributed among numerous low-abundance phyla. Cyanobacteria were more abundant at REF sites, whereas Proteobacteria showed the opposite pattern, being enriched in impacted groups AG, LF, and CS. Planctomycetes were particularly enriched at agricultural sites compared to LF, CS, and REF. At the genus level, 780 bacterial genera were detected, with *Luteolibacter, Rhodoferax, CL500-29 marine group, Nocardioides,*

Tychonema, Ilumatobacter, Gaiella, and *Flavobacterium* among the most abundant (Figure 19b). Several genera with potential links to disturbance or contamination (e.g., *Staphylococcus, Streptococcus, Desulforomonas, Syntrophomonas*) occurred only at LF and CS sites, while genera such as *Arenimonas, Hyphomicrobium, Rhodoferax, and Novosphingobium* were more abundant in LF/CS than at reference sites. Conversely, genera like *Gaiella, OM60(NOR5), Ilumatobacter, Mycobacterium, Fodinicola,* and *Tabrizicola* were enriched at REF sites, and *Flavobacterium* was more abundant at AG sites than at REF sites.

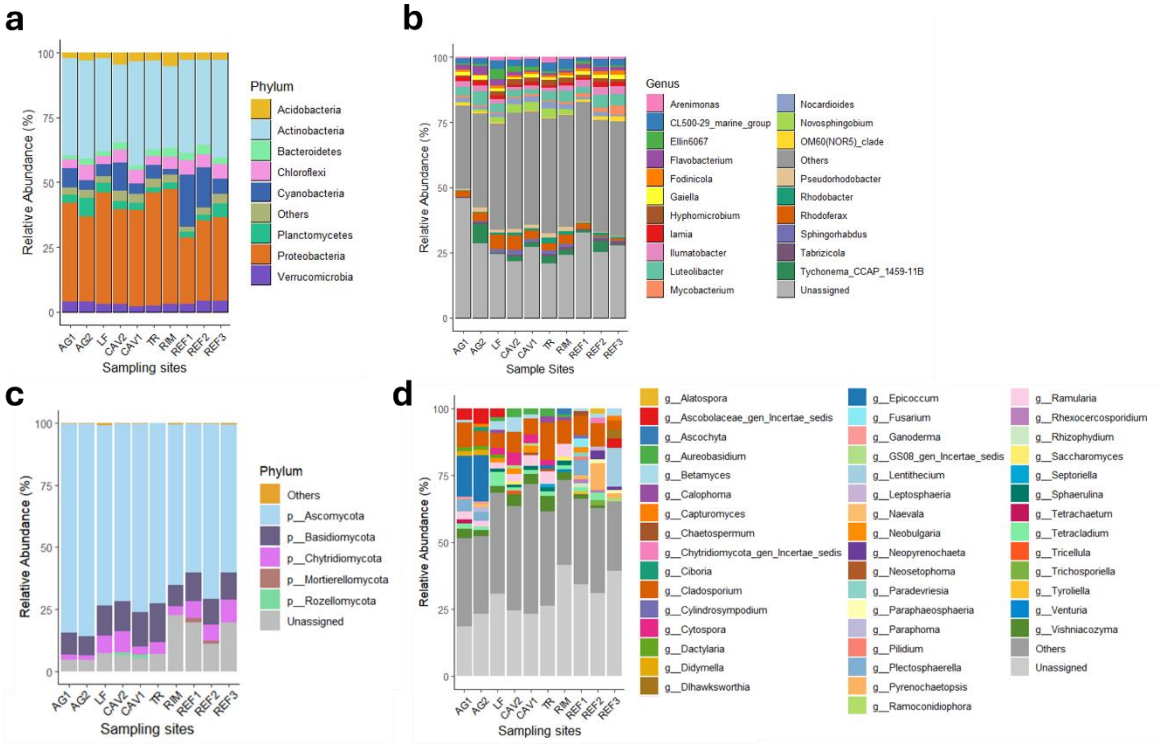


Figure 19. Mean relative abundance of bacterial (a) phyla and (b) genus according to the sampling sites, pooled from October and November 2023, and from March 2024 to November 2024 samplings. Others contains taxa with relative abundance <1%. Mean relative abundance of fungal (c) phyla and (d) genus according to the sampling sites.

Some bacterial species identified are known opportunists, pathogens or parasites. For example, *Rickettsiella tipulae*, an intracellular parasite/pathogen of arthropods (Leclerque &

Kleespies, 2008), was only present at sites in group CS, confirmed by the predicted ecological function profile analysis performed using the FAPROTAX database. *Aeromonas sobria* and *popoffi*, human, animal, and fish pathogens (Liu et al., 2025; Reyes-Rodríguez et al., 2025) was identified at sites in group LF and CS (LF-CAV1). Opportunistic (*Stenotrophomonas maltophilia* (Brooke, 2012), *Shewanella putrefaciens* (Yu et al., 2022), etc.) and pathogenic (*Campylobacter ureolyticus*) species were identified at sites in groups LF and CS, in higher relative abundance during summer months.

Bacterial functional profiles were predicted using the FAPROTAX database. Only 1.15% of all ASVs were assigned to functional groups. Functions associated with C1 compound metabolism (methylotrophy, methanol oxidation, methanotrophy) and fermentation are the main drivers of differences between sites. Higher relative abundance of fermentation bacteria in groups AG and CS and higher relative abundance of methanol oxidation in groups AG and LF suggest locally reduced conditions (lower redox potential) and more available substrate. Significant differences in functional composition, despite a similar overall structure, was observed between sites, with AG2, LF, CAV1-2, and RIM significantly different than REF3 (Figure 20a). Sites in group CS showed higher relative abundance of predatory or exoparasitic, intracellular parasites, fermentation, and sulfate respiration bacteria than reference sites (Figure 20 a). Functions associated with sulfate and sulfur compound respiration and intracellular parasitism only occurred at sites in groups LF and CS. In contrast, reference sites were characterised by a more balanced function profile, with a higher contribution of general chemoheterotrophic functions (chemoheterotrophy, methanol oxidation, methanotrophy, methylotrophy), highlighting that anthropogenic pressures tend to increase specialized taxa and the occurrence of potentially pathogenic taxa.

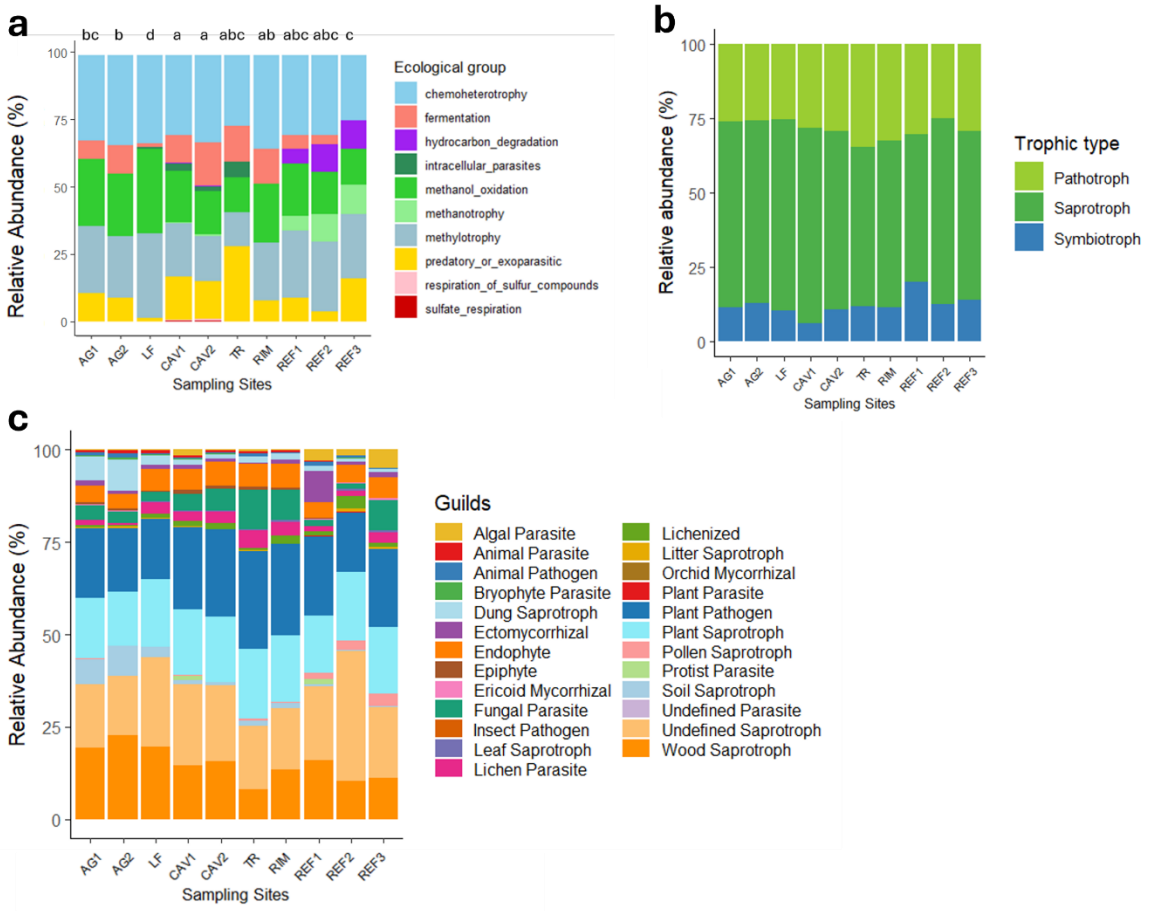


Figure 20. Mean relative abundance (a) of predicted ecological functions of bacterial communities and of (b) predicted trophic types and (c) functional guilds of fungal communities of the biofilm according to the sampling sites. Including samples from October and November 2023, and from March 2024 to November 2024.

Fungal biofilm communities, based on ITS2 metabarcoding, were mainly represented by five phyla (Figure 20c). Ascomycota clearly dominated (71.2% on average), followed by Basidiomycota (10.9%), Chytridiomycota (5.0%), Mortierellomycota (1.1%), and Rozellomycota (0.9%), whereas 10.7% of sequences remained unassigned and 0.2% were distributed among 11 additional phyla. At the genus level, 1 734 fungal genera were detected, with *Lentithecium* (14.4%), *Epicoccum* (11.1%), *Cladosporium* (7.6%), and *Plectosphaerella* (4.7%) being among the most abundant, while almost one-third of reads (29.3%) could not be assigned to genus level (Figure 20 d). Several pollutant-resistant (e.g.,

Aureobasidium, Calophoma, Cytospora, Neosetophoma, Saccharomyces, Septoriella, Sphaerulina, Venturia), opportunistic (*Candida. albicans, C. parapsilosis, C. auris, Exophiala salmonis*, etc.) phytopathogenic (*Fusarium asiaticum*, *oxysporum*, *sporotrichioides,* and *poae*, *Rhizosphera pini*, etc.), entomopathogenic (*Akanthomyces muscarius, Beauveria pseudobassina Cordyceps cateniannulata fumosorosea,* and *javanica*), mycoparasites (*Ampelomyces quisqualis*, *Hansfordia pruni,* and *pulvinata*, *Trichoderma viride*) taxa were either restricted to, or more abundant at, AG, LF, and CS sites. Whereas many genera characteristic of less disturbed freshwater habitats (e.g., *Alatospora, Lentithecium*) and several Chytridiomycota and Ascomycota taxa were detected only at reference sites.

Seasonal patterns also appear in fungal taxonomic and functional community composition. A PERMANOVA showed statistically significant differences between spring and summer ($p = 0.03$), spring and fall ($p = 0.03$), winter and fall ($p = 0.046$), and a tendency for summer and fall ($p = 0.077$). The higher proportion of pathotrophic fungi observed in late summer and fall compared to spring ($p < 0.02$) was mainly driven by a shift from animal parasites to arthropod, lichen, plant, protist and fungal parasites and/or pathogens, such as *Alternaria, Ramularia, Sphaerulina, Plectosphaerella.* Higher temperatures paired with the higher abundance of hosts in summer and early fall create the perfect conditions for the proliferation of parasitic taxa. A lower relative abundance across sites of symbiotrophic fungi was observed in summer compared to fall ($p = 0.024$), spring ($p = 0.011$), and winter ($p = 0.052$). Although no statistically significant differences were observed in the relative abundance of saprotrophic fungi across seasons, a shift is observed from wood saprotrophs in fall and winter to dung, soil, plant, pollen, and undefined saprotrophs in spring and summer months. An increase in relative abundance of pollen saprotrophic taxa (eg. *Didymocyrtis brachylaenae*, *Infundichalara*, *Capnobotryella renispora*) was observed especially in June and July, corresponding to the increased presence of grass and herbaceous pollen from may to august. Overall, in summer, conditions are more stressful, with higher temperatures and contaminant concentrations, and less carbon available to plants, which could partly explain

the rise in saprotrophic and pathotrophic taxa. This competition may explain the decrease in the relative abundance of symbiotrophic taxa.

Fungal functional assignment using FUNGuild (Figure 20b) indicated that saprotrophs dominated across all sites (59.1% on average), followed by pathotrophs (28.7%) and symbiotrophs (12.1%). Saprotrophs were relatively more abundant at impacted sites (AG: 61.9%; LF+CS: 59.8% vs REF: 56.2%), whereas symbiotrophs were more prominent at reference sites (15.4% vs 12.1% at AG and 10.2% at LF + CS). Pathotrophs were most abundant at LF and CS (30.0%) compared to REF and AG (28.4% and 25.9%, respectively). Together, these patterns indicated that impacted sites (AG, LF, CS) are characterized by higher contributions of disturbance-tolerant and pathogenic taxa, while reference sites harbour a larger proportion of symbiotic fungi and a distinct suite of saprotrophic genera typical of less impacted freshwater environments (Figure 20c).

DISCUSSION

This investigation of the bacterial and fungal compositions of the biofilm is, to our knowledge, one of the first characterization in the Rimouski River and the Savane/Cavée Creek using eDNA metabarcoding. This profiling is important to assess the impacts of pollutants on a natural environment, especially in the context of rising water temperatures because of climate change, which will likely increase the visits from aquatic organisms, such as Atlantic salmon, to cold water thermal refuges. This study highlights changes in bacterial and fungal community composition that may reflect cumulative contaminant pressures and broader environmental degradation, although direct associations could only be established for the inorganic contaminants quantified in this study.

2.4.1. Environmental variables responsible for the composition of microbial communities in the biofilm

The environmental variables that best explained the taxonomic composition of bacterial and fungal communities in the biofilm in the Rimouski River and the Savane/Cavée

creek were mainly contaminant related. Trace elements (Mn, Co, Cu, Zn, Pb, Fe, As, Al) and major elements and ions (Cl^-, Na, Rb, NO_3^-, SO_4^{2-}) were highly linked to the communities' compositions (Figure).

The higher concentrations of Al and Rb observed in sediments from agricultural areas are likely linked in order of importance to the erosion of cultivated soils rich in clay and K minerals, to the complexification of Rb with K and to Al-based fungicides (fosetyl-Al, aluminum phosphate) (MELCCFD, 2025; Ramos & Rodríguez-Navarro, 1986). Rb, a lithophilic element associated with potassium minerals, is generally not considered a structuring factor in microbial communities. However, at the observed concentrations, it can enter bacterial and fungal cells via K transporters and disrupt ionic balance, compete with K (essential for metabolism) and inhibit certain enzymes (Ramos & Rodríguez-Navarro, 1986). Al, particularly in its soluble form, can exert selective pressure on bacteria and fungi, favoring tolerant taxa and altering the composition and function of benthic biofilms (Jones et al., 2019), confirmed by statistical tests.

Whereas sampling sites downstream of the landfill and highway sampled in April and May were associated with higher dissolved Cu concentrations. Cu is an essential trace element, acting as enzymatic cofactor and is involved in respiration and oxidative response (Gao et al., 2024). But Cu can become highly toxic when concentrations increase, acting as a selective stressor on bacteria and fungi, leading to reduction in diversity and to a selection of metal-tolerant taxa (Ahmed et al., 2020; Signorini et al., 2023).

In contrast, reference sites clustered towards lower concentrations of most trace metals and major ions. Taken together, this pattern indicates that contamination gradients exert a stronger control on fungal community structure than more general physico-chemical parameters such as temperature, pH, conductivity or suspended particulate matter. This suggests that bacteria and fungi in biofilms respond primarily to chronic contaminant exposure and land-use related inputs, rather than to short-term variation in basic water chemistry.

Similar patterns, where contaminants gradients outweigh basic physico-chemical parameters in structuring bacterial and fungal biofilms have been reported in other aquatic systems. For example, in periphytic biofilms from a Pb-Zn mining river, dissolved and particulate metals were identified as the main drivers of bacterial and fungal community composition, ahead of environmental variables, such as pH and temperature (C. Li et al., 2024; J. Li et al., 2024). Other studies on stream biofilms and sediment-associated fungal communities show that land-use related inputs and metal contamination (Zn, Cd, Fe, Al) can strongly shape community structure and functional potential, often more than general water-quality metrics (Laperriere et al., 2020).

2.4.2. Microbial diversity, richness and evenness of the biofilm across the contaminant gradient

Our study shows that, the diversity and richness of bacteria increased in trace metal contaminated sites, while for fungi, the increase in richness in trace metal contaminated sites, both associated with opportunistic and potentially pathogenic or parasitic taxa, was not accompanied by a net increase in evenness, with the community remaining structured by dominant taxa. This increase in diversity and/or richness along the contaminantion gradient is contrary to results from previous studies, where microbial diversity has been shown to decrease in metal contaminated soils, dominated by metal-tolerant taxa (Bååth et al., 2005; Gough et al., 2008; Xie et al., 2016). However, the metal concentrations in soils were significantly higher in those studies, than in this one, especially for Pb and Zn, that were often 100 times more concentrated (Bååth et al., 2005; Gough et al., 2008; Xie et al., 2016). Those diverging results in diversity response, could be also partly explained by the natural soil properties. In this study, in addition to metals, nutrient rich organic matter from household waste is suspected to also reach the studied watershed via leachates. Factors such as pH, organic matter content and form as well as nutrient level can be at least as important as the metal toxicity index in determining microbial community structure (Azarbad et al., 2013; Balabane et al., 1999). These results suggest that anthropogenic pressures depending on their nature and their interaction with the environment may increase microbial abundance

and richness but do not substantially alter community evenness. The higher values of diversity and richness in fall across all sites also supports this idea, with fresh organic matter and nutrients inputs from, for example, leaf litter, crop residues, and senescent riparian vegetation, which can provide a wider range of substrates and microhabitats for heterotrophic organisms (Cereghetti et al., 2025).

A more recent study investigating the bacterial and fungal response to trace metal contamination in agricultural areas is in agreement with our results (J. Li et al., 2024). They support the conclusion that sites that have been highly contaminated for a long time often show a higher microbial diversity than reference sites, while newly contaminated sites usually show reduced diversity. Higher microbial abundance and diversity at sites downstream of the closed landfill could highlight that those habitats have been exposed to an important contamination for a prolonged period, which concurs with its location, having been exposed to contaminants originating from the closed landfill since the 1980s, among others.

The increase of richness (bacteria and fungi) and diversity (bacteria) of microbial communities in sites downstream of the closed landfill and highway, was not observed in sites in agricultural areas. This difference could potentially be due to the nature of the pollutants. Pesticides, more particularly fungicide and bactericides, are used to reduce bacterial growth, unlike a landfill, which is rich in organic matter and promotes growth (Abdulrida et al., 2024). This suggests that the communities in agricultural areas and those downstream of the closed landfill and highway are exposed to different pressures.

Seasonality also modulated these site effects. The richness generally peaked in fall, compared to spring and summer (Figure 17). Post-growing-season pulses (crop residues, runoff, leaf litter) plausibly increase organic substrates and micronutrients, opening niche space for fast-growing saprotrophs and stress-tolerant taxa (Gulis et al., 2008). Ecologically, the combination of higher fall richness and dispersion at disturbed sites and stable, moderately diverse communities at reference sites supports a disturbance, with anthropogenic inputs periodically increasing resource heterogeneity and turnover, recruiting additional taxa but also, at times, favoring a subset of disturbance-tolerant fungi (Izabel-Shen

et al., 2022). The consistency across indices aligns with this view and was observed in other studies (Galand et al., 2016; Gulis et al., 2008; Izabel-Shen et al., 2022).

The season-sensitive bacterial and fungal community patterns differed according to sampling group. Sites downstream of the closed landfill and highway (LF + CS) showed highest variations, agricultural sites showed intermediate variations and reference sites showed the lowest variations (Figure 16). This suggests stronger and more heterogeneous resource inputs downstream of the closed landfill and highway (organic-/nutrient-rich leachate and metals) that can sustain larger, and taxonomically broader, microbial assemblages. In contrast, reference sites show tighter dispersion in reads and richness, consistent with more stable, lower-nutrient conditions.

2.4.3. Taxonomic and ecological function composition of the bacterial communities of the biofilm

The bacterial community composition revealed clear differences across sampling sites, although Proteobacteria and Actinobacteria dominated all samples, consistent with other freshwater bacterial communities (Kiersztyn et al., 2019; Newton et al., 2011; Sun et al., 2017). These taxa are essential to freshwater ecosystems by maintaining ecological balance and for the survival of these habitats, which constantly receives leaf debris, wood, and runoff from surrounding soils. These bacteria are specifically equipped to break down and recycle this incoming material, preventing it from accumulating and suffocating the environment (Kiersztyn et al., 2019; Newton et al., 2011; Sun et al., 2017).

At the reference sites, Cyanobacteria were particularly abundant. As components of freshwater phytoplankton and phytobenthic communities (Douterelo et al., 2004), many cyanobacterial genera were observed exclusively at these sites typically form phototrophic mats on stable substrates and are often sensitive to metals and other toxins (Bozan et al., 2025) (Facey et al., 2019; Surosz & Palinska, 2004). These reference sites also harbor highly specialized bacteria involved in nitrogen, sulfur, and methane cycling (*Candidatus* taxa, *Methylocaldum, Methylomarinum, Dechlorobacter, Rhodanobacter*, etc.), as well as genera

that are usually associated with natural sediments, litter, and peat bogs in low-impact habitats (Jensen et al., 2023; Kalam et al., 2020), forming saprophytic populations (Kazda et al., 2010). *Fodinicola*, an Actinobacteria initially described on acidic rocks and in Acacia roots, is typically associated with mineral substrates and plant-related communities (Carlsohn et al., 2008), while *Tabrizicola* was recently reclassified as anoxygenic aerobic photoheterotrophs characteristic of well-oxygenated, relatively undisturbed waters (Tarhriz et al., 2019). Overall, the communities observed at reference sites harbor photoheterotrophic, rhizosphere-associated taxa (Matsumoto et al., 2013), which suggests that reference sites remained strongly influenced by sediments, riparian vegetation and natural primary production.

At agricultural sites, the community retained its overall freshwater signature but shifts toward taxa better adapted to elevated organic matter and particle loads were observed. The slight increase in Planctomycetes may reflect their ability to colonize biofilms associated with suspended particles and plant-derived organic matter. This pattern is also consistent with their reported occurrence in eutrophic and anthropogenically disturbed environments. (Dedysh & Ivanova, 2019; Storesund et al., 2020). The higher abundance of *Flavobacterium* at these sites is also in line with the ecology of this genus. *Flavobacteria* are heterotrophs specialized in the degradation of biopolymers and complex organic matter, and their abundance often increases in eutrophic environments or those receiving terrestrial organic inputs (Bissett et al., 2008). Several studies report *Flavobacterium* as common in agricultural soils and the rhizosphere of cultivated plants, as well as in sediments or waters impacted by soil and fertilizer runoff (Liu et al., 2024; Seo et al., 2024). The co-occurrence of *Gaiella* and *Ilumatobacter,* and these eutrophication-associated groups at agricultural and reference sites indicates that these sites are still largely structured by sediment and vegetation inputs and by natural autochthonous primary production (Amon et al., 2023; Li et al., 2023; Wilhelm et al., 2023).

In contrast, sites downstream of the closed landfill and highway showed a marked reorganization of the bacterial community. At the phylum level, Proteobacteria become

proportionally more abundant, consistent with their metabolic versatility and frequent dominance in environments enriched with organic matter and pollutants, where they contribute to numerous biogeochemical processes (Pineda-Mora et al., 2020; Zhang et al., 2020). These sites also host higher proportions of pollutant-resistant, opportunistic, parasitic, or pathogenic bacteria. Human pathogens were found, such as zoonotic pathogens (*Campylobacter ureolyticus*), and other important human pathogens (*Streptococcus, Staphylococcus, Enterococcus*). Animal pathogens and parasites were also found at these sites, such as salmonidae or fish pathogens (*Renibacterium*, *Aeromonas sobria* and *popoffi*), a respiratory pathogen in birds (*Ornithobacterium aureus*), a nematode parasite (*Pasteuria*), and an arthropod pathogen (*Rickettsiella tipulae*). Several other potential pathogens were also only detected at these sites, such as phytopathogens (*Pseudomonas cichorii*, *Pantoea agglomerans*). Other genera exclusive to these sites belong to known sulfate and metal-reducing groups (*Desulfatiglans, Desulfomicrobium, Desulfuromonas*, etc.) (Chen et al., 2025; Dong et al., 2024; Zhou et al., 2025), or to genera implicated in the degradation and bioremediation of pollutants such as *Shewanella putrefaciens, Dehalogenimonas, Thauera, Zoogloea oleivorans,* and *Syntrophomonas* (Byappanahalli et al., 2012; Darma et al., 2022; Venâncio et al., 2022). *Hyphomicrobium,* a bacterium typically found in wastewater treatment plants, wastewater biofilms and denitrification systems, was likewise only observed at these contaminated sites (Layton et al., 2000). *Novosphingobium*, including *N. kunmingense* which degrades a wide range of aromatic compounds such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (Lyu et al., 2014), was also more abundant at sites downstream of the closed landfill and highway compared to agricultural and reference sites, suggesting organic contamination.

Altogether, this shift from cyanobacteria-rich, functionally diverse, and largely "natural" communities at reference and agricultural sites to communities dominated by pollutant-tolerant, metal-reducing, opportunistic, and pathogenic taxa at the most contaminated sites underscores how strongly the biofilm microbiome mirrors the underlying contamination gradient.

2.4.4. Taxonomic composition and ecological function predictions of the fungal communities of the biofilm along the contaminant and spatial gradients

The fungal results complemented the bacterial patterns by revealing comparable spatial differentiation among reference, agricultural, and landfill- and highway-influenced sites, while highlighting distinct predicted ecological functions. Whereas bacterial communities mainly reflected changes in biogeochemical cycling and contaminant-associated metabolism, fungal communities captured shifts in saprotrophic, plant-associated, symbiotic, and pathogenic guilds.

Ascomycota overwhelmingly dominated all samples, consistent with their ubiquity and ecological versatility in freshwater and terrestrial systems. Ascomycota generally exhibit high competitive and stress tolerance, broad resource use, which is an advantage for organisms in sediments, which explains why they are often the dominant phylum in diverse environments (Egidi et al., 2019; Proaño-Cuenca et al., 2025). In contrast, Basidiomycota, Chytridiomycota, Rozellomycota, and Mortierellomycota showed more restricted and site-specific distributions. Notably, Rozellomycota were detected only at contaminated sites (AG + LF + CS), whereas Mortierellomycota were restricted to reference sites, suggesting contrasting ecological niches and potential indicator value for impacted versus relatively pristine habitats (Luo et al., 2021). Across all sites, we also observed a relatively high proportion of unassigned fungal taxa, particularly at reference sites, underlining both the incompleteness of current reference databases and the likelihood of unexplored fungal diversity in less disturbed environments (Wang et al., 2023).

It should be added that fungal ASVs could often be resolved to genus or even species level and assigned to ecological guilds with FUNGuild, providing our fungal dataset with finer taxonomic and functional resolution for communities than the bacterial dataset. ITS regions exhibited much higher nucleotide variability than the V3-V4 regions of the 16S rRNA gene. V3-V4 regions generally allowed discrimination limited to the genus level in bacteria. This highlights how fungal community analyses, while still comparatively

underrepresented in freshwater biofilm studies, can yield detailed insights into ecosystem functioning.

At the reference sites, Ascomycota co-occurred with Mortierellomycota and subsets of Basidiomycota that are typically associated with saprotrophic and decomposer lifestyles. Genera such as *Aureobasidium, Saccharomyces, Neobulgaria,* and *Mortierella* are well-known saprotrophs or fermenters that contribute to carbon cycling and organic matter decomposition in healthy soils and sediments (Neupane et al., 2024; Ozimek & Hanaka, 2020; Qiu et al., 2024). Consistent with this taxonomic signature, guild-level predictions showed that these reference communities hosted guilds characteristic of undisturbed environments, including pollen saprotrophs, undefined saprotrophs, and ectomycorrhizal fungi (Figure 20 b,c). Symbiotrophs, in particular mycorrhizal and root-associated mutualists, were proportionally more abundant at reference sites, while pathotrophs were comparatively less represented, suggesting that these communities reflect more balanced and functionally healthy and natural biofilms, similar to those reported in forested headwaters where mycorrhizal and decomposer guilds dominate under low contaminant stress (Krauss et al., 2011).

Agricultural sites were also dominated by Ascomycota but were taxonomically enriched in plant-associated genera such as *Cladosporium, Ascochyta, Didymella, Ramularia,* and *Epicoccum*, which are frequently reported as phytopathogens or endophytes in crop-influenced soils and rhizospheres (Bensch et al., 2012; Y. Li et al., 2024; Rodriguez-Sanchez et al., 2022; Tieche et al., 2024). These taxa are consistent with terrestrial inputs of crop residues and spores from surrounding fields. In line with this pattern, FUNGuild assignments indicated that plant pathogens, plant saprotrophs, undefined saprotrophs, and wood saprotrophs were among the dominant guilds at agricultural sites. Saprotrophic fungi, which are vital decomposers in sediments and soils and proliferate when organic matter concentrations are high (Francioli et al., 2021), were more abundant at agricultural sites than at reference sites, mirroring the higher nutrient content observed in these sites (Li et al., 2020). Wood saprotrophs were particularly enriched at agricultural sites, likely due to the

forested riparian landscape of the sites, where dense vegetation can supply abundant woody debris as substrate. Animal parasites and pathogens, as well as dung saprotrophs and undefined parasites, were also more frequent at agricultural than reference sites, suggesting that land-use intensification and associated inputs (livestock waste, fertilizers, plant debris, etc.) promoted guilds associated with both decomposing organic inputs and parasitism.

The sites downstream of the closed landfill and highway showed the strongest deviation from the reference pattern, both taxonomically and functionally. At the phylum level, Basidiomycota and Chytridiomycota were relatively more abundant at these sites, and Rozellomycota (Cryptomycota) occurred exclusively under these contaminated conditions. Rozellomycota are often described as parasitic or commensal fungi associated with protists, algae or other fungi, and their presence has been linked to nutrient-enriched or stressed environments (Harpke et al., 2021; Lin et al., 2019; Okrasińska et al., 2022; Rosenqvist et al., 2025). At the genus level, *Fusarium, Aureobasidium pullulans, Neopyrenochaeta* (*N. acicula*), and *Chaetomium* (*C. grande*) (Agyekum et al., 2023), which are stress-tolerant or opportunistic taxa and frequently reported in disturbed or polluted habitats, and *Acremonium charticola* and *A. fusidoides*, have been reported in metal contaminated environments, suggesting possible tolerance or persistence to these conditions (Costa et al., 2006; Kurowski et al., 2016; Ma et al., 2014), were more abundant downstream of the landfill and highway, where they likely benefited from nutrient enrichment and chemical stressors (Wachowska & Głowacka, 2014). Within phyla Ascomycota and Basidiomycota, several taxa are reported to tolerate elevated metal concentrations because of their metabolic diversity, which may partly explain their relative enrichment at metal-contaminated sites (Passarini et al., 2022). Functionally, these taxonomic patterns were mirrored by an increase in pathotrophic and parasitic guilds. Sites downstream of the landfill and highway exhibited higher relative abundances of fungal and lichen parasites, as well as animal parasites and pathogens, while saprotrophs also remained common. This strong representation of pathotrophic guilds, including plant pathogens and generalist parasites such as *Fusarium* (*F. asiaticum* (Ahn et al., 2022), *F. tricinctum* (Wang et al., 2022), *F. verticillioides* (Martínez-Fraca et al., 2022), *F. sambucinum* (Desjardins & Plattner, 1989), *F. algeriense* (Laraba et al., 2017)), *Alternaria*

(*A. metachromatica* (Bashir et al., 2014), *A. molesta* (Mamgain et al., 2013), *A. chlamydospore* (Vennewald & Wollina, 2005)) or *Cladosporium*, indicates that pollution-tolerant and opportunistic fungi can thrive at the expense of pollution-sensitive symbiotic and mutualistic taxa, as is supported by other studies (Anthony et al., 2017; Wang et al., 2025). Symbiotrophs were at their lowest relative abundance at these nutrient and metal contaminated sites, reinforcing the view that chemical stress and organic enrichment can destabilize mutualistic networks and favor opportunistic, parasitic lifestyles.

Overall, the fungal data revealed a consistent coupling between taxonomic shifts and functional guilds along the contamination gradient. Reference sites harbored diverse saprotrophic and symbiotic fungi typical of natural and low-impact habitats, agricultural sites were dominated by plant-associated saprotrophs linked to high organic inputs, and sites downstream of the closed landfill and highway were characterized by metal-tolerant parasites, and a marked rise of pathotrophic and opportunistic guilds. This trend was observed in other studies (Xie et al., 2014). Taken together, these patterns show that fungal communities (not only at the phylum level but down to genera, species, and functional guilds) can provide a sensitive and mechanistically informative lens on how freshwater biofilms respond to agricultural, industrial, and municipal contamination. This study highlights the potential of aquatic fungi as bioindicators in ecosystems that have historically been interpreted mostly through their bacterial communities.

CONCLUSION

By jointly examining bacterial and fungal communities, this study provides a more comprehensive assessment of biofilm responses to environmental degradation while addressing the comparatively limited knowledge of aquatic fungal diversity. The finer taxonomic resolution often achieved through ITS sequencing is particularly valuable because closely related fungal and bacterial species within a genus may occupy distinct ecological roles, supporting the relevance of fungi as sensitive and informative indicators of environmental disturbances.

