

**Quantification des effets de la restauration
d'un écosystème lacustre contaminé
par des polluants organiques persistants**

Application à la pollution aux PCB du Lac du Bourget

Action n°48 du programme 2015 au titre de l'accord-cadre Agence de l'eau RMC - ZABR

Rapport final
Décembre 2017

Emmanuel Naffrechoux^a, Benoît Ferrari^b, Emilie Lyautey^c, Marie-Elodie Perga^d,
Nathalie Cottin^a, Philippe Fanget^a, Sébastien Cachera^e

^a Université Savoie Mont-Blanc, LCME, 73000 Chambéry

^b Centre Ecotox Eawag-EPFL, 1015 Lausanne (Suisse)

^c Université Savoie Mont-Blanc, CARRTEL, 73000 Chambéry

^d INRA, CARRTEL, 74203 Thonon

^e CISALB, 73000 Chambéry

Pour citer ce document :

Naffrechoux et al., Quantification des effets de la restauration d'un écosystème lacustre contaminé par des polluants organiques persistants (pollution aux PCB du lac du Bourget), action 48 programme 2015 ZABR-Agence de l'eau RMC, 58p, 2017

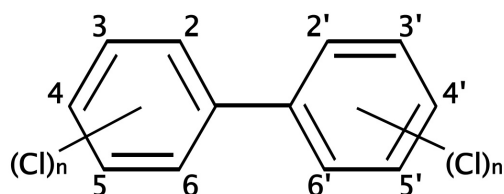
Contenu

1	Contamination des écosystème lenticques par les PCB.....	4
1.1	Généralités	4
1.2	Le Lac du Bourget	5
2	Objectif du programme	10
3	Mécanismes d'atténuation de la contamination aux PCB d'un écosystème lentique	11
3.1	Volatilisation	12
3.1.1	Méthodologie de mesure (cf annexe 2).....	14
3.1.2	Résultats des mesures et calcul des flux de volatilisation.....	14
3.2	Sédimentation et biodégradation	14
3.3	Autre flux de transfert.....	16
3.4	Bilan de l'atténuation	18
4	Contamination de la faune piscicole.....	20
4.1	Evolution de la contamination des poissons du Tillet et du lac du Bourget.....	20
4.2	Mécanismes de contamination des espèces piscicoles.....	21
4.2.1	Bioaccumulation versus bioconcentration	21
4.2.2	Relation entre la teneur en PCB dans la chaire et composantes physiologiques et trophiques du poisson.....	22
4.3	Relation entre la contamination de l'eau et l'imprégnation aux PCB des Ombles.....	29
5	Bio-indication de la contamination d'un écosystème lacustre.....	30
5.1	Elaboration d'outils écotoxicologiques de bio-indication pour le suivi des PCB	30
5.2	Choix du chironome comme espèce indicatrice.....	30
5.3	Exposition des chironomes engagés dans le Tillet et le lac du Bourget.....	31
5.3.1	Méthode :.....	31
5.3.2	Résultats et discussion :.....	33
5.4	Exposition en laboratoire des chironomes aux MES récupérées dans le lac du Bourget ..	36
5.4.1	Méthode.....	36
5.4.2	Résultats et discussion :.....	39
6	Principales conclusions	48
7	Annexes	50
7.1	Annexe 1 : fiche résumée de l'Accord Cadre ZABR- Agence de l'Eau.....	50
7.2	Annexe 2 : méthodologie de quantification des PCB	54

1 Contamination des écosystème lenticques par les PCB

1.1 Généralités

Les polychlorobiphényles (PCB) sont des composés organiques semi-volatils (COSV) n'ayant pas d'origine naturelle connue. Il existe 209 congénères, selon le nombre et la position des atomes de chlore sur chaque cycle benzénique de la molécule, référencés de 1 à 209 selon la nomenclature de l'*International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) proposée par Ballschmiter et Zell¹.



Sept molécules (les congénères 28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180) représentent à elles-seules 50% à 80% de la quantité de PCB présents dans l'environnement : ces molécules sont dites PCB indicateurs (PCBi). Ces congénères sont quantifiés indépendamment mais la contamination des différents compartiments environnementaux (air, eau, sédiment, sol, biote) est caractérisée par la somme de ces 7 molécules, voire parfois seulement des six PCB dits "no dioxine-like" ou PCB-NDL (les 7 indicateurs moins le congénère 118).

La synthèse industrielle des PCB a commencé au début du XX^{ème} siècle aux Etats-Unis d'Amérique. L'évolution de la contamination mondiale a atteint son maximum dans les années 1970, en raison de leur utilisation massive dans la fabrication de peintures, vernis, plastifiants, résines, et surtout fluides diélectriques. La diminution de la pollution de la zone critique (basse troposphère, sols et eaux) dans les régions urbanisées résulte majoritairement de leur interdiction d'usage à partir de la fin des années 1980 dans la majorité des pays industrialisés (1986 en France). Depuis le début du XXI^{ème} siècle, les concentrations de PCB dans l'air, l'eau ou le sol de la majeure partie du globe sont quasi-constantes en raison d'une diffusion de ces composés dans l'atmosphère depuis les sources encore existantes (certains bâtiments antérieurs aux années 1980, sols pollués, anciens sites de stockage de déchets, etc) suivie de leur dispersion et retombée sur les sols et les eaux de surface.

Les écosystèmes lenticques sont donc encore actuellement soumis à des apports de PCB par deux voies principales : les retombées atmosphériques et les apports du bassin versant via les affluents et le ruissellement sur les sols.

Les PCB de la troposphère proviennent de la volatilisation de PCB présents dans des sols, des masses d'eau de surface, de déchets stockés à terre, de certains transformateurs électriques utilisant encore ces composés comme fluide diélectrique ou caloporteur, de matériaux présents dans des bâtiments construits entre 1950 et 1980. Les transferts directs de PCB atmosphériques aux lacs peuvent être subdivisés en :

- dépôts secs (PCB fixés aux particules atmosphériques ou PCB particulaires)
- dépôts humides (entraînement des PCB particulaires et dissolution des PCB gazeux dans les précipitations météorologiques liquides ou solides),
- absorption des PCB gazeux par la couche d'eau lacustre de surface.

¹ K. Ballschmitter and M. Zell, Fresenius Zeitung der Analytische Chemie, 302, 20-31, 1980

Les apports du bassin versant correspondent quant à eux :

- à l'entraînement de PCB atmosphériques déposés sur les sols et surfaces imperméabilisées,
- aux apports des affluents,
- à la lixiviation de PCB d'anciens sites de stockage de déchets (ménagers ou industriels),
- aux rejets des stations d'épuration des eaux usées urbaines.

1.2 **Le Lac du Bourget**

Le Lac du Bourget est situé en Savoie. Son bassin versant de 560 km² est occupé par la ville d'Aix-les-Bains, qui le borde sur sa rive Est, et par la ville de Chambéry, située à une quinzaine de kilomètres au Sud. Ces deux villes forment deux agglomérations totalisant actuellement environ 185 000 habitants.

D'une altitude moyenne de 231 mètres, le lac est bordé à l'Ouest par la Chaîne de l'Épine (1482 m) et la Dent du Chat (1390 m) et à l'Est par le Massif des Bauges, dont le Mont Revard (1538 m), et par les montagnes de Cessens, de la Chambote, de Corsuet ainsi que la colline de Tresserve.

Le lac du Bourget s'étire en longueur dans un axe nord-sud sur 18 kilomètres, avec une largeur comprise entre 1,6 et 3,5 kilomètres, pour une superficie de 44,5 km². Sa profondeur moyenne est de 85 mètres avec un maximum à 145 mètres. Le volume d'eau atteint 3,6 10⁹ m³, alimenté par trois affluents principaux. La Leysse est le plus important, avec un débit moyen de 5,7 m³.s⁻¹ depuis 2005, suivi du Sierroz avec 2,2 m³.s⁻¹ en moyenne depuis 2005 et enfin le Tillet, de moindre importance hydraulique mais fortement contaminé aux PCB.

L'état de qualité physico-chimique et écologique du lac est régulièrement évalué². La température moyenne de l'eau est d'environ 7°C en janvier et de 23°C en juillet. L'eau est alcaline, peu dure, avec un titre hydrotimétrique moyen de 20°f. Avec une concentration moyenne proche de 3 µg/L pour la chlorophylle *a*, une transparence moyenne de 8 m, un stock relativement élevé de corégones et l'absence ou la faible proportion d'espèces caractéristiques d'un milieu trop riche en nutriments, le lac du Bourget est considéré oligo-mésotrophe depuis 2010. Toutefois, des traces de pesticides tels que les triazines (dont l'atrazine à des concentrations de l'ordre de 10 ng.L⁻¹), dichlobenil, diuron, hexazinone, métolachlore, pentachlorophénol, propiconazole, simazine, tébuconazole, terbuthylazin, sont régulièrement détectées dans l'eau.

Par ailleurs, le Lac du Bourget est un écosystème lentique fortement contaminé par les PCB. Les concentrations dans le sédiment sont (très) élevées, avec un maximum observé dans les années 1970. Elles étaient encore proches de 70 ngΣ7PCB_i.g⁻¹ dans les sédiment de surface en 2006 au point le plus profond du lac³, comparables à celles du Lac de Côme en

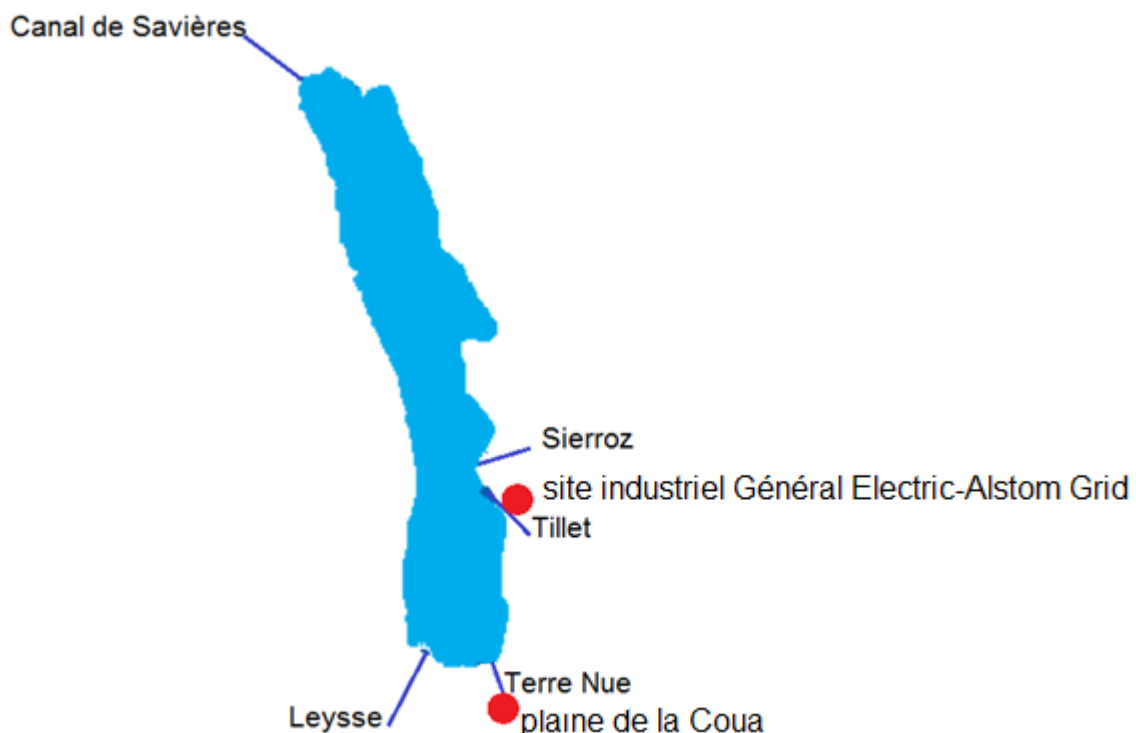
² S. Jacquet et al., Suivi environnemental des eaux du lac du Bourget pour l'année 2015. Rapport INRA-CISALB-CALB, 205 pages, 2016

³ E. Naffrechoux et al., Environ. Sci. Technol., 49, 1303–1310, 2015

Italie (84 à 101 ng Σ 23PCB.g⁻¹ en 2009)⁴, et très supérieures à celles mesurées dans le lac d'Annecy⁵ (2 à 9 ng Σ 7PCBi.g⁻¹ en 2008), de Paladru⁶ (3 ng Σ 7PCBi.g⁻¹ en 2009) ou de Genève⁷ (1 à 18 ng Σ 7PCBi.g⁻¹ en 2015).

En septembre 2012, la concentration dans l'eau (5 m sous la surface au point de profondeur maximale du lac) a été mesurée égale à 0,46 ng Σ 7PCBi.L⁻¹ par Naffrechoux et al.¹⁰ ; cette valeur élevée, comparativement à des milieux aquatiques soumis aux seules retombées atmosphériques (de 0,01 à 0,20 ng Σ 6PCBi.L⁻¹)⁸, explique la contamination importante des espèces piscicoles du Lac du Bourget (dont certaines dépassent nettement la norme européenne de 125 ng Σ 6PCBi.g⁻¹) et justifie l'arrêté préfectoral d'interdiction de pêche et de consommation⁹.

La source principale d'apport de PCB dans le lac du Bourget est la rivière Tillet (contaminée de 1930 à 1987 par l'industrie "Savoisienne de Constructions Electriques", productrice de transformateurs électriques au Pyralène™, implanté sur l'actuel site General Electric-Alstom Grid, rue Paul Doumer à Aix les Bains). Dans une moindre mesure, le canal de Terre-nue contribue aux apports de PCB en raison de sa pollution par les eaux de lixiviation de l'ancien site de décharge des déchets des agglomérations de Chambéry et Aix les Bains, situé plaine de la Coua au Viviers du Lac (figure 1).