In long term metal contaminated riverbeds in Rimouski (Canada), bacterial and fungal richness were higher than reference sites. There were notable variations in the taxonomic composition and functional structure of these populations along the contamination gradient, with trace metals (Mn, Co, Cu, Zn, Pb, Fe, As, Al) and major elements and ions (Cl, Na, Rb, NO_3, SO_4) responsible for these variations.

Additionally, our results suggest that agricultural practises favor plant-associated bacteria and fungi, trace elements and nutrient contamination associated with landfill leachate and highway runoffs favor pollution resistant, opportunistic, and harmful (parasitic, pathogenic) taxa to the detriment of mutualistic and pollution sensitive taxa. This pattern creates a shift from natural microbial assemblages to communities dominated by pathotrophic taxa at contaminated sites across the contamination gradient. Thus, our results highlight the potential of bacteria and fungi as powerful bioindicators of environmental quality. Seasonality also played an important role in bacterial and fungal communities' composition and structure. Our results suggest that higher temperatures and increased host availability in late summer and fall favored pathotrophic (arthropod, plant, fungal, and protist parasites and pathogens) and saprotrophic taxa at the expense of symbiotic and mutualistic taxa.

Thus, from an ecological point of view, it can be inferred that such changes at the base of the food chain are likely to have negative repercussions on the entire freshwater ecosystem by compromising the transfer of energy and nutrients to higher trophic levels, but also by causing disease. Such changes could have cascading effects throughout the aquatic food web by altering habitat quality, resource availability, trophic interactions, and ecosystem functioning. These effects may be particularly concerning in contaminated thermal refuges, which are used by Atlantic salmon during periods of elevated water temperature. Although these habitats provide essential thermal protection, contamination may reduce their ecological quality and compromise the benefits they offer. Atlantic salmon, an endangered species that is particularly sensitive to environmental disturbances, may therefore be especially vulnerable, with potential consequences for its condition, resilience, and survival.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Geneviève Parent and Laury-Ann Dumoulin from the laboratory of Genomics at Maurice Lamontagne Institute and Camille Berthod for their technical support and advice regarding eDNA extraction and bioinformatics. We also thank Marie-Eve Anglehart and Steeven Ouellet from the Université du Québec à Rimouski for their technical support and advice. We also thank Clara Julliard and Anne Corminboeuf from the *Organisme des Bassins Versants du Nord-Est du Bas-Saint-Laurent* (OBVNEBSL), Clément Vandaine, Gabriel Côté, Elia Wagner-Beaulieu for their technical support with sampling, DNA and contaminant extraction and Raphaële Terrail from the OBVNEBSL for her administrative assistance. This study was funded by the Environmental Damages Fund from Environment and Climate Change Canada.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

2.7.1. Appendix 1

Inorganic anions were separated on an anion exchange column (Thermo Scientific, Dionex IonPac AS18, 4 × 250 mm, 285 µeq,) and a pre-column (Thermo Scientific, Dionex Ionpac AG18 060551), equipped with a dynamically regenerating anion suppressor (Thermo Scientific, Dionex ADRS 600 (4 mm)).

2.7.2. Appendix 2



Figure 21. (A) Close up of orange coloration of rocks and sediments at the thermal refuge site (TR). (B) Close up of biofilm on rocks at the TR. (C) (D) Plume of contamination in the Rimouski River transported by the Cavée creek. (E) Confluence of the Cavée creek and the Rimouski River (TR), where orange-colored deposits on rocks are observed.

2.7.3. Appendix 3

Table 4. Physico-chemical parameters at sampling sites. (SE is the standard error of particulate matter (PM))

Site	Month	Year	pH	Temperature (°C)	Flow velocity (m/s)	PM (mg/L)	SE
AG	October	2023	8.05	10.25	*NA*	31.12	± 7.47
AG	October	2023	8.08	10.25	*NA*	1.96	± 1.37
LF	October	2023	7.78	8.75	*NA*	5.60	± 0.90
CAV2	October	2023	8.23	8.9	*NA*	4.23	± 0.22
CAV1	October	2023	8.31	8.9	*NA*	5.34	± 0.63
TR	October	2023	8.38	8.7	*NA*	5.73	± 1.73
RIM	October	2023	8.43	8.85	*NA*	21.20	± 1.51
REF1	October	2023	8.08	8.85	*NA*	8.29	± 3.43
REF2	October	2023	8.32	9.6	*NA*	0.20	± 0.20
REF3	October	2023	8.28	9.6	*NA*	1.01	± 0.81
AG	November	2023	8.15	3.5	*NA*	73.25	± 51.64
AG	November	2023	8.12	3.35	*NA*	82.79	± 58.58
LF	November	2023	7.8	3.75	*NA*	5.8	± 0.20
CAV2	November	2023	8.14	3.8	*NA*	5.33	± 60.60
CAV1	November	2023	8.23	3.85	*NA*	67.61	± 0.07
TR	November	2023	8.33	3.65	*NA*	17.99	± 0.72
RIM	November	2023	8.32	3.45	*NA*	1.67	± 0.47
REF1	November	2023	7.69	1.05	*NA*	27.6	± 15.48
REF2	November	2023	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
REF3	November	2023	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
AG	December	2023	7.8	*NA*	*NA*	5.88	± 4.46
AG	December	2023	7.81	*NA*	*NA*	1.53	± 0.07
LF	December	2023	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
CAV2	December	2023	8.08	1.3	*NA*	6.18	± 0.18
CAV1	December	2023	8.13	0.8	*NA*	8.86	± 1.02
TR	December	2023	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
RIM	December	2023	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
REF1	December	2023	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
REF2	December	2023	7.93	*NA*	*NA*	0.22	± 0.13
REF3	December	2023	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
AG	January	2024	8.01	*NA*	0.4	60.08	± 56.12
AG	January	2024	8.03	*NA*	0.4	8.11	± 1.32

LF	January	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
CAV2	January	2024	8.05	*NA*	0.2	9.52	± 0.30
CAV1	January	2024	8.07	-0.1	0.2	7.83	± 1.19
TR	January	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
RIM	January	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
REF1	January	2024	7.59	*NA*	0.4	0.13	± 0.13
REF2	January	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
REF3	January	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
AG	February	2024	8.06	*NA*	*NA*	3.74	± 1.38
AG	February	2024	8.10	*NA*	*NA*	20.54	± 11.99
LF	February	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
CAV2	February	2024	8.13	*NA*	0.6	7.07	± 0.36
CAV1	February	2024	8.15	*NA*	0.4	15.78	± 9.12
TR	February	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
RIM	February	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
REF1	February	2024	7.98	*NA*	0.2	0.27	± 0.18
REF2	February	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
REF3	February	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
AG	March	2024	8.06	*NA*	0.21	2.00	± 0.12
AG	March	2024	8.04	*NA*	0.21	3.49	± 0.67
LF	March	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
CAV2	March	2024	8.09	*NA*	0.67	7.58	± 0.31
CAV1	March	2024	8.08	*NA*	0.24	7.07	± 0.18
TR	March	2024	8.14	*NA*	0.1	12.57	± 7.02
RIM	March	2024	7.96	*NA*	0.5	4.40	± 1.00
REF1	March	2024	7.99	*NA*	0.58	0.53	± 0.07
REF2	March	2024	8.17	*NA*	NA	0.74	± 0.33
REF3	March	2024	8.13	*NA*	NA	3.83	± 1.74
AG	April	2024	8.00	5.8	1.9	2.45	± 0.04
AG	April	2024	*NA*	5.8	2.4	*NA*	± *NA*
LF	April	2024	7.92	6.8	2.3	3.32	± 0.64
CAV2	April	2024	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*	± *NA*
CAV1	April	2024	8.04	*NA*	*NA*	6.08	± 0.41
TR	April	2024	8.20	5.9	*NA*	5.98	± 0.07
RIM	April	2024	8.07	5.5	*NA*	4.23	± 0.37
REF1	April	2024	7.91	5.3	1.2	3.27	± 0.07
REF2	April	2024	8.17	5.7	2.8	0.73	± 0.24
REF3	April	2024	8.10	5.6	NA	23.34	± 15.85
AG	May	2024	7.97	9	1.1	12.32	± 3.15
AG	May	2024	*NA*	9.3	0.6	*NA*	± *NA*
LF	May	2024	7.81	10.1	2.5	5.26	± 0.20

CAV2	May	2024	*NA*	*NA*	3.5	*NA*	± *NA*
CAV1	May	2024	8.25	*NA*	1.7	39.50	± 17.14
TR	May	2024	8.32	*NA*	1.7	6.00	± 0.30
RIM	May	2024	8.14	*NA*	2.3	3.15	± 0.15
REF1	May	2024	7.99	*NA*	2.4	1.67	± 0.12
REF2	May	2024	8.1	*NA*	1.9	1.54	± 0.34
REF3	May	2024	8.23	*NA*	1.5	1.16	± 0.37
AG	June	2024	8.2	9	1	6.08	± 0.08
AG	June	2024	8.1	10	0.7	*NA*	± *NA*
LF	June	2024	7.9	9	1.8	8.44	± 0.42
CAV2	June	2024	8.12	11.1	2.9	NA	± NA
CAV1	June	2024	8.19	11.1	2.2	18.75	± 0.63
TR	June	2024	8.08	11.1	2.3	17.53	± 0.43
RIM	June	2024	8.22	14.6	1.8	1.88	± 0.11
REF1	June	2024	7.7	17.7	1.3	2.16	± 0.12
REF2	June	2024	8.4	15	1.4	2.50	± 0.11
REF3	June	2024	8.6	15	1.4	2.56	± 0.22
AG	July	2024	7.8	16.7	0.83	13.44	± 3.95
AG	July	2024	7.9	15.8	*NA*	*NA*	± *NA*
LF	July	2024	7.7	14.7	1.65	10.10	± 0.92
CAV2	July	2024	8.3	14	3.5	NA	± NA
CAV1	July	2024	8.3	15	0.8	10.44	± 0.32
TR	July	2024	8.4	15	1.7	16.09	± 0.43
RIM	July	2024	8.3	22	1	8.81	± 0.92
REF1	July	2024	8.2	25	0.4	1.13	± 0.15
REF2	July	2024	7.8	20.45	0.925	1.96	± 0.21
REF3	July	2024	8.1	21.9	1.1	0.99	± 0.17
AG	August	2024	7.8	14	0.33	8.05	± 5.29
AG	August	2024	8	14	0.1	*NA*	± *NA*
LF	August	2024	7.8	13	0.5	7.84	± 0.34
CAV2	August	2024	8.3	15	3.6	*NA*	± *NA*
CAV1	August	2024	8.2	15	0.8	7.12	± 0.28
TR	August	2024	8.5	15	1.9	6.62	± 0.13
RIM	August	2024	8.2	21	1.3	1.49	± 0.07
REF1	August	2024	8.2	21	0.6	1.10	± 0.09
REF2	August	2024	8	17	1.1	0.33	± 0.26
REF3	August	2024	8.3	19	0.2	0.83	± 0.35
AG	September	2024	8	17	0.3	1.19	± 0.31
AG	September	2024	8	17	0.1	*NA*	± *NA*
LF	September	2024	7.7	15	1.0	9.07	± 0.42
CAV2	September	2024	8.3	15	1.5	*NA*	± *NA*

CAV1	September	2024	8.2	15	0.9	6.55	± 0.31
TR	September	2024	8.4	13	1.1	6.38	± 0.15
RIM	September	2024	8.5	15	0.3	5.68	± 1.94
REF1	September	2024	8.1	21	0	3.04	± 1.62
REF2	September	2024	8.2	18	0.4	0.13	± 0.30
REF3	September	2024	8.2	16	0.5	0.83	± 0.43
AG	November	2024	8.1	3	1.6	1.16	± 0.12
AG	November	2024	8	3	0.8	*NA*	± *NA*
LF	November	2024	7.7	3	1.8	6.34	± 0.49
CAV2	November	2024	8.4	4	2.3	1053.07	± 37.13
CAV1	November	2024	8.3	4	1.4	5.31	± 0.12
TR	November	2024	8.5	4	1.3	5.53	± 0.14
RIM	November	2024	8.4	2	1.2	1.64	± 0.06
REF1	November	2024	8.1	3	1.9	1.38	± 0.24
REF2	November	2024	8.5	4	1.8	1.06	± 0.11
REF3	November	2024	8.7	4	1.4	1.018	± 0.25

2.7.4. Appendix 4

Table 5. Mean concentrations of dissolved major ions, trace elements and nutrients in water samples (Oct 2023, Nov 2023, March 2024 - Nov 2024) linked to bacterial and/or fungal community composition. SE represents the standard error.

	AG1	AG2	LF	CAV2	CAV1	TR	RIM	REF1	REF2	REF3
Concentrations (mg/L)										
B	0.026	0.037	0.034	0.021	0.048	0.061	0.016	0.005	0.017	0.011
±SE	0.004	0.005	0.008	0.010	0.012	0.014	0.004	0.001	0.002	0.003
Ba	0.317	0.110	0.346	0.146	0.283	0.327	0.228	0.168	0.269	0.209
±SE	0.139	0.006	0.157	0.037	0.119	0.150	0.103	0.071	0.125	0.090
Co	0.008	0.005	0.005	0.009	0.006	0.004	0.007	0.007	0.015	0.019
±SE	0.002	0.002	0.002	0.003	0.002	0.002	0.005	0.004	0.006	0.009
Cu	0.0013	0.0012	0.0029	0.0069	0.0045	0.0032	0.0012	0.0027	0.0004	0.0003
±SE	0.0004	0.0003	0.0008	0.0011	0.0009	0.0007	0.0004	0.0011	0.0001	0.0001
K	4.832	7.073	5.484	24.411	16.055	6.101	2.209	1.438	1.087	0.834
±SE	1.657	3.630	1.142	12.949	7.130	1.327	0.457	0.448	0.228	0.135
Mn	0.006	0.006	0.415	0.528	0.482	0.404	0.098	0.009	0.006	0.004
±SE	0.001	0.001	0.054	0.091	0.052	0.038	0.024	0.004	0.003	0.001
Na	22.20	11.49	72.86	46.49	61.11	76.10	23.13	5.27	7.65	6.28
±SE	4.79	3.12	11.07	15.71	11.82	11.20	5.12	0.97	0.90	0.62
Pb	0.004	0.005	0.014	0.015	0.015	0.015	0.004	0.001	0.002	0.002
±SE	0.001	0.002	0.003	0.004	0.003	0.003	0.001	0.000	0.001	0.001
Zn	0.010	0.009	0.045	0.098	0.053	0.041	0.034	0.031	0.009	0.008
±SE	0.002	0.003	0.021	0.035	0.021	0.023	0.020	0.012	0.003	0.003
Cl	21.67	15.19	73.22	75.81	68.96	72.6	19.41	4.98	5.69	5.75
±SE	4.13	8.13	2.32	6.38	14.20	8.50	2.84	1.31	0.71	2.44
NO_3	2.32	2.54	1.31	2.51	2.28	2.47	0.73	0.31	0.43	0.44

±SE	0.21	0.43	0.11	0.31	0.31	0.36	0.48	0.27	0.22	0.17
SO_4	23.53	21.63	23.14	23.17	21.83	22.55	8.95	4.77	3.5	3.31
SE	0.78	1.54	0.43	1.26	3.47	1.63	1.57	1.59	0.28	0.28

Table 6. Mean concentrations of major and trace elements in sediment samples (Oct 2023, Nov 2023, March 2024 - Nov 2024) linked to bacterial and/or fungal community composition. SE represents the standard error.

	AG1	AG2	LF	CAV2	CAV1	TR	RIM	REF1	REF2	REF3
Concentrations (mg/kg)										
Al	34596.16	36992.42	17296.60	20495.29	20459.72	20159.25	21405.38	25907.86	24725.30	25153.49
±SE	2949.86	3200.86	2296.93	2193.05	1155.71	1552.29	1697.81	2114.39	1589.40	1755.08
As	9.20	6.19	71.28	36.74	29.66	45.62	42.95	4.32	7.19	4.39
±SE	2.89	1.03	26.94	16.36	7.10	10.08	9.90	0.94	2.56	0.68
B	13.39	13.59	26.87	19.73	18.56	22.14	22.37	13.35	20.85	19.72
±SE	4.59	4.20	11.44	10.38	9.78	12.70	12.33	4.40	5.87	7.49
Ca	12847.57	14621.15	15612.45	23774.37	21228.27	38579.78	22113.59	5611.87	15915.48	8291.36
±SE	1745.36	1267.30	2856.04	4261.85	3263.98	11555.47	2335.53	1615.33	2668.54	1037.34
Co	10.30	6.61	26.96	27.44	13.11	16.87	13.69	7.22	4.39	5.13
±SE	5.61	2.80	17.77	18.65	7.83	9.81	8.35	3.26	2.58	3.03
Cr	23.87	22.17	11.17	32.00	32.82	29.81	26.14	19.13	25.58	26.66
±SE	5.72	4.96	4.28	7.97	6.05	7.82	7.24	5.81	5.25	5.74
Fe	32327.92	33949.49	77054.83	57859.75	62172.33	70159.83	70536.16	30292.01	30283.22	30595.63
±SE	1231.05	1041.18	15170.64	7574.54	6762.86	8832.57	8008.98	1290.71	1857.59	1330.86
Mg	8269.15	8640.97	6608.72	10381.90	9656.17	9703.47	9205.49	10193.37	12355.92	10914.77
±SE	616.76	969.31	869.64	1086.38	841.39	1511.52	954.77	724.26	1066.05	576.95
Na	1850.36	1953.25	1357.88	1607.66	1853.32	2242.84	2447.43	2398.13	1042.40	1557.09
±SE	767.21	997.93	929.11	723.40	873.22	1173.99	1263.06	1432.84	896.74	1422.41

Rb	54.40	59.50	17.79	21.47	21.61	20.65	24.04	31.41	32.54	29.31
±SE	5.37	5.68	3.58	3.57	2.13	2.75	3.46	4.14	4.73	4.57

2.7.5. Appendix 5

Table 7. PERMANOVA results for effects of Group of sampling site, month, and their interaction (adonis2(formula = dist_perm ~ Site group * Month, permutations = 9999, by = "term", strata = meta_perm$Site))

	Df	**SumOfSqs**	**R2**	**F**	**Pr(>F)**	
Site group	3	4.41	0.13	5.72	1e-04	***
Month	9	7.07	0.20	3.06	1e-04	***
Site group:Month	26	10.35	0.30	1.55	1e-04	***
Residual	50	12.85	0.37			
Total	88	34.68	1.00			

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

2.7.6. Appendix 6

Table 8. Partial inventory of bacterial ASVs (16S) detected in sampled biofilms. Taxonomy is reported from phylum to species. Abundances are reported as total readings and as the average relative abundance (%) calculated across all samples.

ASV_ID	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Relative Abundance	
							Mean	Max
ASV_337	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	Methylobacterium	adhaesivum	0.04	0.37
ASV_5802	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	Methylobacterium	adhaesivum	0.00	0.15
ASV_1634	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Azospirillales	Azospirillaceae	Skermanella	aerolata	0.01	0.34
ASV_6193	Deinococcus-Thermus	Deinococci	Deinococcales	Deinococcaceae	Deinococcus	aerolatus	0.00	0.08
ASV_3922	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Micrococcaceae	Neomicrococcus	aestuarii	0.00	0.07
ASV_4655	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	agglomerans	0.00	0.27
ASV_31	Actinobacteria	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	Blastococcus	aggregatus	0.21	2.84
ASV_839	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Micrococcaceae	Arthrobacter	agilis	0.02	0.42
ASV_7461	Bacteroidetes	Bacteroidia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	agri	0.00	0.06
ASV_2770	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	alba	0.00	0.23
ASV_4839	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	alcaligenes	0.00	0.07
ASV_21	Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	Nocardioides	alpinus	0.24	1.26
ASV_8868	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	anseonense	0.00	0.03
ASV_1207	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	Marisediminicola	antarctica	0.01	0.36
ASV_1554	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Sanguibacteraceae	Sanguibacter	antarcticus	0.01	0.29
ASV_1007	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Micrococcaceae	Paeniglutamicibacter	antarcticus	0.01	0.24
ASV_5836	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Rhodanobacteraceae	Luteibacter	anthropi	0.00	0.32
ASV_9975	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Aminobacter	anthyllidis	0.00	0.05
ASV_173	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Tabrizicola	aquatica	0.17	2.27

ASV_471	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Acetobacterales	Acetobacteraceae	Roseomonas	aquatica	0.03	0.36
ASV_421	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Arenimonas	aquatica	0.04	1.72
ASV_2878	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	aquatile	0.00	0.12
ASV_5109	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	aquidurense	0.00	0.08
ASV_6820	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Acetobacterales	Acetobacteraceae	Roseomonas	arctica	0.00	0.11
ASV_4992	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	arsenicoxydans	0.01	0.62
ASV_3736	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	astaxanthinifaciens	0.00	0.18
ASV_3351	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Massilia	aurea	0.00	0.18
ASV_4454	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Massilia	aurea	0.00	0.13
ASV_3273	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Intrasporangiaceae	Ornithinibacter	aureus	0.00	0.13
ASV_11743	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Eubacteriaceae	Acetobacterium	bakii	0.00	0.01
ASV_7000	Bacteroidetes	Bacteroidia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	bambusae	0.00	0.05
ASV_4653	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Erwinia	billingiae	0.00	0.10
ASV_6841	Actinobacteria	Actinobacteria	Streptosporangiales	Thermomonosporaceae	Thermobispora	bispora	0.00	0.21
ASV_4318	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	Subtercola	boreus	0.00	0.09
ASV_2934	Cyanobacteria	Oxyphotobacteria	Nostocales	Phormidiaceae	Tychonema_CCAP_1459-11B	bornetii	0.01	0.76
ASV_9703	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Variovorax	boronicumulans	0.00	0.07
ASV_4319	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Lysobacter	brunescens	0.00	0.09
ASV_4289	Actinobacteria	Actinobacteria	Streptosporangiales	Thermomonosporaceae	Actinoallomurus	bryophytorum	0.00	0.07
ASV_781	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Altererythrobacter	buctensis	0.02	0.23
ASV_5606	Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium_1	callunae	0.00	0.09
ASV_985	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Thermomonas	carbonis	0.02	0.42
ASV_4267	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	Rathayibacter	caricis	0.00	0.11
ASV_1689	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Chitinibacteraceae	Deefgea	chitinilytica	0.01	0.30
ASV_6124	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	chungangense	0.00	0.29
ASV_7502	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	cichorii	0.00	0.04
ASV_7303	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Aquabacterium	citratiphilum	0.00	0.06

ASV_10593	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Family_XVII	Thermaerobacter	composti	0.00	0.03
ASV_6285	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Thermoactinomycetaceae	Planifilum	composti	0.00	0.06
ASV_1438	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	Actinoplanes	couchii	0.02	0.79
ASV_6054	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Limnohabitans	curvus	0.00	0.09
ASV_4834	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Caulobacter	daechungensis	0.00	0.06
ASV_4688	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Arenimonas	daejeonensis	0.00	0.07
ASV_11417	Nitrospirae	Nitrospira	Nitrospirales	Nitrospiraceae	Nitrospira	defluvii	0.00	0.01
ASV_3488	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Sulfuricellaceae	Sulfuricella	denitrificans	0.00	0.12
ASV_592	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	Actinoplanes	derwentensis	0.02	1.18
ASV_676	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	Actinoplanes	digitatis	0.02	1.08
ASV_3256	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	Actinoplanes	digitatis	0.00	0.09
ASV_5199	Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	doricum	0.00	0.07
ASV_4108	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Asticcacaulis	endophyticus	0.00	0.10
ASV_2003	Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	Aeromicrobium	erythreum	0.00	0.11
ASV_2590	Bacteroidetes	Bacteroidia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Arcticibacter	eurypsychrophilus	0.00	0.20
ASV_3744	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Acidovorax	facilis	0.00	0.29
ASV_6390	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Rhodoferax	ferrireducens	0.00	0.20
ASV_3693	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Cellvibrionaceae	Cellvibrio	fibrivorans	0.00	0.11
ASV_4919	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Intrasporangiaceae	Knoellia	flava	0.00	0.08
ASV_6340	Actinobacteria	Actinobacteria	Frankiales	Nakamurellaceae	Nakamurella	flavida	0.00	0.05
ASV_2908	Actinobacteria	Actinobacteria	Streptosporangiales	Streptosporangiaceae	Thermopolyspora	flexuosa	0.01	0.83
ASV_9161	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Chitinibacteraceae	Iodobacter	fluviatilis	0.00	0.04
ASV_5386	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Curvibacter	fontanus	0.00	0.15
ASV_3278	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Serratia	fonticola	0.01	0.48
ASV_10572	Bacteroidetes	Bacteroidia	Cytophagales	Spirosomaceae	Flectobacillus	fontis	0.00	0.08
ASV_7520	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	fragi	0.00	0.04
ASV_4479	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae_1	Clostridium_sensu_stricto_2	frigidicarnis	0.00	0.31

ASV_9196	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Loktanella	fryxellensis	0.00	0.02
ASV_800	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Rhizobacter	fulvus	0.03	1.09
ASV_3365	Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	Nocardioides	furvisabuli	0.00	0.16
ASV_760	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Cellvibrionaceae	Cellvibrio	gandavensis	0.04	0.51
ASV_8609	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Archangiaceae	Archangium	gephyra	0.00	0.17
ASV_3996	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Archangiaceae	Archangium	gephyra	0.00	0.09
ASV_2134	Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	Nocardioides	gilvus	0.01	0.16
ASV_409	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Lysobacter	ginsengisoli	0.03	0.41
ASV_2156	Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	Aeromicrobium	ginsengisoli	0.00	0.31
ASV_3088	Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	Aeromicrobium	ginsengisoli	0.00	0.17
ASV_3694	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Devosiaceae	Devosia	glacialis	0.00	0.11
ASV_1653	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Aureimonas	glaciei	0.00	0.22
ASV_12939	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	glycanilyticus	0.00	0.03
ASV_500	Cyanobacteria	Oxyphotobacteria	Synechococcales	Cyanobiaceae	Cyanobium_PCC-6307	gracile	0.08	1.61
ASV_1031	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Rhizobacter	gummiphilus	0.02	0.29
ASV_5503	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	Methylobacterium	haplocladii	0.00	0.09
ASV_1330	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Caulobacter	henricii	0.02	0.73
ASV_6589	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Gillisia	hiemivivida	0.00	0.05
ASV_8484	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Chromobacteriaceae	Vogesella	indigofera	0.00	0.04
ASV_3436	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	Methylobacterium	iners	0.00	0.16
ASV_473	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Devosiaceae	Devosia	insulae	0.04	0.52
ASV_4214	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Yersinia	intermedia	0.01	0.38
ASV_640	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	jaspsi	0.02	0.38
ASV_4975	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	johnsonii	0.00	0.24
ASV_1739	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	Leucobacter	komagatae	0.00	0.17
ASV_6134	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	Planomicrobium	koreense	0.00	0.10
ASV_1427	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium	kunmingense	0.01	0.25

ASV_747	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	Rhodoluna	lacicola	0.02	0.67
ASV_2123	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	Rhodoluna	lacicola	0.00	0.15
ASV_6885	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Micrococcaceae	Neomicrococcus	lactis	0.00	0.07
ASV_8840	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Acetobacterales	Acetobacteraceae	Roseomonas	lacus	0.00	0.03
ASV_138	Nitrospirae	Nitrospira	Nitrospirales	Nitrospiraceae	Nitrospira	lenta	0.09	0.46
ASV_9221	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Methylococcales	Methylomonaceae	Methylomonas	lenta	0.00	0.06
ASV_1702	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Archangiaceae	Melittangium	lichenicola	0.00	0.48
ASV_972	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	Rhodoluna	limnophila	0.01	0.14
ASV_11059	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	limnosediminis	0.00	0.03
ASV_2098	Cyanobacteria	Oxyphotobacteria	Nostocales	Microcystaceae	Snowella_0TU37S04	litoralis	0.01	0.34
ASV_3511	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Elsterales	Elsteraceae	Elstera	litoralis	0.00	0.24
ASV_427	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	longiquaesitum	0.05	0.54
ASV_8832	Bacteroidetes	Bacteroidia	Chitinophagales	Chitinophagaceae	Parasegetibacter	luojiensis	0.00	0.07
ASV_4130	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Carnobacteriaceae	Carnobacterium	maltaromaticum	0.00	0.07
ASV_4971	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	maltophilia	0.00	0.08
ASV_5705	Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium_1	marinum	0.00	0.07
ASV_2069	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	Bosea	massiliensis	0.01	0.30
ASV_1895	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Afipia	massiliensis	0.00	0.13
ASV_1473	Actinobacteria	Actinobacteria	Kineosporiales	Kineosporiaceae	Kineosporia	mesophila	0.02	2.47
ASV_10344	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Sporacetigenium	mesophilum	0.00	0.02
ASV_4003	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	Solirubrobacteraceae	Patulibacter	minatonensis	0.00	0.10
ASV_3586	Actinobacteria	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	Streptomyces	mirabilis	0.00	0.29
ASV_9162	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Sphaerotilus	montanus	0.00	0.04
ASV_1677	Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	moriokaense	0.01	0.45
ASV_4057	Actinobacteria	Actinobacteria	Frankiales	Nakamurellaceae	Nakamurella	multipartita	0.00	0.33
ASV_3286	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Polaromonas	naphthalenivorans	0.00	0.25
ASV_2351	Nitrospirae	Nitrospira	Nitrospirales	Nitrospiraceae	Nitrospira	nitrosa	0.01	0.25

ASV_6210	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Weeksellaceae	Cloacibacterium	normanense	0.00	0.05
ASV_6635	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Rhodocyclaceae	Zoogloea	oleivorans	0.00	0.06
ASV_8788	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Cellvibrionaceae	Cellvibrio	ostraviensis	0.00	0.16
ASV_11592	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Family_XVIII	Symbiobacterium	ostreiconchae	0.00	0.01
ASV_5914	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	panni	0.00	0.06
ASV_6125	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Variovorax	paradoxus	0.00	0.29
ASV_8684	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Undibacterium	parvum	0.00	0.05
ASV_5413	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Limnohabitans	parvus	0.00	0.07
ASV_4929	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	peli	0.00	0.04
ASV_1067	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales	Gemmatimonadaceae	Gemmatimonas	phototrophica	0.03	1.08
ASV_10811	Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	Nocardioides	plantarum	0.00	0.02
ASV_2146	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Aeromonas	popoffii	0.00	0.16
ASV_3759	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Aeromonas	popoffii	0.00	0.10
ASV_1092	Bacteroidetes	Bacteroidia	Chitinophagales	Chitinophagaceae	Ferruginibacter	profundus	0.02	0.60
ASV_3762	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Caulobacter	profundus	0.00	0.12
ASV_1705	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Micrococcaceae	Arthrobacter	psychrolactophilus	0.01	0.16
ASV_1565	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Micrococcaceae	Arthrobacter	psychrolactophilus	0.01	0.19
ASV_5669	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	psychrolimnae	0.00	0.08
ASV_2887	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Devosiaceae	Devosia	psychrophila	0.00	0.17
ASV_4137	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Desulfuromonadales	Geobacteraceae	Geobacter	psychrophilus	0.00	0.19
ASV_359	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	Cryobacterium	psychrotolerans	0.05	0.63
ASV_3953	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	Cryobacterium	psychrotolerans	0.00	0.11
ASV_5099	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Shewanellaceae	Shewanella	putrefaciens	0.00	0.05
ASV_4066	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	qilianensis	0.00	0.10
ASV_1613	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Acidovorax	radicis	0.01	0.36
ASV_7404	Actinobacteria	Actinobacteria	Kineosporiales	Kineosporiaceae	Kineococcus	radiotolerans	0.00	0.04
ASV_8470	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Lactococcus	raffinolactis	0.00	0.07

ASV_8610	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	Agromyces	ramosus	0.00	0.17
ASV_2881	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	reichenbachii	0.01	0.50
ASV_1348	Actinobacteria	Actinobacteria	Kineosporiales	Kineosporiaceae	Kineosporia	rhamnosa	0.02	0.33
ASV_3614	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Polaromonas	rhizosphaerae	0.00	0.24
ASV_318	Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	rhodesiae	0.10	1.29
ASV_4219	Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	rhodesiae	0.00	0.17
ASV_3283	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Tardiphaga	robiniae	0.00	0.14
ASV_688	Armatimonadetes	Armatimonadia	Armatimonadales	Armatimonadaceae	Armatimonas	rosea	0.03	0.36
ASV_6028	Actinobacteria	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	Modestobacter	roseus	0.00	0.05
ASV_8949	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Pelomonas	saccharophila	0.00	0.03
ASV_6524	Bacteroidetes	Bacteroidia	Chitinophagales	Chitinophagaceae	Sediminibacterium	salmoneum	0.00	0.07
ASV_1253	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Porphyrobacter	sanguineus	0.01	0.32
ASV_9653	Firmicutes	Erysipelotrichia	Erysipelotrichales	Erysipelotrichaceae	Turicibacter	sanguinis	0.00	0.02
ASV_1340	Actinobacteria	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	Blastococcus	saxobsidens	0.01	0.30
ASV_641	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Romboutsia	sedimentorum	0.03	0.35
ASV_7201	Bacteroidetes	Bacteroidia	Chitinophagales	Chitinophagaceae	Flavihumibacter	sediminis	0.00	0.16
ASV_2068	Bacteroidetes	Bacteroidia	Cytophagales	Spirosomaceae	Emticicia	sediminis	0.01	0.27
ASV_8487	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Altererythrobacter	sediminis	0.00	0.04
ASV_7265	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Plesiomonas	shigelloides	0.00	0.24
ASV_11672	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	sinopodophylli	0.00	0.03
ASV_7531	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Aeromonas	sobria	0.00	0.09
ASV_1456	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Reyranellales	Reyranellaceae	Reyranella	soli	0.01	0.17
ASV_144	Bacteroidetes	Bacteroidia	Cytophagales	Spirosomaceae	Lacihabitans	soyangensis	0.11	0.60
ASV_1264	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	staleyi	0.01	0.11
ASV_2577	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Arenimonas	subflava	0.00	0.12
ASV_3592	Cyanobacteria	Oxyphotobacteria	Leptolyngbyales	Leptolyngbyaceae	Chamaesiphon_PCC-7430	subglobosus	0.00	0.09
ASV_5351	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Devosiaceae	Devosia	submarina	0.00	0.10

ASV_1096	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Rivibacter	subsaxonicus	0.03	0.45
ASV_4755	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	subvibrioides	0.00	0.13
ASV_227	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	succinicans	0.10	1.55
ASV_559	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	succinicans	0.03	0.59
ASV_13692	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Ureibacillus	suwonensis	0.00	0.05
ASV_12081	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	Thiodictyon	syntrophicum	0.00	0.07
ASV_1720	Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	Nocardioides	szechwanensis	0.01	0.18
ASV_455	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Hydrogenophaga	taeniospiralis	0.03	0.39
ASV_6273	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	Solirubrobacteraceae	Solirubrobacter	taibaiensis	0.00	0.10
ASV_4266	Actinobacteria	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	Umezawaea	tangerina	0.00	0.23
ASV_497	Actinobacteria	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	Geodermatophilus	terrae	0.03	0.28
ASV_2458	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Caenimonas	terrae	0.00	0.09
ASV_3761	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	terrigena	0.00	0.08
ASV_10653	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Geobacillus	thermodenitrificans	0.00	0.04
ASV_8246	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	thermolactis	0.00	0.03
ASV_9751	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Family_XVIII	Symbiobacterium	thermophilum	0.00	0.04
ASV_2457	Chloroflexi	Chloroflexia	Thermomicrobiales	Thermomicrobiaceae	Sphaerobacter	thermophilus	0.00	0.13
ASV_3272	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Thermoactinomycetaceae	Novibacillus	thermophilus	0.00	0.18
ASV_7685	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Diplorickettsiales	Diplorickettsiaceae	Rickettsiella	tipulae	0.00	0.08
ASV_1780	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	tjernbergiae	0.01	0.33
ASV_12096	Epsilonbacteraeota	Campylobacteria	Campylobacterales	Campylobacteraceae	Campylobacter	ureolyticus	0.00	0.07
ASV_2363	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	Actinoplanes	violaceus	0.00	0.34
ASV_1699	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingorhabdus	wooponensis	0.01	0.24
ASV_10847	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	wynnii	0.00	0.04
ASV_1873	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	xinjiangense	0.01	0.27
ASV_9617	Bacteroidetes	Bacteroidia	Flavobacteriales	Weeksellaceae	Chryseobacterium	xinjiangense	0.00	0.09
ASV_5110	Bacteroidetes	Bacteroidia	Cytophagales	Hymenobacteraceae	Hymenobacter	yonginensis	0.00	0.08

ASV_8096	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Betaproteobacteriales	Burkholderiaceae	Duganella	zoogloeoides	0.00	0.24

2.7.7. Appendix 7

Table 9. Partial inventory of fungal ASVs (ITS2) detected in sampled biofilms. Taxonomy is reported from phylum to species, in order of prevalence (prevalence ≥ 20). Prevalence corresponds to the number and percentage of samples where the ASV is detected. Abundances are reported as total readings and as the average relative abundance (%) calculated across all samples.