⁴ R. Bettinetti et al., Sci Total Environ., 542, 404-410, 2016

⁵ M. Lallée, Rapport d'étude SILA, 70p., 2009

⁶ M. Desmet et al., Sci Total Environ., 433, 189-197, 2012

⁷ J-L. Loizeau, Univ. Genève, pers. comm., 2017

⁸ YM. Nellier et al., Environ. Sci. Technol., 49, 9620-9628, 2015

⁹ Arrêté préfectoral Savoie (73) du 7 septembre 2009 modifiant l'arrêté du 5 février 2009 portant interdiction de la pêche en vue de la consommation et de la commercialisation des poissons appartenant aux espèces omble chevalier (*Salvelinus alpinus*), brème (*Abramis brama*), gardon (*Rutilus rutilus*) et anguille (*Anguilla anguilla*) du lac du Bourget (Savoie)

Figure 1 : localisation des deux sources principales de PCB au Lac du Bourget

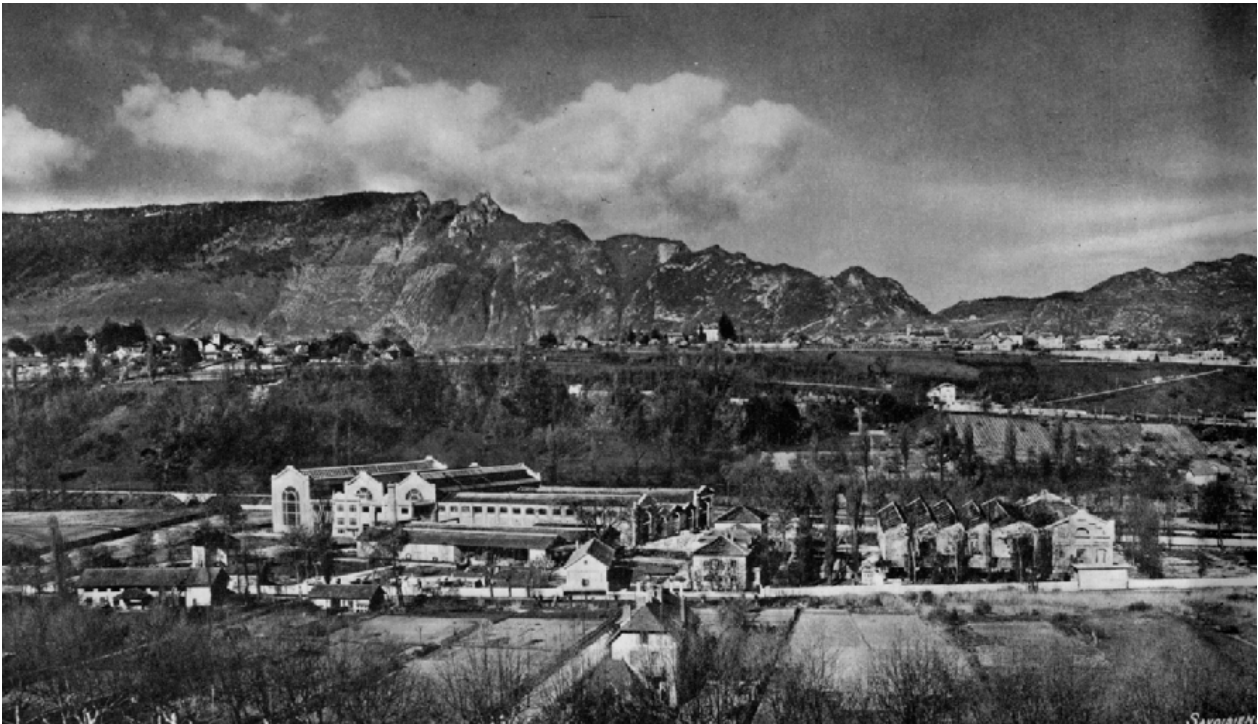


Figure 2 : Vue d'ensemble du site de La Savoienne vers 1945
(le Lac du Bourget est situé entre la colline de Tresserve au second plan et la chaîne de l'Epine à l'arrière-plan)

Le flux de PCB apportés au Lac du Bourget par l'affluent Tillet a été évalué en 2012-2013 dans le cadre du programme de recherche BIOSSED¹⁰, financé par la région Rhône-Alpes. La source majeure de PCB au lac correspond à l'érosion des berges du Tillet lorsqu'il méandre dans le parc de la Bognette à Aix les Bains. Les terres de ce parc, autrefois zone de débordement de la rivière à la sortie de son écoulement canalisé en souterrain depuis le site industriel, ont accumulé la pollution provenant de "la Savoienne", située environ 2 km à l'amont, de 1945 à 1985. Les teneurs en PCB dans les sédiments du Tillet étaient comprises entre 1000 et 17000 ng Σ 7PCB_i.g⁻¹(masse sèche, dw) et variaient de 500 à 29000 ng Σ 7PCB_i.g⁻¹(dw) dans les sols. L'eau de la nappe d'accompagnement de la rivière (au niveau du parc de la Bognette) atteignait des concentrations comprises entre 10 et 35 ng Σ 7PCB_i.L⁻¹. La teneur en PCB dans les matières en suspension (MES) du cours d'eau valaient 400 ng Σ 7PCB_i.g⁻¹(dw) à l'entrée du parc et pouvaient atteindre des valeurs proches de 5000 ng Σ 7PCB_i.g⁻¹(dw) à proximité de l'embouchure au lac, démontrant la remobilisation vers le lac de la pollution des berges du Tillet dans le secteur du parc de la Bognette. Les PCB étaient aussi présents sous forme dissoute dans l'eau du Tillet à des concentrations de l'ordre de 5 ng Σ 7PCB_i.L⁻¹. En temps de pluie ($Q > 1 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), les vitesses d'écoulement de l'eau permettaient l'érosion des berges et le transport de MES contaminées, la concentration en PCB (dissous et particulaires) dans l'eau du Tillet pouvait alors atteindre 250 ngPCB_i.L⁻¹. Pour l'année 2012, les flux variaient entre 0,05 (temps sec) et 50 g Σ 7PCB_i.d⁻¹ (temps de

¹⁰ N. Cottin et al., ContaSed2015, Congressi Stefano Franscini, Monte Verità, Ascona (Switzerland), 8-13 March 2015

pluie). Compte-tenu des variations de débit en 2012, la quantité de PCB apportée annuellement au Lac du Bourget a été estimée à 1000 g Σ 7PCB_i.

Ces PCB sont bio-disponibles pour les organismes aquatiques. En effet, les invertébrés aquatiques du Tillet étaient tous contaminés par les PCB, avec des concentrations plus ou moins élevées selon le lieu de prélèvement dans le cours d'eau (amont ou aval du Parc de la Bognette) :

- de 4129 à 10078 ng Σ 7PCB_i.g⁻¹ (dw) pour *Gammarus*
- de 201 à 1084 ng Σ 7PCB_i.g⁻¹ (dw) pour *Potamogyrus*
- de 195 à 881 ng Σ 7PCB_i.g⁻¹ (dw) pour *Asellus*.

De même, les poissons pêchés dans la rivière (10 chevaines de 12 à 20 cm et 15 goujons de 10cm) présentaient des concentrations moyennes dans la chair musculaire respectivement de 812 et 1770 ng Σ 6PCB_i.g⁻¹ (dw), soit 6 à 14 fois la limite européenne UE 1259/2011 (125 ng Σ 6PCB_i.g⁻¹).

En 2012, la Communauté d'agglomération d'Aix-les-Bains engage des travaux de dépollution du Tillet avant son débouché dans le lac. Cette opération vise à :

- stopper le flux vers le lac des PCB présents dans les sédiments de la rivière,
- restaurer l'écologie de la zone aval du Tillet en mettant notamment à l'air libre son embouchure dans le lac, par création d'un port à barques.

Les travaux ont démarré en avril 2013 et se sont achevés en mai 2014. Ils ont été découpés, de l'amont vers l'aval, en 4 secteurs d'intervention (T1 à T4, figure 3).

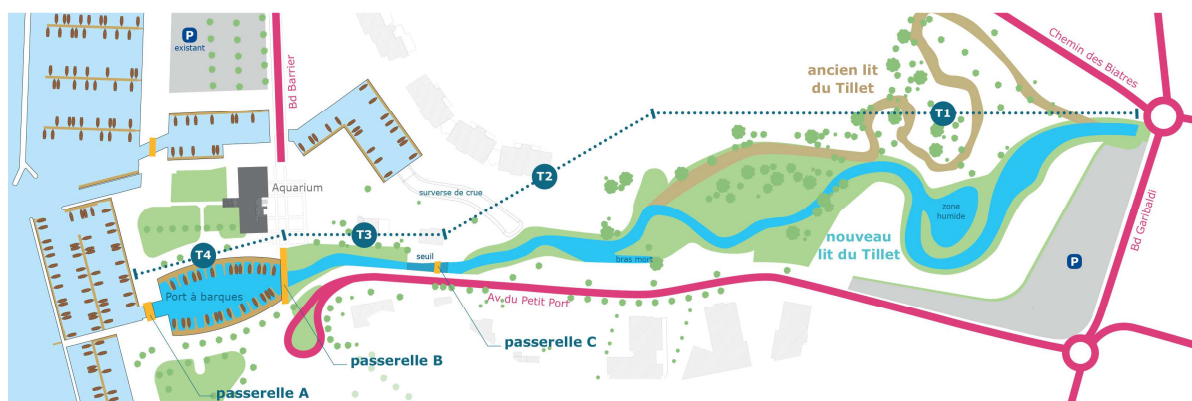


Figure 3 : Schéma du Tillet avant et après restauration (Parc de la Bognette, Aix les Bains, France)

Sur un premier tronçon (T1) de 400 m, un nouveau lit du Tillet a été créé dans les terrains voisins indemnes de toute pollution aux PCB. Sur ce tronçon, la restauration écologique a consisté en un tracé sinuieux, des écoulements diversifiés et des berges végétalisées avec des hélophytes et des saules. Les déblais issus du terrassement de ce nouveau lit ont permis de remblayer l'ancien lit et de confiner les PCB présents.

Sur un 2^{ème} tronçon (T2) d'environ 140 m, le cours du Tillet est conservé à son emplacement initial mais le fond de la rivière a été intégralement reconstitué par substitution des 50 premiers centimètres de sédiments pollués par une triple couche saine et étanche composée

de charbon actif pour fixer les polluants résiduels, d'une couche étanche d'argile et d'une couche de galets-graviers formant un fond naturel propice à la vie aquatique.

Sur un 3^{ème} tronçon (T3) d'environ 90 m, la buse béton canalisant le Tillet a été remplacée par un lit à ciel ouvert, creusé à une profondeur permettant l'évacuation complète des terres contaminées.

Pour le tronçon T4, l'embouchure du Tillet au lac est enfin remplacée par un nouveau port à barques, au même endroit que le port originel comblé en 1950.

Les terres excavées des secteurs contaminés aux PCB ont été triées sur place dans un atelier de criblage et d'hydro-cyclonage. Les sédiments grossiers, répondant aux critères de matériaux inertes, ont été transportés hors du site pour être valorisés sur le chantier de réhabilitation paysagère de l'ancienne décharge de Viviers-du-lac. Les sédiments fins, avec des valeurs moyennes en PCB de 10 mg.kg^{-1} , ont été confinés dans une cellule étanche isolée par un complexe géo-synthétique argileux totalement imperméable. Cette structure a constitué l'assise d'un nouveau parking en bordure du boulevard Garibaldi. Les matériaux présentant des teneurs en PCB supérieures à 50 mg/kg ont été évacués vers une installation spécialisée.

Une fois les travaux de dépollution achevés, les seuls apports de PCB susceptibles d'impacter l'écosystème lacustre sont en provenance du linéaire de rivière canalisée en souterrain depuis le site industriel de "la Savoisienne", comportant encore des berges et des sédiments pollués. Les flux mesurés en mars-avril et octobre-novembre 2014 équivalent à :

- $16 \text{ à } 24 \text{ mg}\Sigma 7\text{PCB}_i.\text{d}^{-1}$ par temps sec,
- $360 \text{ à } 395 \text{ mg}\Sigma 7\text{PCB}_i.\text{d}^{-1}$ par temps de pluie.

Ces flux représentent un apport de $87 \text{ à } 123 \text{ g}\Sigma 7\text{PCB}_i$ pour l'année 2014, soit 10 fois plus faible qu'avant dépollution du parc de la Bognette. De plus, les MES contaminées sont maintenant déposées dans le nouveau port à barques, faisant office de bassin de décantation en amont du lac.

Les eaux de drainage de la plaine de la Coua (ancien site de dépôts de déchets des agglomérations de Chambéry et Aix les Bains) contiennent des PCB entre $6 \text{ et } 13 \text{ ng}\Sigma 7\text{PCB}_i.\text{L}^{-1}$ et sont susceptibles de contaminer le lac du Bourget via le canal de Terre-Nue. Les dernières mesures réalisées dans les eaux de ce canal (SIERM eauRMC ; Canal de Terre Nue à Voglans - code station 06580819) révèlent des concentrations maximales de $6 \text{ ng}\Sigma 7\text{PCB}_i.\text{L}^{-1}$. Le débit moyen sur les 5 dernières années égale $0,15 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$; le flux au lac du Bourget peut être estimé à $28 \text{ g}\Sigma 7\text{PCB}_i.\text{an}^{-1}$, plus de trois fois inférieur au flux moyen 2014 du Tillet.

Le flux de PCB au Lac du Bourget a donc diminué drastiquement après la dépollution du Tillet-aval. Le flux actuel est estimé à environ $130 \text{ g}\Sigma 7\text{PCB}_i.\text{an}^{-1}$, contre plus de $1000 \text{ g}\Sigma 7\text{PCB}_i.\text{an}^{-1}$ avant 2014.

2 Objectif du programme

L'objectif du programme de recherche RESTOLAC visait à déterminer (i) la vitesse de décontamination aux PCB du Lac du Bourget et par extension, des écosystèmes lenticques pollués par des composés organiques persistants semi-volatils COSV (ii) la relation entre la pollution du milieu et la contamination des organismes aquatiques.

Les actions réalisées ont permis :

- d'établir un bilan de masse des PCB dans l'écosystème lacustre,
- d'estimer la date de retour à des seuils acceptables (au sens réglementaire) de concentration en PCB dans l'eau et la chair de poissons,
- d'étudier la relation entre la concentration en PCB de la masse d'eau et la concentration en PCB d'espèces piscicoles (Omble et Lavaret),
- d'évaluer les potentialités d'utilisation de la larve de *Chironomus riparius* pour la bio-indication de la pollution aux PCB des milieux aquatiques.

3 Mécanismes d'atténuation de la contamination aux PCB d'un écosystème lentique

La figure 4 présente les différents transferts des PCB entre le compartiment atmosphérique et le compartiment aquatique (absorption et dépôts sec ou humide pour le transfert vers la colonne d'eau, volatilisation pour le transfert à l'atmosphère), les transferts au sein de la colonne d'eau (diffusion horizontale ou verticale, adsorption-désorption sur les particules en suspension, partition entre l'eau et le biote) ainsi que les transferts entre la colonne d'eau et les sédiments (sédimentation, re-suspension, diffusion).

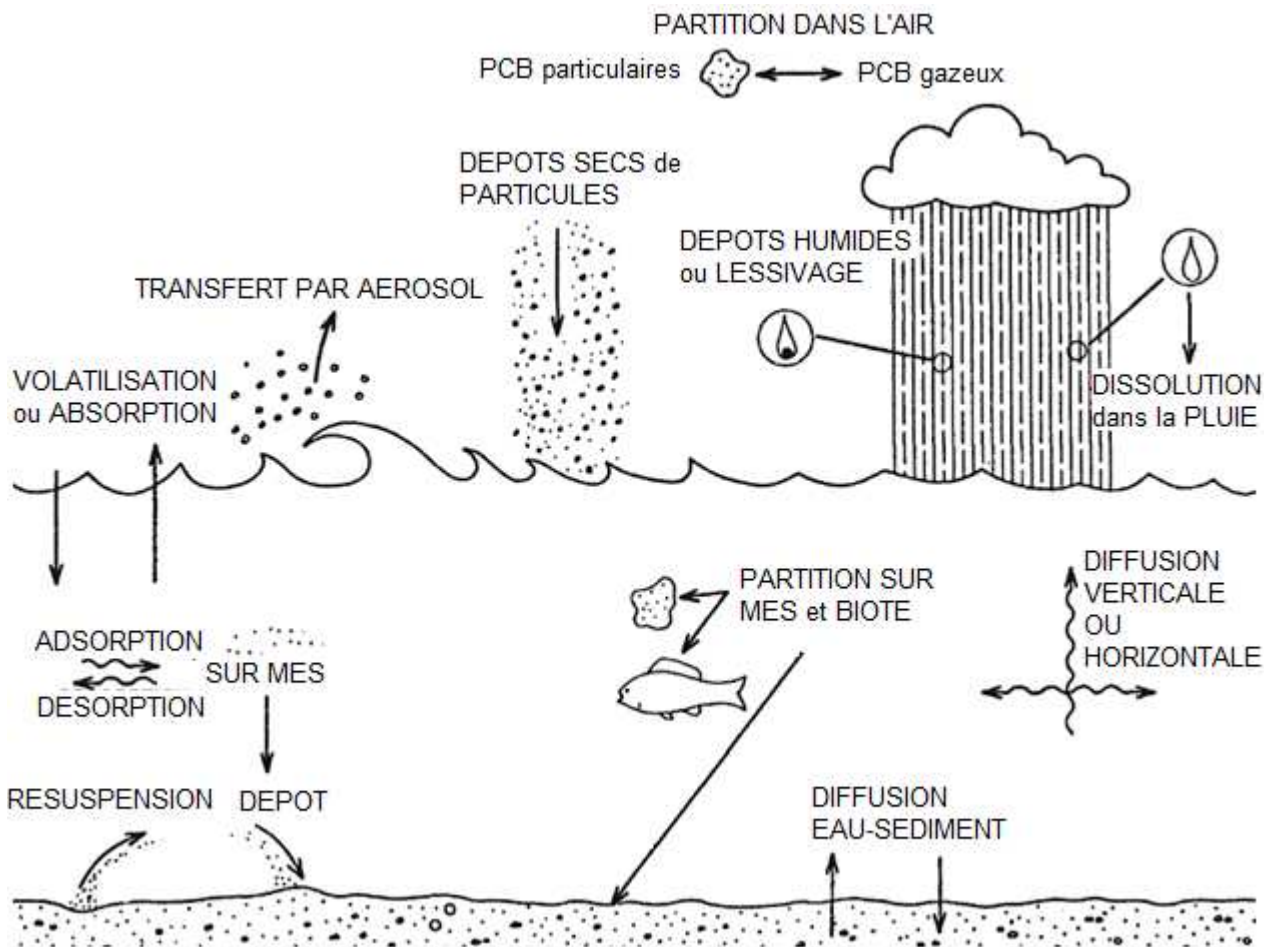


Figure 4 : principaux mécanismes de contamination et de transfert des PCB au sein d'un écosystème lacustre

Deux transferts ont été identifiés comme voies majoritaires d'atténuation de la contamination d'un écosystème lacustre¹¹ :

- la volatilisation des PCB dissous (*stricto sensu*), suivie de leur dégradation radicalaire en phase gazeuse dans le compartiment atmosphérique,

¹¹ SJ Eisenreich, Environ. Sci. Technol., 13, 569-573, 1979 ; LA Totten et al., Chemosphere, 47 (7), 735-746, 2002

- la sédimentation des PCB particulières et leur enfouissement dans le sédiment (sous la couche de bioturbation, à 3-4 cm de l'interface eau-sédiment), suivis de leur biodégradation anaérobie.