ASV ID	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Relative abundance	
							Mean	Max
ASV_1	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	Cladosporium	herbarum	5.61	19.35
ASV_18	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pyrenochaetopsidaceae	Pyrenochaetopsis	leptospora	1.18	58.35
ASV_5	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	Cladosporium	herbarum	1.72	9.08
ASV_93	Ascomycota	Leotiomycetes	Chaetomellales	Chaetomellaceae	Pilidium	pseudoconcavum	0.24	3.39
ASV_16	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	victoriae	0.74	4.32
ASV_10	Ascomycota	Dothideomycetes	Dothideales	Saccotheciaceae	Aureobasidium	pullulans	1.34	25.91
ASV_28	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Cucurbitariaceae	Neocucurbitaria	salicis-albae	0.37	5.03
ASV_50	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pyrenochaetopsidaceae	Xenopyrenochaetopsis	pratorum	0.27	1.82
ASV_121	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Ploettnerulaceae	Cadophora	rotunda	0.20	1.08
ASV_97	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Neopyrenochaetaceae	Neopyrenochaeta	acicola	0.26	3.24
ASV_36	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Ilyonectria	mors-panacis	0.37	2.47
ASV_33	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	foliicola	0.41	3.19

ASV_72	Ascomycota	Pezizomycotina_cls_Incertae_sedis	Pezizomycotina_ord_Incertae_sedis	Pezizomycotina_fam_Incertae_sedis	Trichosporiella	multisporum	0.28	6.96
ASV_126	Ascomycota	Dothideomycetes	Dothideales	Dothideales_fam_Incertae_sedis	Hormonema	macrosporum	0.14	1.35
ASV_191	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Podila	humilis	0.13	1.45
ASV_187	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Sclerotiniaceae	Botrytis	caroliniana	0.09	1.35
ASV_105	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Cucurbitariaceae	Neocucurbitaria	populi	0.14	3.47
ASV_46	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Gelatinodiscaceae	Ascocoryne	albida	0.23	1.39
ASV_129	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Trimorphomycetaceae	Saitozyma	podzolica	0.19	2.22
ASV_87	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Tricladiaceae	Tricladium	angulatum	0.16	1.29
ASV_68	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Ganodermataceae	Ganoderma	applanatum	0.23	1.69
ASV_100	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Paraphoma	ledniceana	0.14	1.16
ASV_2	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Epicoccum	pimprinum	4.08	46.03
ASV_61	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Lentitheciaceae	Lentithecium	aquaticum	1.31	100.00
ASV_57	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	tephrensis	0.33	2.65
ASV_52	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	Dactylaria	dimorphospora	0.29	2.67
ASV_104	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Lachnaceae	Lachnellula	hyalina	0.12	0.98
ASV_217	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Amorosiaceae	Angustimassarina	acerina	0.08	0.44

ASV_76	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	victoriae	0.24	2.55
ASV_99	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	Rhexocercosporidium	panacis	0.17	0.92
ASV_570	Ascomycota	Sordariomycetes	Amphisphaeriales	Sporocadaceae	Truncatella	angustata	0.04	0.28
ASV_131	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymosphaeriaceae	Kalmusia	longispora	0.10	0.60
ASV_185	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Gelatinodiscaceae	Xerombrophila	crystallifera	0.09	0.54
ASV_366	Basidiomycota	Tremellomycetes	Trichosporonales	Trichosporonaceae	Apiotrichum	sporotrichoides	0.03	0.34
ASV_56	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Melanommataceae	Sarimanas	shirakamiense	0.21	2.13
ASV_66	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	tephrensis	0.19	2.58
ASV_82	Basidiomycota	Tremellomycetes	Cystofilobasidiales	Mrakiaceae	Itersonilia	perplexans	0.17	1.31
ASV_157	Basidiomycota	Cystobasidiomycetes	Cystobasidiomycetes_ord_Incertae_sedis	Symmetrosporaceae	Symmetrospora	coprosmae	0.06	1.16
ASV_143	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Calloriaceae	Calloria	urticae	0.12	0.91
ASV_295	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Lophiotremataceae	Atrocalyx	lignicola	0.06	0.53
ASV_53	Ascomycota	Leotiomycetes	Leotiales	Leotiales_fam_Incertae_sedis	Flagellospora	curvula	0.27	3.78
ASV_206	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Melanommataceae	Pleotrichocladium	opacum	0.07	0.46
ASV_79	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Ganodermataceae	Ganoderma	carnosum	0.16	1.39
ASV_180	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Sclerotiniaceae	Ciboria	rufofusca	0.08	0.87

ASV_147	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	Tetracladium	psychrophilum	0.18	4.79
ASV_49	Ascomycota	Dothideomycetes	Venturiales	Venturiaceae	Venturia	pyrina	0.16	6.92
ASV_6	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Plectosphaerellaceae	Plectosphaerella	plurivora	0.76	8.15
ASV_21	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Calophoma	rosae	0.41	4.49
ASV_241	Ascomycota	Dothideomycetes	Jahnulales	Aliquandostipitaceae	Xylomyces	aquaticus	0.07	0.90
ASV_402	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetales_fam_Incertae_sedis	Candida	sake	0.04	0.31
ASV_142	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Leptosphaeriaceae	Leptosphaeria	sclerotioides	0.18	11.27
ASV_155	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	victoriae	0.10	0.89
ASV_275	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Dactylonectria	macrodidyma	0.06	1.27
ASV_101	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Gelatinodiscaceae	Neobulgaria	koningiana	0.24	2.51
ASV_215	Ascomycota	Leotiomycetes	Leotiales	Leotiales_fam_Incertae_sedis	Alatospora	acuminata	0.10	2.93
ASV_232	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Amniculicolaceae	Amniculicola	lignicola	0.09	0.92
ASV_323	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Lycoperdaceae	Lycoperdon	pyriforme	0.06	1.10
ASV_212	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	globispora	0.05	0.28
ASV_130	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Gelatinodiscaceae	Neobulgaria	koningiana	0.15	0.98
ASV_280	Basidiomycota	Cystobasidiomycetes	Cystobasidiales	Cystobasidiaceae	Cystobasidium	pinicola	0.04	0.77

ASV_329	Basidiomycota	Cystobasidiomycetes	Buckleyzymales	Buckleyzymaceae	Buckleyzyma	aurantiaca	0.04	0.45
ASV_171	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Coniothyriaceae	Coniothyrium	multiporum	0.07	0.90
ASV_239	Ascomycota	Sordariomycetes	Xylariales	Microdochiaceae	Microdochium	phragmitis	0.07	0.69
ASV_271	Basidiomycota	Exobasidiomycetes	Entylomatales	Entylomataceae	Tilletiopsis	washingtonensis	0.05	0.77
ASV_184	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Ploettnerulaceae	Cadophora	viticola	0.08	1.00
ASV_270	Basidiomycota	Tremellomycetes	Filobasidiales	Piskurozymaceae	Solicoccozyma	terricola	0.07	1.33
ASV_293	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	Dimorphospora	foliicola	0.05	0.42
ASV_231	Ascomycota	Lecanoromycetes	Lecanorales	Parmeliaceae	Parmelia	sulcata	0.08	1.45
ASV_305	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Fusarium	sporotrichioides	0.04	0.69
ASV_463	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Lophiotremataceae	Atrocalyx	nordicus	0.03	0.14
ASV_54	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Fusarium	tricinctum	0.21	1.03
ASV_108	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	victoriae	0.16	1.74
ASV_63	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Lentitheciaceae	Keissleriella	caraganae	0.15	2.65
ASV_106	Ascomycota	Leotiomycetes	Leotiales	Tympanidaceae	Capturomyces	funiculosus	0.10	1.41
ASV_249	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Paraphoma	radicina	0.09	0.87
ASV_226	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Gelatinodiscaceae	Neobulgaria	koningiana	0.06	0.82
ASV_35	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	foliicola	0.19	7.07

ASV_34	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	Dactylaria	dimorphospora	0.29	3.05
ASV_47	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Mycosphaerellaceae	Sphaerulina	westendorpii	0.23	3.00
ASV_182	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	victoriae	0.08	1.37
ASV_205	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Strophariaceae	Hypholoma	capnoides	0.05	0.75
ASV_584	Ascomycota	Dothideomycetes	Myriangiales	Endosporiaceae	Endosporium	populi-tremuloides	0.03	0.94
ASV_15	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Discinellaceae	Tetrachaetum	elegans	0.26	5.20
ASV_128	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Leptodontidiaceae	Leptodontidium	trabinellum	0.12	2.39
ASV_384	Ascomycota	Leotiomycetes	Rhytismatales	Rhytismataceae	Lophodermium	piceae	0.07	2.33
ASV_254	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymosphaeriaceae	Paraphaeosphaeria	sporulosa	0.04	0.67
ASV_251	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Neosetophoma	samarorum	0.04	0.38
ASV_630	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Pleuroascaceae	Entimomentora	hyalina	0.03	0.38
ASV_354	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	Cistella	acuum	0.03	0.21
ASV_748	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Thyridariaceae	Parathyridaria	rosae	0.02	0.54
ASV_197	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	heimaeyensis	0.06	0.74
ASV_236	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Cryptococcaceae	Cryptococcus	nyarrowii	0.04	0.62
ASV_306	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Lentitheciaceae	Pleurophoma	italica	0.04	0.74
ASV_42	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Discinellaceae	Lemonniera	centrosphaera	0.24	4.68

ASV_153	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Dioszegia	hungarica	0.09	1.23
ASV_228	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Leptosphaeriaceae	Pseudoleptosphaeria	etheridgei	0.04	1.54
ASV_150	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleraceae	Bullera	alba	0.04	1.87
ASV_343	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Lentitheciaceae	Keissleriella	caraganae	0.04	0.45
ASV_346	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Melanommataceae	Melanomma	pulvis-pyrius	0.03	0.17
ASV_622	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Sporidiobolales	Sporidiobolaceae	Rhodotorula	graminis	0.02	0.20
ASV_341	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Fuscostagonosporaceae	Fuscostagonospora	banksiae	0.04	0.25
ASV_344	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Teratosphaeriaceae	Acrodontium	crateriforme	0.04	0.52
ASV_436	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Bionectriaceae	Lasionectria	bisepta	0.02	0.51
ASV_568	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pyrenochaetopsidaceae	Pyrenochaetopsis	indica	0.02	0.22
ASV_55	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Calophoma		0.17	1.20
ASV_94	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Fuscostagonosporaceae	Fuscostagonospora	banksiae	0.14	2.81
ASV_273	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreales_fam_Incertae_sedis	Chlamydocillium	antarcticum	0.06	0.79
ASV_472	Basidiomycota	Tremellomycetes	Trichosporonales	Trichosporonaceae	Apiotrichum	gracile	0.04	1.18
ASV_213	Basidiomycota	Agaricomycetes	Atheliales	Atheliaceae	Amphinema	byssoides	0.04	1.20
ASV_396	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	Talaromyces	derxii	0.03	0.34
ASV_292	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Fusarium	asiaticum	0.03	0.26

ASV_628	Basidiomycota	Tremellomycetes	Cystofilobasidiales	Mrakiaceae	Tausonia	pullulans	0.02	0.39
ASV_653	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Teichosporaceae	Teichospora	quercus	0.02	0.35
ASV_578	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pyrenochaetopsidaceae	Xenopyrenochaetopsis	pratorum	0.02	0.17
ASV_863	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	Penicillium	bialowiezense	0.01	0.12
ASV_300	Basidiomycota	Tremellomycetes	Cystofilobasidiales	Mrakiaceae	Mrakia	frigida	0.09	4.09
ASV_340	Ascomycota	Sordariomycetes	Amphisphaeriales	Sporocadaceae	Sporocadus	brevis	0.04	0.41
ASV_218	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Sarocladiaceae	Sarocladium	strictum	0.04	0.62
ASV_560	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Dictyosporiaceae	Jalapriya	apicalivaginata	0.03	0.37
ASV_852	Ascomycota	Dothideomycetes	Mytilinidiales	Mytilinidiaceae	Lophium	mytilinum	0.02	0.52
ASV_175	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymosphaeriaceae	Pseudopithomyces	rosae	0.07	1.63
ASV_195	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymosphaeriaceae	Paraphaeosphaeria	michotii	0.06	0.80
ASV_289	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Extremaceae	Petrophila	incerta	0.04	0.93
ASV_400	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Cordycipitaceae	Samsoniella	hepiali	0.02	0.21
ASV_113	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Extremaceae	Paradevriesia	pseudoamericana	0.13	4.13
ASV_102	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Mycosphaerellaceae	Sphaerulina	westendorpii	0.10	1.06
ASV_174	Ascomycota	Sordariomycetes	Diaporthales	Cytosporaceae	Cytospora	brevispora	0.08	1.10
ASV_381	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Didymocyrtis	pini	0.05	0.55

ASV_178	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Bulleribasidium	variabile	0.05	1.02
ASV_450	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Epicoccum	pimprinum	0.04	0.97
ASV_440	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Sarcopodium	araliae	0.04	1.31
ASV_169	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Dioszegia	dumuzii	0.04	1.98
ASV_546	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Nigrogranaceae	Nigrograna	norvegica	0.03	0.33
ASV_974	Basidiomycota	Agaricomycetes	Hymenochaetales	Schizoporaceae	Lyomyces	sambuci	0.01	0.12
ASV_26	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Plectosphaerellaceae	Plectosphaerella	cucumerina	0.29	9.02
ASV_445	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	Helicodendron	triglitziense	0.07	4.97
ASV_172	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Discinellaceae	Lemonniera	aquatica	0.04	0.47
ASV_360	Basidiomycota	Agaricomycetes	Amylocorticiales	Amylocorticiaceae	Plicaturopsis	crispa	0.03	0.44
ASV_454	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleomassariaceae	Prosthemium	intermedium	0.02	0.34
ASV_446	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Lycoperdaceae	Lycoperdon	perlatum	0.02	0.35
ASV_688	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Microbotryomycetes_ord_Incertae_sedis	Microbotryomycetes_fam_Incertae_sedis	Curvibasidium	cygneicollum	0.02	0.23
ASV_58	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Discinellaceae	Lemonniera	centrosphaera	0.15	2.46
ASV_324	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	Hymenoscyphus	caudatus	0.11	4.99
ASV_141	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Gelatinodiscaceae	Ascocoryne	albida	0.06	0.62

ASV_170	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Discinellaceae	Lemonniera	centrosphaera	0.06	0.94
ASV_564	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Neoascochyta	graminicola	0.04	0.43
ASV_394	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymosphaeriaceae	Paraphaeosphaeria	viciae	0.03	0.54
ASV_426	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Neosetophoma	xingrenensis	0.03	0.25
ASV_221	Basidiomycota	Tremellomycetes	Cystofilobasidiales	Mrakiaceae	Mrakia	aquatica	0.13	3.75
ASV_70	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Epicoccum	pimprinum	0.12	2.14
ASV_337	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Mycenaceae	Panellus	serotinus	0.10	7.02
ASV_208	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Melanommataceae	Melanomma	japonicum	0.06	0.54
ASV_430	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Lophiostomataceae	Lophiostoma	scrophulariicola	0.04	0.54
ASV_225	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Paraphoma	salicis	0.04	0.49
ASV_623	Ascomycota	Leotiomycetes	Thelebolales	Thelebolaceae	Thelebolus	globosus	0.04	1.39
ASV_412	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Setomelanomma	holmii	0.03	0.98
ASV_575	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Strophariaceae	Pholiota	gummosa	0.02	0.31
ASV_62	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Drepanopezizaceae	Drepanopeziza	brunnea	0.13	3.72
ASV_158	Ascomycota	Pezizomycotina_cls_Incertae_sedis	Pezizomycotina_ord_Incertae_sedis	Pezizomycotina_fam_Incertae_sedis	Hymenula	cerealis	0.07	2.08
ASV_548	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	Humicolopsis	cephalosporioides	0.02	0.23

ASV_811	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Cucurbitariaceae	Neocucurbitaria	ribicola	0.02	0.26
ASV_538	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Psathyrellaceae	Coprinellus	micaceus	0.02	0.24
ASV_566	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	Filosporella	annelidica	0.02	0.25
ASV_51	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Fusarium	tricinctum	0.47	21.86
ASV_116	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Mycosphaerellaceae	Sphaerulina	westendorpii	0.08	1.17
ASV_361	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Ploettnerulaceae	Cadophora	rotunda	0.05	0.74
ASV_488	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Massarinaceae	Helminthosporium	genistae	0.04	0.63
ASV_511	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Neosetophoma	rosigena	0.03	0.32
ASV_348	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae	Perenniporia	subacida	0.03	0.71
ASV_322	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Neonectria	candida	0.03	0.24
ASV_512	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Ploettnerulaceae	Cadophora	novi-eboraci	0.02	0.38
ASV_358	Ascomycota	Leotiomycetes	Leotiales	Tympanidaceae	Ramoconidiophora	euphorbiae	0.12	8.34
ASV_156	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Neoascochyta	desmazieri	0.06	1.07
ASV_735	Basidiomycota	Pucciniomycetes	Pucciniales	Melampsoraceae	Melampsora	paradoxa	0.02	0.42
ASV_839	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Ploettnerulaceae	Pyrenopeziza	caespiticia	0.02	0.24
ASV_507	Ascomycota	Eurotiomycetes	Chaetothyriales	Trichomeriaceae	Knufia	cryptophialidica	0.02	0.26
ASV_649	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymosphaeriaceae	Paraphaeosphaeria	sporulosa	0.01	0.16

ASV_952	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Sporidiobolales	Sporidiobolaceae	Sporobolomyces	roseus	0.01	0.26
ASV_234	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Paraphoma	dioscoreae	0.10	2.18
ASV_188	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Fusarium	tricinctum	0.03	0.63
ASV_379	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Mycosphaerellaceae	Zymoseptoria	crescenta	0.03	0.80
ASV_429	Ascomycota	Leotiomycetes	Thelebolales	Pseudeurotiaceae	Pseudogymnoascus	roseus	0.03	0.45
ASV_336	Basidiomycota	Agaricomycetes	Atheliales	Atheliaceae	Piloderma	bicolor	0.02	0.58
ASV_845	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Rutstroemiaceae	Lambertella	tubulosa	0.01	0.18
ASV_750	Basidiomycota	Tremellomycetes	Trichosporonales	Trichosporonaceae	Apiotrichum	gracile	0.01	0.27
ASV_527	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Bionectriaceae	Clonostachys	divergens	0.01	0.14
ASV_605	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetales_fam_Incertae_sedis	Teunomyces	kruisii	0.01	0.18
ASV_1145	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Strophariaceae	Pholiota	squarrosa	0.01	0.21
ASV_37	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Mycosphaerellaceae	Sphaerulina	westendorpii	0.21	3.37
ASV_304	Ascomycota	Leotiomycetes	Phacidiales	Phacidiaceae	Gloeopycnis	protuberans	0.08	1.52
ASV_312	Ascomycota	Leotiomycetes	Thelebolales	Pseudeurotiaceae	Pseudeurotium	hygrophilum	0.06	1.09
ASV_397	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreaceae	Trichoderma	viride	0.02	0.33
ASV_541	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Strophariaceae	Hypholoma	lateritium	0.02	0.21

ASV_939	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	melezitolytica	0.01	0.23
ASV_692	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Dioszegia	butyracea	0.01	0.12
ASV_919	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Periconiaceae	Periconia	verrucosa	0.01	0.13
ASV_1147	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Nigrograna ceae	Nigrograna	locuta-pollinis	0.01	0.08
ASV_27	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Plectosphaerellaceae	Plectosphaerella	plurivora	0.23	4.32
ASV_291	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Ploettnerulaceae	Cadophora	viticola	0.07	0.69
ASV_214	Ascomycota	Dothideomycetes	Venturiales	Venturiaceae	Fraxinicola	europaea	0.05	1.83
ASV_335	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Sporormiaceae	Preussia	flanaganii	0.04	0.90
ASV_504	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Neoascochyta	tardicrescens	0.04	0.59
ASV_262	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Tricladiaceae	Mycofalcella	calcarata	0.03	0.65
ASV_442	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Gelatinodiscaceae	Neobulgaria	koningiana	0.02	0.28
ASV_517	Ascomycota	Sordariomycetes	Myrmecridiales	Myrmecridiaceae	Myrmecridium	schulzeri	0.02	0.50
ASV_758	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Microcera	physciae	0.01	0.28
ASV_29	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Plectosphaerellaceae	Plectosphaerella	cucumerina	0.36	28.10
ASV_330	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Septoriella	oudemansii	0.04	0.53
ASV_537	Ascomycota	Sordariomycetes	Sordariales	Neoschizotheciaceae	Apodus	deciduus	0.04	1.48
ASV_392	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Mycosphaerellaceae	Ramularia	nyssicola	0.04	0.62

ASV_339	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Ploettnerulaceae	Cadophora	viticola	0.03	0.80
ASV_574	Basidiomycota	Tremellomycetes	Filobasidiales	Filobasidiaceae	Filobasidium	wieringae	0.03	1.22
ASV_708	Ascomycota	Eurotiomycetes	Chaetothyriales	Trichomeriaceae	Knufia	petricola	0.02	0.28
ASV_481	Ascomycota	Sordariomycetes	Xylariales	Microdochiaceae	Microdochium	phragmitis	0.02	0.23
ASV_749	Basidiomycota	Agaricomycetes	Trechisporales	Hydnodontaceae	Trechispora	invisitata	0.02	0.35
ASV_1218	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetales_fam_Incertae_sedis	Candida	vartiovaarae	0.01	0.95
ASV_1070	Basidiomycota	Tremellomycetes	Filobasidiales	Piskurozymaceae	Piskurozyma	taiwanensis	0.01	0.15
ASV_95	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Septoriella	subcylindrospora	0.18	3.39
ASV_303	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Fusarium	tricinctum	0.04	0.85
ASV_721	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Pezizellaceae	Chalara	piceae-abietis	0.03	0.81
ASV_500	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Ascochyta	var._macrospora	0.03	0.78
ASV_515	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae	Trametes	pubescens	0.01	0.20
ASV_788	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Lindgomycetaceae	Lindgomyces	apiculatus	0.01	0.25
ASV_1270	Chytridiomycota	Rhizophydiomycetes	Rhizophydiales	Halomycetaceae	Paranamyces	uniporus	0.01	0.26
ASV_753	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	Sagenomella	verticillata	0.01	0.09
ASV_318	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Paraphoma	dioscoreae	0.11	4.38

ASV_260	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Extremaceae	Paradevriesia	pseudoamericana	0.06	1.25
ASV_485	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Parastagonospora	nodorum	0.04	0.69
ASV_513	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Pezizellaceae	Chalara	piceae-abietis	0.03	0.48
ASV_265	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Pseudocosmospora	rogersonii	0.03	0.29
ASV_807	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Melanommataceae	Melanomma	pulvis-pyrius	0.01	0.20
ASV_797	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Thelonectria	discophora	0.01	0.32
ASV_624	Ascomycota	Sordariomycetes	Xylariales	Hypoxylaceae	Hypoxylon	rubiginosum	0.01	0.14
ASV_1038	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Strophariaceae	Stropharia	caerulea	0.01	0.31
ASV_941	Ascomycota	Lecanoromycetes	Lecanorales	Scoliciosporaceae	Scoliciosporum	umbrinum	0.01	0.19
ASV_1256	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Sporidiobolales	Sporidiobolaceae	Sporobolomyces	ruberrimus	0.01	0.15
ASV_529	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Neoascochyta	paspali	0.05	0.74
ASV_223	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Dictyosporiaceae	Verrucoccum	coppinsii	0.03	1.13
ASV_499	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Pezizellaceae	Chalara	holubovae	0.03	0.53
ASV_694	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Dictyosporiaceae	Pseudocoleophoma	yunnanensis	0.03	0.71
ASV_474	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Ploettnerulaceae	Cadophora	viticola	0.02	0.29
ASV_647	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Dioszegia	rishiriensis	0.02	0.59

ASV_1319	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetales_fam_Incertae_sedis	Peterozyma	xylosa	0.01	0.22
ASV_855	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Neoascochyta	graminicola	0.01	0.22
ASV_684	Basidiomycota	Agaricomycetes	Trechisporales	Hydnodontaceae	Trechispora	cohaerens	0.01	0.18
ASV_1193	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Massarinaceae	Byssothecium	flumineum	0.01	0.08
ASV_107	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	victoriae	0.18	13.95
ASV_125	Basidiomycota	Spiculogloeomycetes	Spiculogloeales	Spiculogloeaceae	Phyllozyma	coprosmicola	0.04	3.59
ASV_356	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Paraphoma	chlamydocopiosa	0.04	0.68
ASV_563	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	Rhexocercosporidium	panacis	0.04	1.17
ASV_296	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	tephrensis	0.04	0.64
ASV_508	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Extremaceae	Paradevriesia	pseudoamericana	0.03	0.62
ASV_674	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	Piniphoma	wesendahlina	0.03	0.32
ASV_522	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Mycosphaerellaceae	Sphaerulina	westendorpii	0.02	0.49
ASV_803	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Amniculicolaceae	Amniculicola	lignicola	0.02	0.18
ASV_942	Basidiomycota	Exobasidiomycetes	Microstromatales	Microstromatales_fam_Incertae_sedis	Pseudomicrostroma	phylloplanum	0.01	0.94
ASV_924	Ascomycota	Sordariomycetes	Ophiostomatales	Ophiostomataceae	Sporothrix	sclerotialis	0.01	0.35
ASV_520	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Bulleribasidium	variabile	0.01	0.32

ASV_900	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Thyronectria	cucurbitula	0.01	0.18
ASV_876	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Dictyosporiaceae	Verrucoccum	coppinsii	0.01	0.17
ASV_1067	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Dioszegia	hungarica	0.01	0.15
ASV_1137	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Gelatinodiscaceae	Neobulgaria	pura	0.01	0.30
ASV_1498	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Bloxamiaceae	Bloxamia	elegans	0.01	0.10
ASV_110	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	Ascochyta	var._macrospora	0.22	18.02
ASV_457	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Kriegeriales	Kriegeriaceae	Phenoliferia	glacialis	0.08	2.02
ASV_299	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Bulleribasidiaceae	Vishniacozyma	tephrensis	0.06	2.13
ASV_409	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	Rhexocercosporidium	panacis	0.04	1.04
ASV_813	Ascomycota	Dothideomycetes	Mycosphaerellales	Teratosphaeriaceae	Capnobotryella	renispora	0.01	0.17
ASV_993	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Tremellaceae	Tremella	shuangheensis	0.01	0.28
ASV_992	Basidiomycota	Cystobasidiomycetes	Cystobasidiomycetes_ord_Incertae_sedis	Symmetrosporaceae	Symmetrospora	coprosmae	0.01	0.08
ASV_1592	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetales_fam_Incertae_sedis	Danielozyma	ontarioensis	0.01	0.06

3. CHAPITRE 3

RISQUES CACHÉS DANS UN REFUGE THERMIQUE POUR LE SAUMON DE L'ATLANTIQUE : BIOACCUMULATION ET EFFETS SOUS-LÉTAUX D'UN COCKTAIL DE CONTAMINANTS CHEZ LES LARVES DE PLECOPTERES

L'article suivant : « Hidden Risks In A Thermal Refuge For Atlantic Salmon: Bioaccumulation And Sublethal Effects Of Contaminant Cocktail In Stoneflies », sera envoyé pour révision par les pairs, pour une publication éventuelle dans *Environmental pollution*. En tant que première auteure, j'ai contribué à l'essentiel de l'ajustement des méthodes, de l'exécution des traitements et analyses en laboratoire et statistiques, des interprétations, ainsi que de la conception des figures. Les professeurs Richard St-Louis et Souhir Marsit, co-derniers auteurs, ont participé aux interprétations ainsi qu'à la révision de l'article.

Les résultats de ces travaux de recherches ont fait l'objet d'une communication orale lors du colloque annuel du regroupement ECOBIM à Sousse en Tunisie du 19 au 21 mai 2025.

RESUME EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE

La confluence du ruisseau Savane/Cavée et de la rivière Rimouski (Canada) forme un refuge thermique où le saumon atlantique (*S. salar*) peut se réfugier lors de vagues de chaleur. Cependant, cette zone subit des pressions anthropiques. En amont du refuge, ce cours d'eau est impacté par les activités agricoles, le ruissellement routier et les lixiviats d'un ancien lieu d'enfouissement sanitaire municipal. Les sites le long de ce ruisseau, y compris le refuge thermique, présentent des concentrations élevées de métaux (As, Fe, Pb, Cu, etc.) et de nutriments (NO_3^-, SO_4^{2-}, etc.) dans l'eau et les sédiments de surface, dont plusieurs valeurs dépassant les seuils canadiens d'effets chroniques pour les organismes aquatiques.

Cette étude (i) a examiné le potentiel de bioaccumulation de différents éléments chez les insectes aquatiques (plécoptères, proies des tacons) dans une perspective de transfert trophique, et (ii) a évalué l'impact de ce mélange de contaminants sur la réponse au stress cellulaire et métabolique des plécoptères à l'aide de biomarqueurs protéiques (MT, SOD). Nos résultats démontrent la bioaccumulation du Mn, Fe et Ba dans les tissus des plécoptères, tandis que le Co, le K et Mg sont soumis à une régulation homéostatique. L'activité des MT est corrélée à une contamination métallique chronique, particulièrement aux concentrations de Cu, de Pb et d'Al, tandis que la réponse de la SOD est plus nuancée et probablement modulée par d'autres facteurs écologiques tels que la température et le pH. L'activité de la SOD est significativement plus élevée en juin et juillet qu'au cours des autres mois d'été et d'automne, ce qui suggère l'influence de la température.

Globalement, la combinaison de la bioaccumulation des métaux et de leurs effets sous-létaux sur les plécoptères représente un risque d'impacts à l'échelle de l'écosystème, notamment pour la santé du saumon atlantique, car les plécoptères constituent une source alimentaire importante pour les tacons et les alevins. Les réponses observées pourraient également suggérer une bioaccumulation potentielle et des effets sous-létaux chez d'autres organismes.

HIDDEN RISKS IN A THERMAL REFUGE FOR ATLANTIC SALMON: BIOACCUMULATION AND SUBLETHAL EFFECTS OF CONTAMINANT COCKTAIL IN STONEFLIES

Sandrine Picotte[1,2], Clara Julliard[3], Raphaële Terrail[3], Elia Wagner-Beaulieu[2], Souhir Marsit[2 *], Richard St-Louis[2 *]

[1] Institut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, 310 Allée des Ursulines, Rimouski (Québec), G5L 2Z9, Canada

[2] Département de biologie, chimie et géographie, Université du Québec à Rimouski, 300 Allée des Ursulines, Rimouski (Québec), G5L 2Z9, Canada

[3] Organisme des bassins versants du Nord-Est du Bas Saint-Laurent, 5 Rue St Paul bureau 3, Rimouski (Québec), QC G5L 1S8, Canada

[*] Both are co-senior authors, as they contributed equally to the supervision of this work. Their names appear in alphabetical order.