3.1 Volatilisation

La volatilisation depuis la colonne d'eau est un mécanisme important de décontamination des milieux aquatiques pollués par les composés organiques semi-volatils (COSV)¹².

Il est relativement aisé de connaître le comportement (puits ou source) d'une masse d'eau superficielle stagnante vis à vis des COSV. Il suffit de calculer le rapport de fugacités du COSV dans la phase gazeuse et dans la phase liquide (Mackay and Paterson, 1981). Ce ratio est calculé selon :

$$f_L/f_G = C_L H / C_G R T \quad \text{eq.(1)}$$

avec les concentrations dans l'eau (C_L) et dans l'air (C_G) exprimées en pg.m^{-3} , la constante de Henry H en $\text{Pa.m}^3.\text{mol}^{-1}$, la constante des gaz parfaits R ($8,314 \text{ Pa.m}^3.\text{K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$) et T la température en K . Si $f_L/f_G > 1$, le COSV se volatilise (la masse d'eau est une source de COSV pour l'air).

Les flux de COSV volatilisés sont toutefois plus difficiles à quantifier, compte-tenu des faibles valeurs transférées par unité de surface et des méthodes de prélèvement et dosage de ces molécules, que ce soit en phase gazeuse ou aqueuse. Les flux sont donc la plupart du temps estimés en utilisant un modèle historiquement développé par Liss et Slater, basé sur la théorie de "double-couche" de Whitman (1923).

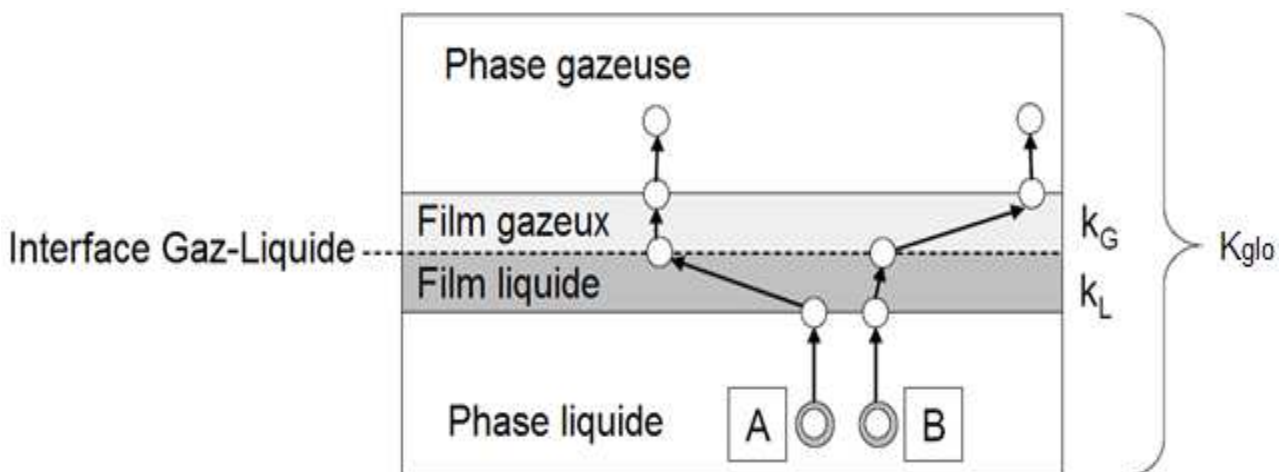


Figure 5 : Schéma conceptuel de la théorie du double-film

Lorsqu'un composé organique volatil se déplace de la phase liquide à la phase gazeuse, il doit traverser deux films, l'un liquide et l'autre gazeux, d'épaisseur faible mais différente. Si la diffusivité de la molécule est faible dans l'eau, elle suivra le chemin conceptuel du composé A. Si sa diffusivité est plus faible dans la phase gazeuse, elle suivra le chemin de la molécule B (figure 5).

¹² JE Baker, Environ. Sci. Technol., 24, 342-352, 1990

Le flux de volatilisation à travers ces deux films est défini comme :

$$F = k_L(C_L - C_L^*) = k_G(C_G^* - C_G) \quad \text{eq.(2)}$$

avec F le flux (masse/surface-temps), k_L le coefficient de transfert dans le film liquide (longueur/temps), k_G le coefficient de transfert dans le film gazeux (longueur/temps), C_L la concentration du COSV dans la phase liquide (masse/volume), C_G la concentration du COSV dans la phase gazeuse (masse/volume), C_L^* la concentration du COSV dans le film liquide et C_G^* la concentration du COSV dans le film gazeux.

Comme C_L^* et C_G^* ne peuvent pas être déterminées (il est impossible d'échantillonner le film liquide ou gazeux compte-tenu de leur faible épaisseur), il est supposé que les concentrations sont à l'équilibre de Henry $C_G^* = H C_L^*$ et l'équation (1) se simplifie :

$$F = K_{glo}(C_L - C_G/H) \quad \text{eq.(3)}$$

avec K_{glo} le coefficient global de transfert du COSV (longueur/temps) et H la constante adimensionnelle de Henry. K_{glo} est calculé selon l'équation :

$$K_{glo} = \frac{k_L k_G H}{k_L + k_G H} \quad \text{eq.(4)}$$

Les valeurs de k_L et k_G d'un COSV sont évaluées à partir de corrélations empiriques avec les coefficients de transfert de composés de référence (R), soit l'oxygène dans un film d'eau et la vapeur d'eau dans un film d'air, selon l'équation :

$$k^{COV} = k^R \left(\frac{M_R}{M} \right)^{1/2} \quad \text{eq.(5)}$$

M^R et M sont les masses molaires respectives du composé de référence et du COSV.

La résistance au transfert d'un COSV donné ($1/K_{glo}$) est principalement liée à l'épaisseur du double-film interfacial, lui-même fortement dépendant de la vitesse du vent. Si la concentration en COSV de l'air (C_G) est suffisamment faible pour ne pas perturber le flux transféré de l'eau à l'air (soit $C_G/H \ll C_L$), l'équation (3) peut se simplifier :

$$F = K_{glo} C_L \quad \text{eq.(6)}$$

Le flux de volatilisation d'un COSV depuis une masse d'eau varie donc uniquement en fonction de la température de l'eau de surface et de la concentration aqueuse en COSV dissous.

Pour les PCB, la littérature fournit des valeurs de K_{glo} variant de $2 \cdot 10^{-5}$ à $3 \cdot 10^{-4} \text{ m.h}^{-1}$. Pour les différents congénères, les valeurs de la constante adimensionnelle de Henry H^{13} sont comprises entre $6 \cdot 10^{-4}$ et $8,33 \cdot 10^{-2}$. La concentration atmosphérique actuelle en France avoisine 100 pg.m^{-3} , on obtient une valeur maximale pour $C_L^* = C_G/H = 1,6 \cdot 10^{-7} \text{ g.m}^{-3}$, soit $0,2 \text{ ng/L}$, concentration aqueuse inférieure à celle mesurée dans un lac pollué par des PCB.

¹³ R. Sander, Atmos. Chem. Phys., 15, 4399–4981, 2015

Dans ces conditions, le flux volatilisé estimé par l'équation 6 varie entre 2.10^{-11} et 3.10^{-10} $g.m^{-2}.h^{-1}$ pour 1 ng de PCB par litre d'eau du lac, ce qui correspond à un transfert annuel de quelques grammes de PCB_i du lac du Bourget à l'atmosphère.

Le flux calculé selon ce modèle est entaché d'incertitude liée aux estimations des grandeurs permettant d'obtenir la valeur du coefficient global de transfert de masse (K_{glo}) de chaque congénère et aux incertitudes de mesure des concentrations de PCB en phase aqueuse et en phase gazeuse. Cette incertitude a été récemment évaluée à près de 50%¹⁴.

3.1.1 Méthodologie de mesure (cf annexe 2)

Les concentrations des 7 PCB_i ont été déterminées dans la phase gazeuse en échantillonnant passivement l'air atmosphérique avec un adsorbant en mousse de polyuréthane, disposé au niveau de la terrasse de l'aquarium du Lac du Bourget, au petit port d'Aix les Bains. Pour la fraction dissoute dans l'eau du lac, un échantillonnage ponctuel de 20 à 40 L d'eau a été réalisé 2 à 3 fois par an au point le plus profond du lac du Bourget, à 20 cm sous la surface. Les températures de l'eau et les vitesses de vent ont été respectivement obtenues auprès du SOERE OLA (<https://si-ola.inra.fr>) et de Météo-France (station de Voglans).

3.1.2 Résultats des mesures et calcul des flux de volatilisation

La concentration en PCB dissous dans l'eau du lac du Bourget a été déterminée par prélèvement instantané en mai et octobre 2015 (0,2 ng.L⁻¹ en moyenne) puis en mars et octobre 2016 (0,4 ng.L⁻¹ en moyenne). Les concentrations sont très variables et dépendent théoriquement de plusieurs facteurs : nature et concentration de COP (les particules organiques de faible dimension ont une capacité importante de sorption des PCB dissous), température de l'eau (la concentration augmentant avec la diminution de température), brassage de la colonne d'eau (les eaux de fond, proches du sédiment contaminé au PCB, contenant des concentrations élevées en PCB provenant de la diffusion depuis l'eau porale). La concentration dans la phase gazeuse a été déterminée à partir des masses accumulées dans les échantillonneurs passifs durant 50 à 80 jours et des vitesses d'échange entre l'air et la mousse de polyuréthane publiées dans la littérature scientifique (de l'ordre de 3-5 m³ par jour). Les concentrations de PCB gazeux varient de 31 à 152 pg.m⁻³ pour l'année 2015, et de 33 à 206 pg.m⁻³ en 2016.

Ces valeurs permettent d'estimer le flux mensuel de volatilisation. Les flux varient de 2 à 4 g/mois en 2015 et de 5 à 16 g/mois en 2016. Les flux maximaux sont toujours observés en période estivale. Les flux supérieurs en 2016 s'expliquent par la plus forte valeur de PCB dissous dans la couche d'eau de surface.

Au bilan, il est possible d'évaluer (avec une incertitude proche de 100%) la masse de PCB volatilisés depuis la surface du lac du Bourget à 40g/an en 2015 et 100g/an en 2016.

3.2 **Sédimentation et biodégradation**

L'enfouissement des PCB dans le sédiment est une seconde voie importante de diminution de la contamination de la colonne d'eau. La réhabilitation naturelle des sédiments contaminés nécessite l'enfouissement au fil du temps des sédiments pollués sous des sédiments indemnes de contamination. Ce recouvrement naturel réduit le risque de remise en suspension des sédiments de surface contaminés et réduit aussi le transfert des PCB dans la chaîne alimentaire, en évitant la bioturbation des sédiments contaminés. L'épaisseur de sédiments "sains" doit atteindre au moins 5 cm pour limiter tout risque de transfert à la

¹⁴ Y Liu et al, Environ. Sci. Technol., 50, 10894–10902, 2016

colonne d'eau ou aux organismes vivants. La vitesse de sédimentation dans le lac du Bourget avoisine 3 à 4 mm.an⁻¹. En supposant un apport exclusif de sédiment sain, les transferts des PCB du sédiment à la colonne d'eau ne seraient stoppés qu'après 15 à 16 années.

Le flux de PCB de la colonne d'eau au sédiment de surface du lac a été mesuré en utilisant une trappe à sédiments séquentielle immergée à 40 mètres de profondeur une centaine de mètres au large du petit port d'Aix les Bains, débouché du Tillet au lac (coordonnées 45°41'32"N - 5°53'14"E ; figure 6).

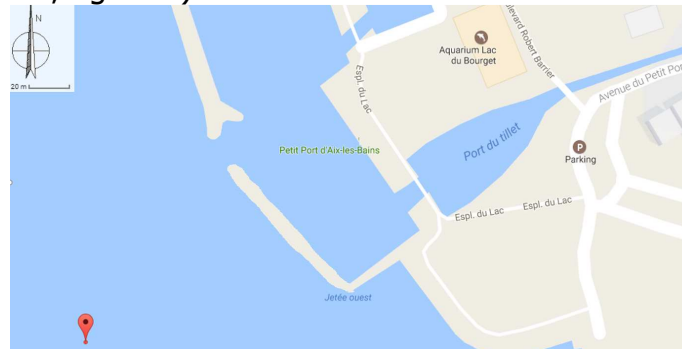


Figure 6 : localisation de la trappe à sédiments

Pour la première année d'immersion (juin 2015-mai 2016), une colonisation importante de mollusques (*Dreissena polymorpha*) a progressivement colmaté la grille en nid d'abeilles permettant la récupération des particules en décantation de la colonne d'eau.



Les seules données exploitables concernent l'été 2015 (juin-août). Durant ces 3 mois, la masse des 7 PCB_i transférés au sédiment du lac atteint 14,5 µg/m² (majoritairement dominée par les PCB 138, 153 et 190, représentant plus de 65% du total), soit une quantité de PCB_i déposée sur le sédiment égale à 290 grammes (en considérant un flux uniforme pour une surface totale de décantation égale à 20 km²).

Pour l'année 2016-2017, les prélèvements ont fonctionné de juin 2016 à juillet 2017 (non inclus). Le flux sédimenté atteint 570 ng/m²/jour, soit une quantité déposée égale à 4160 grammes pour une année complète.

Une fois déposées sur le sédiment, les particules contaminées aux PCB sont soumises aux processus microbiens. Les PCB pourraient être dégradés par les communautés bactériennes anaérobies. En conditions anaérobies, certaines bactéries peuvent utiliser les PCB comme accepteur d'électron dans le processus de déhalo-respiration. Cette activité respiratoire peut jouer un rôle majeur dans la détoxification des composés aromatiques polychlorés dans l'environnement. Plusieurs groupes de bactéries impliquées dans la déchloration anaérobie des PCB ont été isolés, appartenant aux genres *Dehalococcoides*, *Dehalobacter* et *Dehalogenimonas*. Si ces trois genres bactériens sont présents de manière généralisée dans les sédiments, leur activité métabolique favorable suggère qu'ils pourraient être d'importants contributeurs à l'atténuation naturelle de la contamination aux PCB dans les écosystèmes. La biodégradation en anaérobiose conduit à l'élimination des atomes de chlore des PCB fortement chlorés. Ce processus se déroule très lentement en conditions naturelles où les taux de dégradation constatés sont bien inférieurs à ceux obtenus expérimentalement. Les protocoles mis en place pour identifier la présence des communautés bactériennes aptes à déchloration des PCB et pour étudier la vitesse de décontamination anaérobie des sédiments lacustres sont présentés dans le rapport de stage de master de J. Lefevre¹⁵.

Les résultats obtenus (non présentés ici) montrent que :

- L'absence des communautés microbiennes impliquées dans la déchloration anaérobie des PCB dans le sédiment du lac du Bourget, même après incubation et bio-stimulation de croissance ;
- la stabilité de la concentration totale des 7 PCB indicateurs tout au long de la période d'incubation (22 mois), aussi bien dans les microcosmes initialement stérilisés, que dans ceux sous conditions physico-chimiques constantes ou dans les microcosmes bio-stimulés par apport de nutriments.

Cette absence de déchloration anaérobie est en accord avec la reconstruction de l'historique de contamination des sédiments du Lac du Bourget (publié dans différents articles¹⁶) ou d'autres lacs alpins (Léman ou Côme) et le constat de stabilité de ces molécules dans le sédiment.

3.3 **Autre flux de transfert**

Les apports par les tributaires du lac autres que le Tillet et le canal de Terre-nue (Leyse et Sierroz notamment) n'ont pas été quantifiés. La contribution actuelle de ces affluents aux apports de PCB au lac du Bourget a été considérée *a priori* négligeable.

Le canal de Savières a évacué annuellement 160 g de PCB_i. La quantité de PCB_i apportée au lac du Bourget lors des entrées d'eau du Rhône via ce canal n'a pu être estimée, faute de données relatives la contamination de l'eau du fleuve en amont du lac.

Les dépôts atmosphériques totaux (secs et humides) ont été mesurés à l'aide d'une jauge Owen disposée sur la rive Est du Lac du Bourget, à Aix les Bains (Petit Port). Cette jauge Owen en inox, de surface de collecte égale à 0,5 m², est équipée d'un capteur passif en

¹⁵ Jessica Lefevre, (dir. Emilie Lyautey) rapport de stage Master1 chimie, CARTELE, Université Savoie Mont-Blanc, 2015

¹⁶ S. Jung, G. Chebbo, C. Lorgeoux, B. Tassin, F. Arnaud, P. Bonté, T. Winiarski, Water Science and Technology, 57 (10) 1503-1510, 2008 – E. Naffrechoux, N. Cottin, C. Pignol, F. Arnaud, J-P. Jenny, M-E. Perga, Environmental Science & Technology, 49 (3), 1303-1310, 2015

mousse de polyuréthane (cf annexe2). Pour la période 2015-2016, le flux varie entre 0,6 et 0,8 ng/m²/jour soit une masse de PCB_i déposée annuellement à la surface du lac comprise entre 10 et 13,5 g.

Les apports à la colonne d'eau lacustre par diffusion de PCB depuis la zone porale du sédiment de surface sont potentiellement élevés en raison de la concentration importante de PCB du sédiment (30 à 70 ng Σ_7 PCB_i.g⁻¹ selon la localisation). La quantité de PCB stockés dans le sédiment et susceptibles d'être diffusés dans la colonne d'eau se décompose en deux fractions :

- une fraction négligeable, présente dans 0,2 mm du sédiment anoxique (recouvrant 17 km² de la surface du fond lacustre du Bourget¹⁷), d'environ 28 g,
- une fraction importante dans le sédiment bio-turbable (soit 30 mm sur une surface de 23 km²), d'environ 5500 g.

Le flux de PCB de l'eau interstitielle du sédiment à la colonne d'eau a été évalué par Fernandez et al. par un modèle de diffusion de Fick utilisant des mesures de concentration dans l'eau porale et l'eau de la baie de Paolo Verdes (USA) pour les PCB 101 et 153 (0,1 - 6 ng cm⁻² a⁻¹) et pour le PCB 52 (1 - 18 ng cm⁻² a⁻¹). Eek et al. ont quantifié le flux du PCB 52 dans le port d'Oslo (Norvège) en utilisant une chambre à flux benthique : 0,1 - 0,3 ng cm⁻² a⁻¹. Ces données conduisent à une estimation du flux de diffusion de la somme des 7 PCB_i dans le lac du Bourget compris entre 0,5 et 15 ng Σ_7 PCB_i cm⁻² a⁻¹. La masse annuelle de PCB_i diffusés vers la colonne d'eau par 23 km² de surface de sédiment varie de 115 à 3450 g.

La somme des concentrations des 7 PCB_i mesurées dans l'eau de surface est en moyenne égale à 0,3 ng.L⁻¹. Le stock dans la masse d'eau lacustre pourrait donc atteindre 1100g si la même concentration est présente dans toute la colonne d'eau. Ce stock correspondrait donc à une valeur plus probable de flux de diffusion depuis le sédiment égale à 13 ng Σ_7 PCB_i cm⁻² a⁻¹.

Les concentrations et flux (mesurés ou estimés) sont présentés synthétiquement sur la figure 7.

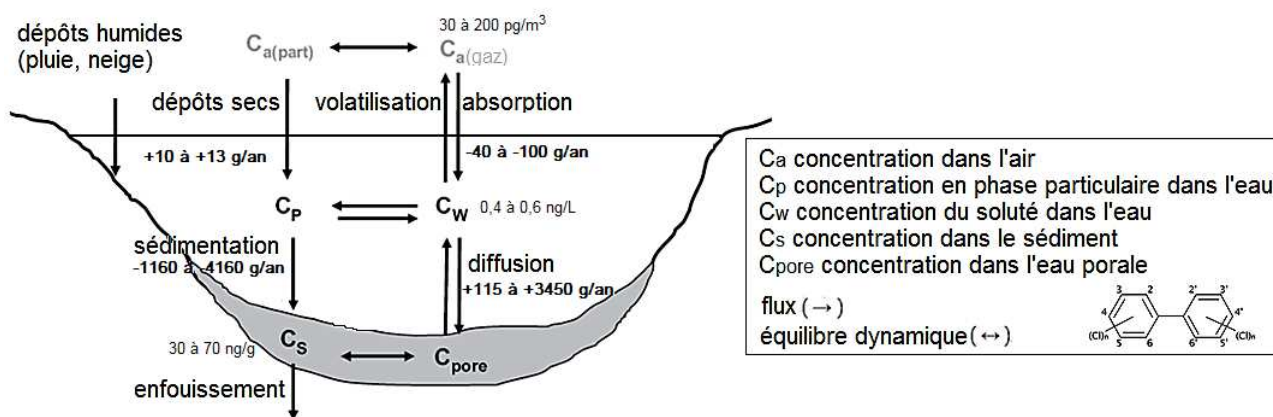


Figure 7 : concentrations et flux de Σ_7 PCB_i dans le lac du Bourget (2015-2016)

¹⁷ JP Jenny, Max-Planck-Institute for Biogeochemistry, Department Biogeochemical Integration, Jena (Germany), communication personnelle

3.4 Bilan de l'atténuation

Il est dès lors possible de réaliser un bilan de masse de la contamination du lac pour la période 2015-2016 (figure 8).

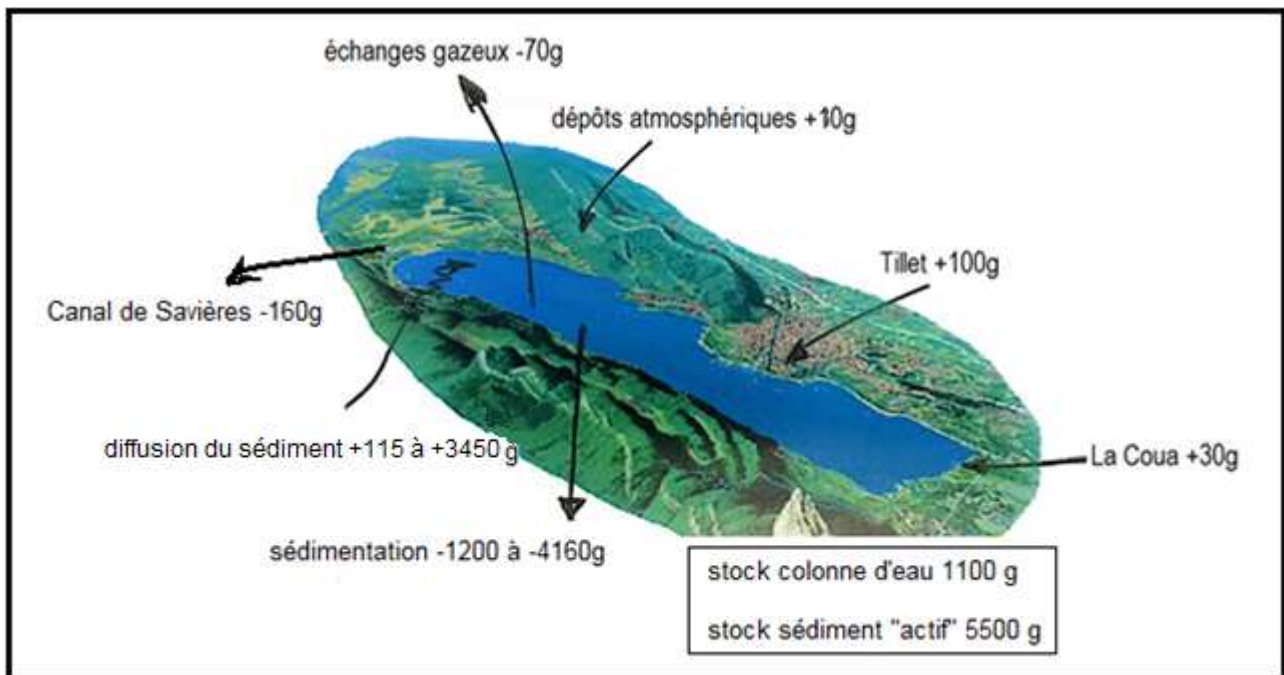


Figure 8 : bilan de masse moyen annuel (2015-2016)

Les PCB déposés depuis l'atmosphère et les apports des affluents contaminés (Tillet et canal de Terre-Nue) sont compensés par les flux sortants d'écoulement au Rhône via le Canal de Savières. Les flux de volatilisation et de sédimentation sont supérieurs au flux de diffusion depuis le sédiment. Toutefois le flux de sédimentation n'a été mesuré qu'en un point unique, proche de l'embouchure du Tillet dans le lac. Il peut donc être surestimé (d'un facteur 1,4 à 3,5) si l'on compare la concentration en $\Sigma 7\text{PCBi}$ mesurée dans le sédiment en ce point (70 ng/g) à celle du sédiment prélevé à distance de cet embouchure (comprise entre 20 et 50 ng/g). Le flux de diffusion est plutôt vraisemblablement compensé par les flux de volatilisation et de sédimentation. Cet équilibre dynamique tend à maintenir un stock constant de PCB dans la colonne d'eau lacustre (de l'ordre de 1100g) avec une concentration résultante de l'ordre de $0,3 \text{ ng}\Sigma 7\text{PCBi}\cdot\text{L}^{-1}$.

La concentration en PCBi dans la colonne d'eau restera voisine de cette valeur tant que le sédiment du lac ne sera pas recouvert d'une épaisseur suffisante (>3 à 5 cm) de matière particulaire faiblement contaminée. Pour cela, il est indispensable de diminuer les seuls intrants modulables (via les affluents Tillet et Terre-Nue). La volatilisation permettrait ainsi une réduction sensible de la concentration dans la colonne d'eau et par conséquent, une réduction de la contamination des particules susceptibles de s'accumuler dans le sédiment.

La diminution du flux de diffusion du sédiment qui s'ensuivra permettrait alors d'atteindre progressivement une concentration dans la colonne d'eau voisine de $0,1 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, valeur correspondant au critère de qualité de l'eau pour la protection de la vie sauvage dans les Grands Lacs (US EPA Great Lakes Wildlife Water Quality Standard = $7.4 \times 10^{-8} \text{ ppm}$). La date de retour à cette concentration dans l'eau du Lac du Bourget est difficile à prévoir en l'absence d'un modèle prévisionniste, mais ne sera vraisemblablement pas antérieure à 2025

si on compare avec le modèle LM2-Toxic¹⁸ utilisé par l'US-EPA pour prédire l'évolution de la teneur en PCB dans la colonne d'eau du lac Michigan (figure 8bis).

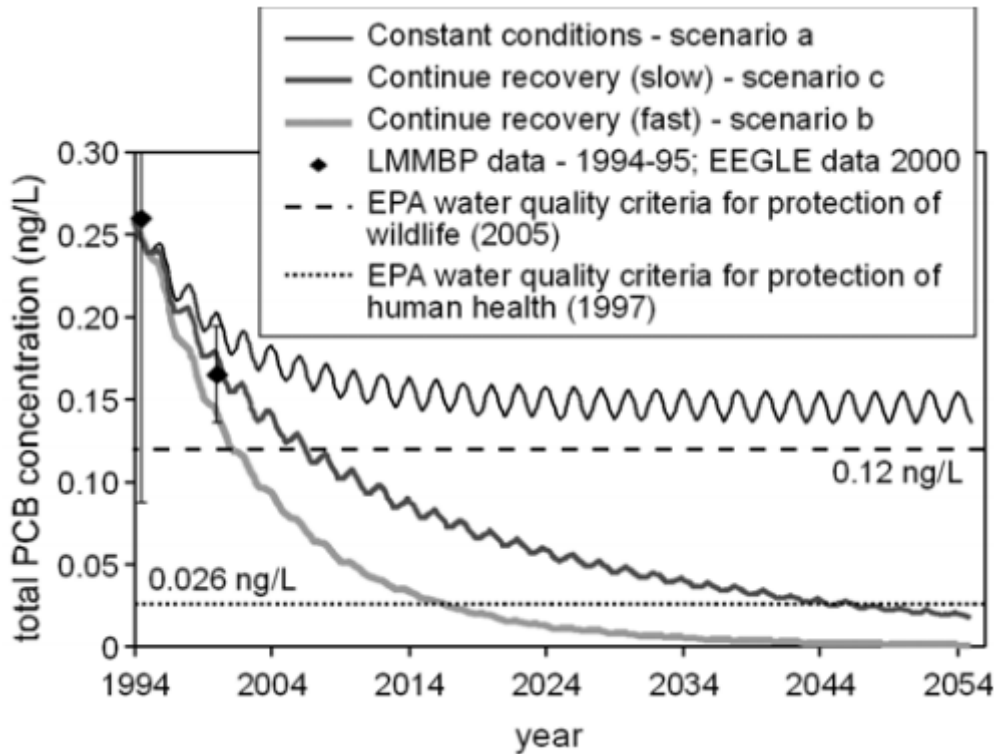


Figure 8bis : Différents scénarii d'évolution à long-terme de la concentration totale en PCB dans la colonne d'eau du Lac Michigan

¹⁸ Results of the Lake Michigan Mass Balance Project: Polychlorinated Biphenyls Modeling Report, EPA-600/R-04/167, December 2006, Ronald Rossmann, Editor

4 Contamination de la faune piscicole

4.1 Evolution de la contamination des poissons du Tillet et du lac du Bourget

Au cours du programme BIOSSED (financé par l'ARC Environnement de la région Rhône-Alpes¹⁹), la contamination des poissons du Tillet a été évaluée en essayant notamment d'échantillonner l'ensemble des espèces présentes par des pêches électriques à l'automne 2012. Au cours du projet RESTOLAC, les deux espèces les plus pêchées de poisson du lac ont fait l'objet de campagnes de capture au filet, au printemps et à l'automne (en 2015 et 2016). Ces différences de protocoles et d'objectifs expliquent les différences dans le nombre d'individus analysés par espèces (tableau 1).