ABSTRACT

The confluence of the Savane/Cavée creek and the Rimouski River (Canada) creates a thermal refuge where Atlantic salmon (*S. salar*) seeks shelter during extreme heat events. However, this area is subject to anthropogenic pressures. Upstream of the thermal refuge, this stream is impacted by agricultural activities, highway runoffs, and leachate from a closed municipal landfill. The sites along this creek, including the thermal refuge, showed elevated concentrations of metals (As, Fe, Pb, Cu, etc.) and nutrients (NO_3^-, SO_4^{2-}, etc.) in water and surface sediments, with several values exceeding Canadian chronic-effect thresholds for aquatic organisms.

This study (i) investigated the bioaccumulation potential of different elements in aquatic insects (stoneflies, preys of parr) from a potential trophic transfer point of view, and (ii) assessed the impact of the contaminant "cocktail" on the cellular and metabolic stress response of stoneflies using protein biomarkers (MT, SOD).

Our results demonstrated the bioaccumulation of Mn, Fe and Ba in stoneflies' tissues, while Co, K and Mg were subjected to homeostatic regulation. MT activity followed chronic metal contamination, especially linked to Cu, Pb and Al concentrations, while SOD response was more nuanced and probably modulated by other ecological factors such as temperature and pH. SOD activity was significantly higher in June and July compared to other summer and fall months, suggesting the impact of temperature.

Overall, the combination of bioaccumulation of metals and their sublethal effects on stoneflies represent a risk of ecosystem-level impacts, especially to Atlantic salmon's health since stoneflies are an important food source to parrs. The observed responses could also suggest potential bioaccumulation and sublethal effects occurring in other organisms.

Keywords: environmental contamination, sub-lethal effects, Superoxyde dismutase (SOD), metallothionein (MT), plecoptera

INTRODUCTION

Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations have severely declined since the 1970 in the North Atlantic, with many populations now at or below conservation limits despite decades of fishery closures and restoration efforts (Canada, 2022; Long et al., 2023). In eastern Canada and Québec, abundance has stabilized at historically low levels, with several populations listed as threatened or endangered (COSEWIC, 2018; MELCCFP, 2016; Reader et al., 2024). Overfishing, climate warming, habitat loss, and degraded freshwater quality are recognized as key drivers of this decline, particularly at the southern edge of the species' distribution where thermal and chemical stressors interact (Canada, 2022; Kurylyk et al., 2013).

Climate projections for eastern Canada indicate continued warming and more frequent summer heat waves, which are expected to push river water temperatures beyond the optimal range for Atlantic salmon (>21°C) more often and for longer periods of time (Linnansaari et al., 2023; O'Sullivan et al., 2023). During such episodes, salmons aggregate in cold water plumes (thermal refuges), to reduce metabolic costs and avoid lethal and sublethal thermal stress (Dugdale et al., 2013). Thermal refuges are therefore increasingly considered critical habitats whose degradation could have disproportionate demographic consequences at the population level (Linnansaari et al., 2023; Smith & Kurylyk, 2025).

The Rimouski River (Québec) supports an important anadromous Atlantic salmon population that is intensively managed for conservation and recreational angling (Bouchard et al., 2022a, 2022b; MELCCFP, 2023b). Nonetheless, this population, like many others in Québec, persists, under a context of regional declines and changing river thermal regimes (MELCCFP, 2016). In this system, a key feature for the persistence of cold-water salmonids is the presence of localized cold water thermal refuges formed at the confluence between the mainstem (Rimouski river), and small, groundwater fed tributaries (Dugdale et al., 2013; Linnansaari et al., 2023).

However, many cold water tributaries that generate thermal refuges also drain heavily impacted landscapes. In the Rimouski watershed, the Savane/Cavée Creek, whose confluence with the mainstem forms a thermal refuge, flows adjacent to an old municipal sanitary landfill, runs parallel to a major highway and traverse heavily farmed areas before reaching the river. These land uses are potential sources of trace metals, nutrients, pesticides and petroleum-derived hydrocarbons that can be transported in dissolved or particulate form to the refuge, with repeated inputs over time (Öman & Junestedt, 2008; Phaenark et al., 2024). Consequently, salmons frequenting this refuge may be simultaneously protected from high temperatures yet exposed to a cocktail of contaminants.

The ecological risks associated with such contaminated refuges extend beyond direct toxicity to fish. Parr and older juveniles are visual generalist predators whose diets are dominated by aquatic macro-invertebrates, particularly insect larvae and nymphs (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera, Diptera) from the benthos and the drift (Amundsen et al., 2001; Grade & Letcher, 2006; Ojala, 2008; Orlov et al., 2006). Field and experimental studies have shown that salmonids can continue to forage while occupying cold water refuges (Gillis et al., 2023; Linnansaari et al., 2023). Aquatic insects thus represent not only a primary energy source for parrs and juveniles, but also a key vector for contamination transfer in riverine food webs (Hare, 1992; Souto et al., 2019).

Trace metals and organic contaminants can profoundly alter aquatic insect communities and their quality as prey. Metal (As, Cu, Pb, Zn, etc.) and other contaminants accumulate in insect exoskeletons and internal tissues via dietary and aqueous uptake, with taxa and metal specific patterns of bioaccumulation (Cain et al., 2004; Cid et al., 2010; Hare, 1992). Contaminants can modify survival, growth and behaviour in aquatic insects (Hare, 1992; Phaenark et al., 2024; Souto et al., 2019) and can further affect invertebrates assemblages and alter their nutritional value (Cousin & Cachot, 2014). When these contaminant laden insects are consumed by salmons, contaminants are transferred up the food web, resulting in bioaccumulation in fish tissues and adding a dietary pathway to waterborne exposure (Cheng et al.; Oros, 2025). This trophic transfer may be particularly

important in this thermal refuge, where feeding is spatially concentrated to a contaminated environment.

At the cellular level, both inorganic and organic contaminants are known to induce oxidative stress and activate detoxification pathways in aquatic organisms. Trace metals can stimulate the synthesis of metallothioneins, low-molecular weight and cystine rich proteins that bind metals, which are widely used as biomarkers of metal exposure in fish and invertebrates (da Luz et al., 2025; Gora et al., 2025). In parallel, reactive oxygen species (ROS) generated by contaminants and secondary metabolic responses are responsible for numerous oxidative molecular damages, such as proteins, lipids and nucleic acid, which can affect cellular mechanisms. To prevent molecular damages, ROS are countered by antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD). SOD catalyzes the disproportionation of ROS superoxide anions ($O_2^{\bullet-}$) into oxygen (O_2) and hydrogen peroxide (H_2O_2) to neutralise these free radicals. Changes in SOD activity have been repeatedly documented in organisms inhabiting contaminated freshwater systems (Borković-Mitić et al., 2024; Suzuki et al., 2019). Together, MT induction and oxidative stress enzymes provide a mechanistic link between exposure to complex contaminant mixtures and sublethal impacts on aquatic organisms that form the basis of salmon diets.

Despite the recognized importance of cold-water thermal refuges for Atlantic salmon conservation, relatively few studies have explicitly examined how chronic multi-source contamination of the tributaries that create these refuges may affect the physiochemical quality of the habitat and the condition of resident prey communities (Gillis et al., 2023). Existing work on the Rimouski River has largely focused on population dynamics, fishery management and reproductive success, with less attention to contamination pathways within critical habitats (Bouchard et al., 2022b). This represents a key knowledge gap for understanding how multiple anthropogenic stressors interact in an Atlantic salmon river.

Thus, the aim of this study was to assess the cumulative impact of contamination from a closed landfill, highway runoff and agricultural activities on aquatic macroinvertebrates, which represent the primary food source of Atlantic salmon, by i) characterizing trace and

essential elements in stonefly tissues and ii) evaluating their cellular responses (SOD activity and MT levels).

MATERIAL AND METHODS

3.2.1. Study area

The Savane creek, which becomes the Cavée creek, a tributary of the Rimouski River flows by the closed municipal landfill in Rimouski (48.409497, -68.566657), agricultural areas and the A20 highway. The trace metal and nutrient contaminated discharges of those factors reach these bodies of water causing water and sediment pollution (Chapter 1).

The Rimouski River watershed was divided into four groups based on their position compared to the different pollution sources (Figure 15), as described in Material and Methods of Chapter 2) Group REF, composed of reference sites (REF1-3), was located upstream of all three pollution sources. REF1 was in the Rimouski River, about 120 m upstream from the thermal refuge site. REF2 was in the Macpès river, a tributary of the Rimouski River and REF3 was in the Rimouski River, both in the Duchenier Wildlife Reserve, a pristine environment. ii) Group AG, composed of sites AG1-2, was situated in the Savane creek, downstream of active agricultural areas. iii) Goup LF, composed of site LF, a site at the mouth of a culvert draining the closed municipal landfill of Rimouski and the A20 highway. iv) Group CS, composed of sites under cumulative stress (CAV1-2, TR, RIM) from all three contamination sources. CAV1-2 are in the Cavée creek, downstream of all contamination sources and upstream from the thermal refuge (TR) site. TR is the thermal refuge site, at the confluence of the Cavée creek and the Rimouski River. RIM is in the Rimouski River, approximately 60 m downstream of the thermal refuge.

3.2.2. Sampling, laboratory treatment and analysis of inorganic contaminants

Once every month from May 2024 to November 2024, 24 water samples, 30 surface sediment samples and up to 100 Plecoptera larvae were collected monthly from each site.

3.2.2.1. Water samples

Water was collected in triplicate at sampling sites RIM, TR, CAV, LF, and AG1 using 500 mL Nalgene bottles previously washed using HNO_3 (10%).

Water samples were then filtered (Whatmann Grade GF/F filters, 42.5 mm circle, 1825-042, cytivia. 40 mL of filtered water was transferred to a clean 50 mL falcon tube, acidified (HNO_3, 70%, ACS grade, Sigma Aldrich), and stored at 4°C until analysis. For each month of sampling, 500 mL of ultra-pure (Type I) grade water was filtered, producing a method blank. Blank values were used to correct measured concentrations by subtracting background contamination.

Major anions contents in filtered water samples were quantified using high pressure ion chromatography (Thermoscientific, Dionex Integrion HPIC System) coupled to (Thermoscientific, Dionex AS-AP) (Appendix 1). The ions quantified were Cl^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, and SO_4^{2-}. The concentrations of these ions were determined using a calibration curve for each element using a standard solution. Each measure was taken in triplicate.

Trace metals and major cations contents in the acidified water samples were quantified using a Microwave Plasma Atomic Emission Spectrophotometer (MP-AES, Agilent Technologies, model 4200) connected to an autosampler (CETAC, ASX-520). The elements quantified were Al, B, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, K, Mn, Mg, Na, Pb, Rb, and Zn. The concentrations of these elements were determined using a calibration curve for each element using a standard solution. Each measure was taken in triplicate. As contents in the acidified water samples were quantified using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy (GF-AAS) (Agilent technologies, 200 Series AA). The concentrations of these elements were determined using a calibration curve for each element using a standard solution. Each measure was taken in triplicate.

3.2.2.2.Surface sediment samples

The surface sediment was collected in triplicate at all ten sampling sites using a 5 mL syringe with its top cut and transferred to a 15 mL falcon tube, previously washed using HNO_3 (10%). The sediment samples were stored at -20°C until being freeze-dried for 48 h and then stored in a dry space at 20°C.

The concentrations in sediments of the same 15 elements investigated in water samples, were determined using microwave assisted acid digestion (Anton Paar, Microwave digestive platform, Multiwave 5001) following a slightly modified version from (Brice et al., 2026), where 3 mL of nitric acid (70%, ACS grade, Sigma Aldrich) and 1 mL of hydrochloric acid (25%, ACS grade, Sigma Aldrich) was added to each sample of approximately 150 mg of freeze-dried sediments. Blanks were prepared similarly to the samples but with no sediments to correct measured concentrations by subtracting background contamination. For every 8 samples, one blank and one standard reference materiel (NIST-1944) was tested, to assess the extraction method efficiency.

Trace metals and major cations contents in the digestate were quantified using the same analysis methods as for the acidified water samples.

3.2.3. Stoneflies sampling

Insects' larvae were collected at sampling sites AG1, LF, CAV1, TR, RIM, and REF1-3 using a kick net (30 cm, 600 microns). The kick net was placed at the bottom of the riverbed, and the substrate was disturbed by hand and/or feet to capture insects (Moisan & Pelletier, 2011). The captured insects were then transferred to 120 mL specimen containers in river water. The specimen containers were stored at 4°C until species sorting. Insects were sorted within 48 h of sampling and only the Plecoptera were kept for biomarkers assays. In addition to being an important component of the Atlantic salmon diet in riverine ecosystems, stoneflies were present at all sampling sites in sufficient biomass for analysis, suggesting that the collected taxa were able to persist across the observed contamination gradient. The

Plecoptera were flash-freezed using liquid nitrogen and stored at -80°C in cryogenic tubes until analysis.

3.2.4. Laboratory treatment and analysis of inorganic contaminants in stoneflies' tissues

Approximately 50 mg of freeze-dried insects sampled in July 2024 were weighed and homogenized, then put in a microwave bomb. 1 mL of nitric acid (70%, ACS grade, Sigma Aldrich) and 0.5 mL of hydrogen peroxide (30%, ACS grade, Sigma Aldrich) were added to each sample. Inorganic compounds were extracted by microwave assisted acid digestion (Microwave reaction platform, Multiwave 5000, Anton Paar). The digestate was diluted (1:10) in ultra-pure (Type I) grade water. Method blanks and certified reference material (NIST-SRM 2976 - Mussel Tissue (Trace Elements & Methylmercury) Freeze-dried) were processed alongside samples following the same analytical procedure. Blank values were used to correct measured concentrations by subtracting background contamination. Certified reference material was used to verify the extraction efficiency (Table 11, Appendix 1).

Elements contents (Li, Be, B, Na, Mg, Al, Si*, P, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Hf, Ta, W, Re, Ir, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi, Th, U) in the digestate were quantified using Triple Quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-QQQ, Agilent) at the *Centre de recherche sur les biotechnologies marines* (CRBM in Rimouski, Québec, Canada).

3.2.5. Biotests

3.2.5.1. Sample preparation

Samples were thawed and maintained at 4°C. Then, approximately 200 mg of stoneflies were weighted and washed using a KCl (Sigma Aldrich) 150 mM buffer. Samples were ground and homogenised in normal saline water (0,9%) and centrifuged at 9000 g for

20 min at 4°C. 1 mL of supernatant was collected and used for the assays. The supernatant contained 4 to 10 mg of protein per mL.

3.2.5.2.Protein dosage

Protein concentrations in whole body stonefly homogenates were quantified using the Bradford method adapted to microplates (Bradford, 1976) where 30 µl of sample and 270 µl of Bradford Reagent (B6916, Sigma Aldrich) were added into wells and incubated at room temperature for 10 minutes. The optical density (OD) was read at 590 nm using a microplate reader (Synergy H1, Biotek). The protein concentration is expressed in $\mu g\ mL^{-1}$ and determined by a calibration curve using a solution of bovine albumin (1 mg * mL^{-1} in 0.9% NaCl solution) (Bovine Serum Albumin, CAS: 9048-46-8, Sigma Aldrich). Each sample was done in duplicate, while each measure was run in triplicate.

3.2.5.3.SOD activity assay

The SOD activity test used for this study was CuZn/Mn Superoxide Dismutase (CuZn-SOD/Mn-SOD) Activity Assay Kit (Hydroxylamine Method) following the manufacturer's instructions (Elabscience, E-BC-K022-S). The optical density (OD) values of each tube were measured at 550 nm with 1 cm optical path cuvette using a microplate reader (Synergy H1, Biotek). Each sample was done in duplicate. The SOD activity is expressed in SOD activity unit (U) per milligram of protein (mgprot).

3.2.5.4.MT activity assay

The metallothionein activity test used for this study was Zebrafish MT (Metallothionein 1) ELIZA Kit following the manufacturer's instructions (AFG Bioscience, EK248429). A comparable zebrafish MT1 assay has previously been applied to aquatic insect larvae (*Cheumatopsyche* sp) (Kadim et al., 2022). The optical density (OD) values of each tube were measured at 450 nm using a microplate reader (Synergy H1, Biotek). The MT activity is expressed in picogram of MT per milligram of protein (mg prot). Each measure

was run in triplicate. The concentrations of MT were determined using a calibration curve using a standard solution included in the kit.

3.2.6. Statistical analysis

When the assumptions of normality of residuals and homogeneity of variances were reasonably met, differences in element concentrations in stoneflies among sampling sites were tested using a one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. In cases where these assumptions were not met, differences in element concentrations among the four sampling groups were assessed using a Kruskal-Wallis test, paired with post-hoc pairwise Wilcoxon tests with Holm correction for multiple comparisons. Correlations between matrices (water, sediments, stonefly tissues) were calculated using Spearman's rank correlation coefficient (ρ), to identify potential bioaccumulation patterns. Due to the small sample size ($n = 8$) and the non-normality of the data, the p-values were adjusted for multiple comparisons (Benjamini-Hochberg method). A PERMANOVA was also performed to compare the overall element profiles on stoneflies.

Differences in SOD expression in stoneflies among sampling sites were tested using a one-way Welch ANOVA test since distribution did not follow the assumption of normality, but the variances were homogenic, followed by post-hoc Welch t-test comparisons, with Benjamini-Hochberg correction to control the false discovery rate. Median MT concentrations in stoneflies among sampling sites and months were compared using nonparametric Kruskal–Wallis test, followed by post-hoc Dunn test, due to the non-normality of the data. The p-values were adjusted for multiple comparisons (Benjamini-Hochberg method).

3.3.1. Element concentrations in stoneflies

Element concentrations in stonefly larvae were measured to investigate the potential of bioaccumulation in stoneflies. The metals measured in whole-body insect samples may reflect both internal accumulation from the water and diet, and external contamination by fine particles adsorbed onto the exoskeleton. Consistent with this possibility, insects collected downstream of the landfill showed a distinct orange coloration of the exoskeleton, which was not observed at reference or agricultural sites and may indicate the deposition of metal-rich particles, particularly Fe- or Mn-bearing oxides (**Appendix 8**). The general element profiles differed between the impacted groups (AG-LF-CS) and the reference group (PERMANOVA, $p = 0.009$). The variations in concentrations of K, P, Na, Mn, Fe, Se, and Si explained these observed differences ($p < 0.05$) (Figure 22).

For the macro-elements K, P, and Na, the highest concentrations were generally observed at the reference sites (blue diamonds, Figure 22), while insects from the impacted AG sites (brown triangle) and, to a lesser extent, the LF sites (orange squares) showed lower concentrations. Statistically significant differences were observed between sites in groups LF, CS and REF for K ($p = 0.04$) and all impacted sites and REF for Na ($p = 0.01$) and P ($p = 0.01$). Inversely, Mn and Fe showed marked enrichment in stoneflies from the LF sites, with values higher in groups LF and CS than AG and REF ($p = 0.01$).

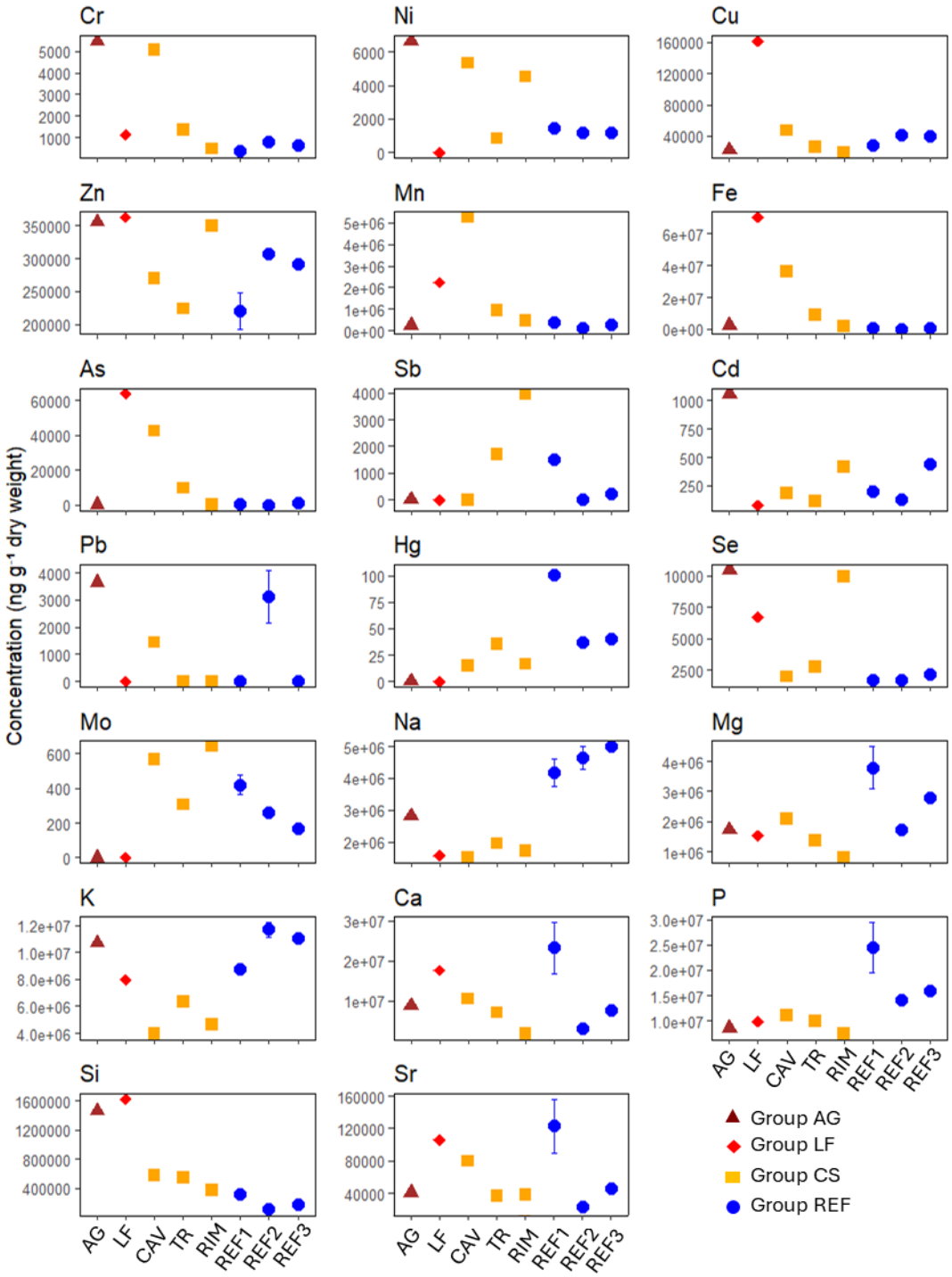


Figure 22. Mean concentrations of different elements in aquatic Plecoptera sampled in July 2024, according to sampling sites.

The values covered a wide range relative to values reported in the literature for macroinvertebrates from relatively uncontaminated to contaminated freshwaters.

As, Cu, Fe, and Mn profiles exhibited a clear spatial gradient in stoneflies in relation to the closed landfill and highway (Figure). Concentrations at AG and REF were consistent with background levels typically reported for macroinvertebrate (Table 10). In contrast, stoneflies from LF (and CS for Mn, Fe, and As) reached concentrations clearly exceeding natural conditions and overlapping the range reported for contaminated sites, showing strong enrichment from the closed landfill leachate and/or highway runoffs.

Cr, Zn, Se, and Si showed concentrations consistent with background levels typically reported for macroinvertebrates at sites in group REF while sites in groups AG and LF (sometimes CS) showed concentrations within the range reported for macroinvertebrates in contaminated sites. This pattern suggests a contamination from the closed landfill leachate and/or highway runoffs and from agricultural activities. A potential risk for trophic transfer of As, Cu, Fe, Mn, Cr, Zn, Se, and Si is established.

For Pb, a strong site contrast was observed (Figure). Stoneflies in group AG showed concentrations well above the conditions often associated with contaminated sites, indicating marked enrichment at this location (Table 10). In contrast, Pb concentrations at LF, CS, and REF remained within the natural conditions. A similar trend was observed for Cr, Zn, and Cd, as well as Ni.

Despite the concentrations variations sometimes observed between sites, Cd, Cr, Zn, and Hg concentrations from all sites remained within this natural range and were below the concentrations typically observed in strongly contaminated systems (Table 10). The highest concentrations of Hg, Mg, Na, Ca, P and K were observed at REF (Figure).

Table 10. Mean concentrations of different elements observed in aquatic Plecoptera sampled in July 2024 and were grouped by site categories and compared to concentrations in non-contaminated and contaminated sites for different taxa according to the literature.

	Concentrations (ug*g^{-1} dw)				Taxa observed	Source
	Observed		Litterature			
			natural conditions	contaminated sites		
As	AG: LF: CS: REF:	n.d. 63 < 42 < 0.9	~0.5-5	>20 - ~250	Plecoptera*: perlidae,* Megaloptera*: Corydalidae,* Hemiptera*: Gerridae,* Odonata*: Gomphidae*	(Hothem et al., 2015)
					Gammaridae, Caddishfly, Mayfly, Stonefly, Cranefly	(Hamilton et al., 2004)
Cd	AG: LF: CS: REF:	1 0.07 0.11-41 0.10-0.44	<0.1-1	~5-15	Plecoptera*: perlidae,* Megaloptera*: Corydalidae,* Hemiptera*: Gerridae,* Odonata*: Gomphidae*	(Hothem et al., 2015)
					Mayfly Nymphs *(Hexagenia)*	(Beauvais et al., 1995)
					Chirsnsrnus,Clinotarsypus, Procladius, Hexagenia, Sialis	(Hare et al., 1991)
					Hydropsyche sp, Chironomus sp, Stenonema rubrum, Ephemerella sp., Caenis	(Weiss et al., 1981)
					Gammaridae, Caddishfly, Mayfly, Stonefly, Cranefly	(Hamilton et al., 2004)
Cr	AG: LF: CS: REF:	5.5 1.1 0.4-5 0.2-0.8	<1-3	~40-50	Plecoptera*: perlidae,* Megaloptera*: Corydalidae,* Hemiptera*: Gerridae,* Odonata*: Gomphidae*	(Hothem et al., 2015)
					Hydropsyche sp, Chironomus sp, Stenonema rubrum, Ephemerella sp., Caenis	(Weiss et al., 1981)
					Gammaridae, Caddishfly, Mayfly, Stonefly, Cranefly	(Hamilton et al., 2004)
Cu	AG: LF: CS: REF:	21.9 161 2-47 27-40	~10-50	~100-300	Plecoptera*: perlidae,* Megaloptera*: Corydalidae,* Hemiptera*: Gerridae,* Odonata*: Gomphidae*	(Hothem et al., 2015)
					Chirsnsrnus,Clinotarsypus, Procladius, Hexagenia, Sialis	(Hare et al., 1991)
					Gammaridae, Caddishfly, Mayfly, Stonefly, Cranefly	(Hamilton et al., 2004)
Zn	AG: LF: CS: REF:	355 364 34-269 190-313	~100-300	~500-1000	Plecoptera*: perlidae,* Megaloptera*: Corydalidae,* Hemiptera*: Gerridae,* Odonata*: Gomphidae*	(Hothem et al., 2015)
					Chirsnsrnus,Clinotarsypus, Procladius, Hexagenia, Sialis	(Hare et al., 1991)
					Hydropsyche sp, Chironomus sp, Stenonema rubrum, Ephemerella sp., Caenis	(Weiss et al., 1981)
					Gammaridae, Caddishfly, Mayfly, Stonefly, Cranefly	(Hamilton et al., 2004)
Pb	AG: LF: CS:	37 n.d. < 1.42	<0.5-1	>4	Plecoptera*: perlidae,* Megaloptera*: Corydalidae,* Hemiptera*: Gerridae,* Odonata*: Gomphidae*	(Hothem et al., 2015)

	REF:	< 4.1			*Chirsnsrnus,Clinotarsypus, Procladius, Hexagenia, Sialis*	(Hare et al., 1991)
Ni	AG: LF: CS: REF:	6.6 n.d. 0.4-5.3 0.9-1.6	~0.5-5	>10	Plecoptera*: perlidae,* Megaloptera*: Corydalidae,* Hemiptera*: Gerridae,* Odonata*: Gomphidae*	(Hothem et al., 2015)
Mn	AG: LF: CS: REF:	248 2236 472-5249 78-455	~10-300	>500	Zooplankton	(Ward et al., 2012)
					Gammaridae, Caddishfly, Mayfly, Stonefly, Cranefly	(Hamilton et al., 2004)
Fe	AG: LF: CS: REF:	2549 70252 1885-91908 216-476	<1500	>2000	Zooplankton	(Ward et al., 2012)
					Gammaridae, Caddishfly, Mayfly, Stonefly, Cranefly	(Hamilton et al., 2004)
Hg	AG: LF: CS: REF:	n.d. n.d. 0.01-0.04 0.04-0.1	~0.05	~0.2-1	Plecoptera*: perlidae,* Megaloptera*: Corydalidae,* Hemiptera*: Gerridae,* Odonata*: Gomphidae*	(Hothem et al., 2015)
			~0.05	~0.1	Mayfly Nymphs *(Hexagenia)*	(Beauvais et al., 1995)
Se	AG: LF: CS: REF:	10 6.7 2-10 1-2	~0.5-2	~5-30	Plecoptera*: perlidae,* Megaloptera*: Corydalidae,* Hemiptera*: Gerridae,* Odonata*: Gomphidae*	(Hothem et al., 2015)
					Gammaridae, Caddishfly, Mayfly, Stonefly, Cranefly	(Hamilton et al., 2004)

Correlations between element concentrations in water, surface sediment and Plecoptera tissues were observed to identify potential bioaccumulation patterns. Amongst all the elements analysed, only Mn showed a strong and significant association between concentrations measured in water and those measured in stoneflies ($\rho = 0.96$, p adj = 0.024; Figure). A very strong negative correlation was also observed between Co in water and Co in stoneflies ($\rho = -0.93$), but this correlation did not reach the significance threshold after p-value correction (p adj = 0.07).

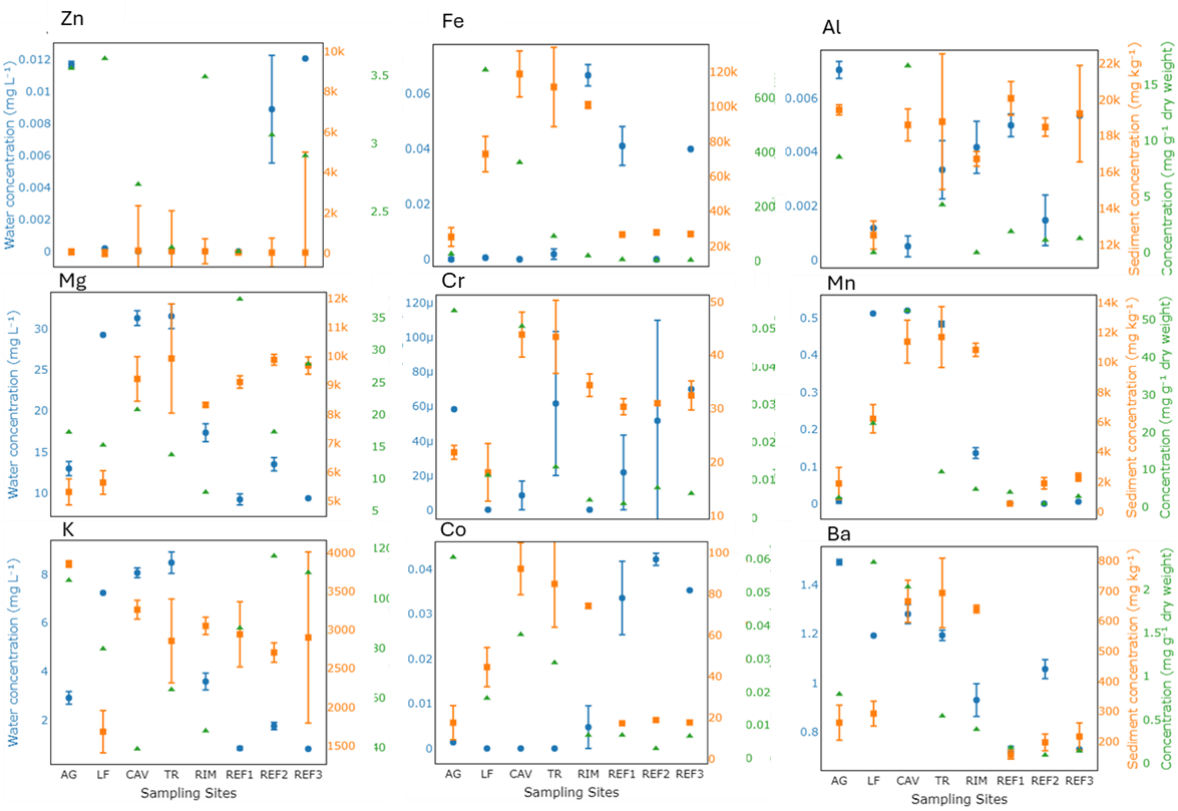


Figure 22. Mean concentrations of different elements in the dissolved fraction in water (blue), in the labile fraction in surface sediments (orange) and in stoneflies tissues (green) in July 2024.

Given the small number of observations, the statistical power of the correlation is limited. Thus, the results should be interpreted primarily in terms of effect size (ρ value) and not solely based on p-values. Interpretation in terms of effect size show that the following combinations show moderate to high correlation ($0.5 < \rho < 0.7$): Co plecoptera-Co sed ($\rho = 0.68$), Al_plectoptera-Al_sed ($\rho = 0.67$), Fe_plectoptera-Fe_sed ($\rho = 0.64$), Ba_plectoptera-Ba_water ($\rho = 0.64$), Ba_plectoptera-Ba_sed ($\rho = 0.64$), Cr_plectoptera-Cr_sed ($\rho = 0.5$). ρ values show high positive correlations ($\rho > 0.7$) for Mn_plecoptera-Mn_water ($\rho = 0.96$) and Mn_plecoptera-Mn_sed ($\rho = 0.71$). Zn_plectoptera-Zn_sed ($\rho = -0.57$), K_plectoptera-K_sed ($\rho = -0.61$) and Mg_plectopter-Mg_water ($\rho = -0.64$) show moderate to high negative correlations, while K_plectoptera-K_water ($\rho = -0.71$) and Co_plectoptera-Co_water ($\rho = -0.93$) show high to very high negative correlation. These patterns suggest a bioaccumulation

of Mn, Co, Al, Fe, Ba, and Cr in Plecoptera tissue, while Zn, K, Mg, and Co seem to reflect homeostatic regulation by Plecoptera (Figure).