Espèces	Blageon	Chevaïne	Goujon	Truite	Corégone	Omble
Moyenne (ng.g ⁻¹)	2959	659	5881	1227	81	193
Écart-type	1152	522	2671	563	91	156
n	10	6	11	5	97	64

Tableau 1 : moyennes et écarts-type des concentrations en PCB des poissons échantillonnés (n) entre 2013 et 2016 dans le Tillet et le lac du Bourget.

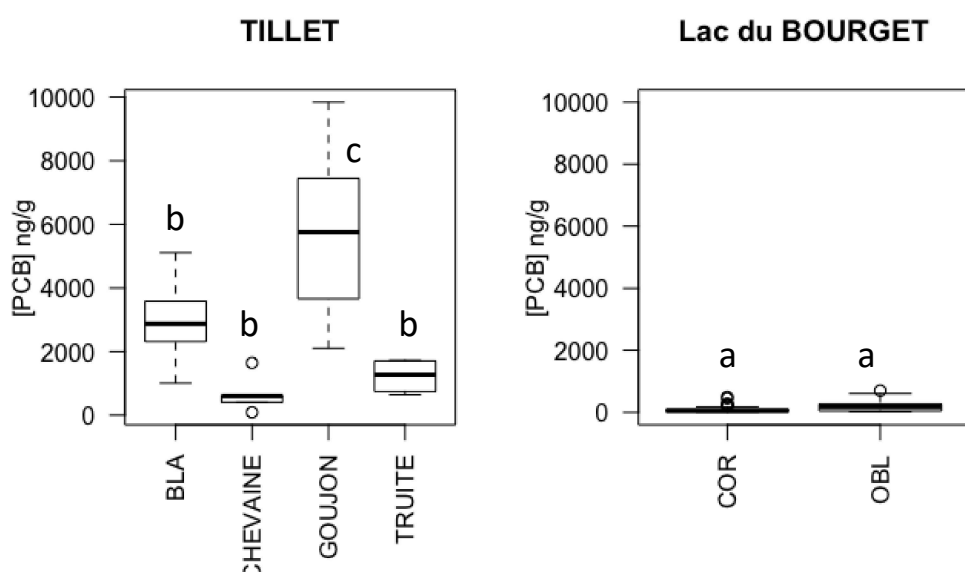


Figure 9 : Concentrations (médiane, 1^{er} et 3^{ème} quartile, et intervalle de confiance) en PCB par espèces pour les individus pêchés dans le Tillet et le lac du Bourget entre 2013 et 2016. (BLA=Blageon, COR=Corégone, OBL=Omble - les lettres indiquent des groupes de moyennes homogènes)

Dans l'ensemble, les poissons du Tillet sont plus contaminés que les espèces lacustres (tableau 1, figure 9). Les goujons sont de loin l'espèce la plus contaminée aux PCB, avec des concentrations de l'ordre de 6000 ng.g⁻¹, suivis des blageons (3000 ng.g⁻¹). Ces deux espèces ont été capturées en 2012, avant la restauration du Tillet. Chevaïne et truite présentent des contaminations 3 à 6 fois moindres. Toutefois, ces espèces ont été capturées uniquement en 2014, après la restauration du Tillet, et il n'est pas possible, à partir de ces

¹⁹ <http://www.arc3-environnement.rhonealpes.fr/projets/projets-2013/>

seules données, d'évaluer si leurs contaminations moindres découlent des processus d'imprégnation ou d'une diminution de la concentration de PCB dans le Tillet après la restauration. Enfin, quelle que soit l'année considérée, la contamination des espèces piscicoles est 7 à 100 fois plus faible dans le lac que dans le Tillet.

4.2 Mécanismes de contamination des espèces piscicoles

4.2.1 Bioaccumulation versus bioconcentration

La biodisponibilité des xénobiotiques (tels que les PCB) représente la capacité du polluant à être accumulé par les organismes vivant dans le milieu considéré. Dans un écosystème lentique, les PCB biodisponibles représentent donc la fraction de la quantité totale présente dans le système "sédiment bioturbé-colonne d'eau" qui peut être accumulée par le biote.

La bioaccumulation représente l'accumulation au cours du temps d'un composé chimique par un organisme, par toutes les voies d'exposition existantes dans son milieu naturel (alimentation et sources environnementales ambiantes). Ce processus est le résultat net de la compétition entre l'assimilation du composé par l'organisme (flux du milieu au biote) et son élimination (flux du biote au milieu) par voie respiratoire, fécale, dilution par la croissance ou métabolisation du composé d'origine (figure 10).

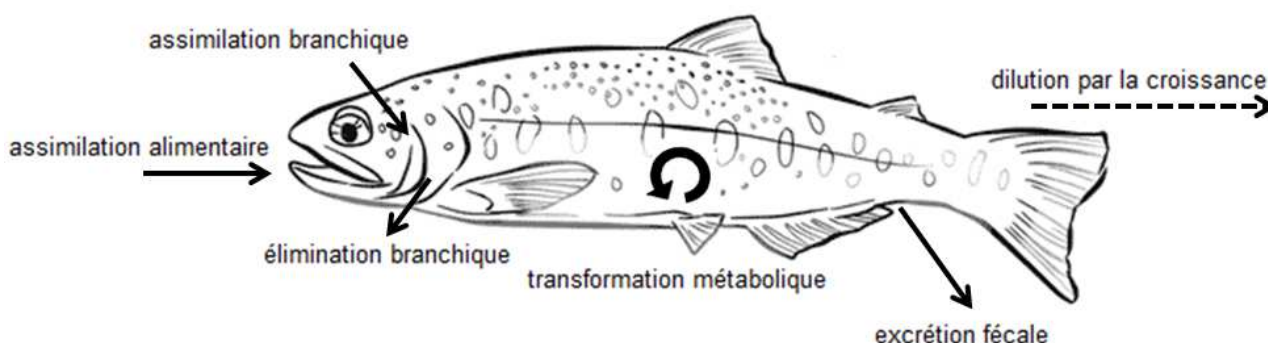


Figure 10 : représentation schématique des différents processus impliqués dans la contamination du poisson par des xénobiotiques hydrophobes

Le facteur de bioaccumulation (BAF en anglais) est calculé par le rapport entre la concentration d'un contaminant dans les tissus de l'organisme et sa concentration totale dans le milieu considéré :

$$BAF = C_B / C_{Mt}$$

avec C_B la concentration du composé dans l'organisme (g.kg^{-1}) et C_{Mt} la concentration totale du composé dans le milieu (en g.L^{-1} si milieu aquatique).

La bioconcentration est le processus d'accumulation des contaminants libres, dissous dans l'eau (c'est à dire les molécules non complexées par la MOD), par voies non alimentaires (absorption tégumentaire et branchique pour le poisson par exemple). Le facteur de bioconcentration (BCF en anglais) est le rapport de la concentration d'un contaminant dans un organisme donné et de sa concentration sous forme dissoute dans l'eau :

$$BCF = k_1 / k_2 = C_B / C_{Ed}$$

avec k_1 la constante de vitesse d'absorption tégumentaire ($\text{L.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$), k_2 la constante de vitesse d'élimination globale (d^{-1}), C_B la concentration à l'équilibre dans l'organisme vivant (g.kg^{-1}) et C_{Ed} la concentration à l'équilibre dans l'eau (g.L^{-1}). Si la molécule ne se métabolise pas, le BCF représente la solubilité relative du xénobiotique dans l'eau *versus* les tissus

organiques. Le BCF ne peut être déterminé qu'en conditions contrôlées de laboratoire, pour lesquelles l'exposition alimentaire au xénobiotique est volontairement exclue.

La bioamplification est le processus par lequel l'activité thermodynamique du composé chimique dans l'organisme est supérieure à celle dans son régime alimentaire. C'est donc une augmentation cumulative du composé chimique à mesure de la progression dans la chaîne trophique. Elle est exprimée par un facteur de bioamplification (BMF pour *biomagnification factor* en anglais), défini comme le rapport de la concentration du composé dans l'organisme sur celle dans son alimentation, à l'équilibre thermodynamique :

$$BMF = C_B / C_A$$

avec C_B la concentration dans l'organisme et C_A la concentration dans l'alimentation, exprimée en poids frais (pf ou ww pour *wet weight*) ou en poids sec (ps ou dw pour *dry weight*). Pour les substances lipophiles (tels que les PCB), il est fréquent de normaliser les concentrations par la teneur en lipides (lw pour *lipid weight*), le facteur de bioamplification devient alors :

$$BMF_{lw} = C_B(lw) / C_A(lw)$$

4.2.2 Relation entre la teneur en PCB dans la chair et composantes physiologiques et trophiques du poisson

L'objectif de ce volet est de documenter les processus contrôlant la contamination aux PCB des poissons, et notamment d'en expliquer la variabilité intra-spécifique et interannuelle.

Trois processus ont été explorés :

- le premier concerne l'accumulation des PCB dans l'organisme en l'absence de catabolisme. Théoriquement, l'accumulation conduit à une concentration en PCB croissante au cours de la vie du poisson. Les poissons ayant une croissance continue, on s'attend donc à une corrélation positive, au sein d'une même espèce, entre PCB et taille des individus. Cette accumulation devrait être plus marquée pour les congénères les plus lourds, les moins métabolisables.
- le second processus s'appuie sur l'hypothèse d'une contamination essentiellement par voie alimentaire et considère l'hétérogénéité de contamination des habitats. Ce processus devrait s'illustrer par une variabilité des concentrations en PCB des poissons en fonction de leur habitat alimentaire, ici estimé par leur $\delta^{13}C$ qui permet, au moins en milieu lacustre, de facilement distinguer habitats pélagiques, benthiques et littoraux. Dans le contexte du Tillet, les $\delta^{13}C$ permettent de mettre en évidence les individus qui occupent uniquement l'habitat lotique de ceux qui font des incursions dans les zones lacustres. Le temps de renouvellement isotopique étant relativement lent pour des poissons adultes, on s'attend à ce que leur composition isotopique musculaire révèle leur habitat trophique au cours des 2 dernières années. Ainsi, la corrélation entre $\delta^{13}C$ et PCB devrait là encore être plus marquée pour les congénères les plus lourds.
- le troisième processus, la bioamplification, implique une augmentation cumulative du composé chimique à mesure de la progression dans la chaîne trophique, et est observée généralement à l'échelle interspécifique. Théoriquement, le processus de bioamplification devrait aussi être observable au sein d'une même espèce, lorsque la population est composée d'individus trophiquement plastiques, comme dans le cas typique des ombles dont certains individus peuvent être plutôt consommateurs d'invertébrés benthiques tandis que d'autres seront piscivores. Dans le cas du lac du

Bourget, la plasticité trophique est aussi soupçonnée pour les corégones, dont certains individus seraient plus benthiques que d'autres. Pratiquement, la bioamplification s'illustre par une corrélation entre la concentration en PCB et la position trophique de l'individu/espèce dans la chaîne trophique. Le $\delta^{15}\text{N}$ des poissons capturés a été utilisé ici comme un estimateur de la position trophique relative des poissons (en l'absence de mesures des niveaux de base, très complexes dans le contexte du Lac du Bourget). Puisqu'en général un prédateur est plus grand que sa proie, la bioamplification devrait aussi conduire à une corrélation secondaire entre taille des individus et concentrations en PCB entre les espèces, notamment pour les congénères les plus lourds.

4.2.2.1 Rôle de la physiologie et de la trophie dans la contamination des poissons du Tillet

En dépit des différentes compositions spécifiques entre les deux années d'échantillonnage, on observe une corrélation négative significative de la teneur en PCB avec la taille des individus, ainsi que leur $\delta^{15}\text{N}$ pour la totalité des poissons du Tillet (figure 11, tableau 2). Si le nombre d'individus au sein de chaque espèce est peut-être trop limité pour valider cette corrélation négative de façon intra-spécifique, il reste néanmoins que cette observation va à l'encontre de l'hypothèse de bioamplification, les individus/espèces de plus grande taille étant moins contaminés. Il s'agit notamment de truites et de chevaines dont les $\delta^{13}\text{C}$ bas attestent d'incursions et d'alimentation fréquentes dans le milieu lacustre. A contrario, goujons et blageons montrent un $\delta^{13}\text{C}$ typique de rivière, où les niveaux de base en PCB sont plus élevés. Ainsi, la variabilité interspécifique et inter-individu de la contamination aux PCB dans le Tillet est régulée notamment par l'habitat trophique plutôt que par des processus de bioamplification.

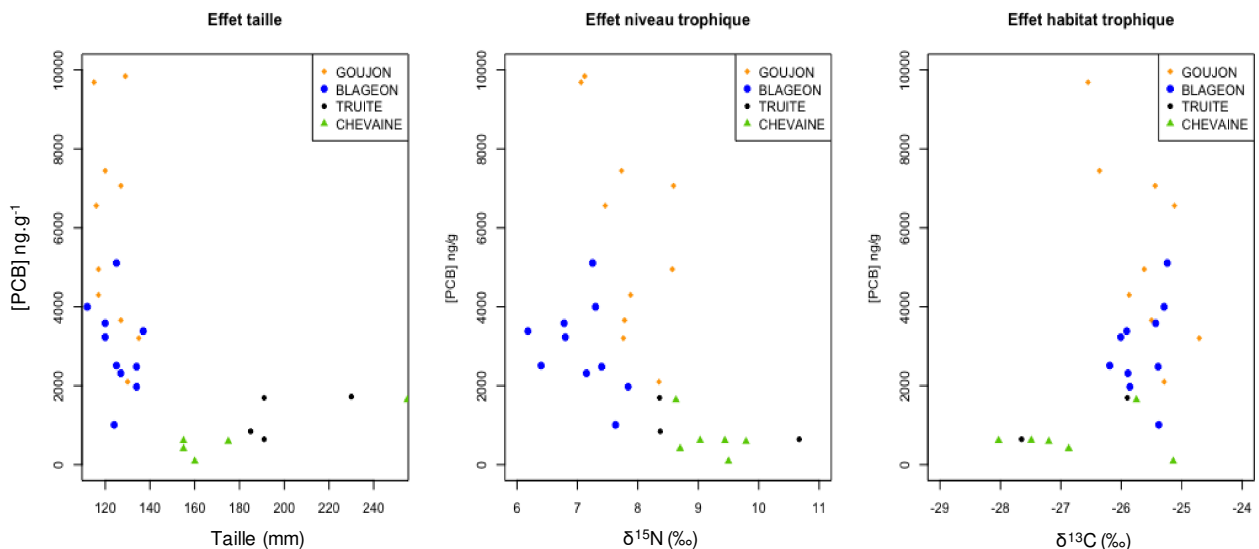


Figure 11 : Relations entre taille, estimateur de la position trophique ($\delta^{15}\text{N}$), estimateur de l'habitat trophique ($\delta^{13}\text{C}$) et la concentration en PCB des poissons pêchés dans le Tillet.

	Intraspécifique			Interspécifique
	BLAGEON	CHEVAINE	GOUJON	
Taille	$\rho=-0,36$ $p=0,29$	$\rho=-0,63$ $p=0,19$	$\rho=-0,43$ $p=0,2$	$\rho=-0,75$ $p=10^{-6}$
$\delta^{15}\text{N}$	$\rho=-0,46$ $p=0,17$	$\rho=-0,54$ $p=0,11$	$\rho=-0,53$ $p=0,2$	$\rho=-0,62$ $p=4.10^{-4}$
$\delta^{13}\text{C}$	$\rho=0,27$ $p=0,44$	$\rho=-0,37$ $p=0,49$	$\rho=-0,28$ $p=0,42$	$\rho=-0,40$ $p=0,02$

Tableau 2 : Corrélations entre taille, estimateur de la position trophique ($\delta^{15}\text{N}$), estimateur de l'habitat trophique ($\delta^{13}\text{C}$) et la concentration en PCB des poissons pêchés dans le Tillet. *Les corrélations ont été calculées au sein même des espèces (sauf pour les truites dont le nombre d'individus était trop faible) et en inter-spécifique en incluant la totalité des individus capturés.*

4.2.2.2 **Rôle de la physiologie et de la trophie dans la contamination des poissons du lac du Bourget**

Contamination spécifique et interannuelle

Ombles et Corégones sont les deux espèces de plus grand intérêt piscicole dans le lac du Bourget. Les concentrations de PCB mesurées sur les deux espèces entre 2013 et 2016 attestent à la fois de différences entre espèces ($F=11,16$ $p=0,001$) et entre années ($F=8,92$ $p=0,003$). Les ombles sont significativement plus contaminés que les corégones (figure 12). Il existe une variation significative des concentrations en PCB dans les corégones entre années, ceux capturés en 2016 étant significativement plus contaminés. La standardisation des concentrations en PCB aux contenus en lipides atteste toutefois que ces différences apparentes résultent d'un biais d'échantillonnage, les individus capturés en 2016 étant significativement plus gras que pour les deux années précédentes. Une fois standardisées au taux de lipides, les concentrations en PCB des corégones sont comparables entre les trois années (figure 8). Pour les ombles, les différences de concentrations interannuelles sont significatives tant sur les valeurs brutes que standardisées. Dans la suite, seules les valeurs standardisées seront considérées.

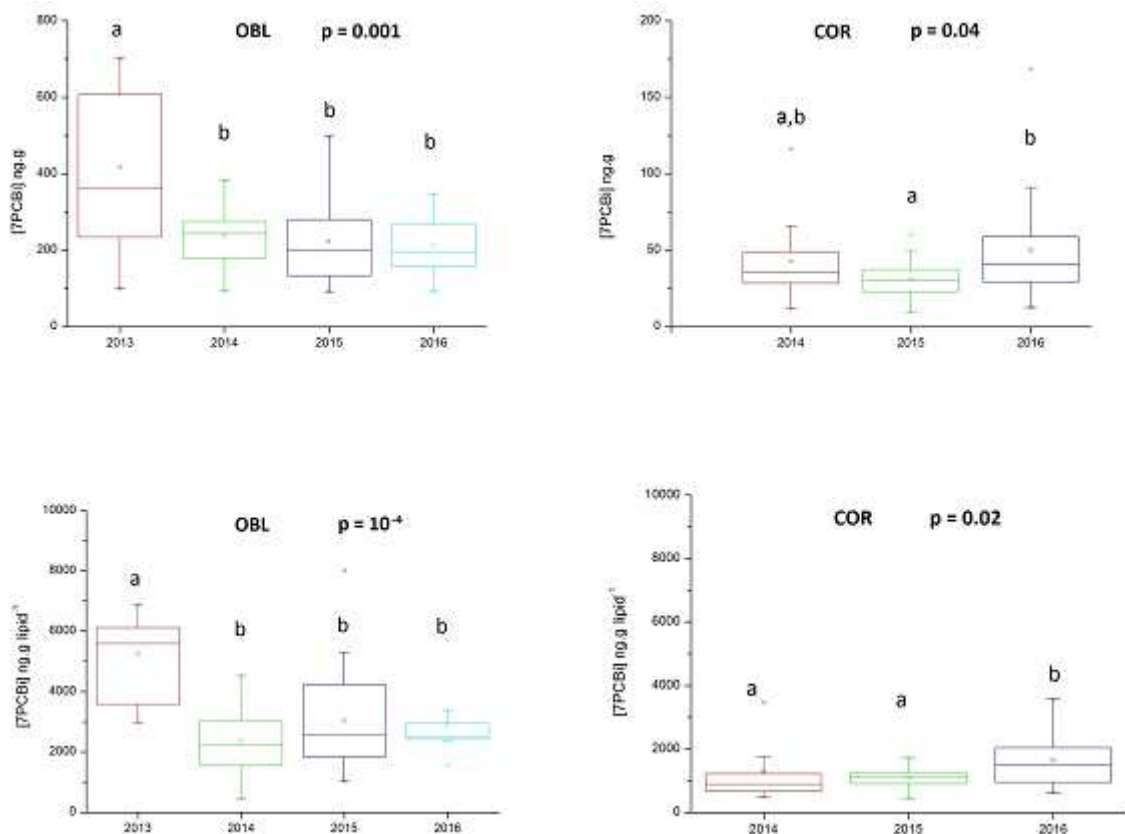


Figure 12 : Variations interannuelles des concentrations en PCB brutes (haut) et standardisées au taux de lipides (bas) des corégones (COR) et ombles (OBL) capturés dans le lac du Bourget entre 2013 et 2016.

Plasticité trophique des ombles et des corégones

Toutes années confondues, le $\delta^{13}\text{C}$ des ombles du lac du Bourget varie sur une large gamme de valeurs (de -35 à -31‰ , figure 13), qui recouvre les lignes de base pélagiques (zooplancton), littorales et benthiques. Les ombles du lac du Bourget sont donc capables de s'alimenter sur ces trois habitats, avec une préférence individuelle assez forte. Il existe toutefois une variabilité des $\delta^{13}\text{C}$ moyens entre années ($p=0,002$), probablement due à des différences dans les zones de pêche. En 2016 notamment ($\delta^{13}\text{C}$ les plus élevés), les individus ont pour la plupart été capturés à des profondeurs $<20\text{m}$, près du bord. Cette plasticité d'habitats trophiques se retrouve aussi, mais dans une moindre mesure, pour les corégones, dont les $\delta^{13}\text{C}$ recouvrent les habitats littoraux (consommation d'invertébrés) et pélagiques (consommation de zooplancton).

Les ombles ont un $\delta^{15}\text{N}$ plus élevé de 2‰ (pour les individus pélagiques) à $3,5\text{‰}$ (pour les individus littoraux) que les corégones, confirmant leur statut piscivore, plus marqués pour les individus littoraux. Au contraire, les individus pélagiques et par extension plus benthiques, occuperaient des positions plus basses dans la chaîne trophique.

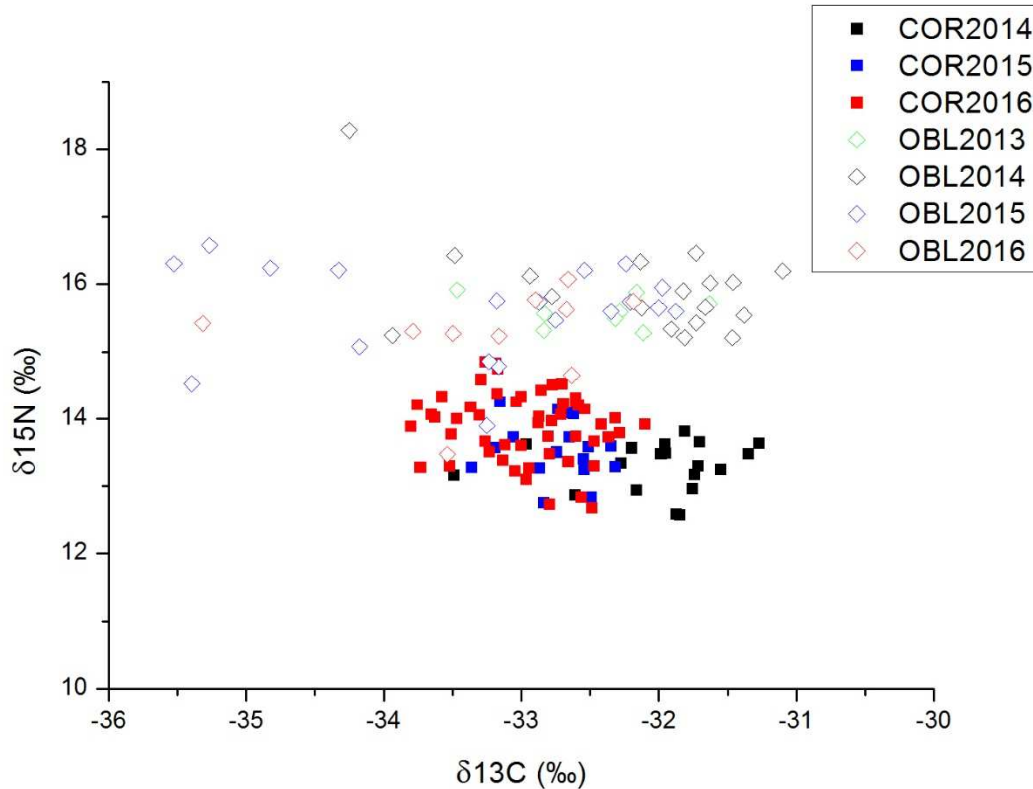


Figure 13 : Bi-plan isotopique des populations d'ombles et de corégones du lac du Bourget.

Facteurs de variabilité des PCB chez les corégones

Seule la taille explique une fraction de la variabilité individuelle et interannuelle de la concentration standardisée en PCB totaux chez les corégones du lac du Bourget, même si le pourcentage de variabilité expliquée reste faible (figure 14).

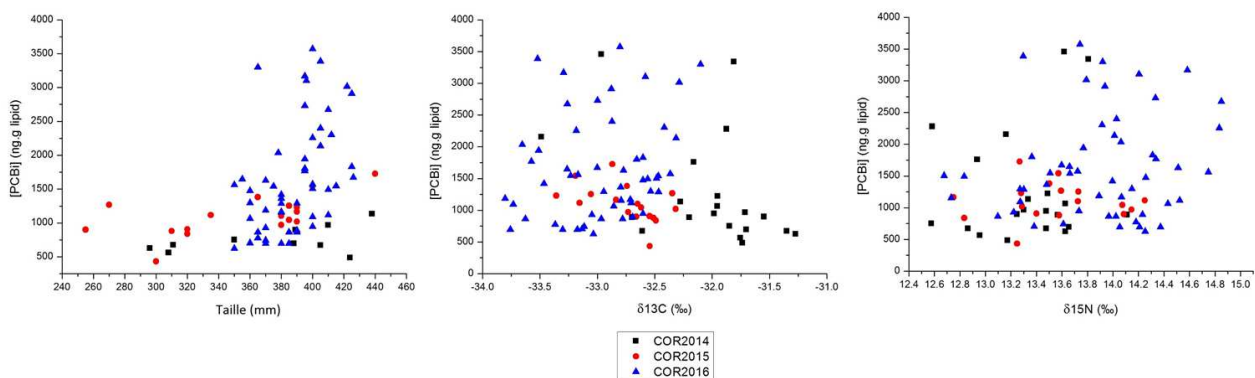


Figure 14 : Relations de la concentration en PCB (standardisée au taux de lipides) des corégones avec la taille de l'individu, le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$

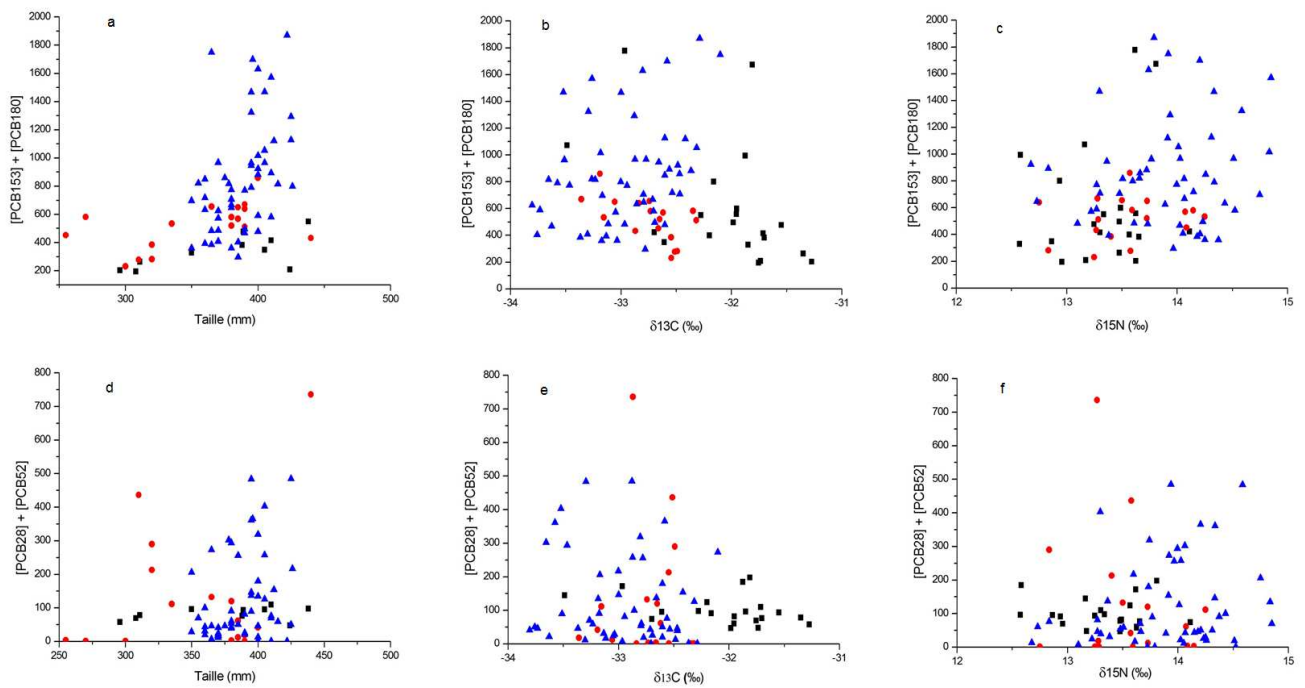


Figure 15 : Relations de la concentration standardisée en congénères lourds (PCB 180 et PCB 153, a,b,c) et en congénères légers (PCB 28 et PCB 52, d,e,f) avec la taille (a,d) individuelle, le $\delta^{13}\text{C}$ (b,e) et $\delta^{15}\text{N}$ (c,f) des corégones

Ce pourcentage de variabilité inter-individu expliquée reste similaire lorsque l'analyse est recentrée sur les congénères lourds (figure 15). La taille individuelle apparaît comme un paramètre explicatif significatif de la variabilité des concentrations en congénères lourds. Aucun paramètre n'explique significativement la variabilité des concentrations en congénères légers.

En définitive, l'habitat trophique est le paramètre dominant, parmi ceux que nous avons testé, qui dirige la variabilité entre individus et entre années de la concentration en PCB des corégones du lac du Bourget. Les corégones les plus pélagiques sont deux fois plus contaminés en PCB que les corégones littoraux, et cette relation est confirmée par l'observation des PCB lourds. Ces congénères s'accumulent d'ailleurs chez les individus les plus grands et les plus âgés, sans qu'il n'y ait d'inter-corrélation entre taille et habitat trophique des individus ($\rho = -0.15$, $p = 0,15$). Quelle que soit l'échelle d'observation, l'absence de corrélation entre taux d'imprégnation PCB et $\delta^{15}\text{N}$ des individus suggère que la bioamplification ne joue pas un rôle important dans la contamination des corégones du lac du Bourget.