3.3.2. SOD activity in stoneflies along the spatial and temporal gradients

Across the study period, both TSOD (overall capacity to detoxify superoxide radicals) and CuSOD (reflects cytosolic antioxidant response) activities displayed a strong seasonal signal, independent of contaminant concentrations, with a pronounced increase in early summer and lower values later in the season (Figure a–c). TSOD showed very low activities in May across all sampling groups, followed by a sharp rise in June and a maximum in July. Activities declined markedly in August and September and remained comparatively low in November (Figure a,c). Similarly, CuSOD increased from May to June–July, then decreased in August and autumn months (Figure b,c). When pooled across sampling groups, and both TSOD and CuSOD peaked in June–July (Figure c).

Spatial differences among sampling groups were month dependent. For TSOD, significant contrasts between groups were mainly observed during the summer peak (June–July), when impacted groups (LF and CS) generally exhibited higher TSOD than reference sites, whereas differences were smaller or absent during the lower-activity months (May, September and November) (Figure c). For CuSOD, group differences were also most apparent in June–July, with higher activities at LF and AG compared to CS and reference sites, while activities converged among groups during August, September and November (Figure b).

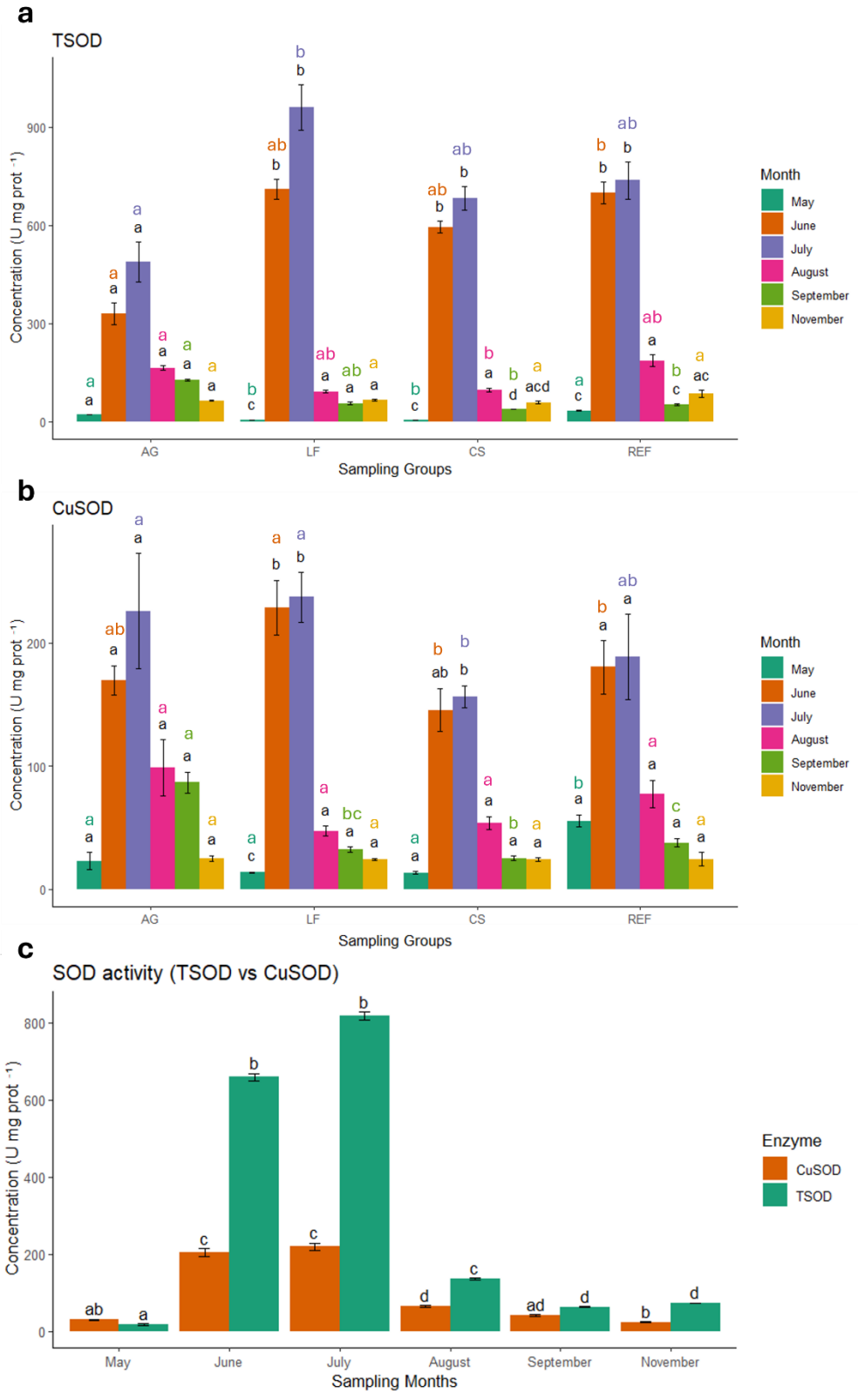

a
TSOD
Concentration (U mg prot -1)
Sampling Groups
AG
LF
CS
REF
Month
May
June
July
August
September
November
b
CuSOD
Concentration (U mg prot -1)
Sampling Groups
Month
May
June
July
August
September
November
c
SOD activity (TSOD vs CuSOD)
Concentration (U mg prot -1)
Sampling Months
May
June
July
August
September
November
Enzyme
CuSOD
TSOD

Figure 23. Seasonal and spatial patterns of SOD activity in stonefly larvae sampled in from May to November 2024. (A) TSOD across sampling groups and months. (B) Cu/Zn-SOD across the same sampling groups and months. Bars show mean ± SE. Colours indicate sampling month. Different colored lowercase letters above bars indicate statistically significant differences among groups within a given month, while black lowercase letters indicate statistically significant differences between months among sampling groups (post hoc multiple comparisons following the PERMANOVA / pairwise tests; $p < 0.05$). (C) Comparison of TSOD and CuSOD activities pooled across sites for each month. Bars show mean ± SE; different lowercase letters indicate significant differences among months within each enzyme ($p < 0.05$).

3.3.3. MT concentrations in stoneflies along the spatial and temporal gradients

MT concentrations in stoneflies were assessed along the spatial and temporal gradients to investigate sublethal effects of metal contamination in freshwater habitats. When all months were pooled together, our results show that stoneflies in impacted sites (groups AG and LF) presented significantly higher ($p < 0.05$) MT activities than individuals at REF sites (Figure). MT activities were similar between AG and LF during each sampled month. In May and July, three statistically significant groups emerged: (i) AG+LF, (ii) CS and (iii) REF. In June, AG, CS and LF were all statistically similar, while LF was different from REF ($p < 0.05$). These patterns suggest that CS and especially LF and AG are metal-contaminated habitats, and that this contamination induces MT activity and sublethal effects.

Our results also show that MT activities, when all sites were pooled together, were significantly higher in June and July than May ($p < 0.05$), suggesting more important metal contamination in June and July, and/or that water temperatures may exacerbate MT activity.

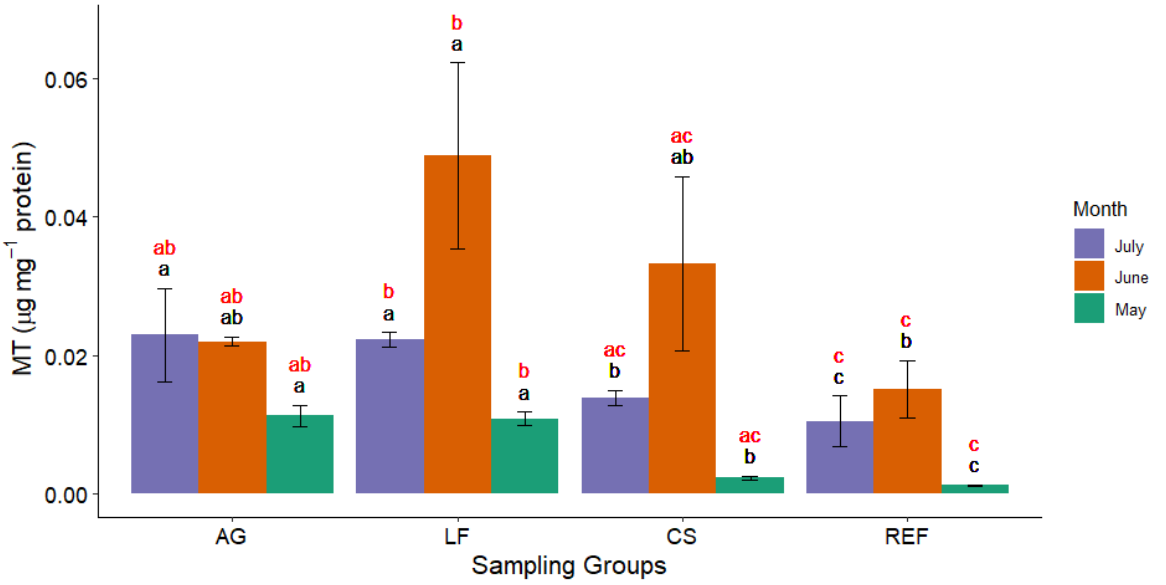


Figure 24. Mean concentration of MT according to sampling groups from May to July 2024. Statistical differences were expressed by letters. Red letters represent Kruskal Wallis test results comparing MT activity between groups, all months pooled. Black letters represent Kruskal Wallis test results comparing MT activity between groups within each month.

After taking account of random effects of sites, MT activity was negatively associated with multivariate gradients of metals in water. PC1 ($\beta = -0.0061$, $p = 0.028$) mainly opposed Pb to Cu/Zn/Cr while PC2 ($\beta = -0.0057$, $p = 0.032$) was dominated by Co. MT increased toward the end of the PCA gradient associated with higher Cu/Zn/Cr relative to Pb, whereas it decreased along the Co-dominated gradient (Figure). This pattern is consistent with MT involvement in metal homeostasis and detoxification of essential metals such as Cu and Zn. The PCA axes may also reflect co-varying sources and bioavailability rather than the effect of a single metal.

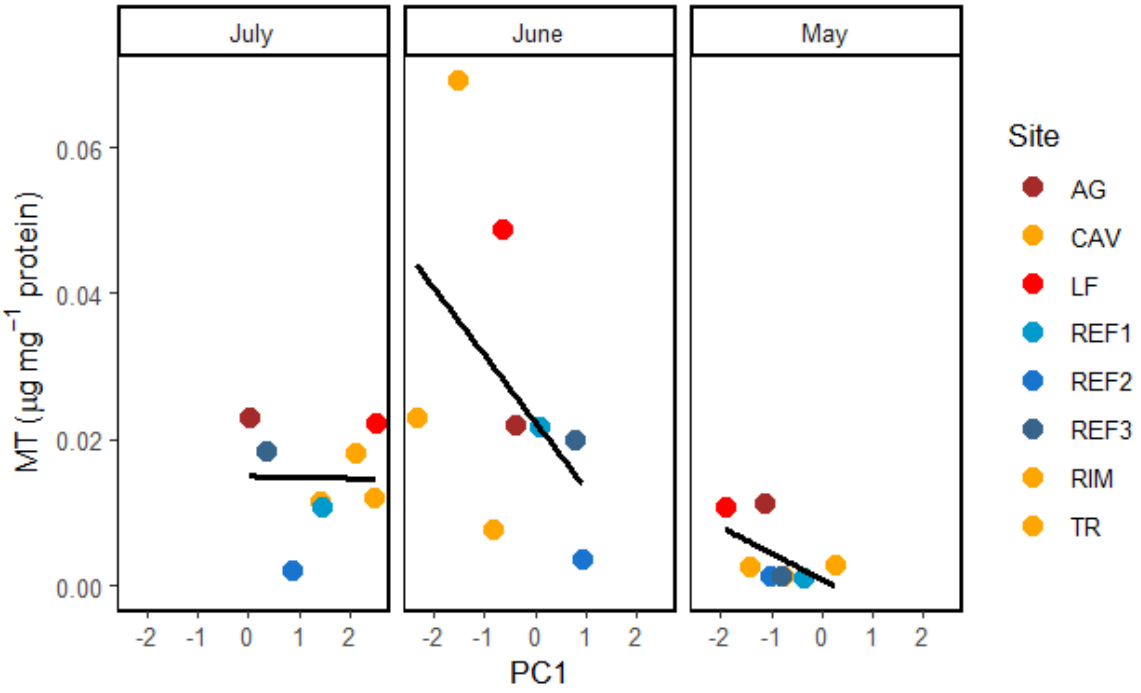


Figure 25. Relationship between metallothionein (MT) activity and the first principal component (PC1) of water-metal concentrations across months. Points represent site × month observations (mean MT activity per site-month), coloured by sampling site; panels show May, June and July. The solid black line indicates the fitted linear trend within each month. PC1 summarizes a multivariate gradient in water-metal composition, mainly contrasting Pb (positive loadings) versus Cu, Zn and Cr (negative loadings). MT activity is expressed as µg mg^{-1} protein.

No interaction between month and PC1 was detected ($p = 0.79$), suggesting that the association between MT activity and the PC1 gradient is comparable across months (Figure). Therefore, the model without interaction was retained.

DISCUSSION

3.4.1. Trace elements bioaccumulation in stoneflies and bioamplification risks through the food web

The comparison with literature ranges indicates that stoneflies collected at AG and, especially, LF accumulated higher concentrations of several trace elements, with values

falling within or above ranges reported for contaminated systems, than those collected at reference sites, with values generally compatible with relatively low or absence of contamination. This pattern was most pronounced for Pb, Mn, Fe and Se, and to a lesser extend for As and Cu. Overall, the results suggest that impacted sites enhance the accumulation of selected trace elements in stoneflies, although this response is strongly metal-specific rather than uniform across all elements.

The contrast between elevated concentrations of some metals and near-background concentrations of others indicates that contamination at impacted sites does not translate into uniform accumulation in stoneflies. The fact that several metals (Mn, Fe, Se, Pb at AG/LF) fall within or above ranges reported for contaminated sites, while others (Cd, Ni, Cr, Hg) remain close to background values, highlights the importance of metal specific behaviour in terms of speciation, binding to particles and organic matter, environmental bioavailability and physiological regulation by stoneflies. These patterns also emphasize the role of sediments and particulate phases as important exposure pathways for elements such as Mn.

Combined with the correlation analysis, these concentration patterns suggest that stoneflies integrate exposure from multiple environmental compartments, including dissolved fraction of the water column, and surface sediments, ingesting particles and pore water. Their tissue concentrations therefore reflect not only the presence of metals in the environment, but also the bioavailability and the capacity of stoneflies to accumulate or regulate individual elements. In agricultural areas, the very high Pb concentration in stoneflies exceeding the concentrations reported for invertebrates from metal impacted rivers (Table 10), indicates that stoneflies at those sites may represent an important vector for trophic transfer of Pb to higher levels. The co-occurrence of Pb, Cd, Cr, Ni, and Zn concentrations in stoneflies from these sites may indicate a localized contamination event potentially related to soil or sediment remobilization, agricultural inputs, or road-derived particles from nearby traffic, including brake, tire, and vehicle-wear debris. A more extensive summer study would be valuable to confirm this pattern, assess its temporal consistency, and better distinguish between chronic and episodic metal inputs.

Downstream of the closed landfill and highway, several essential and nonessential metals show concentrations compatible with moderate to strong contamination, such as As, Cu, Mn, Fe, and Se. The very high Mn and Fe concentrations suggest a strong influence of particulate and sediment-associated inputs, since both elements commonly occur in sediments as oxide and oxyhydroxide phases associated with fine particles. Mn and Fe may consequently become available to benthic insects through ingestion of contaminated particles and exposure to pore water (Horowitz, 1991; Langmuir, 1997; Saidon et al., 2024). Elevated Se concentrations in macroinvertebrates at impacted sites also fell within the range reported for Se enriched systems. Because Se enrichment can cause adverse effects in fish and birds through trophic transfer (Presser & Luoma, 2010), the concentrations observed here may represent a potential exposure pathway for Atlantic salmon feeding at these sites. Taken together, the elevated tissue concentrations observed at AG and LF indicate that these impacted sites may increase the bioaccumulation potential of selected metals in stoneflies, particularly Pb, Cr, and Se at agricultural sites and Mn, Fe, Se, As, and Cu downstream of the closed landfill and highway.

The very strong correlation between water and stoneflies observed for Mn suggests its concentration in stoneflies closely reflect variations in this metal within the water column. This is consistent with the fact that Mn is relatively mobile and can be bioavailable to benthic organisms via interstitial water and suspended particles (Rainbow, 2007).

The positive correlations observed between Mn, Co, Al, Ba, Cr and Fe concentrations in stoneflies and in surface sediments suggest that, beyond the water column, sediments may also contribute to the exposure of benthic insects to these metals. This pattern is consistent with the fact that these metals can become bioavailable to benthic invertebrates through direct contact with contaminated particles, ingestion of sediments associated material and exposure to interstitial water, depending on local REDOX conditions, pH and metal speciation (Hare, 1992; Luoma & Rainbow, 2008). However, these relationships did not remain statistically significant after correction for multiple comparisons and should therefore be interpreted with caution. Overall, these results are compatible with potential influence of sediments on Mn,

Co, Al, Ba, Cr and Fe accumulation in stoneflies, but additional data would be required to confirm the strength and consistency of these links across a broader range of environmental conditions.

In contrast to the accumulation of potentially toxic trace elements, impacted sites were characterized by lower concentrations of several physiologically essential elements, such as Mg, Na, Ca, P, and K. The higher concentrations at reference sites of Mg, Na, Ca, P, and K was also observed in other studies (Luoma & Rainbow, 2008), which is consistent with the structural and physiological roles of these elements. Because these macronutrients contribute to osmoregulation (Nation Sr, 2022), enzymatic function (Patrick & Bradley, 2000) and structural metabolism (exoskeleton) in insects and other invertebrates (Chapman, 1998; Luoma & Rainbow, 2008), their lower concentrations at impacted sites may indicate disrupted uptake, homeostatic regulation, or elemental allocation under contaminant stress. Their lower concentrations in stoneflies may consequently limit the resources available for normal growth and exoskeleton formation and could partly explain the smaller body size observed at contaminated sites relative to reference sites.

The strong negative correlation between water and stoneflies observed for Co could reflect a more pronounced physiological control of this metal in insects, as has been suggested for other essential trace metals that are subject to homeostatic regulation in aquatic invertebrates (Rainbow, 2007). The same trend has been observed for K and Mg. Nonetheless, these results should be interpreted with caution given the lack of statistical significance after correction.

For metals such as Cu and Zn, which are essential micronutrients, concentrations in stoneflies from AG, CS, and REF largely overlap the ranges reported as natural in the literature, with only the highest Cu values at LF entering the range typical of strongly contaminated environments. This pattern is consistent with partial physiological regulation of these essential elements, which can lead to relatively stable concentrations over a wide range of environmental exposure (Hare, 1992; Luoma & Rainbow, 2008; Rainbow, 2007).

For other metals (As, Ca, Rb, Cu), correlations between matrices (water/sediment vs stoneflies) were not significant after applying the correction for multiple comparisons, despite coefficients that were sometimes moderate to strong ($|\rho| \sim 0.6$-0.7). These results can be explained by the small number of sites, within-site variability and differences in speciation and bioavailability among metals, which are known to strongly influence metal uptake in benthic invertebrates (Campbell, 1988; Hare, 1992; Luoma & Rainbow, 2008).

The results indicate that impacted sites influenced elemental accumulation in stoneflies, but that the magnitude and direction of this effect vary among metals. Stoneflies therefore appear to be useful biomonitors of bioavailable metal contamination and may represent an important pathway for the trophic transfer of selected elements to insectivorous consumers, including Atlantic salmon.

3.4.2. Oxidative stress response in stoneflies along the contaminant and temporal gradients

Overall, SOD activity in stoneflies showed much stronger temporal than spatial variation. This suggests that the spatial contamination gradient from the closed landfill, the highway and agricultural areas alone is not sufficient to override the seasonal influence in antioxidant responses. Instead, like was shown by previous studies, SOD activity appears to respond to a combination of environmental conditions (ex. temperature, oxygen availability, seasonal changes in metabolism) and site-specific stressors, leading to complex and sometimes nonlinear patterns (Tatović et al., 2024).

Both TSOD and CuSOD activities peaked in June and July, while values were consistently lower in other months. This pattern is consistent with a seasonal increase in metabolic rate and ROS production during late spring and early summer, when the observed water temperatures in the Rimouski River were higher and biological activity is typically at its peak (Božanić et al., 2018). Similar seasonal maxima in SOD activity have been reported for this period in larvae of *Ephemera danica* exposed to the influence of a trout farm, where SOD activities increased in warmer months, while declining in colder periods (Božanić et

al., 2018). This likely reflects an adaptative antioxidant response to increased oxidative pressure. Seasonality was established as a main driver of oxidative stress including SOD in terrestrial insects as well (Hamza et al., 2025; Messi et al., 2025). These results may also reflect an interaction between temperature and metal or other contaminant exposure, whereby elevated temperatures could increase metal toxicity, as reported for a stonefly specie (Frakes et al., 2022) and other aquatic insects (Dinh et al., 2022). In contrast, the lower SOD activities observed in autumn (September and November) in the present study may therefore reflect reduced metabolic demand or down regulation of antioxidant defences after prolonged exposure to stressors earlier in the season.

When looking at spatial pattern within each month, SOD responses were more nuanced and the relationship with the impact gradient was not always clear. In May, CuSOD and TSOD activities were significantly higher at reference sites than at impacted sites. This pattern could indicate either a strong natural oxidative challenge at reference sites during spring runoff, or a partial suppression of SOD activity at impacted sites under chronic stress. SOD activity can be inhibited or downregulated at higher contaminant levels, despite an overall increase of oxidative pressure, as was shown by other studies (Mirčić et al., 2016; Prat et al., 2013; Xie et al., 2009). Some species of mayflies and caddisflies exposed to mercury displayed reduced SOD activity at higher metal concentrations (Xie et al., 2009). Similar patterns of altered or depressed SOD activity at impacted locations have been observed in stoneflies downstream of organic or mixed pollution sources (Mirčić et al., 2016; Prat et al., 2013).

In June, TSOD activity at the agricultural site was significantly higher than both reference sites and sites downstream of the closed landfill and highway, while CuSOD activity showed no significant differences, which may indicate that mitochondrial and cytosolic SOD pools do not respond identically that variability within sites masked smaller differences, or that the sample size were too small. This pattern may suggest a localized oxidative stress in summer, potentially linked to agricultural inputs, such as pesticides and nutrients, combined with rising temperatures and lower water levels. Elevated SOD activity

at more impacted sites has also been reported in Plecoptera and Ephemeroptera larvae collected downstream from trout farms, where higher organic loading and ammonia concentrations stimulated antioxidant defences, including SOD (Božanić et al., 2018; Mirčić et al., 2016).

Spatial contrasts re-emerged in September and November, but with opposite directions. In September, both CuSOD and TSOD activities were highest at AG and significantly higher than at REF sites and sites downstream of the closed landfill and highway, supporting the hypothesis of a persistent oxidative stress at AG, possibly linked to cumulative agricultural runoff. In contrast, in November, the highest SOD activities were observed at some REF sites, and TSOD was significantly higher at reference sites than at AG, with a clear tendency to be higher than at sites downstream of the highway and landfill. This reversal may indicate that, under colder late-autumn conditions, organisms at REF sites maintain a higher antioxidant capacity, whereas stoneflies at impacted sites may have a reduced ability to sustain elevated SOD activity after prolonged exposure to stressors. Comparable site × season interactions have been reported for *E. danica* near trout farms, where SOD patterns differed among stations and seasons, and site effects were only evident during particular periods (Božanić et al., 2018; Tatović et al., 2024).

These results show that SOD activity in stoneflies is not governed by a simple contaminant gradient. Instead, the enzyme responds to a combination of seasonal dynamics and stressors specific to each site, with evidence for both induction (e.g. higher SOD at AG in June and September) and potential suppression (e.g. lower SOD at impacted sites in May and November) depending on timing and context. This complexity is in line with recent reviews emphasizing that SOD in insects can be either up or down regulated by contaminants, depending on dose, exposure duration, species and life stage (Messi et al., 2025).

3.4.3. Stonefly larvae as bioindicators of chronic metallic contamination

In this study, MT concentrations in aquatic insects clearly tracked the metal gradients observed in sediments and insect tissues, with consistently higher MT levels at impacted sites

than at reference sites and generally higher values in June–July than in May. This pattern is consistent with the known role of MT in metal binding and detoxification. MTs are strongly induced by essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb, etc.) metals and are widely used as early-warning biomarkers of metal exposure in aquatic invertebrates (Hertika et al., 2023; Khati et al., 2012). These results, which mirror sediment and tissue metal charge, corroborate the already widely documented trends in aquatic invertebrates, that MT are good integrative indicators of chronic exposure to metals, more stable and less influenced by short-term variability than the physicochemical parameters of water (Khati et al., 2012).

The more marked differences in MT concentrations at the scale of individual sites than at the scale of site groups also suggests that the fine structure of the habitat (hydrodynamics, sedimentation, granulometry) plays on the bioaccessibility of metals for insects. This hypothesis is consistent with previous studies showing that sediments often constitute the main reservoir of metals and a key source for bioaccumulation in benthic invertebrates (Khan et al., 2018; Taiwo et al., 2014).

By contrast, CuSOD and total SOD activities showed weaker and less consistent spatial patterns, with only month-specific or site-specific differences and no clear overall increase at the most contaminated sites. This is not surprising given that SOD reflects oxidative stress rather than exposure and is modulated by multiple factors such as temperature, oxygen availability, life stage and nutritional status (Messi et al., 2025; Tatović et al., 2024). Field studies sometimes report that antioxidant enzymes respond in decreasing or plateauing at highly contaminated sites while metal-binding systems like MT remain elevated along pollution gradients (Borković-Mitić et al., 2024). In addition, MT themselves can buffer reactive oxygen species through their thiol groups (Khati et al., 2012).

Taken together, the SOD activity and MT concentrations measured in stoneflies suggest a scenario of chronic, sub-lethal metal exposure where benthic insects adjust primarily via metal sequestration and homeostasis, while oxidative stress captured by SOD, remains moderate. Because only one insect group was analysed, these results should not be generalized to the entire benthic community. Taxa differing in feeding mode, microhabitat,

life history, and contaminant sensitivity may have shown different exposure profiles and potentially stronger oxidative or cellular damage response. Contaminant-sensitive taxa, such as Ephemeroptera, were often absent or represented by only a few individuals at contaminated sites, providing insufficient biomass to conduct the planned analysis. This agrees with recent multi-biomarker studies arguing that MT is a robust indicator of metal exposure, whereas antioxidant enzymes are more informative when interpreted as part of an integrated biomarker panel that also includes damage endpoints (e.g., DNA damage) (Gora et al., 2025; Sedeño-Díaz & López-López, 2022).

CONCLUSION

By linking chemistry, biomarker responses and food-web pathways, this study aimed to clarify whether a key thermal refuge for salmon in a warming river also functions as a hotspot for contaminant exposure.

This study demonstrates that stonefly larvae integrated metal contamination originating from multiple anthropogenic sources (closed landfill, highway runoffs and agricultural activities) and provide a useful biomonitoring of metal exposure in a freshwater ecosystem. Metal concentrations in larvae indicated marked site-specific enrichment, with particularly elevated Pb concentrations at the agricultural sites and high Mn, Fe and Se concentrations at the landfill impacted site, highlighting the importance of local sources and element-specific behavior. The observed patterns support the role of sediments and particulate phases as major reservoirs and exposure pathways for several metals (Mn, Fe), while some elements remained near background levels, consistent with differences in bioavailability and physiological regulation.

Biomarker responses further showed that MT are robust indicators of chronic metal exposure in stoneflies. MT activity varied seasonally and was significantly associated with multivariate gradients of metals in water. In contrast, SOD displayed stronger temporal than spatial variability and did not follow the contamination gradient consistently. This pattern underscores the influence of environmental and physiological drivers on antioxidant defenses

in field conditions. Together, these results point to a scenario of chronic, sublethal exposure in which metal sequestration and homeostatic regulation (MT) represent a primary adjustment mechanism, whereas oxidative stress responses (SOD) are more complex and dependant on context.

From an ecological perspective, the elevated concentrations of metals, especially Pb and As in stoneflies at impacted sites raise concerns regarding trophic transfer to higher consumers. Because benthic insects are part of the diet of *S. salar*, contamination of these organisms could represent an additional exposure pathway for fish using the area as a thermal refuge. This supports the relevance of including benthic insects in monitoring programs aimed at assessing long-term contamination, potential food-web transfer, and the overall suitability of thermal refuges for salmonids.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Marie-Eve Anglehart and Steeven Ouellet from the Université du Québec à Rimouski for their technical support and advice. We also thank Clara Julliard and Anne Corminboeuf from the *Organisme des Bassins Versants du Nord-Est du Bas-Saint-Laurent* (OBVNEBSL), Clément Vandaine, Gabriel Côté, Elia Wagner-Beaulieu for their technical support with sampling and Raphaële Terrail from the OBVNEBSL for her administrative assistance. This study was funded by the Environmental Damages Fund from Environment and Climate Change Canada.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

3.7.1. Appendix 1

Table 11. Efficiency of extraction method of Mussel Tissue Standard Reference Material ® 2976 according to expected versus measured mass fraction (mg/kg).

	Mass Fraction (mg/kg)						
Element	**Expected**		**Measured**		**Extraction efficiency intervall (%)**		
As	13.3	± 1.8	16.3	± 0.46	104.9	-	145.7
Cd	0.82	± 0.16	1	± 0.04	97.9	-	157.7
Cu	4.02	± 0.33	3.5	± 0.15	77.1	-	98.8
Fe	171	± 4.9	192.7	± 0.05	109.5	-	116.0
Pb	1.19	± 0.18	1.2	± 0.14	77.7	-	132.3
Se	1.8	± 0.15	2.4	± 0.15	115.3	-	154.6
Zn	137	± 13	169.4	± 3.41	110.7	-	139.4

3.7.2. Appendix 8

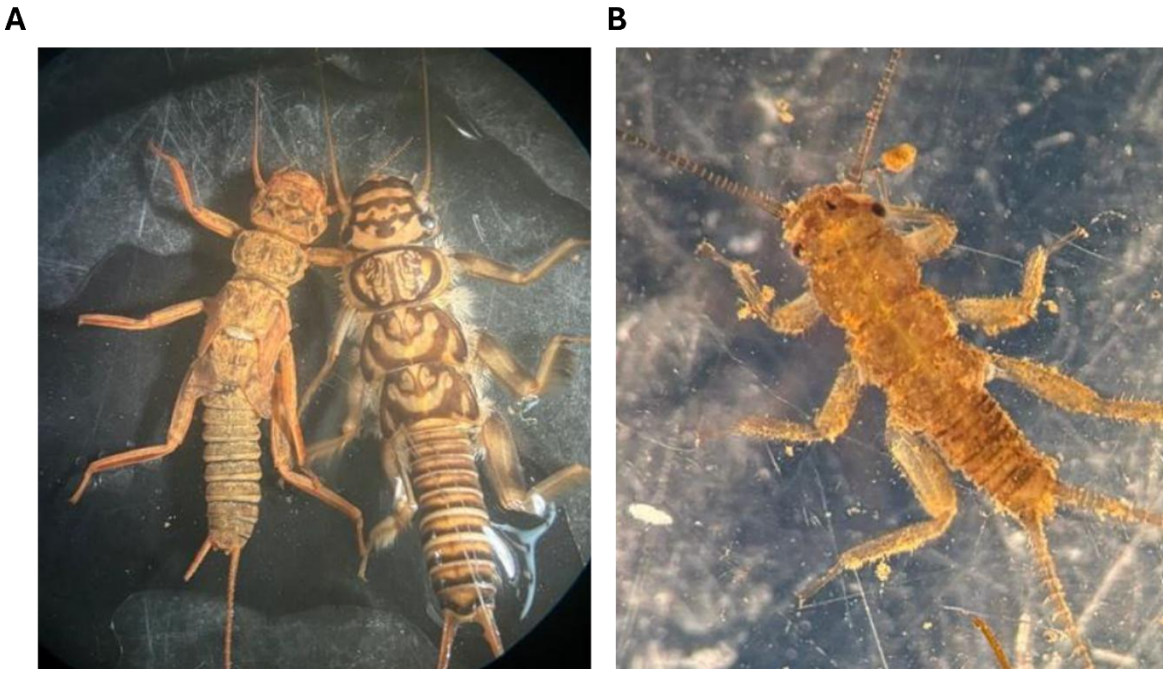


Figure 26. Differences in exoskeletal coloration of stonefly larvae collected across different sampling sites. A) Plecoptera larvae from reference sites (right) showed typical pale to dark-banded coloration, whereas individuals collected downstream of the landfill exhibited a pronounced orange-brown coloration of the exoskeleton (left). B) Another Plecoptera larva sampled downstream of the landfill exhibiting orange-brown coloration of the exoskeleton. Photographs: Elia Wagner-Beaulieu.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le projet de recherche présenté dans ce mémoire visait à évaluer les effets cumulatifs des rejets de contaminants d'origine agricole, du transport routier et issus d'un LES, sur les environnements abiotiques et biotiques d'un refuge thermique pour le saumon atlantique à la confluence entre le ruisseau de la Savane/Cavée et de la rivière Rimouski. Plus spécifiquement, il s'agissait de caractériser sur un gradient spatial et temporel la contamination inorganique dans la rivière Rimouski à la confluence et en aval du ruisseau de la Savane/Cavée, d'identifier les principales sources de contamination et leur ampleur, ainsi que d'évaluer les conséquences sur des communautés benthiques clés, soit des microorganismes du biofilm et des insectes aquatiques.

4.1. Portrait de la contamination selon les gradients spatio-temporels

Pour ce faire, une quantification mensuelle de différents éléments, dont des éléments traces métalliques ainsi que des ions majeurs dans l'eau et les sédiments de surface a été réalisée d'octobre 2023 à novembre 2024. Ces analyses ont montré que la composition chimique de l'eau et des sédiments est structurée principalement par le type de site (référence vs impacté) ainsi que par la saison, confirmant l'importance conjointe des gradients spatiaux et temporels afin de comprendre l'état de contamination du refuge thermique.

Un gradient clair de contamination a été mis en évidence le long du continuum du ruisseau de la Savane/Cavée jusqu'à sa confluence avec la rivière Rimouski, avec des signatures chimiques distinctes, permettant d'identifier les sources dominantes de contamination. Les zones agricoles apparaissaient comme des sources majeures de NO_3^-, SO_4^{2-}, Ba, Al, K et Rb, en cohérence avec le rôle bien documenté des bassins versants agricoles comme apports de nutriments et de contaminants associés à l'usage de fertilisants et de pesticides (Salem et al., 2020; Senesi et al., 1983; Uwizeyimana et al., 2017). À

l'inverse, le LES et/ou l'autoroute contribuent de façon marquée aux apports en Mg, Mn, Na, Fe, Pb, Cu, As, Cl, Ba, SO_4^{2-} et NO_3^-, ce que confirme les FE calculés. Ces profils sont cohérents avec la littérature, qui identifie les autoroutes et les lieux d'enfouissement comme des sources importantes d'éléments traces toxiques, de sels et de divers contaminants organiques pour les milieux aquatiques situés à proximité (Ebrahimi Gardeshi et al., 2024; Huber et al., 2016).

La comparaison des concentrations mesurées aux lignes directrices de la CCME a mis en évidence que plusieurs éléments dépassaient les seuils de toxicité chronique pour les organismes aquatiques. Dans l'eau, le Pb, Cu, Zn, NO_3^-, parfois NO_2^- présentaient des concentrations supérieures aux seuils de la CCME. Dans les sédiments, le Pb, Cu, Cr, As, Zn, Ba dépassaient les seuils d'effets rares à fréquents de la CCME et les concentrations de Fe dans les sédiments ont dépassé le seuil de 40 000 $mg*kg^{-1}$ proposé par Persaud et al. (1993).

Au site du refuge thermique, les concentrations de Cu, Ba (juillet-août), Mn, NO_3^- (mai-juillet) et NO_2^- (septembre 2024) dans l'eau excédaient ces seuils. Dans les sédiments, les différents seuils d'effets étaient dépassés par le Pb (CSE), Cr (CER), Zn (CSE), Cu (CER) et As (CEF).

Pris ensemble, ces résultats démontrent que le refuge thermique est un environnement soumis à des apports cumulatifs de contaminants d'origines multiples, avec des dépassements répétés des critères de qualité qui peuvent compromettre la santé des communautés benthiques et, à terme, celle du saumon atlantique qui dépend de ce refuge.

4.2. Portrait de la composition taxonomique et fonctionnelle, de la diversité, de la richesse et de l'abondance des communautés bactériennes et fongiques du biofilm

Les résultats de metabarcoding démontrent que les communautés bactériennes et fongiques du biofilm reflètent étroitement le gradient de contamination identifié sur les matrices abiotiques. Les sites de références abritent des communautés riches en cyanobactéries et en taxons fonctionnellement diversifiées, caractéristiques de milieux à

faible impact anthropique. Les communautés des sites en zones agricoles sont dominées par des taxons saprotrophes et associés aux plantes, en lien avec les apports accrus en matière organique et en nutriments issus des activités agricoles.

À l'inverse, les sites les plus contaminés situés en aval du LES et de l'autoroute sont caractérisés par des communautés bactériennes et fongiques dominés par des taxa opportunistes, pathogènes ou parasites, tolérants aux polluants et impliqués dans la réduction des métaux. Les patrons observés, du phylum au genre, en passant par les groupes de fonctions écologiques, convergent vers le même diagnostic, soit que les communautés du biofilm constituent des bioindicateurs sensibles de la qualité des écosystèmes dulcicoles et documentent finement la transition d'un état naturel vers un état dominé par des communautés tolérantes aux contaminants et potentiellement pathogènes, à mesure que la contamination augmente. Ces sites présentent des communautés plus riches, plus abondantes et plus diversifiées que les sites de référence, ce qui pourrait refléter la multiplicité des microenvironnements créés par des apports hétérogènes de matière organique et de contaminants provenant du LES. Contrairement aux sites de référence, où les variations seraient principalement saisonnières et relativement stables d'une année à l'autre, les sites influencés par le LES demeurent dynamiques, puisque la nature et la biodisponibilité de la matière organique, la composition des lixiviats et les microorganismes qu'ils transportent peuvent évoluer au fil du temps et contribuer au renouvellement des communautés dans le cours d'eau.

Ces biofilms participent à la production primaire, à la transformation de matière organique et au recyclage des nutriment, en plus de constituer une première interface de transfert potentiel de contaminants vers les niveaux trophiques supérieurs (Wen et al., 2024).

4.3. Portrait des effets chroniques et sous-létaux de la contamination sur les insectes aquatiques

L'étude des insectes aquatiques, et plus spécifiquement des plécoptères, offre une perspective intégratrice sur les effets cumulatifs du rejet de polluants. Leur cycle de vie, leur

intégration dans le réseau trophique (proies des saumons) et leur sensibilité différentiée aux contaminants en font des sentinelles biologiques capables d'intégrer l'ensemble des pressions exercées sur le milieu.

Dans ce contexte, la quantification de plusieurs éléments traces dans les tissus d'insectes a été réalisée en parallèle de la mesure de biomarqueurs cellulaires, dont l'activité de la SOD ainsi que des concentrations de MT. Chez les individus prélevés aux sites contaminés, les teneurs en Mn, Fe, Se et Pb se situaient dans des ordres de grandeur comparables à ceux rapportés chez des insectes provenant d'autres milieux contaminés, suggérant une accumulation de ces éléments chez les plécoptères. Un potentiel de bioaccumulation a d'ailleurs été démontré statistiquement pour le Mn, Fe et Ba. À l'inverse, certains oligo-éléments essentiels, dont le Co, K, Mg, semblaient être soumis à une régulation homéostatique, indiquant la capacité de ces invertébrés à maintenir des concentrations internes relativement stables malgré les variations environnementales.

Les concentrations de MT chez les insectes aquatiques suivaient les gradients de métaux observés dans les sédiments et les tissus de plécoptères, avec des niveaux systématiquement plus élevés aux sites impactés qu'aux sites de référence. Ces biomarqueurs étaient fortement liés aux concentrations de métaux essentiels, tels que le Cu et Zn, ainsi que de métaux non essentiels (Cd, Pb), ce qui reflète leur rôle central dans la détoxification et le stockage des métaux. Cela soutient aussi que ce sont de bons indicateurs intégrés d'exposition chronique aux métaux (Khati et al., 2012). Les MT présentaient également une dynamique temporelle marquée, avec des valeurs plus élevées en juin-juillet suggérant une combinaison d'effets saisonniers et de variations d'exposition.

Contrairement aux MT, les activités de la SOD montraient des variations spatiales plus faibles et moins constantes, avec des différences principalement liées au mois, sans augmentation globale nette significative sur les sites les plus contaminés. Ces enzymes, qui reflètent davantage un stress oxydatif global, et non spécifique aux contaminants, apparaissent influencés par une diversité de facteurs tels que la température, la disponibilité en oxygène, le stade de développement et l'état nutritionnel (Messi et al., 2025 ; Tatović et

al., 2024), comme le suggère l'augmentation de l'activité de la SOD durant les mois de juin et juillet, période correspondant aux températures les plus élevées.

Dans l'ensemble, l'accumulation de différents contaminants dans leurs tissus ainsi que la combinaison des réponses de la SOD et des MT suggère un scénario d'exposition chronique et sous-létale aux métaux. Ces résultats sont cohérents avec les études multi-biomarqueurs récentes, qui soulignent que les MT constituent des indicateurs robustes de l'exposition chronique aux métaux, alors que les enzymes antioxydantes sont particulièrement informatives lorsqu'elles sont interprétées dans un cadre intégratif combinant plusieurs niveaux de réponses (Gora et al., 2025 ; Sedeño-Díaz & López-López, 2022).

L'abondance et la diversité des macroinvertébrés benthiques, de même que leur disponibilité et leur qualité comme ressources alimentaires pour le saumon atlantique, ont été évaluées dans le cadre d'un autre projet de maîtrise réalisé au sein du même programme de recherche. Ce programme, financé par le Fonds pour dommages à l'environnement et mené en partenariat avec l'OBVNEBSL, comprenait plusieurs volets complémentaires visant à caractériser la qualité de l'habitat et du réseau trophique du refuge thermique. Le présent mémoire se concentrait donc plus spécifiquement sur un aspect encore peu documenté, soit l'exposition des Plécoptères aux métaux et les réponses physiologiques qui y sont associées.

4.4. Portrait global des effets cumulatifs de rejets de multiples contaminants sur l'environnement abiotique et biotique d'un refuge thermique pour le *S. salar*

Pris ensemble, les résultats physico-chimiques et biologiques brossent un portrait préoccupant du refuge thermique étudié. Sur le plan thermique, ce secteur de la rivière Rimouski conserve un rôle crucial pour le saumon atlantique en offrant un micro-habitat plus frais lors des épisodes de stress thermique dans la rivière (> 21°C). Toutefois, sur le plan physico-chimique, le refuge est un environnement soumis à des apports cumulatifs de contaminants d'origines multiples ainsi que leurs interactions potentielles (additives ou synergiques). Ces apports cumulatifs de contaminants d'origine agricole, routière et liée au

LES à ce refuge se traduisent par des dépassements récurrents des critères de qualité de l'eau et des sédiments, des communautés du biofilm dominées par des taxa opportunistes, tolérants à la pollution et pathogènes ou parasites, ainsi que des signatures d'exposition chronique et de bioaccumulation d'éléments traces toxiques chez des insectes benthiques.

Dans une perspective écosystémique, ces conditions laissent présager des effets potentiels sur la qualité de l'habitat du saumon, non seulement via des impacts directs, mais aussi via des effets indirects sur la disponibilité, la qualité et la contamination des ressources alimentaire ainsi que sur le fonctionnement global du réseau trophique. Le refuge thermique apparait ainsi comme un espace paradoxal, à la fois physiquement favorable sur le plan thermique, mais chimiquement et biologiquement contraints par la pression combinée des activités humaines sur le bassin versant. Ce constat souligne l'importance de considérer conjointement les dimensions thermiques, chimiques et biologiques pour les populations de saumon atlantique.

4.5. Limites de l'étude et perspectives

Cette étude comporte certaines limites qui ouvrent des pistes claires pour des travaux futurs. L'approche de metabarcoding offre une caractérisation générale de la composition des communautés bactériennes et fongiques, mais plusieurs limites doivent être prises en compte. L'attribution taxonomique dépend de l'exhaustivité et de la précision des bases de données de référence, et des biais d'amplification liés aux amorces peuvent entraîner la sous-représentation ou l'omission de certains taxa. De plus, l'abondance des séquences ne reflète pas nécessairement l'abondance des organismes ni leur activité métabolique, et la détection d'ADN ne permet pas de distinguer les organismes actifs des cellules dormantes ou mortes. Enfin, les fonctions écologiques inférées doivent être interprétées comme des fonctions potentielles plutôt que comme des mesures directes de l'activité microbienne.

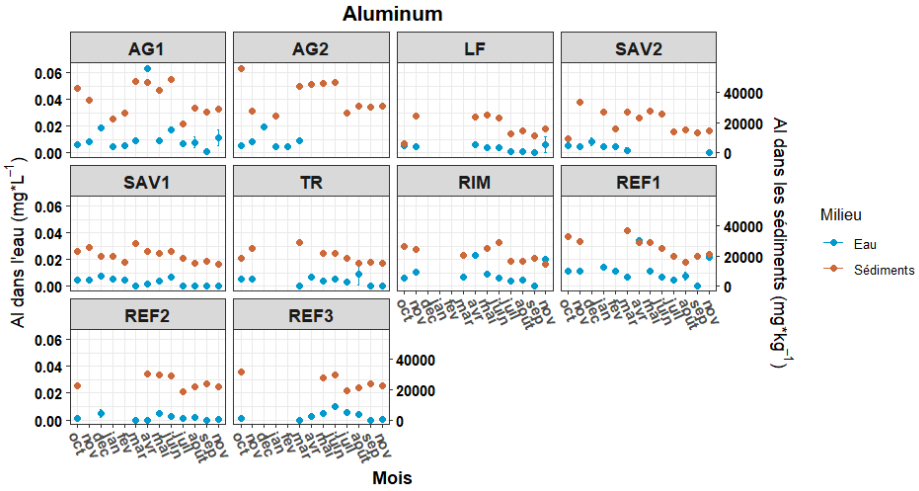
De plus, l'accent a été mis sur les contaminations inorganiques (métaux et ions majeurs), alors que d'autres classes de contaminants (pesticides, HAP, PFAS, résidus

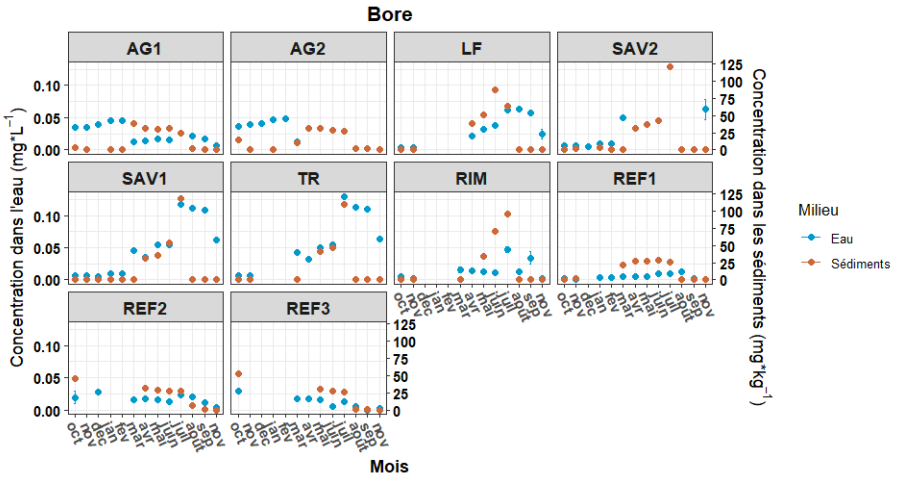
pharmaceutiques) pourraient contribuer de manière significative aux effets cumulés observés, sans mentionner les interactions potentielles.

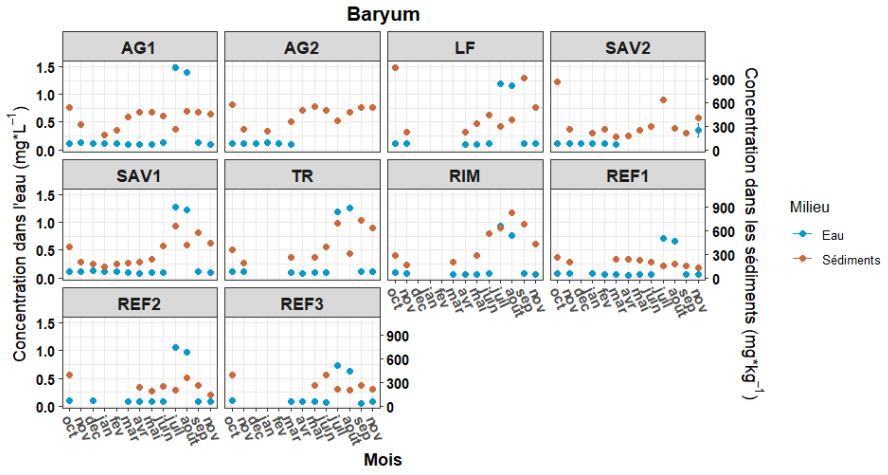
Par ailleurs, la granulométrie du substrat constitue un facteur structurant majeur des communautés composant le biofilm et des communautés benthiques, mais n'a pas été évaluée dans le cadre de cette étude. La taille et la nature des particules influence fortement l'adhésion et la stabilité des communautés microbiennes. L'absence de cette variable limite l'interprétation.

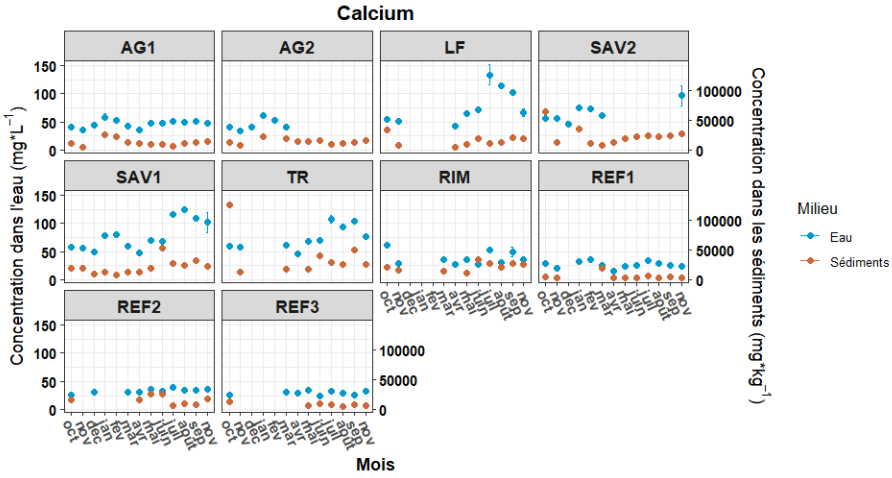
De futures études gagneraient à intégrer des approches métatranscriptomiques, ou métaprotéomiques afin de confirmer les inférences des rôles fonctionnels des bactéries et champignons. Une résolution temporelle accrue, ciblant spécifiquement des épisodes de précipitations permettrait de mieux comprendre les dynamiques des apports de contaminants et les effets de ceux-ci sur les communautés biologiques.

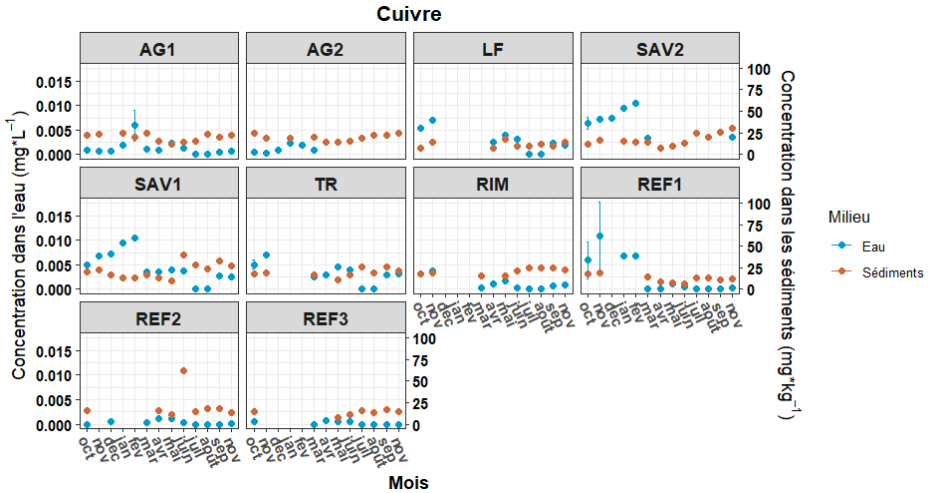
ANNEXE I

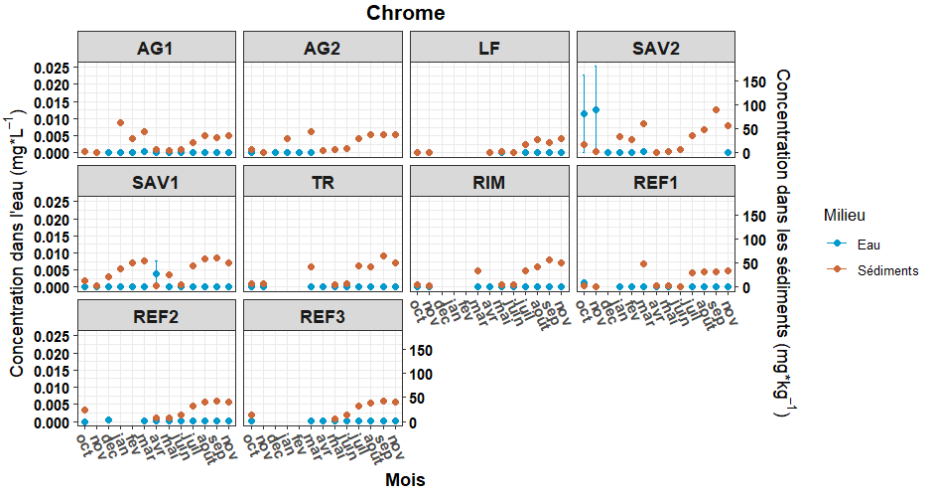

Aluminum
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Al dans l'eau (mg*L^{-1})
Al dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments

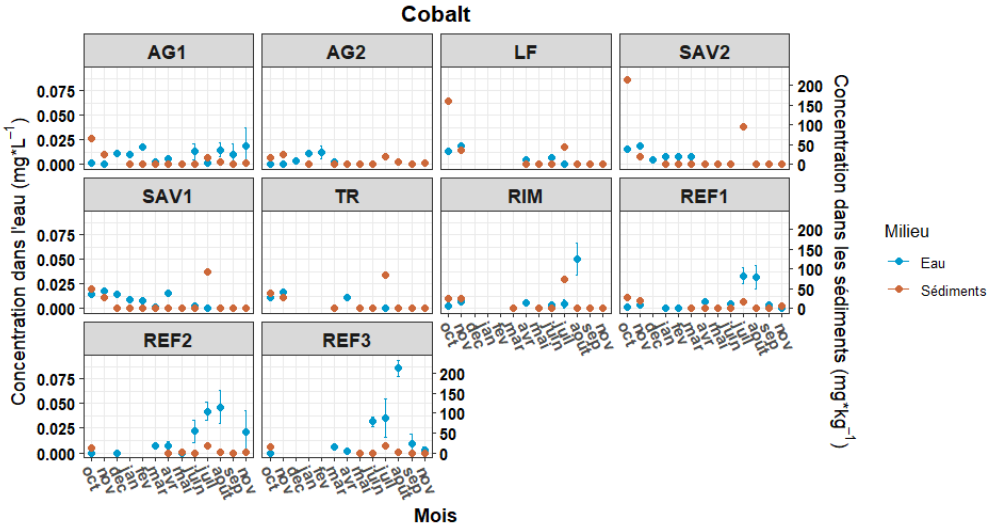

Bore
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments

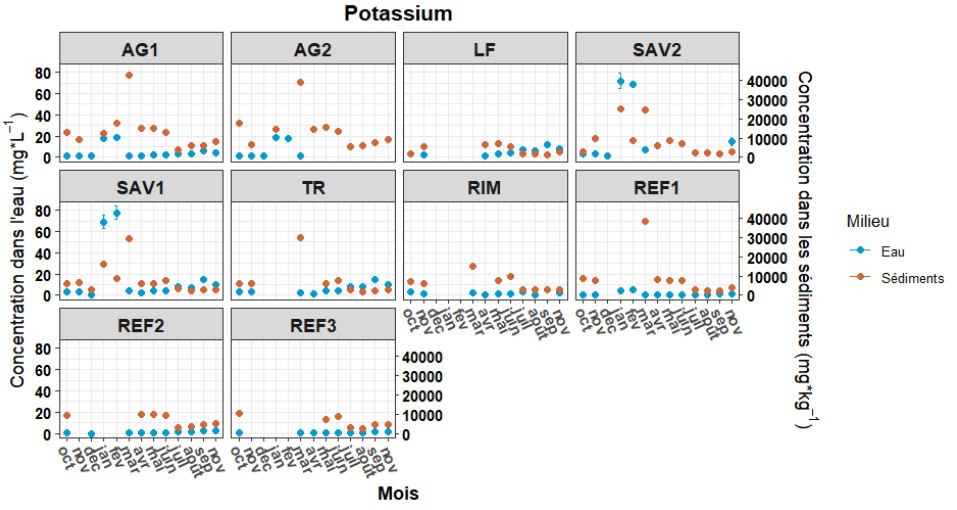

Baryum
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments

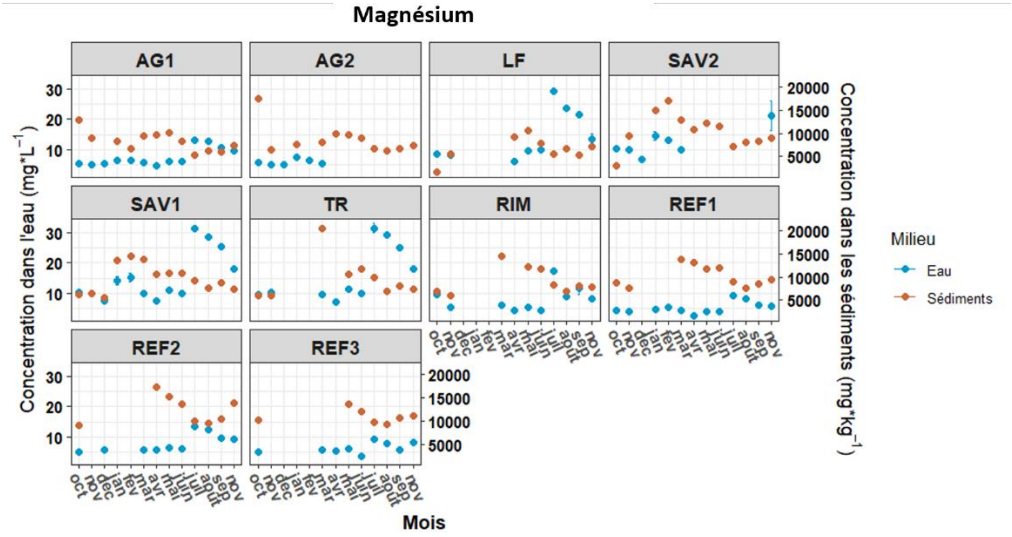

Calcium
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments

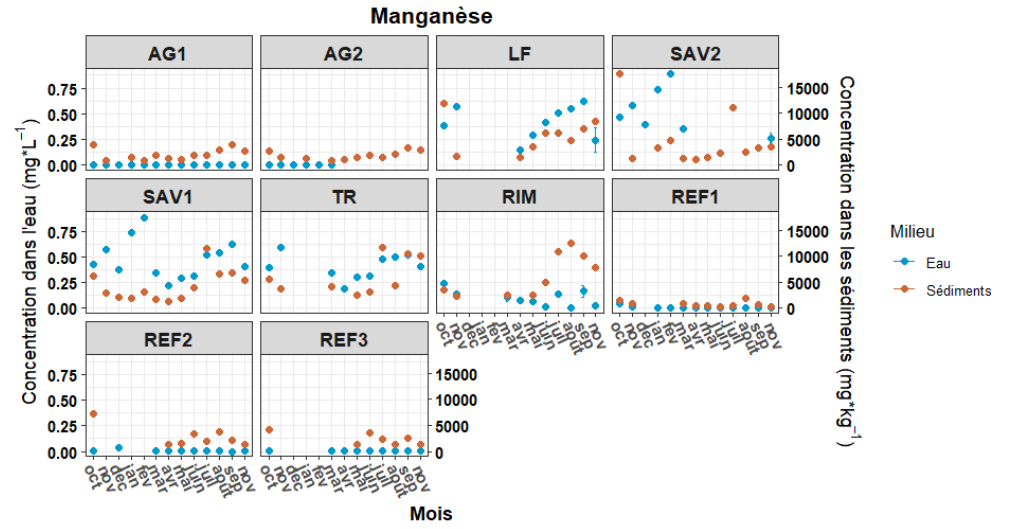

Cuivre
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments

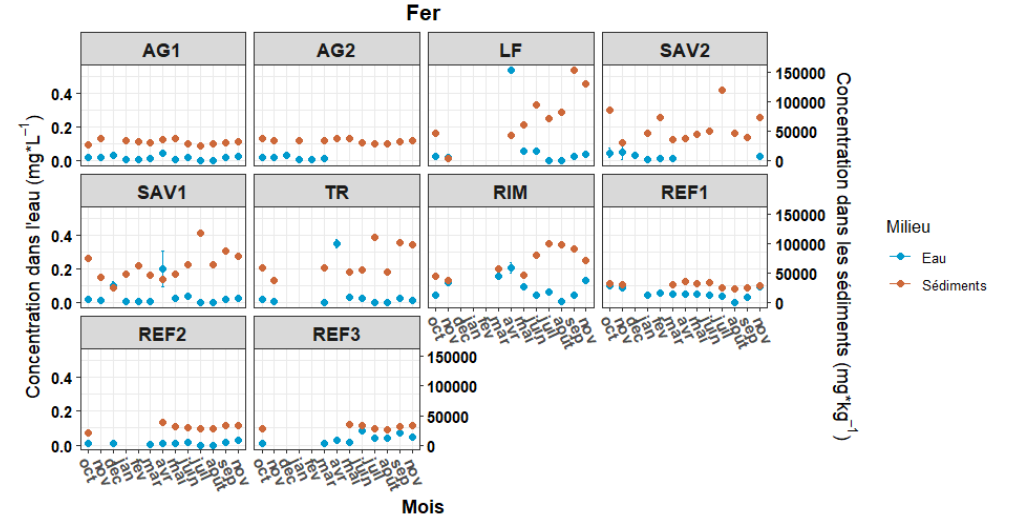

Chrome
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments

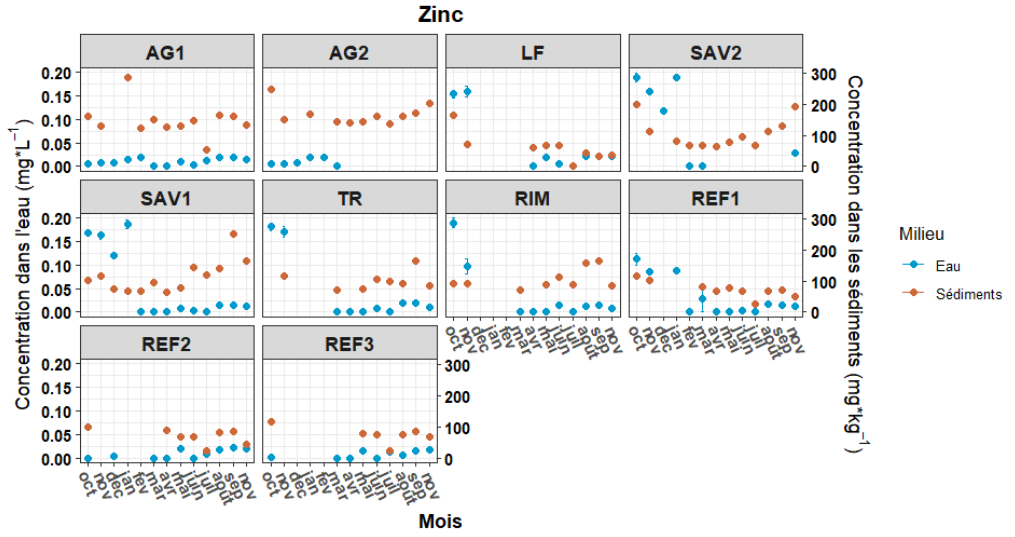

Cobalt
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments

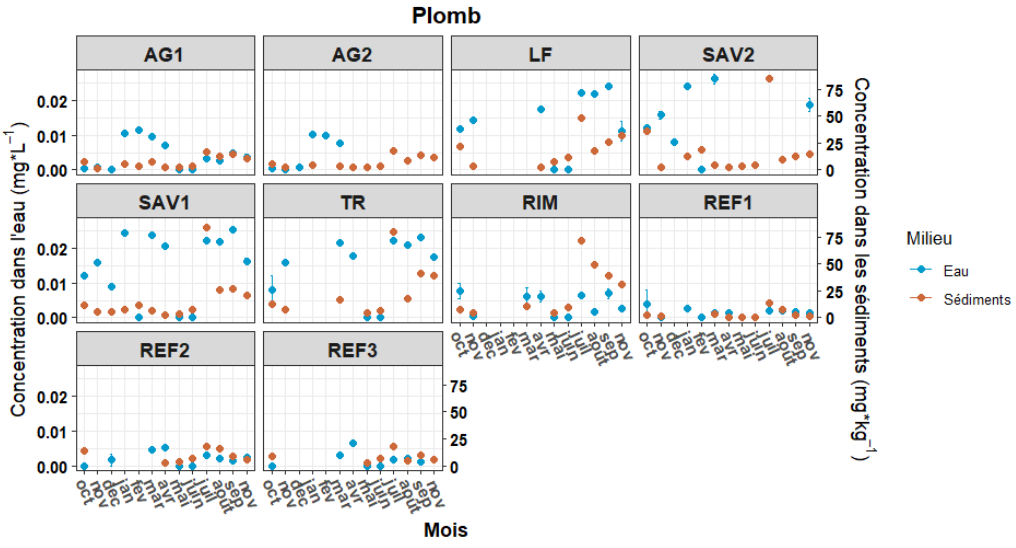

Potassium
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments

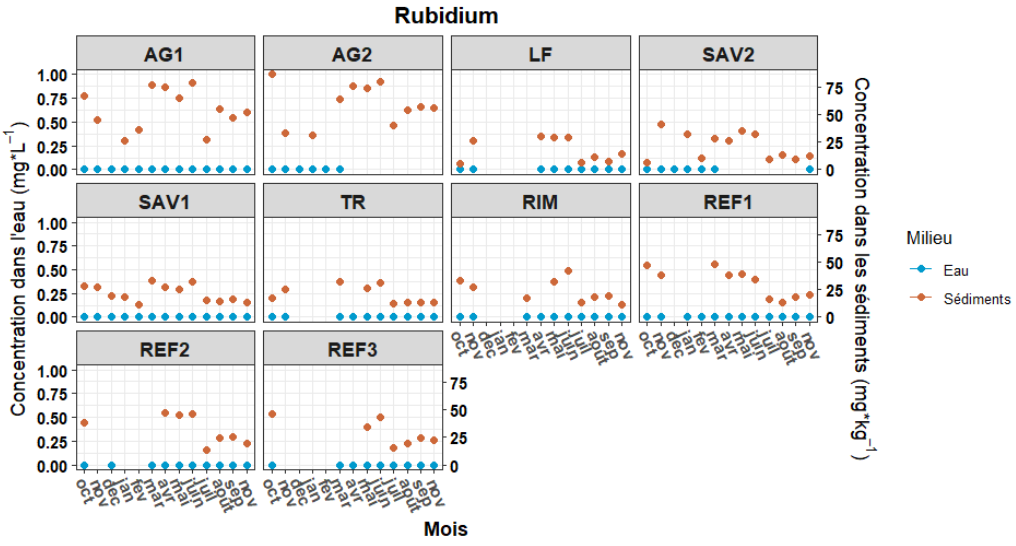

Magnésium
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments


Manganèse
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments


Fer
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments


Zinc
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments


Plomb
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments


Rubidium
AG1
AG2
LF
SAV2
SAV1
TR
RIM
REF1
REF2
REF3
Concentration dans l'eau (mg*L^{-1})
Concentration dans les sédiments (mg*kg^{-1})
Mois
Milieu
Eau
Sédiments

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abarenkov, K., Nilsson, R. H., Larsson, K.-H., Taylor, A. F., May, T. W., Frøslev, T. G., Pawlowska, J., Lindahl, B., Põldmaa, K., & Truong, C. (2024). The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: sequences, taxa and classifications reconsidered. *Nucleic Acids Research*, *52*(D1), D791–D797.