Au total, seulement 10% de la variabilité interindividuelle en PCB des corégones peut être expliquée par l'hypothèse trophique, suggérant que la bioconcentration pourrait jouer un rôle important dans la contamination.

Facteurs de variabilité des PCB chez les ombles

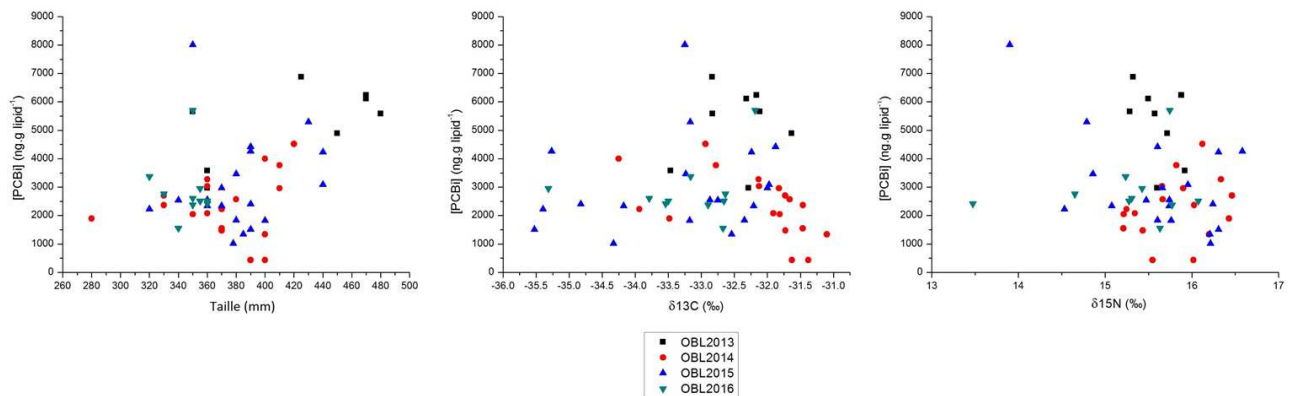


Figure 16 : Relations entre la concentration standardisée en PCB des ombles avec leur taille individuelle, $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$

Aucun des paramètres testés n'explique significativement la variabilité interannuelle et inter-individu de l'imprégnation aux PCB des ombles. Il existe une relation entre [PCB] et taille des individus mais, après une observation plus fine de l'analyse de covariance, il s'avère que cette relation découle plutôt de différence en tailles moyennes des individus capturés entre les années ; en 2013, avant la restauration du Tillet, 3 des 5 ombles capturés étaient parmi les plus grands de l'ensemble de l'échantillonnage. Séparer les observations entre congénères lourds et légers n'améliore pas la compréhension des processus de variabilité.

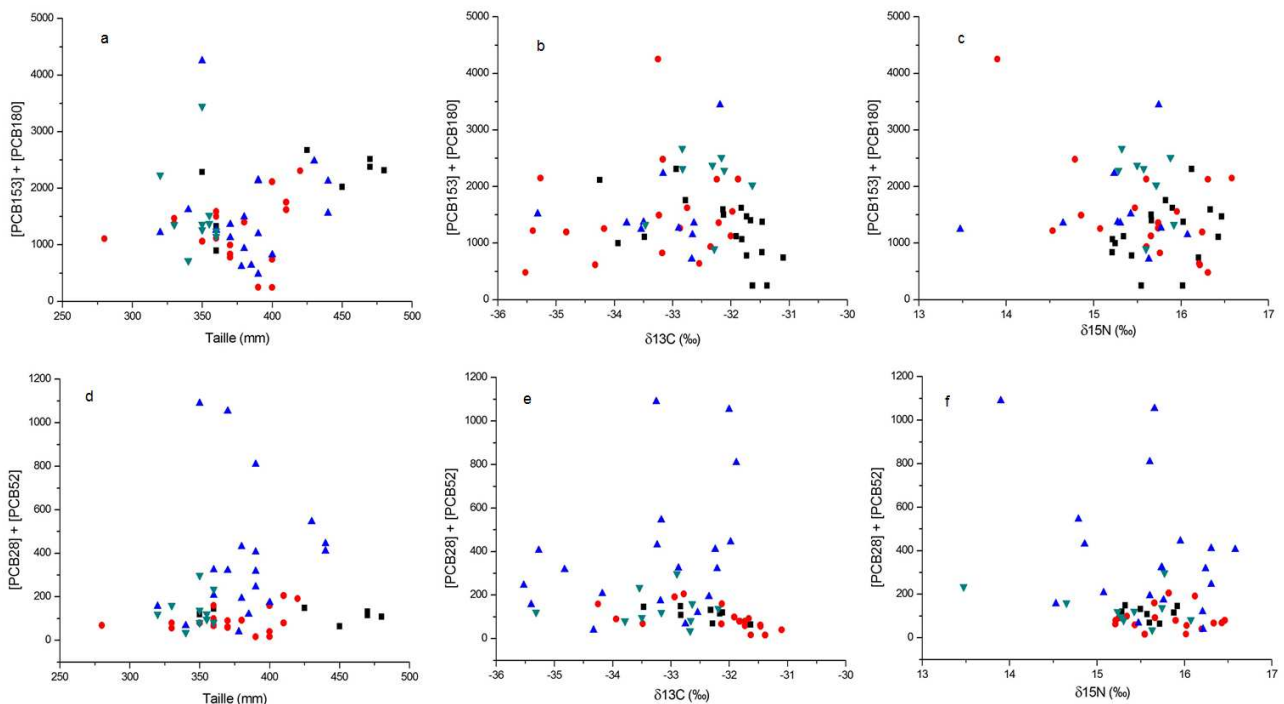


Figure 17 : Relations de la concentration standardisée des ombles en congénères lourds (PCB 180 et PCB 153, a,b,c) et en congénères légers (PCB 28 et PCB 52, d,e,f) avec leur taille individuelle (a,d), $\delta^{13}\text{C}$ (b,e) et $\delta^{15}\text{N}$ (c,f)

En définitive, que ce soit pour les espèces du Tillet ou les espèces lacustres, on note que les paramètres trophiques n'expliquent pas, sinon peu, les variabilités interspécifiques ou

interindividuelles des [PCB]. Si l'habitat trophique (et donc son niveau de contamination de base) contribue quelque peu à expliquer les [PCB] des espèces du Tillet, ainsi que des corégones, la variabilité expliquée reste faible. La bioamplification ne semble pas jouer un rôle important dans le contexte étudié. La contamination des poissons du système lac-Tillet semble plus clairement contrôlée par des processus non trophiques.

4.3 Relation entre la contamination de l'eau et l'imprégnation aux PCB des Ombles

Il est possible d'établir une relation entre la concentration dans l'eau et la concentration dans les espèces piscicoles, indépendamment de la nature des mécanismes d'imprégnation de l'organisme aquatique, à partir du facteur de bioaccumulation (BAF exprimé en L/kg) :

$$C_p = \text{BAF} \times C_e$$

avec C_p la concentration de PCB dans l'espèce piscicole considérée (mg/kg) et C_e la concentration totale en PCB dans l'eau (mg/L).

Pour une concentration moyenne dans les ombles du Lac du Bourget égale à 193 ng/g et une concentration moyenne dans l'eau égale à 0,3 ng/L, le logarithme du facteur de bioaccumulation ($\log\text{BAF}$) vaut 5,8.

La concentration dans la colonne d'eau devra donc être inférieure à 0,2 ng/L pour que la chair de l'omble respecte la valeur seuil européenne de 125 ng/g. Cette concentration moyenne est difficilement mesurable, compte tenu de sa variabilité saisonnière et spatiale (épilimnion versus hypolimnion) et des volumes d'échantillon nécessaires compte tenu des limites de quantification analytique. Le recours à l'écotoxicologie peut constituer une méthode efficace de développement de bio-indicateurs de la contamination de l'écosystème.

5 Bio-indication de la contamination d'un écosystème lacustre

5.1 *Elaboration d'outils écotoxicologiques de bio-indication pour le suivi des PCB*

Le diagnostic de la qualité des milieux aquatiques et l'évaluation de l'impact de l'émission de contaminants sur leur état écologique, mais également le suivi des effets de la restauration des écosystèmes, imposent de caractériser les milieux sur la base de mesures chimiques et de critères biologiques. En complément aux approches chimiques (i.e. identification des sources et devenir de contaminants) et biocénologiques utilisées dans un cadre réglementaire, l'écotoxicologie propose de nombreux outils sous la forme de biotests, le plus souvent à l'échelle sub-individuelle et individuelle, permettant dans une approche intégrée de renforcer le diagnostic de la qualité chimique des milieux aquatiques (Schmitt-Janssen et al., 2008). Les biotests permettent d'évaluer le potentiel de bioaccumulation des contaminants présents dans les milieux ainsi que le potentiel toxique de compartiments environnementaux (i.e. eaux et sédiments). Cette évaluation peut se faire soit dans des conditions contrôlées ex-situ au laboratoire (i.e. identiques pour tous les échantillons prélevés), soit lors d'expérimentations in-situ à l'aide de systèmes permettant d'exposer les organismes directement sur le terrain dans des conditions semi-contrôlées (i.e. exposition en fonction des conditions environnementales ambiantes fluctuantes). L'utilisation de ces différentes approches doit permettre au final de garantir que les effets observés résultent uniquement de la présence de contaminants biodisponibles. Ces approches doivent aussi permettre de suivre l'évolution des contaminations dans l'espace et dans le temps tout en permettant une comparaison simple et répétable des résultats.

Dans le cadre du programme RESTOLAC, nous avons donc cherché d'une part à mieux préciser la relation entre la pollution du milieu par les PCB et la contamination des organismes aquatiques et d'autre part à suivre les effets de la restauration du Tillet sur la contamination aux PCB dans le lac du Bourget par la mise au point d'approches spécifiques utilisant des outils in-situ et ex-situ. Ces approches ont été développées pour suivre l'exposition aux matières en suspension et aux sédiments contaminés en place, d'organismes benthiques représentatifs du bol alimentaire des poissons du lac. L'organisme utilisé dans cette étude était la larve de l'espèce *Chironomus riparius*.

5.2 *Choix du chironome comme espèce indicatrice*

Les PCB se concentrent dans les matières en suspension et les sédiments et peuvent donc affecter les communautés d'invertébrés benthiques. Ces derniers fournissent des fonctions écologiques essentielles telles que la décomposition et le recyclage des nutriments et par ailleurs constituent une source importante de nourriture pour des niveaux trophiques supérieurs tels que les poissons (Covich et al., 1999).

Parmi les différents organismes représentatifs de la diversité des communautés naturelles d'invertébrés benthiques dans les lacs, les espèces de la famille des Chironomidae (insecte, diptère) constituent des modèles de choix pour l'étude de la qualité des sédiments et des liens avec les niveaux trophiques supérieurs (Armitage et al., 1995). En effet, organismes ubiquistes et généralement en abondance élevée, leur cycle de vie holométabole se caractérise par trois phases aquatiques de développement (l'œuf, la larve, la puppe) suivies d'une émergence bimodale vers le compartiment aérien où les adultes se reproduisent. C'est au cours de leur stade larvaire, représentant la majeure partie de leur cycle de vie, que les chironomes seront directement en contact avec le sédiment et les matières fraîches en suspension qui sédimentent. Se nourrissant de la matière organique présente dans ce

système particulière, et pouvant représenter une forte proportion du bol alimentaire pour certaines espèces de poissons lacustres, ils peuvent donc constituer un vecteur de contamination important en PCB pour les poissons (Babut et al., 2017).

Certaines espèces comme *Chironomus riparius* ou *Chironomus dilutus* sont déjà largement utilisés dans des approches écotoxicologiques (Diepens et al., 2014). Les méthodes d'élevage sont bien connues. Les traits de vie caractérisant leur cycle sont facilement mesurables et peuvent être modélisés (Péry et al., 2002 ; Ferrari et al., 2017). Ces espèces font parties des organismes recommandés pour être utilisés au laboratoire dans des biotests standardisés pour évaluer les impacts potentiels sur les écosystèmes aquatiques des contaminants associés aux sédiments, à la fois dans des approches d'évaluation rétrospective (e.g. AFNOR, 2010) et prospective des risques (e.g. OECD, 2010). Par ailleurs, bien que les approches ne soient pas standardisées, ces espèces sont également utilisées pour évaluer la biodisponibilité et la bioaccumulation des métaux (Dabrin et al., 2012) et des substances organiques comme par exemple les composés perfluorés (Bertin et al., 2014) et les PCB (Sidney et al., 2016).

L'intérêt porté pour ce modèle au laboratoire a également suscité son utilisation dans des approches d'encagement in situ pour évaluer la qualité des sédiments. Des tests ont été développées pour mesurer différents traits biologiques comme par exemple la survie (Crane et al., 2000), l'activité comportementale (de Bisthoven et al., 2004), les déformations du mentum (Meregalli et al., 2000), la croissance (Sibley et al., 1999 ; Ferrari et al., 2014), l'alimentation (Soares et al., 2005) et l'émergence (Leppänen et al., 2006 ; Ferrari et al., 2017), mais également pour mesurer la bioaccumulation des métaux (Bervoets et al., 2004 ; Ferrari et al., 2014) et des contaminants organiques (e.g. PFOS, Babut et al., 2016 ; PCB, Casado-Martinez et al., 2016). Par ailleurs, des larves de *C. riparius* encagées in situ ont été également utilisées avec succès pour prédire la concentration de substances prioritaires de la directive 2013/39/UE dans les poissons à l'aide de facteurs d'amplification trophique (TMF) (Babut et al., 2016).

5.3 **Exposition des chironomes encagés dans le Tillet et le lac du Bourget**

5.3.1 Méthode :

L'intégration d'outils écotoxicologiques *in-situ* pour suivre l'impact du compartiment particulière dans l'évaluation de la qualité des écosystèmes lenticques reste encore peu explorée (Ferrari et al., 2014). Dans cette partie, l'objectif était de tester une approche permettant de mesurer la bioaccumulation des PCB dans les chironomes exposés soit uniquement à la matière en suspension (MES) qui transitait dans l'écosystème, soit à l'ensemble « MES et sédiment ». Les deux types d'exposition devaient renseigner sur le fonctionnement du système et permettre le suivi dans le temps des concentrations bioaccumulables de PCB au lac. Au cours de l'année 2012, avant la restauration du Tillet, la méthodologie a été répétée totalement (exposition aux MES et aux sédiments) ou partiellement (exposition aux MES) sur plusieurs sites dans le lac (Figure 18, sites Delta sous influence du Tillet et Rowing hors influence du Tillet) et le Tillet lui-même dans sa partie aval (Figure 18, site Dreal) en fonction des saisons afin de prendre en compte l'influence de la température. Par la suite, après la décontamination du Tillet, un suivi a été réalisé sur les MES uniquement dans le nouveau lit de l'affluent.

Le protocole utilisé était inspiré de celui décrit par Ferrari et al. (2014) et repris en partie dans Babut et al. (2016). Brièvement, des larves de chironomes provenant d'un élevage sont élevées jusqu'au début du stade IV. Vingt-quatre heures avant l'obtention de la bonne taille des chironomes et avant le début de leur exposition sur le terrain, 8 chambres d'exposition (cages) sécurisées dans une caisse ajourée sont déployées sur le site investigué afin qu'elles puissent s'équilibrer préalablement avec le milieu. Chacune des cages correspondent à des récipients en polypropylène de contenance 1000 mL avec 2 ouvertures, sur le côté et sur le couvercle, fermées par un tamis de maille 0,3 mm. Pour l'exposition uniquement à la matière en suspension, 4 cages sont remplies avec du sable de Fontainebleau (diamètre 150-200 μm) sur ≈ 1 cm d'épaisseur. De cette manière, chacune des cages joue le rôle d'une petite trappe à MES, les particules transitant dans chacune des cages et venant sédimenter à la surface du sable. Cette MES est alors disponible comme nourriture pour les chironomes. Pour l'exposition au sédiment et à la MES, les 4 autres cages sont remplies sur ≈ 1 cm d'épaisseur avec le sédiment du site préalablement échantillonné à l'aide d'une benne de type Van Veen et tamisé à 2 mm. De cette manière, l'encagement des chironomes au contact du sable non-contaminé permet de déterminer la part de la bioaccumulation dû à l'adsorption/absorption de PCB dans la colonne d'eau (matières en suspension et dissous) par rapport à celle du sédiment (cage contenant le sédiment).