Abdulrida, J. H., Jumaah, G. F., & Al-Wakel, S. F. (2024). A review of landfill waste leachate and the functional performance of the lining layers. AIP Conference Proceedings,

Abiriga, D., Jenkins, A., Vestgarden, L. S., & Klempe, H. (2021). A nature-based solution to a landfill-leachate contamination of a confined aquifer. *Scientific reports*, *11*(1), 14896.

Adamiec, E., Jarosz-Krzemińska, E., & Wieszała, R. (2016). Heavy metals from non-exhaust vehicle emissions in urban and motorway road dusts. *Environmental monitoring and assessment*, *188*(6), 369.

Agyekum, D. V., Kobayashi, T., Dastogeer, K. M., Yasuda, M., Sarkodee-Addo, E., Ratu, S. T., Xu, Q., Miki, T., Matsuura, E., & Okazaki, S. (2023). Diversity and function of soybean rhizosphere microbiome under nature farming. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1130969.

Ahmed, A. M., Tardy, V., Bonnineau, C., Billard, P., Pesce, S., & Lyautey, E. (2020). Changes in sediment microbial diversity following chronic copper-exposure induce community copper-tolerance without increasing sensitivity to arsenic. *Journal of Hazardous Materials*, *391*, 122197.

Ahn, S., Kim, M., Lim, J. Y., Choi, G. J., & Seo, J. A. (2022). Characterization of Fusarium asiaticum and F. graminearum isolates from gramineous weeds in the proximity of rice fields in Korea. *Plant Pathology*, *71*(5), 1164–1173.

Ali, H., & Khan, E. (2018). Assessment of potentially toxic heavy metals and health risk in water, sediments, and different fish species of River Kabul, Pakistan. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, *24*(8), 2101–2118.

Ali, H., & Khan, E. (2019). Trophic transfer, bioaccumulation, and biomagnification of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in food chains/webs—Concepts and implications for wildlife and human health. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, *25*(6), 1353–1376.

Amiard, J.-C., Amiard-Triquet, C., Barka, S., Pellerin, J., & Rainbow, P. (2006). Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic Toxicology*, *76*(2), 160–202.

Amon, C. E. R., Fossou, R. K., Ebou, A. E., Koua, D. K., Kouadjo, C. G., Brou, Y. C., Voko Bi, D. R. R., Cowan, D. A., & Zézé, A. (2023). The core bacteriobiome of Côte d'Ivoire soils across three vegetation zones. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1220655.

Amundsen, P.-A., Gabler, H.-M., & Riise, L. S. (2001). Intraspecific food resource partitioning in Atlantic salmon (Salmo salar) parr in a subarctic river. *Aquatic Living Resources*, *14*(4), 257–265.

Anand, U., Reddy, B., Singh, V. K., Singh, A. K., Kesari, K. K., Tripathi, P., Kumar, P., Tripathi, V., & Simal-Gandara, J. (2021). Potential environmental and human health risks caused by antibiotic-resistant bacteria (ARB), antibiotic resistance genes (ARGs) and emerging contaminants (ECs) from municipal solid waste (MSW) landfill. *Antibiotics*, *10*(4), 374.

Anthony, M. A., Frey, S. D., & Stinson, K. A. (2017). Fungal community homogenization, shift in dominant trophic guild, and appearance of novel taxa with biotic invasion. *Ecosphere*, *8*(9), e01951.

Anzalone, S. E., Fuller, N. W., Hartz, K. E. H., Fulton, C. A., Whitledge, G. W., Magnuson, J. T., Schlenk, D., Acuña, S., & Lydy, M. J. (2022). Pesticide residues in juvenile Chinook salmon and prey items of the Sacramento River watershed, California–a comparison of riverine and floodplain habitats. *Environmental Pollution*, *303*, 119102.

Appelo, C. A. J., & Postma, D. (2004). *Geochemistry, groundwater and pollution*. CRC press.

Azarbad, H., Niklińska, M., van Gestel, C. A., van Straalen, N. M., Röling, W. F., & Laskowski, R. (2013). Microbial community structure and functioning along metal pollution gradients. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *32*(9), 1992–2002.

Bååth, E., Díaz-Raviña, M., & Bakken, L. (2005). Microbial biomass, community structure and metal tolerance of a naturally Pb-enriched forest soil. *Microbial Ecology*, *50*(4), 496–505.

Backhaus, T., & Faust, M. (2012). Predictive environmental risk assessment of chemical mixtures: a conceptual framework. *Environmental Science & Technology*, *46*(5), 2564–2573.

Baird, C., & Cann, M. (2016). *Chimie de l'environnement*. De Boeck supérieur.

Balabane, M., Faivre, D., van Oort, F., & Dahmani-Muller, H. (1999). Mutual effects of soil organic matter dynamics and heavy metals fate in a metallophyte grassland. *Environmental Pollution*, *105*(1), 45–54.

Baldwin, D. H., Spromberg, J. A., Collier, T. K., & Scholz, N. L. (2009). A fish of many scales: extrapolating sublethal pesticide exposures to the productivity of wild salmon populations. *Ecological Applications*, *19*(8), 2004–2015.

BAPE. (2003). *Projet d'agrandissement du lieu d'enfouissement sanitaire de Rimouski*.

Barnes, M. A., & Turner, C. R. (2016). The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conservation genetics*, *17*(1), 1–17.

Bashir, U., Mushtaq, S., & Akhtar, N. (2014). First report of Alternaria metachromatica from Pakistan causing leaf spot of tomato. *Pak. J. Agric. Sci*, *51*(2), 305–308.

Baulch, H. M., Elliott, J. A., Cordeiro, M. R., Flaten, D. N., Lobb, D. A., & Wilson, H. F. (2019). Soil and water management: opportunities to mitigate nutrient losses to surface waters in the Northern Great Plains. *Environmental Reviews*, *27*(4), 447–477.

Beauvais, S., Wiener, J., & Atchison, G. (1995). Cadmium and mercury in sediment and burrowing mayfly nymphs (Hexagenia) in the upper Mississippi River, USA. *Archives of environmental contamination and toxicology*, *28*(2), 178–183.

Beinabaj, S. M. H., Heydariyan, H., Aleii, H. M., & Hosseinzadeh, A. (2023). Concentration of heavy metals in leachate, soil, and plants in Tehran's landfill: Investigation of the effect of landfill age on the intensity of pollution. *Heliyon*, *9*(1).

Bélanger, M. (1995). La gestion des déchets domestiques. In *Ma santé, mon environnement* Les Publications du Québec.

Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2012). The genus cladosporium. *Studies in mycology*, *72*, 1–401.

Biedunkiewicz, A. (2011). Selected microfungi postulated as bioindicators in the assessment of waters purity in Poland. *Innovation processes in ICSTI community. Production of clean water: Challenges and innovative solutions*, 115–124.

Bissett, A., Bowman, J. P., & Burke, C. M. (2008). Flavobacterial response to organic pollution. *Aquatic Microbial Ecology*, *51*(1), 31–43.

Borković-Mitić, S., Mitić, B., Vranković, J. S., Jovičić, K., & Pavlović, S. (2024). Integrated Biomarker Response of Oxidative Stress Parameters in the Digestive Glands and Gills of Autochthonous and Invasive Freshwater Mussels from the Sava River, Serbia. *Toxics*, *12*(10), 756.

Bouchard, R., Wellband, K., Lecomte, L., Bernatchez, L., & April, J. (2022a). Effect of catch-and-release and temperature at release on reproductive success of Atlantic salmon (Salmo salar L.) in the Rimouski River, Québec, Canada. *Fisheries Management and Ecology*, *29*(6), 888–896.

Bouchard, R., Wellband, K., Lecomte, L., Bernatchez, L., & April, J. (2022b). Effects of stocking at the parr stage on the reproductive fitness and genetic diversity of a wild population of Atlantic salmon (Salmo salar L.). *Evolutionary Applications*, *15*(5), 838–852.

Bozan, M., Berreth, H., Lindberg, P., & Bühler, K. (2025). Cyanobacterial biofilms: from natural systems to applications. *Trends in Biotechnology*, *43*(2), 318–332.

Božanić, M. L., Todorović, D. D., Živić, M. Ž., Perić-Mataruga, V. D., Marković, Z. Z., & Živić, I. M. (2018). Influence of a trout farm on antioxidant defense in larvae of Ephemera danica (Insecta: Ephemeroptera). *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*(419), 47.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, *72*(1-2), 248–254.

Breau, C., Cunjak, R. A., & Peake, S. J. (2011). Behaviour during elevated water temperatures: can physiology explain movement of juvenile Atlantic salmon to cool water? *Journal of Animal Ecology*, *80*(4), 844–853.

Brice, C., Montero-Serrano, J.-C., St-Louis, R., & Rosabal, M. (2026). Establishing baseline levels of extractable trace metals in marine surface sediment of the Canadian Arctic. *Marine Pollution Bulletin*, *223*, 119043.

Brooke, J. S. (2012). Stenotrophomonas maltophilia: an emerging global opportunistic pathogen. *Clinical microbiology reviews*, *25*(1), 2–41.

Buesing, N., & Gessner, M. O. (2006). Benthic bacterial and fungal productivity and carbon turnover in a freshwater marsh. *Applied and environmental microbiology*, *72*(1), 596–605.

Byappanahalli, M. N., Nevers, M. B., Korajkic, A., Staley, Z. R., & Harwood, V. J. (2012). Enterococci in the environment. *Microbiology and molecular biology reviews*, *76*(4), 685–706.

Cain, D. J., Luoma, S. N., & Wallace, W. G. (2004). Linking metal bioaccumulation of aquatic insects to their distribution patterns in a mining-impacted river. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *23*(6), 1463–1473.

Callahan, B. J. *DADA2 ITS Pipeline Workflow (1.8)*. Retrieved May 2025 from https://benjjneb.github.io/dada2/ITS_workflow.html

Callahan, B. J. (2016). *DADA2 Pipeline Tutorial (1.16)*. Retrieved May 2025 from https://benjjneb.github.io/dada2/tutorial.html

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*, *13*(7), 581–583.

Campbell, P. (1988). *Biologically available metals in sediments* (Vol. 27694). National Research Council of Canada, Associate Committee on Scientific ….

Canada, F. a. O. (2022). *Status report on the Wild Atlantic Salmon Conservation Implementation Plan 2019-21*. Retrieved from https://www.dfo-mpo.gc.ca/reports-rapports/regs/wildsalmon-status-atl-saumonsauvage-situation-eng.htm?utm_source=chatgpt.com

Carlsohn, M. R., Groth, I., Saluz, H.-P., Schumann, P., & Stackebrandt, E. (2008). Fodinicola feengrottensis gen. nov., sp. nov., an actinomycete isolated from a medieval mine. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *58*(7), 1529–1536.

Carrell, A. A., Schwartz, G. E., Cregger, M. A., Gionfriddo, C. M., Elias, D. A., Wilpiszeski, R. L., Klingeman, D. M., Wymore, A. M., Muller, K. A., & Brooks, S. C. (2021). Nutrient exposure alters microbial composition, structure, and mercury methylating activity in periphyton in a contaminated watershed. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 647861.

Cauchon, V. (2024). Bilan de l'exploitation du saumon au Québec en 2023. *Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs du Québec*.

Cereghetti, E., Bossart, R., Bruder, A., Krähenbühl, A., Wolf, F., & Altermatt, F. (2025). The year of a leaf: Tracking the fate of leaf litter and its nutrients during aquatic decomposition and consumption. In: Wiley Online Library.

Chao, A. (1984). Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of statistics*, 265–270.

Chapman, R. F. (1998). *The insects: structure and function*. Cambridge university press.

Chen, Q., Min, Q., Wu, H., Zhang, L., & Si, Y. (2025). Biomineralization of Cd2+ and Pb2+ by sulfate-reducing bacteria Desulfovibrio desulfuricans and Desulfobulbus propionicus. *Frontiers in Environmental Science*, *13*, 1591564.

Cheng, M. L.-H., Tsui, M. T.-K., Monteverde, M. R., Kwon, S. Y., & Hoang, T. Trophic transfer of trace elements within and between aquatic and terrestrial food webs in a forested watershed. *Frontiers in Environmental Science*, *13*, 1657891.

Cid, N., Ibáñez, C., Palanques, A., & Prat, N. (2010). Patterns of metal bioaccumulation in two filter-feeding macroinvertebrates: exposure distribution, inter-species differences and variability across developmental stages. *Science of the total environment*, *408*(14), 2795–2806.

Comeau, A. M., & Kwawukume, A. (2023). Preparing multiplexed 16S/18S/ITS amplicons for the Illumina MiSeq.

COSEPAC. (2010). *Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur le saumon atlantique (Salmo salar) au Canada*.

COSEWIC. (2018). *Atlantic salmon (Salmo salar) COSEWIC assessment and status report*. https://www.canada.ca/en/environment-climate-change/services/species-risk-public-registry/cosewic-assessments-status-reports/atlantic-salmon.html

Costa, I. P., Cavalcanti, M. A. Q., Fernandes, M. J. S., & Lima, D. M. (2006). Hyphomycetes from soil of an area affected by copper mining activities in the State of Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, *37*, 290–295.

Cousin, X., & Cachot, J. (2014). PAHs and fish—exposure monitoring and adverse effects—from molecular to individual level. *Environmental Science and Pollution Research*, *21*(24), 13685–13688.

CPTAQ. (2025). *Zone agricole transposée au Cadastre du Québec* (

da Luz, J. Z., Gorshkov, V., Miranda, R. R., de Souza, T. L., Ribeiro, L. R., Duan, X., Huang, Y., de Oliveira Ribeiro, C. A., Xu, E. G., & Kjeldsen, F. (2025). Metallothionein as a biomarker of aquatic contamination in fish: An in silico and in vitro approach using zebrafish as experimental model organism. *Chemosphere*, *376*, 144316.

Damare, S., & Raghukumar, C. (2008). Fungi and macroaggregation in deep-sea sediments. *Microbial Ecology*, *56*(1), 168–177.

Darma, A., Yang, J., Zandi, P., Liu, J., Możdżeń, K., Xia, X., Sani, A., Wang, Y., & Schnug, E. (2022). Significance of Shewanella species for the phytoavailability and toxicity of arsenic—a review. *Biology*, *11*(3), 472.

Dedysh, S. N., & Ivanova, A. A. (2019). Planctomycetes in boreal and subarctic wetlands: diversity patterns and potential ecological functions. *FEMS Microbiology Ecology*, *95*(2), fiy227.

Desjardins, A. E., & Plattner, R. D. (1989). Trichothecene toxin production by strains of Gibberella pulicaris (Fusarium sambucinum) in liquid culture and in potato tubers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *37*(2), 388–392.

Dinh, K. V., Konestabo, H. S., Borgå, K., Hylland, K., Macaulay, S. J., Jackson, M. C., Verheyen, J., & Stoks, R. (2022). Interactive effects of warming and pollutants on marine and freshwater invertebrates. *Current Pollution Reports*, *8*(4), 341–359.

Dong, Y., Gao, Z., Di, J., Wang, D., Yang, Z., Guo, X., & Zhu, X. (2024). Study on the effectiveness of sulfate-reducing bacteria to remove Pb (II) and Zn (II) in tailings and acid mine drainage. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1352430.

Douterelo, I., Perona, E., & Mateo, P. (2004). Use of cyanobacteria to assess water quality in running waters. *Environmental Pollution*, *127*(3), 377–384.

Dugdale, S. J., Bergeron, N. E., & St-Hilaire, A. (2013). Temporal variability of thermal refuges and water temperature patterns in an Atlantic salmon river. *Remote Sensing of Environment*, *136*, 358–373.

Dumoulin, L. A., Chevrinais, M., St-Louis, R., & Parent, G. J. (2024). Metal ions limit or enhance environmental DNA detectability in marine sediments. *Environmental DNA*, *6*(3), e568.

Ebrahimi Gardeshi, M., Arab, H., Benguit, A., & Drogui, P. (2024). Runoff water loaded with road de-icing salts: Occurrence, environmental impact and treatment processes. *Water and Environment Journal*, *38*(1), 20–31.

Egidi, E., Wood, J. L., Celestina, C., May, T. W., Mele, P., Edwards, J., Powell, J., Bissett, A., & Franks, A. E. (2019). Delving into the dark ecology: a continent-wide assessment of patterns of composition in soil fungal communities from Australian tussock grasslands. *Fungal Ecology*, *39*, 356–370.

Erickson, R. J., Mount, D. R., Highland, T. L., Hockett, J. R., Hoff, D. J., Jenson, C. T., & Lahren, T. J. (2019). The effects of arsenic speciation on accumulation and toxicity of dietborne arsenic exposures to rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, *210*, 227–241.

Eroglu, A., Dogan, Z., Kanak, E., Atli, G., & Canli, M. (2015). Effects of heavy metals (Cd, Cu, Cr, Pb, Zn) on fish glutathione metabolism. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(5), 3229–3237.

Evans, M., & Frick, C. (2001). *The effects of road salts on aquatic ecosystems*.

Faburé, J., Dufour, M., Autret, A., Uher, E., & Fechner, L. C. (2015). Impact of an urban multi-metal contamination gradient: Metal bioaccumulation and tolerance of river biofilms collected in different seasons. *Aquatic Toxicology*, *159*, 276–289.

Facey, J. A., Apte, S. C., & Mitrovic, S. M. (2019). A review of the effect of trace metals on freshwater cyanobacterial growth and toxin production. *Toxins*, *11*(11), 643.

Falwell, R. D., Bigsby, P. R., & Myers, N. C. (1991). *Hydrogeology and ground-water-quality conditions at the Linn County landfill, eastern Kansas, 1988-89* (Vol. 90). US Department of the Interior, US Geological Survey.

Farias, M. C. L., Júnior, J. G., Meneses, D., & Oliveira, A. METAL CONCENTRATIONS IN THE TISSUES OF BLUE CRABS IN THE ESTUARINE REGION OF THE SÃO FRANCISCO RIVER, NORTHEASTERN BRAZIL.

Fay, C., Bartron, M., Craig, S. D., Hecht, A., Pruden, J., Saunders, R., Sheehan, T. F., Trial, J. G., & McCollough, M. (2006). Status review for anadromous Atlantic salmon (Salmo salar) in the United States.

Frakes, J. I., Malison, R. L., Sydor, M. J., & Woods, H. A. (2022). Exposure to copper increases hypoxia sensitivity and decreases upper thermal tolerance of giant salmonfly nymphs (Pteronarcys californica). *Journal of insect physiology*, *143*, 104455.

Francioli, D., van Rijssel, S. Q., van Ruijven, J., Termorshuizen, A. J., Cotton, T. A., Dumbrell, A. J., Raaijmakers, J. M., Weigelt, A., & Mommer, L. (2021). Plant functional group drives the community structure of saprophytic fungi in a grassland biodiversity experiment. *Plant and Soil*, *461*(1), 91–105.

Galand, P. E., Lucas, S., Fagervold, S. K., Peru, E., Pruski, A. M., Vétion, G., Dupuy, C., & Guizien, K. (2016). Disturbance increases microbial community diversity and production in marine sediments. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 1950.

Gao, J., Zhu, Y., Zeng, L., Liu, X., Yang, Y., & Zhou, Y. (2024). Recent advances on environmental behavior of Cu-based nanomaterials in soil-plant system: A review. *Journal of Environmental Management*, *361*, 121289.

Gareau, P. (2008). *Gouvernance environnementale et gestion intégrée des déchets au Québec: obstacles à la protection de l'environnement, de la santé publique et à la démocratie participative* Université du Québec à Montréal].

Gillis, C.-A., Ouellet, V., Breau, C., Frechette, D., & Bergeron, N. (2023). Assessing climate change impacts on North American freshwater habitat of wild Atlantic salmon-urgent needs for collaborative research. *Canadian Water Resources Journal/Revue Canadienne Des Ressources Hydriques*, *48*(2), 222–246.

Girardin, V., Grung, M., & Meland, S. (2020). Polycyclic aromatic hydrocarbons: bioaccumulation in dragonfly nymphs (Anisoptera), and determination of alkylated forms in sediment for an improved environmental assessment. *Scientific reports*, *10*(1), 10958.

Giroux, I. (2022). Présence de pesticides dans l'eau au Québec: Portrait et tendances dans les zones de maïs et de soya–2018 à 2020, Québec, ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques. *Direction de la qualité des milieux aquatiques*.

Golwala, H., Saha, B., Zhang, X., Bolyard, S. C., He, Z., Novak, J. T., Deng, Y., Brazil, B., DeOrio, F. J., & Iskander, S. M. (2022). Advancement and challenges in municipal landfill leachate treatment–the path forward! *ACS ES&T Water*, *2*(8), 1289–1300.

Gora, A. H., Sreeram, M. P., Rehman, S., Chakraborty, K., Siriyappagouder, P., & PS, A. (2025). A review on metallothionein research in marine and estuarine realms: past paradigms and future vistas. *Frontiers in Marine Science*, *12*, 1636760.

Gough, H. L., Dahl, A. L., Nolan, M. A., Gaillard, J. F., & Stahl, D. A. (2008). Metal impacts on microbial biomass in the anoxic sediments of a contaminated lake. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, *113*(G2).

Grade, M., & Letcher, B. H. (2006). Diel and seasonal variation in food habits of Atlantic salmon parr in a small stream. *Journal of Freshwater Ecology*, *21*(3), 503–517.

Gulis, V., Suberkropp, K., & Rosemond, A. D. (2008). Comparison of fungal activities on wood and leaf litter in unaltered and nutrient-enriched headwater streams. *Applied and environmental microbiology*, *74*(4), 1094–1101.

Gunarathne, V., Phillips, A. J., Zanoletti, A., Rajapaksha, A. U., Vithanage, M., Di Maria, F., Pivato, A., Korzeniewska, E., & Bontempi, E. (2024). Environmental pitfalls and associated human health risks and ecological impacts from landfill leachate contaminants: Current evidence, recommended interventions and future directions. *Science of the total environment*, *912*, 169026.

Hamilton, S., Buhl, K., & Lamothe, P. (2004). Selenium and other trace elements in water, sediment, aquatic plants, aquatic invertebrates, and fish from streams in SE Idaho near phosphate mining. In *Handbook of Exploration and Environmental Geochemistry* (Vol. 8, pp. 483–525). Elsevier.

Hamza, Y. I., Bream, A. S., Mahmoud, M. A., & El-Tabakh, M. A. (2025). Tracing industrial pollution: unveiling environmental health via insects' biomarkers. *Sustainable Environment Research*, *35*(1), 1–17.

Hare, L. (1992). Aquatic insects and trace metals: bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. *Critical reviews in toxicology*, *22*(5-6), 327–369.

Hare, L. (2013). Trophic transfer of trace elements. In *Encyclopedia of aquatic ecotoxicology* (pp. 1171–1176). Springer.

Hare, L., Tessier, A., & Campbell, P. G. (1991). Trace element distributions in aquatic insects: variations among genera, elements, and lakes. *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, *48*(8), 1481–1491.

Harpke, M., Pietschmann, S., Costa, F. S., Gansert, C., Langenhorst, F., & Kothe, E. (2021). Biomineralization by extremely halophilic and metal-tolerant community members from a sulfate-dominated metal-rich environment. *Microorganisms*, *10*(1), 79.

Hawkes, J. P. (2024). *Annual report of the U.S. Atlantic Salmon Assessment Committee: report no. 36 - 2023 activities*.

He, W., You, L., Chen, M., Tuo, Y., Liao, N., Wang, H., & Li, J. (2023). Varied sediment archive of Fe and Mn contents under changing reservoir mixing patterns, oxygenation regimes, and runoff inputs. *Ecological indicators*, *147*, 109967.

Hertika, A. M. S., Arfiati, D., Lusiana, E. D., & Putra, R. B. (2023). Performance of metallothionein biomarker from Sulcospira testudinaria to assess heavy metal pollution in the Brantas River watershed, Indonesia. *Journal of Ecological Engineering*, *24*(3).

Hintz, W. D., & Relyea, R. A. (2019). A review of the species, community, and ecosystem impacts of road salt salinisation in fresh waters. *Freshwater Biology*, *64*(6), 1081–1097.

Hook, S. E., Gallagher, E. P., & Batley, G. E. (2014). The role of biomarkers in the assessment of aquatic ecosystem health. *Integrated Environmental Assessment and Management*, *10*(3), 327–341.

Horowitz, A. J. (1991). *A primer on sediment-trace element chemistry* (2331-1258).

Hothem, R. L., May, J. T., Gibson, J. K., & Brussee, B. E. (2015). *Concentrations of metals and trace elements in aquatic biota associated with abandoned mine lands in the Whiskeytown National Recreation Area and nearby Clear Creek watershed, Shasta County, northwestern California, 2002-2003* (2331-1258).

Howarth, R., Ramakrishna, K., Choi, E., Elmgren, R., Martinelli, L., Mendoza, A., Moomaw, W., Palm, C., Roy, R., & Scholes, M. (2005). Nutrient management. *Ecosystems and human wellbeing: policy responses*, *3*, 295–2311.

Hu, C., Shui, B., Yang, X., Wang, L., Dong, J., & Zhang, X. (2021). Trophic transfer of heavy metals through aquatic food web in a seagrass ecosystem of Swan Lagoon, China. *Science of the total environment*, *762*, 143139.

Hua, T. (2021). *LANDFILL LEACHATE-AFFECTED GROUNDWATER DISCHARGING TO A POND*

Huber, M., Welker, A., & Helmreich, B. (2016). Critical review of heavy metal pollution of traffic area runoff: Occurrence, influencing factors, and partitioning. *Science of the total environment*, *541*, 895–919.

Izabel-Shen, D., Li, S., Luo, T., Wang, J., Li, Y., Sun, Q., Yu, C.-P., & Hu, A. (2022). Repeated introduction of micropollutants enhances microbial succession despite stable degradation patterns. *Isme Communications*, *2*(1), 48.

Jensen, S., Siljanen, H. M., & Dörsch, P. (2023). Activity and abundance of methanotrophic bacteria in a northern mountainous gradient of wetlands. *Environmental Microbiology Reports*, *15*(3), 206–215.

Jezierska, B., Ługowska, K., & Witeska, M. (2009). The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). *Fish physiology and biochemistry*, *35*(4), 625–640.

Johnson, J. H. (2013). Habitat use and diet composition of juvenile Atlantic salmon in a tributary of Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research*, *39*(1), 162–167.

Jones, D. L., Cooledge, E. C., Hoyle, F. C., Griffiths, R. I., & Murphy, D. V. (2019). pH and exchangeable aluminum are major regulators of microbial energy flow and carbon use efficiency in soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, *138*, 107584.

Jonsson, B., & Jonsson, N. (2009). A review of the likely effects of climate change on anadromous Atlantic salmon Salmo salar and brown trout Salmo trutta, with particular reference to water temperature and flow. *Journal of fish biology*, *75*(10), 2381–2447.

Kadim, M. K., Herawati, E. Y., Arfiati, D., HERTIKA, A., & MAIZAR, S. (2022). Metallothionein level in the larva of Cheumatopsyche sp. and the relationship between heavy metal concentration in Bone River, Gorontalo, Indonesia. *Biodiversitas: Journal of Biological Diversity*, *23*(11).

Kalam, S., Basu, A., Ahmad, I., Sayyed, R., El-Enshasy, H. A., Dailin, D. J., & Suriani, N. L. (2020). Recent understanding of soil acidobacteria and their ecological significance: a critical review. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 580024.

Kaushal, S. S., Likens, G. E., Pace, M. L., Utz, R. M., Haq, S., Gorman, J., & Grese, M. (2018). Freshwater salinization syndrome on a continental scale. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(4), E574–E583.

Kazda, J., Pavlik, I., Falkinham III, J. O., & Hruska, K. (2010). *The ecology of mycobacteria: impact on animal's and human's health*. Springer Science & Business Media.

Keeley, E. R., & Grant, J. W. (1997). Allometry of diet selectivity in juvenile Atlantic salmon (Salmo salar). *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, *54*(8), 1894–1902.

Kelting, D. L., & Laxon, C. L. (2010). *Review of effects and costs of road de-icing with recommendations for winter road management in the Adirondack Park*. Adirondack Watershed Institute.

Khan, M. I., Khisroon, M., Khan, A., Gulfam, N., Siraj, M., Zaidi, F., Ahmadullah, Abidullah, Fatima, S. H., & Noreen, S. (2018). Bioaccumulation of heavy metals in water, sediments, and tissues and their histopathological effects on Anodonta cygnea (Linea, 1876) in Kabul River, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *BioMed research international*, *2018*(1), 1910274.

Khati, W., Ouali, K., Mouneyrac, C., & Banaoui, A. (2012). Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use in biomonitoring. *Energy Procedia*, *18*, 784–794.

Kiersztyn, B., Chróst, R., Kaliński, T., Siuda, W., Bukowska, A., Kowalczyk, G., & Grabowska, K. (2019). Structural and functional microbial diversity along a eutrophication gradient of interconnected lakes undergoing anthropopressure. *Scientific reports*, *9*(1), 11144.

Kjeldsen, P., Barlaz, M. A., Rooker, A. P., Baun, A., Ledin, A., & Christensen, T. H. (2002). Present and long-term composition of MSW landfill leachate: a review. *Critical reviews in environmental science and technology*, *32*(4), 297–336.

Kocabaş, F. K., Kocabaş, M., Aksu, Ö., & Çakir Sahilli, Y. (2022). Ascorbic acid ameliorated the sperm quality of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) against arsenic toxicity: Impact on oxidative stress, fertility ability and embryo development. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, *40*(2), 119–132.

Krauss, G.-J., Sole, M., Krauss, G., Schlosser, D., Wesenberg, D., & Baerlocher, F. (2011). Fungi in freshwaters: ecology, physiology and biochemical potential. *FEMS microbiology reviews*, *35*(4), 620–651.

Krein, A., & Schorer, M. (2000). Road runoff pollution by polycyclic aromatic hydrocarbons and its contribution to river sediments. *Water Research*, *34*(16), 4110–4115.

Kurowski, T. P., Przemieniecki, S. W., Grabowski, K., Damszel, M., & Kwiatkowska, E. (2016). Change in Microbiological Conditions of Lawn Grass Root Zones as a Result of Fertilization with Sewage Sludge. *Polish Journal of Environmental Studies*, *25*(5).

Kurylyk, B. L., Bourque, C.-A., & MacQuarrie, K. T. (2013). Potential surface temperature and shallow groundwater temperature response to climate change: an example from a small forested catchment in east-central New Brunswick (Canada). *Hydrology and Earth System Sciences*, *17*(7), 2701–2716.

Labouyrie, M., Ballabio, C., Romero, F., Panagos, P., Jones, A., Schmid, M. W., Mikryukov, V., Dulya, O., Tedersoo, L., & Bahram, M. (2023). Patterns in soil microbial diversity across Europe. *Nature Communications*, *14*(1), 3311.

Lall, S. P., & Kaushik, S. J. (2021). Nutrition and metabolism of minerals in fish. *Animals*, *11*(09), 2711.

Langmuir, D. (1997). *Aqueous environmental geochemistry*. New Jersey.

Laperriere, S. M., Hilderbrand, R. H., Keller, S. R., Trott, R., & Santoro, A. E. (2020). Headwater stream microbial diversity and function across agricultural and urban land use gradients. *Applied and environmental microbiology*, *86*(11), e00018–00020.

Laraba, I., Keddad, A., Boureghda, H., Abdallah, N., Vaughan, M. M., Proctor, R. H., Busman, M., & O'Donnell, K. (2017). Fusarium algeriense, sp. nov., a novel toxigenic crown rot pathogen of durum wheat from Algeria is nested in the Fusarium burgessii species complex. *Mycologia*, *109*(6), 935–950.

Layton, A., Karanth, P., Lajoie, C., Meyers, A., Gregory, I., Stapleton, R., Taylor, D., & Sayler, G. (2000). Quantification of Hyphomicrobium populations in activated sludge from an industrial wastewater treatment system as determined by 16S rRNA analysis. *Applied and environmental microbiology*, *66*(3), 1167–1174.

Leblond, J. (2024). *Plan de localisation*. Service Génie et environnement, Ville de Rimouski.

Leclerque, A., & Kleespies, R. G. (2008). Genetic and electron-microscopic characterization of Rickettsiella tipulae, an intracellular bacterial pathogen of the crane fly, Tipula paludosa. *Journal of invertebrate pathology*, *98*(3), 329–334.

Lewis Jr, W. M., & Morris, D. P. (1986). Toxicity of nitrite to fish: a review. *Transactions of the American fisheries society*, *115*(2), 183–195.

Li, C., Zhong, M., Guo, E., Xu, H., Wen, C., Zhu, S., Li, Q., Zhu, D., & Luo, X. (2024). Response of bacterial and fungal communities in natural biofilms to bioavailable heavy metals in a mining-affected river. *Water Research*, *267*, 122470.

Li, J., Zheng, Q., Liu, J., Pei, S., Yang, Z., Chen, R., Ma, L., Niu, J., & Tian, T. (2024). Bacterial–fungal interactions and response to heavy metal contamination of soil in agricultural areas. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1395154.

Li, Q., Wang, M., Duan, L., Qiu, Y., Ma, T., Chen, L., Breitholtz, M., Bergman, Å., Zhao, J., & Hecker, M. (2018). Multiple biomarker responses in caged benthic gastropods Bellamya aeruginosa after in situ exposure to Taihu Lake in China. *Environmental Sciences Europe*, *30*(1), 34.

Li, S.-H., Kang, I., & Cho, J.-C. (2023). Metabolic versatility of the family Halieaceae revealed by the genomics of novel cultured isolates. *Microbiology spectrum*, *11*(2), e03879–03822.

Li, Y., Li, Z., Arafat, Y., & Lin, W. (2020). Studies on fungal communities and functional guilds shift in tea continuous cropping soils by high-throughput sequencing. *Annals of Microbiology*, *70*(1), 7.

Li, Y., Wang, Y., Wang, H., Shi, T., & Wang, B. (2024). The genus Cladosporium: a prospective producer of natural products. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(3), 1652.

Lin, Y., Ye, Y., Hu, Y., & Shi, H. (2019). The variation in microbial community structure under different heavy metal contamination levels in paddy soils. *Ecotoxicology and environmental safety*, *180*, 557–564.

Linnansaari, T., O'Sullivan, A. M., Breau, C., Corey, E. M., Collet, E. N., Curry, R. A., & Cunjak, R. A. (2023). The role of cold-water thermal refuges for stream salmonids in a changing climate—Experiences from Atlantic Canada. *Fishes*, *8*(9), 471.

Liu, L.-P., Fang, Y.-D., Kang, P.-T., Gao, X.-Y., Zhang, G.-W., Pan, J., Lu, J., Liu, J.-X., & Zhang, W.-D. (2025). Isolation, identification and characteristics of Aeromonas sobria from diseased rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1499126.

Liu, S., Lu, J., Adriaenssens, E. M., Wang, J., McCarthy, A. J., & Sekar, R. (2024). Industrial and agricultural land uses affected the water quality and shaped the bacterial communities in the inflow rivers of Taihu Lake. *Frontiers in Environmental Science*, *12*, 1340875.

Lo, B. P., Marlatt, V. L., Liao, X., Reger, S., Gallilee, C., Ross, A. R., & Brown, T. M. (2023). Acute toxicity of 6PPD-quinone to early life stage juvenile chinook (Oncorhynchus tshawytscha) and coho (Oncorhynchus kisutch) salmon. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *42*(4), 815–822.

Long, A., Vaughan, L., Tray, E., Thomas, K., Maoiléidigh, N. Ó., Poole, R., Cotter, D., Doogan, A., & Brophy, D. (2023). Recent marine growth declines in wild and ranched Atlantic salmon Salmo salar from a western European catchment discovered using a 62-year time series. *ICES Journal of Marine Science*, *80*(6), 1697–1709.

Louca, S., Parfrey, L. W., & Doebeli, M. (2016). Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. *Science*, *353*(6305), 1272–1277.

Luo, X., Liu, K., Shen, Y., Yao, G., Yang, W., Mortimer, P. E., & Gui, H. (2021). Fungal community composition and diversity vary with soil horizons in a subtropical forest. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 650440.

Luo, X., Yang, Y., Xie, S., Wang, W., Li, N., Wen, C., Zhu, S., & Chen, L. (2022). Drying and rewetting induce changes in biofilm characteristics and the subsequent release of metal ions. *Journal of Hazardous Materials*, *433*, 128832.

Luoma, S. N., & Rainbow, P. S. (2008). *Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management* (Vol. 126). Cambridge university press Cambridge.

Lyu, Y., Zheng, W., Zheng, T., & Tian, Y. (2014). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by Novosphingobium pentaromativorans US6-1. *PloS one*, *9*(7), e101438.

Ma, X.-k., ling Wu, L., & Fam, H. (2014). Heavy metal ions affecting the removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi with heavy-metal resistance. *Applied microbiology and biotechnology*, *98*(23), 9817–9827.

Magnuson, J. T., Fuller, N., McGruer, V., Hartz, K. E. H., Acuña, S., Whitledge, G. W., Lydy, M. J., & Schlenk, D. (2023). Effect of temperature and dietary pesticide exposure on neuroendocrine and olfactory responses in juvenile Chinook salmon (Oncorhynchus tshawytscha). *Environmental Pollution*, *318*, 120938.

Mamgain, A., Roychowdhury, R., & Tah, J. (2013). Alternaria pathogenicity and its strategic controls. *Research Journal of Biology*, *1*, 1–9.

MAPAQ. (2019). *Portrait agroalimentaire de la MRC de Rimouski-Neigette*.

Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet. journal*, *17*(1), 10–12.

Martínez-Fraca, J., de la Torre-Hernández, M. E., Meshoulam-Alamilla, M., & Plasencia, J. (2022). In search of resistance against fusarium ear rot: ferulic acid contents in maize pericarp are associated with antifungal activity and inhibition of fumonisin production. *Frontiers in plant science*, *13*, 852257.

Matsumoto, A., Kasai, H., Matsuo, Y., Shizuri, Y., Ichikawa, N., Fujita, N., Ōmura, S., & Takahashi, Y. (2013). Ilumatobacter nonamiense sp. nov. and Ilumatobacter coccineum sp. nov., isolated from seashore sand. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *63*(Pt_9), 3404–3408.

McTaggart, G. D. (2019). *Assessment of Heavy Metals and Road Salt in Road Runoff and Strategies for Mitigation* University of Guelph].

MELCCFD. (2025). *Bilan des ventes de pesticides au Québec*

MELCCFP. (2016). *Plan de gestion du saumon atlantique 2016-2026*. Québec

MELCCFP. (2023a). *GRHQ-Géobase de Référence Hydrographique du Québec* (Données Québec.

MELCCFP. (2023b). *Management framework for harmonization of recreational activities on salmon rivers located in structured wildlife territories*.

Messi, M., Giorgione, R., & Astolfi, M. L. (2025). Insects as Sentinels of Oxidative Stress Induced by Environmental Contaminants: Biomarkers and Analytical Approaches. *Toxics*, *13*(8), 698.

Mirčić, D., Stojanović, K., Živić, I., Todorović, D., Stojanović, D., Dolićanin, Z., & Perić-Mataruga, V. (2016). The trout farm effect on Dinocras megacephala (Plecoptera: Perlidae) larvae: Antioxidative defense. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *35*(7), 1775–1782.

Moisan, J., & Pelletier, L. (2011). *Protocole d'échantillonnage des macroinvertébrés benthiques d'eau douce du Québec: cours d'eau peu profonds à substrat meuble*. Plan Saint-Laurent pour un développement durable.

Monsieurs, E., Dessie, M., Adgo, E., Poesen, J., Deckers, J., Verhoest, N., & Nyssen, J. (2015). Seasonal surface drainage of sloping farmland: a review of its hydrogeomorphic impacts. *Land degradation & development*, *26*(1), 35–44.

MPO. (2012). *Seuils de température permettant de définir les stratégies de gestion pour la pêche du saumon atlantique (Salmo salar) dans des conditions environnementales difficiles*. Ottawa

MPO. (2025). *Saumon Atlantique (Salmo Salar) du sud du Golfe du Saint-Laurent (ZPS 15 à 18) - Mise à jour des indicateurs de stocks jusqu'en 2024*. (2025/019).

MRNF. (2025). *Cartographie de l'occupation des terres du Québec* (Gouvernement et municipalités du Québec; Ministère des Ressources naturelles et des Forêts.

Mummullage, S., Egodawatta, P., Ayoko, G. A., & Goonetilleke, A. (2016). Sources of hydrocarbons in urban road dust: Identification, quantification and prediction. *Environmental Pollution*, *216*, 80–85.

Naeher, S., Gilli, A., North, R. P., Hamann, Y., & Schubert, C. J. (2013). Tracing bottom water oxygenation with sedimentary Mn/Fe ratios in Lake Zurich, Switzerland. *Chemical Geology*, *352*, 125–133.

Nagarajan, R., Thirumalaisamy, S., & Lakshumanan, E. (2012). Impact of leachate on groundwater pollution due to non-engineered municipal solid waste landfill sites of erode city, Tamil Nadu, India. *Iranian journal of environmental health science & engineering*, *9*(1), 35.

Nation Sr, J. L. (2022). *Insect physiology and biochemistry*. CRC press.

Neupane, S., Goyer, C., Zebarth, B. J., Li, S., Mills, A., & Whitney, S. (2024). Fungal community composition varies spatially in a commercial potato field in response to soil properties and topographic features. *Canadian Journal of Soil Science*, *105*, 1–14.

Newton, R. J., Jones, S. E., Eiler, A., McMahon, K. D., & Bertilsson, S. (2011). A guide to the natural history of freshwater lake bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, *75*(1), 14–49.

Nguyen, N. H., Song, Z., Bates, S. T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J. S., & Kennedy, P. G. (2016). FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, *20*, 241–248.

O'Sullivan, A. M., Corey, E. M., Collet, E. N., Helminen, J., Curry, R. A., MacIntyre, C., & Linnansaari, T. (2023). Timing and frequency of high temperature events bend the onset of behavioural thermoregulation in Atlantic salmon (Salmo salar). *Conservation Physiology*, *11*(1), coac079.

OBVNEBSL. (2026). Plan de gestion - Étude des impacts cumulatifs des rejets de polluants sur un refuge thermique de la rivière Rimouski. 87 p.

Ojala, J. V. (2008). Invertebrate phenology and prey selection of three sympatric species of salmonids; implications for individual fish growth.

Okrasińska, A., Decewicz, P., Majchrowska, M., Dziewit, L., Muszewska, A., Dolatabadi, S., Kruszewski, Ł., Błocka, Z., & Pawłowska, J. (2022). Marginal lands and fungi–linking the type of soil contamination with fungal community composition. *Environmental Microbiology*, *24*(8), 3809–3825.

Öman, C. B., & Junestedt, C. (2008). Chemical characterization of landfill leachates–400 parameters and compounds. *Waste management*, *28*(10), 1876–1891.

Op De Beeck, M., Lievens, B., Busschaert, P., Declerck, S., Vangronsveld, J., & Colpaert, J. V. (2014). Comparison and validation of some ITS primer pairs useful for fungal metabarcoding studies. *PloS one*, *9*(6), e97629.

Orlov, A. V., Gerasimov, Y. V., & Lapshin, O. M. (2006). The feeding behaviour of cultured and wild Atlantic salmon, Salmo salar L., in the Louvenga River, Kola Peninsula, Russia. *ICES Journal of Marine Science*, *63*(7), 1297–1303.

Oros, A. (2025). Bioaccumulation and trophic transfer of heavy metals in marine fish: Ecological and ecosystem-level impacts. *Journal of Xenobiotics*, *15*(2), 59.

Ozimek, E., & Hanaka, A. (2020). Mortierella species as the plant growth-promoting fungi present in the agricultural soils. *Agriculture*, *11*(1), 7.

Parvin, F., & Tareq, S. M. (2021). Impact of landfill leachate contamination on surface and groundwater of Bangladesh: a systematic review and possible public health risks assessment. *Applied water science*, *11*(6), 100.

Passarini, M. R. Z., Ottoni, J. R., Costa, P. E. d. S., Hissa, D. C., Falcão, R. M., Melo, V. M. M., Balbino, V. Q., Mendonça, L. A. R., Lima, M. G. d. S., & Coutinho, H. D. M. (2022). Fungal community diversity of heavy metal contaminated soils revealed by metagenomics. *Archives of Microbiology*, *204*(5), 255.

Patrick, M. L., & Bradley, T. J. (2000). The physiology of salinity tolerance in larvae of two species of Culex mosquitoes: the role of compatible solutes. *Journal of Experimental Biology*, *203*(4), 821–830.

Persaud, D., Jaagumagi, R., & Hayton, A. (1993). Guidelines for the protection and management of aquatic sediment quality in Ontario.

Phaenark, C., Phankamolsil, Y., & Sawangproh, W. (2024). Ecological and health implications of heavy metal bioaccumulation in Thai Fauna: A systematic review. *Ecotoxicology and environmental safety*, *285*, 117086.

Pineda-Mora, D., Juárez-López, A. L., Toribio-Jiménez, J., Leal-Ascencio, M. T., Ruvalcaba-Ledezma, J. C., Castelán-Sánchez, H. G., Aguirre-Noyola, J. L., & Arp, P. A. (2020). Diversity and functions of epilithic riverine biofilms. *Water, Air, & Soil Pollution*, *231*(8), 391.

Playle, R. C. (1998). Modelling metal interactions at fish gills. *Science of the total environment*, *219*(2-3), 147–163.

Prat, N., Rieradevall, M., Barata, C., & Munné, A. (2013). The combined use of metrics of biological quality and biomarkers to detect the effects of reclaimed water on macroinvertebrate assemblages in the lower part of a polluted Mediterranean river (Llobregat River, NE Spain). *Ecological indicators*, *24*, 167–176.

Presser, T. S., & Luoma, S. N. (2010). A methodology for ecosystem-scale modeling of selenium. *Integrated Environmental Assessment and Management*, *6*(4), 685–710.

Proaño-Cuenca, F., Millican, M. D., Buczkowski, E., Chou, M.-Y., & Koch, P. L. (2025). Fungal and bacterial community composition and assemblage in managed and unmanaged urban landscapes in Wisconsin. *Science of the total environment*, *969*, 178873.

Qiu, L., Sha, A., Li, N., Ran, Y., Xiang, P., Zhou, L., Zhang, T., Wu, Q., Zou, L., & Chen, Z. (2024). The characteristics of fungal responses to uranium mining activities and analysis of their tolerance to uranium. *Ecotoxicology and environmental safety*, *277*, 116362.

Quintus, F. (2007). *Les enjeux de l'enfouissement des déchets: quelle place aux perceptions des risques dans la procédure québécoise d'évaluation environnementale?: étude du cas de l'agrandissement du site d'enfouissement sanitaire Argenteuil Deux-Montagnes* (Publication Number 128) Université du Québec à Montréal].

Rachamalla, M., da Silva, F. C., Putnala, S. K., Hecker, M., & Niyogi, S. (2025). Maternal and paternal dietary arsenic exposure impairs reproduction and development in zebrafish offspring: the role of HPG axis dysregulation and altered DNA methylation. *Environmental Pollution*, 126528.

Rainbow, P. S. (2007). Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. *Environment international*, *33*(4), 576–582.

Ramos, J., & Rodríguez-Navarro, A. (1986). Regulation and interconversion of the potassium transport systems of Saccharomyces cerevisiae as revealed by rubidium transport. *European journal of biochemistry*, *154*(2), 307–311.

Raven, K., & Loeppert, R. (1997). *Trace element composition of fertilizers and soil amendments* (0047-2425).

Reader, J. M., Hardie, D. C., McWilliam, S., Brunsdon, E. B., & Gautreau, M. (2024). *Updated information on Atlantic salmon (Salmo salar) populations in Southwest New Brunswick (outer portion of salmon fishing area 23) of relevance to the development of a 2nd COSEWIC status report*. Fisheries and Oceans Canada, Canadian Science Advisory Secretariat.

Reddin, D., & Friedland, K. (1993). Marine environmental factors influencing the movement and survival of Atlantic salmon. *Salmon in the sea and new enhancement strategies*, 79–103.

Remya, A. S., Ramesh, M., Saravanan, M., Poopal, R. K., Bharathi, S., & Nataraj, D. (2015). Iron oxide nanoparticles to an Indian major carp, Labeo rohita: Impacts on hematology, iono regulation and gill Na+/K+ ATPase activity. *Journal of King Saud University-Science*, *27*(2), 151–160.

Reyes-Rodríguez, N. E., Talavera-González, J. M., de-Anda, F. R. G., Varela-Guerrero, J. A., Zepeda-Velázquez, A. P., & Vega-Sánchez, V. (2025). Aeromonas, an opportunistic pathogen present in wastewater in Tulancingo, Mexico. *Journal of Water and Health*, *23*(3), 336–349.

Rodea-Palomares, I., González-Pleiter, M., Martín-Betancor, K., Rosal, R., & Fernández-Piñas, F. (2015). Additivity and interactions in ecotoxicity of pollutant mixtures: some patterns, conclusions, and open questions. *Toxics*, *3*(4), 342–369.

Rodriguez-Sanchez, A., Tomasek, A., McMillan, S., Yufra, S., Yupanqui, M., Rondon, R., & Hoagland, L. (2022). Composition and potential functional roles of soil fungal communities on arid farms in Arequipa (Southern Peru) characterized using SMRT sequencing. *Applied Soil Ecology*, *169*, 104228.

Rosenqvist, T., Chan, S., & Paul, C. J. (2025). Uncharacterized members of the phylum Rozellomycota dominate the fungal community of a full-scale slow sand filter for drinking water production. *Water Research*, *279*, 123447.

Rossi, G. J., Bellmore, J. R., Armstrong, J. B., Jeffres, C., Naman, S. M., Carlson, S. M., Grantham, T. E., Kaylor, M. J., White, S., & Katz, J. (2024). Foodscapes for salmon and other mobile consumers in river networks. *BioScience*, *74*(9), 586–600.

Russell, I. C., Aprahamian, M. W., Barry, J., Davidson, I. C., Fiske, P., Ibbotson, A. T., Kennedy, R. J., Maclean, J. C., Moore, A., & Otero, J. (2012). The influence of the freshwater environment and the biological characteristics of Atlantic salmon smolts on their subsequent marine survival. *ICES Journal of Marine Science*, *69*(9), 1563–1573.

Saidon, N. B., Szabó, R., Budai, P., & Lehel, J. (2024). Trophic transfer and biomagnification potential of environmental contaminants (heavy metals) in aquatic ecosystems. *Environmental Pollution*, *340*, 122815.

Salem, M. A., Bedade, D. K., Al-Ethawi, L., & Al-Waleed, S. M. (2020). Assessment of physiochemical properties and concentration of heavy metals in agricultural soils fertilized with chemical fertilizers. *Heliyon*, *6*(10).

Sánchez-Bayo, F., Goka, K., & Hayasaka, D. (2016). Contamination of the aquatic environment with neonicotinoids and its implication for ecosystems. *Frontiers in Environmental Science*, *4*, 71.

Sauliutė, G., & Svecevičius, G. (2015). Heavy metal interactions during accumulation via direct route in fish: a review. *Zoology and Ecology*, *25*(1), 77–86.

Schmidt, T. S., Miller, J. L., Mahler, B. J., Van Metre, P. C., Nowell, L. H., Sandstrom, M. W., Carlisle, D. M., Moran, P. W., & Bradley, P. M. (2022). Ecological consequences of neonicotinoid mixtures in streams. *Science Advances*, *8*(15), eabj8182.

Schuler, M. S., Hintz, W. D., Jones, D. K., Lind, L. A., Mattes, B. M., Stoler, A. B., Sudol, K. A., & Relyea, R. A. (2017). How common road salts and organic additives alter freshwater food webs: in search of safer alternatives. *Journal of Applied Ecology*, *54*(5), 1353–1361.

Sedeño-Díaz, J. E., & López-López, E. (2022). Oxidative stress in Physella acuta: An integrative response of exposure to water from two rivers of Atlantic Mexican slope. *Frontiers in Physiology*, *13*, 932537.

Séguin, M. (1994). *Le scandale des déchets au Québec*. ECOSOCIÉTÉ.

Senesi, N., Polemio, M., & Lorusso, L. (1983). Evaluation of barium, rubidium and strontium contents in commercial fertilizers.

Senesil, G. S., Baldassarre, G., Senesi, N., & Radina, B. (1999). Trace element inputs into soils by anthropogenic activities and implications for human health. *Chemosphere*, *39*(2), 343–377.

Seo, H., Kim, J. H., Lee, S.-M., & Lee, S.-W. (2024). The plant-associated Flavobacterium: a hidden helper for improving plant health. *The plant pathology journal*, *40*(3), 251.

Sfakianakis, D., Renieri, E., Kentouri, M., & Tsatsakis, A. (2015). Effect of heavy metals on fish larvae deformities: a review. *Environmental research*, *137*, 246–255.

Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell system technical journal*, *27*(3), 379–423.

Sheppard, S., & Sanipelli, B. (2012). Trace elements in feed, manure, and manured soils. *Journal of environmental quality*, *41*(6), 1846–1856.

Signorini, M., Midolo, G., Cesco, S., Mimmo, T., & Borruso, L. (2023). A matter of metals: copper but not cadmium affects the microbial alpha-diversity of soils and sediments—a meta-analysis. *Microbial Ecology*, *86*(2), 1071–1081.

Silva, M. S., Tibon, J., Sartipiyarahmadi, S., Remø, S. C., Sele, V., Søfteland, L., Sveier, H., Wiech, M., Philip, A. J. P., & Berntssen, M. (2023). Arsenic speciation and arsenic feed-to-fish transfer in Atlantic salmon fed marine low trophic feeds based blue mussel and kelp. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *80*, 127319.

Silwani, T., Themba, N., Chokwe, T. B., & Semenya, K. (2025). Assessment of Groundwater Quality, Heavy Metal Contamination, and Human Health Risks in Roundhill Municipal Landfill, Eastern Cape, South Africa. *Journal of Environmental Health and Sustainable Development*, *10*(2), 2666–2693.

Simpson, E. H. (1949). Measurement of diversity. *nature*, *163*(4148), 688–688.

Smith, K. A., & Kurylyk, B. L. (2025). Pumping Groundwater to Create Cold-Water Thermal Refuges in Warming Rivers. *Ecohydrology*, *18*(2), e2739.

Souto, R. d. M. G., Corbi, J. J., & Jacobucci, G. B. (2019). Aquatic insects as bioindicators of heavy metals in sediments in Cerrado streams. *Limnetica*, *38*(2), 575–586.

Sridhar, K., Krauss, G., Bärlocher, F., Raviraja, N., Wennrich, R., Baumbach, R., & Krauss, G.-J. (2001). Decomposition of alder leaves in two heavy metal-polluted streams in central Germany. *Aquatic Microbial Ecology*, *26*(1), 73–80.

Storesund, J. E., Lanzèn, A., Nordmann, E.-L., Armo, H. R., Lage, O. M., & Øvreås, L. (2020). Planctomycetes as a vital constituent of the microbial communities inhabiting different layers of the meromictic Lake Sælenvannet (Norway). *Microorganisms*, *8*(8), 1150.

Sun, W., Xia, C., Xu, M., Guo, J., & Sun, G. (2017). Seasonality affects the diversity and composition of bacterioplankton communities in Dongjiang River, a drinking water source of Hong Kong. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 1644.

Surosz, W., & Palinska, K. (2004). Effects of heavy-metal stress on cyanobacterium Anabaena flos-aquae. *Archives of environmental contamination and toxicology*, *48*(1), 40–48.

Sutherland, R. (2000). Bed sediment-associated trace metals in an urban stream, Oahu, Hawaii. *Environmental geology*, *39*(6), 611–627.

Suzuki, J., Nakano, D., Imamura, M., Yamamoto, R., & Fujita, M. (2019). Assessing a polluted river environment by oxidative stress biomarker responses in caddisfly larvae. *Science of the total environment*, *696*, 134005.

Szklarek, S., Górecka, A., & Wojtal-Frankiewicz, A. (2022). The effects of road salt on freshwater ecosystems and solutions for mitigating chloride pollution-A review. *Science of the total environment*, *805*, 150289.

Taiwo, I. E., Henry, A. N., Imbufe, A. P., & Adetoro, O. O. (2014). Heavy metal bioaccumulation and biomarkers of oxidative stress in the wild African tiger frog, Hoplobatrachus occipitalis. *African Journal of Environmental Science and Technology*, *8*(1), 6–15.

Tarhriz, V., Hirose, S., Fukushima, S.-i., Hejazi, M. A., Imhoff, J. F., Thiel, V., & Hejazi, M. S. (2019). Emended description of the genus Tabrizicola and the species Tabrizicola aquatica as aerobic anoxygenic phototrophic bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, *112*(8), 1169–1175.

Tatović, A. Z., Živić, M. Ž., Mirčić, D., Stojanović, K. Z., Perić-Mataruga, V. D., Marković, Z. Z., Todorović, D. D., Stojanović, Z. M., Božanić, M. L., & Živić, I. M. (2024). Antioxidant defense of Ephemera danica larvae (Ephemeroptera: Ephemeridae)− seasonal and longitudinal impact of the trout farm. *International Journal of Limnology*, *60*, 25.

Thomsen, P. F., & Willerslev, E. (2015). Environmental DNA–An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological conservation*, *183*, 4–18.

Thorstad, E. B., Bliss, D., Breau, C., Damon-Randall, K., Sundt-Hansen, L. E., Hatfield, E. M., Horsburgh, G., Hansen, H., Maoiléidigh, N. Ó., & Sheehan, T. (2021). Atlantic salmon in a rapidly changing environment—Facing the challenges of reduced marine survival and climate change. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, *31*(9), 2654–2665.

Threedeach, S., Chiemchaisri, W., Watanabe, T., Chiemchaisri, C., Honda, R., & Yamamoto, K. (2012). Antibiotic resistance of Escherichia coli in leachates from municipal solid waste landfills: comparison between semi-aerobic and anaerobic operations. *Bioresource technology*, *113*, 253–258.

Tieche, E. P., Zieger, M., & Heckel, G. (2024). Agricultural land use shapes the soil mycobiome at microgeographic scales. *Applied Soil Ecology*, *203*, 105659.

Tlili, A., Berard, A., Blanck, H., Bouchez, A., Cássio, F., Eriksson, K. M., Morin, S., Montuelle, B., Navarro, E., & Pascoal, C. (2016). Pollution-induced community tolerance (PICT): Towards an ecologically relevant risk assessment of chemicals in aquatic systems. *Freshwater Biology*, *61*(12), 2141–2151.

Tlili, A., Montuelle, B., Bérard, A., & Bouchez, A. (2011). Impact of chronic and acute pesticide exposures on periphyton communities. *Science of the total environment*, *409*(11), 2102–2113.

Torgersen, C. E., Price, D. M., Li, H. W., & McIntosh, B. A. (1999). Multiscale thermal refugia and stream habitat associations of chinook salmon in northeastern Oregon. *Ecological Applications*, *9*(1), 301–319.

Tredoux, G., Cavé, L., & Engelbrecht, P. (2004). Groundwater pollution: Are we monitoring appropriate parameters? *Water SA*, *30*(5), 114–119.

USEPA. (1977). *Procedures manual for ground water monitoring at solid waste disposal facilities*. Washington

Uwizeyimana, H., Wang, M., Chen, W., & Khan, K. (2017). The eco-toxic effects of pesticide and heavy metal mixtures towards earthworms in soil. *Environmental toxicology and pharmacology*, *55*, 20–29.

Venâncio, I., Luís, Â., Domingues, F., Oleastro, M., Pereira, L., & Ferreira, S. (2022). The prevalence of Arcobacteraceae in aquatic environments: a systematic review and meta-analysis. *Pathogens*, *11*(2), 244.

Vennewald, I., & Wollina, U. (2005). Cutaneous infections due to opportunistic molds: uncommon presentations. *Clinics in dermatology*, *23*(6), 565–571.

Wachowska, U., & Głowacka, K. (2014). Antagonistic interactions between Aureobasidium pullulans and Fusarium culmorum, a fungal pathogen of winter wheat. *BioControl*, *59*(5), 635–645.

Wan, S., Xia, M., Tao, J., Pang, Y., Yu, F., Wu, J., & Chen, S. (2021). Metagenomics analysis reveals the microbial communities, antimicrobial resistance gene diversity and potential pathogen transmission risk of two different landfills in China. *Diversity*, *13*(6), 230.

Wang, J., & Qiao, Z. (2024). A comprehensive review of landfill leachate treatment technologies. *Frontiers in Environmental Science*, *12*, 1439128.

Wang, L., Espinoza, H. M., MacDonald, J. W., Bammler, T. K., Williams, C. R., Yeh, A., Louie, K. a. W., Marcinek, D. J., & Gallagher, E. P. (2016). Olfactory transcriptional analysis of salmon exposed to mixtures of chlorpyrifos and malathion reveal novel molecular pathways of neurobehavioral injury. *Toxicological Sciences*, *149*(1), 145–157.

Wang, M., Wang, C., Yu, Z., Wang, H., Wu, C., Masoudi, A., & Liu, J. (2023). Fungal diversities and community assembly processes show different biogeographical patterns in forest and grassland soil ecosystems. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1036905.

Wang, X., Du, C., Li, Y., Liu, S., Zeng, X., Li, Y., Wang, S., & Jia, Y. (2025). Metal pollution-induced alterations in soil fungal community structure and functional adaptations across regional scales. *Journal of Hazardous Materials*, 138553.

Wang, Y., Wang, R., & Sha, Y. (2022). Distribution, pathogenicity and disease control of Fusarium tricinctum. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 939927.

Ward, D. M., Mayes, B., Sturup, S., Folt, C. L., & Chen, C. Y. (2012). Assessing element-specific patterns of bioaccumulation across New England lakes. *Science of the total environment*, *421*, 230–237.

Warnasuriya, S. D., Udayanga, D., Manamgoda, D. S., & Biles, C. (2023). Fungi as environmental bioindicators. *Science of the total environment*, *892*, 164583.

Watnick, P., & Kolter, R. (2000). Biofilm, city of microbes. *Journal of bacteriology*, *182*(10), 2675–2679.

Wdowczyk, A., & Szymańska-Pulikowska, A. (2020). Differences in the composition of leachate from active and non-operational municipal waste landfills in Poland. *Water*, *12*(11), 3129.

Weiss, C. M., Maas, R. P., & Dressing, S. A. (1981). *Stream monitoring for heavy metals by analysis of aquatic insect larvae*. Water Resources Research Institute of the University of North Carolina.

Wen, C., Li, Q., Zhu, D., Zhong, M., Zhu, S., Xu, H., Li, C., Zhu, S., Caiola, N., & Chen, L. (2024). Biofilm-mediated heavy metal bioaccumulation and trophic transfer in a mining-contaminated river. *Water Research*, *267*, 122487.

Wilhelm, R. C., Amsili, J. P., Kurtz, K. S., van Es, H. M., & Buckley, D. H. (2023). Ecological insights into soil health according to the genomic traits and environment-wide associations of bacteria in agricultural soils. *Isme Communications*, *3*(1), 1.

Wilson, H. F., Casson, N. J., Glenn, A. J., Badiou, P., & Boychuk, L. (2019). Landscape controls on nutrient export during snowmelt and an extreme rainfall runoff event in northern agricultural watersheds. *Journal of environmental quality*, *48*(4), 841–849.

Wu, X., Shen, D., Hui, C., Yu, Q., & Long, Y. (2024). Evaluation of pathogen spread risk from excavated landfill. *Environmental Pollution*, *349*, 123993.

Xie, L., Flippin, J. L., Deighton, N., Funk, D. H., Dickey, D. A., & Buchwalter, D. B. (2009). Mercury (II) bioaccumulation and antioxidant physiology in four aquatic insects. *Environmental Science & Technology*, *43*(3), 934–940.

Xie, Y., Fan, J., Zhu, W., Amombo, E., Lou, Y., Chen, L., & Fu, J. (2016). Effect of heavy metals pollution on soil microbial diversity and bermudagrass genetic variation. *Frontiers in plant science*, *7*, 755.

Xie, Y., Luo, H., Du, Z., Hu, L., & Fu, J. (2014). Identification of cadmium-resistant fungi related to Cd transportation in bermudagrass [Cynodon dactylon (L.) Pers.]. *Chemosphere*, *117*, 786–792.

Yu, K., Huang, Z., Xiao, Y., & Wang, D. (2022). Shewanella infection in humans: epidemiology, clinical features and pathogenicity. *Virulence*, *13*(1), 1515–1532.

Zhan, M., Sun, Y., Lan, H., Zhou, T., Zhao, Y., & Yang, L. (2025). Spatio-temporal distribution of soil microbial communities and nutrient availability around a municipal solid waste landfill. *Frontiers in Microbiology*, *16*, 1583149.

Zhang, L., Xu, M., Li, X., Lu, W., & Li, J. (2020). Sediment bacterial community structure under the influence of different domestic sewage types. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *30*(9), 1355.

Zhang, W., Miao, A.-J., Wang, N.-X., Li, C., Sha, J., Jia, J., Alessi, D. S., Yan, B., & Ok, Y. S. (2022). Arsenic bioaccumulation and biotransformation in aquatic organisms. *Environment international*, *163*, 107221.

Zhang, Z., Wan, C., Chen, J., Shi, Z., Xu, X., Wu, X., Kong, Q., & Yao, J. (2025). Unveiling pathogenic fungal distribution in soil surrounding a municipal solid waste landfill–A case study. *Ecotoxicology and environmental safety*, *299*, 118414.

Zhou, L., Bai, N., Xiao, R., Yang, Z., Jiang, G., Yin, H., Wang, Y., Li, L., Meng, D., & Liu, Z. (2025). Unlocking the bioremediation potential of adapted Desulfovibrio desulfuricans in acidic low-temperature U-contaminated groundwater. *Journal of Environmental Sciences*, *155*, 303–315.

Zubrod, J. P., Bundschuh, M., Arts, G., Brühl, C. A., Imfeld, G., Knäbel, A., Payraudeau, S., Rasmussen, J. J., Rohr, J., & Scharmüller, A. (2019). Fungicides: an overlooked pesticide class? *Environmental Science & Technology*, *53*(7), 3347–3365.