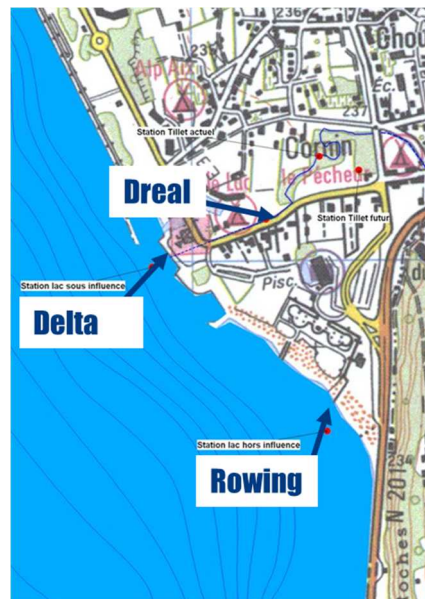


Figure 18 : Stations investiguées avant la restauration du Tillet pour évaluer la bioaccumulation des PCB dans les larves de *Chironomus riparius* exposés aux MES et aux sédiments.

Le jour du début de l'exposition, environ 800 chironomes sont répartis dans 8 piluliers et transportés sur le site en glacière réfrigérée. A ce stade, 4 piluliers sont utilisés pour implanter les chironomes dans les 4 cages contenant le sable, et les 4 autres dans les cages contenant le sédiment. Après ajout de nourriture *ad libitum* (1 mg.jr⁻¹ par larve, de Tetramin ® broyée), les caisses sont disposées au fond de la rivière du Tillet ou bien à mi-hauteur dans la colonne d'eau du lac (Figure 19). La température de l'eau est relevée, afin d'estimer la durée de l'encagement (≤ 1 semaine). Une visite à J+2 est opérée pour nourrir les chironomes en fonction du temps d'exposition restant (Ferrari *et al.*, 2014). Le temps

d'exposition varie entre 5 et 7 jours en fonction de la température du site. Ces temps d'exposition ont été choisis en fonction de l'influence de la température sur le cycle de vie (Péry et Garric, 2006) afin que les chironomes exposés soient toujours dans une phase de croissance avant la pupation et que la masse finale par individu soit du même ordre de grandeur. Idéalement, au jour de déploiement des caisses, si la température du site est supérieure à 17°C, le temps d'exposition est ajusté au maximum à 5 jours. Pour une température inférieure à 17°C, le temps d'exposition est alors ajusté à 7 jours. Au terme de la période d'exposition, les caisses sont retirées, et les dispositifs ramenés au laboratoire, où les chironomes sont récupérés par tamisage à 0,5 mm, comptés, rassemblés par condition (exposition MES ou exposition sédiment), pesés et congelés, avant de suivre la procédure d'extraction et d'analyse des PCB (annexe 2). Parallèlement un lot d'environ 400 chironomes témoin (T0) est préparé selon le même protocole que les chironomes encagés au début de chaque exposition.



Figure 19 : Exemple de cage (A) et disposition des systèmes dans le lac du Bourget (B)

5.3.2 Résultats et discussion :

Deux campagnes d'encagement ont eu lieu en juillet et en novembre 2012. Ces campagnes devaient permettre d'une part de faire le point sur le degré d'imprégnation du lac et du Tillet en PCB à différentes saisons, avant la restauration du lit du Tillet, et d'autre part de comparer les modes d'exposition aux MES et aux sédiments.

La figure 20 compare les résultats obtenus pour les 2 modes d'exposition lors des encagements réalisés en juillet (Figure 20A) et en novembre (Figure 20B) lorsque les températures correspondaient respectivement en moyenne à $21 \pm 1^\circ\text{C}$ et $14 \pm 1^\circ\text{C}$ sur l'ensemble des sites investigués. La comparaison des concentrations de la somme des 7 PCB_i dans les larves de chironomes avant exposition (T0) et après exposition montrent que les chironomes se sont enrichis en PCB lors des expositions. De plus, la moyenne du poids frais (p.f.) par larve de chironome obtenue en fin d'exposition pour l'ensemble des conditions testées était de $5,1 \pm 0,8$ mg, soit correspondant à un coefficient de variation d'environ 15%. La prise en compte de la biologie de *C. riparius* pour élaborer un protocole d'ajustement du temps d'exposition en fonction de la température du site (5 jours si $T > 17^\circ\text{C}$

et 7 jours si $T < 17^{\circ}\text{C}$) a donc permis d'obtenir des masses fraîches individuelles homogènes et comparable entre les différentes saisons et les différents sites. Ce protocole est donc robuste et permet de faciliter les comparaisons entre les sites et les saisons d'un point de vue de la concentration en PCB dans les larves.

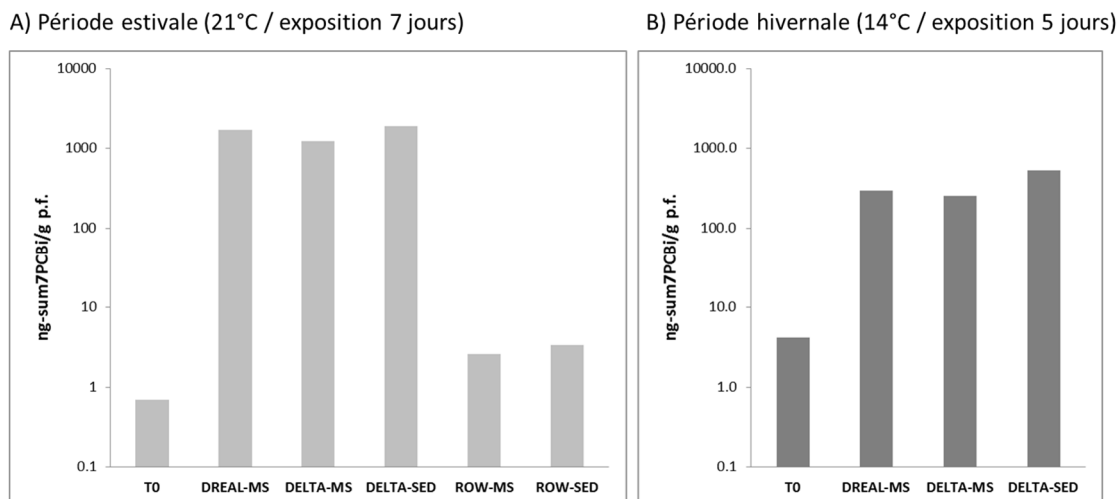


Figure 20 : Exposition des systèmes d'encagement dans le Tillet et dans le lac du Bourget pendant la période estivale (A) et la période hivernale (B). Les différents sites sont identifiables dans la figure 1. Les TO correspondent aux concentrations de la somme des 7 PCBi dans les larves de chironomes avant exposition.

Le site DELTA sous influence du Tillet montre des concentrations de la somme des 7 PCBi dans les chironomes très supérieures ($\times 450$ à 550) à celles observés sur le site ROW hors influence du Tillet. Les concentrations obtenues sur le site ROW montre par ailleurs une très faible contamination puisqu'elles sont équivalentes à celle du TO. Cette comparaison permet de mettre en évidence l'intérêt de la méthode d'encagement pour le traçage de la contamination en PCB biodisponibles pour les chironomes, et cela quel que soit le mode d'exposition (MES seules *vs* sédiments). Les résultats montrent également l'intérêt du système d'exposition aux MES seules. Il apparaît d'un point de vue dynamique que les chironomes s'enrichissent de manière importante en PCB liés aux MES fraîches transportées dans la rivière qui sédimentent dans les cages. En effet, les concentrations de la somme des 7 PCBi dans les chironomes exposés aux MES seules, bien qu'inférieures, sont du même ordre de grandeur que celles dans les chironomes exposés également aux sédiments, quel que soit le site (par ex., $1238 \text{ ng-7PCBi/g p.f.}$ pour DELTA-MS *vs.* $1910 \text{ ng-7PCBi/g p.f.}$ pour DELTA-SED). Ces résultats sont à relier au mode d'alimentation de *C. riparius* qui se nourrit principalement des matières en suspension fraîchement déposées sur une couche pouvant atteindre 2 mm d'épaisseur (Ferrari et al., 2017 et références citées). Au contraire, l'exposition aux sédiments en même temps que les MES rend compte de la contamination historique du site considéré. Dans ce cas, puisque les concentrations sont à chaque fois supérieures à celles des chironomes exposés uniquement aux MES, les larves se contaminent à la fois par les MES qui se déposent et aux sédiments du site.

Par ailleurs, compte tenu des niveaux équivalents de concentrations observés sur le site DREAL et le site DELTA, les MES qui transitent dans le Tillet (site DREAL-MS) se retrouvent

au niveau de l'embouchure du Tillet dans le lac (DELTA-MS) ainsi que dans les sédiments (DELTA-SED). Ce patron d'exposition peut s'observer pour les 2 saisons testées mais dans des niveaux de concentrations plus faibles lorsque les températures des sites chutent d'environ 7°C. Ces résultats témoignent de l'importance de la température d'exposition sur la physiologie des organismes et donc sur les processus de bioaccumulation des PCB dans les organismes (Landrum et al., 2001). L'influence de la température sur la bioaccumulation est difficile à prendre en compte dans de telles approches utilisant l'encagement d'organismes. Même si le temps d'exposition biologique est privilégié pour permettre de meilleures comparaisons entre les différents sites, dans le cas des PCB et du système Tillet-Lac du Bourget, il est recommandé de pouvoir faire des suivis saisonniers à différentes températures afin d'améliorer le diagnostic d'évolution des tendances de la contamination.

La figure 21 résume l'évolution temporelle des concentrations de la somme des 7 PCB_i dans les larves de chironome encagées dans les systèmes d'exposition aux MES seules sur le site DREAL. Deux périodes peuvent être distinguées et concernent les expositions avant et après la période de restauration du Tillet. Le suivi des concentrations en PCB dans les chironomes encagés après la dépollution du Tillet n'a été réalisé qu'en novembre 2014 afin que les analyses ne soient pas influencées par les travaux et la période de stabilisation du nouvel écosystème. Le choix de suivre la contamination des MES au point DREAL (aval du Tillet) devait permettre de renseigner sur ce qui pouvait sortir du système restauré et éventuellement rejoindre le lac, bien que le nouveau port à barques fasse office de véritable bassin de décantation en amont du lac.

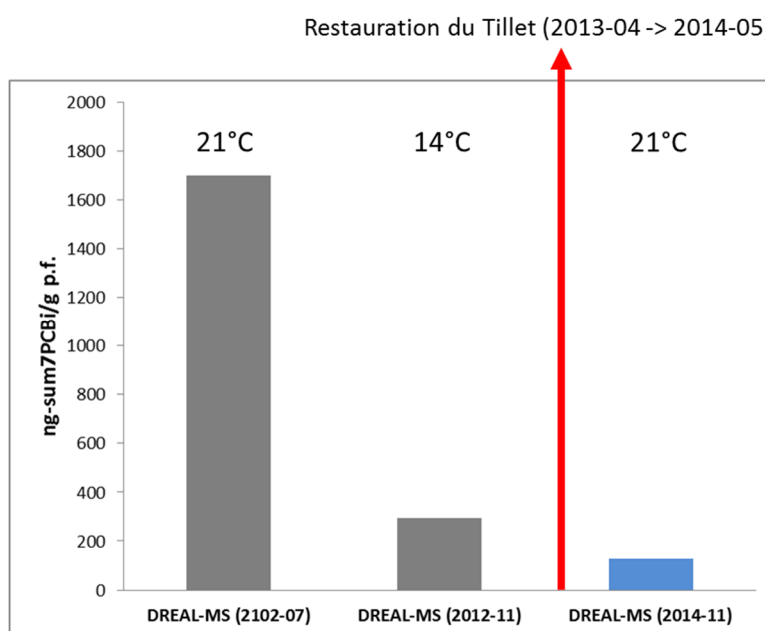


Figure 21 : Evolution des concentrations de la somme des 7 PCB_i dans les larves de chironomes encagées dans les systèmes d'exposition aux MES seules sur le site DREAL avant et après restauration du Tillet.

Pour la période post-restauration, les concentrations de la somme des 7 PCB_i dans les chironomes étaient plus faibles que celles dans les chironomes exposés aux MES au cours de la période avant la restauration, pour la même saison. Ces résultats suggèrent que les

flux de PCB biodisponibles ont diminué. Ce constat est d'autant plus convainquant du fait i) que la température du Tillet au cours de l'exposition post-restauration était plus élevée (et donc des larves physiologiquement plus aptes à bioaccumuler) que celle de novembre 2012 pour des régimes hydrauliques équivalents et ii) qu'à température équivalente, entre juin 2012 et novembre 2014 la diminution des concentrations est sans équivoque. Toutefois, le niveau de contamination résiduelle des chironomes encagés reste élevé par rapport au niveau de contamination de fond, observé sur le site ROW hors influence du Tillet (3 ng-7PCBi/g p.f. pour ROW-MS en 2012 vs. 127 ng-7PCBi/g p.f. pour DREAL-MS en 2014).

5.4 Exposition en laboratoire des chironomes aux MES récupérées dans le lac du Bourget

Bien que représentant qu'une partie des voies d'exposition de *C. riparius* aux PCB, comme cela a été démontré au cours des expérimentations *in situ*, les MES demeurent néanmoins un bon moyen de tracer l'évolution des niveaux de contamination au cours du temps et donc la dynamique d'exposition du biote aux PCB dans le lac. Tout comme un échantillonnage ponctuel d'une matrice environnementale, l'encagement de larves de chironome se fait sur une période d'exposition relativement courte (<7 jours) en lien avec leur cycle de vie et donc ne permet pas d'intégrer une période plus longue de la dynamique de contamination du lac, à moins de réitérer l'exposition avec une fréquence plus élevée. Dans ce contexte, une nouvelle approche écotoxicologique a été imaginée. Des trappes à MES ont été développés spécifiquement dans le cadre du projet RESTOLAC pour permettre d'intégrer des périodes plus longues de suivi et pouvoir exposer les chironomes aux polluants adsorbés sur les MES dans des conditions stables de laboratoire. Ce système, nommé par la suite ExpoSET (système d'EXPOSITION au SEDiment de Trappe), permet également une colonisation du milieu par les organismes autochtones au cours de la période de collecte des MES, et donc la quantification des PCB dans ces organismes vivants. Ce système a été testé sur 2 périodes d'environ 4 mois au cours de l'année 2016.

5.4.1 Méthode

Le système ExpoSET (voir figure 22) est constitué d'une plaque en inox (500x650 mm) à 4 pieds, sur laquelle peut être vissée une tige (longueur 600 mm) également en inox surmontée d'un anneau. Les pieds servent à empêcher la plaque de se déplacer sous l'influence des courants ou de la pente du fond du lac, tandis que la tige doit servir à la fixation d'un treuil pour faciliter son déploiement et sa récupération sur le terrain à partir d'un bateau. Cette plaque en inox peut recevoir 12 cylindres gradués standards de 2 L en polypropylène (PP) ayant un diamètre d'environ 90 mm. Ces cylindres sont fixés à l'aide d'une contre-plaque en PP percée de 12 trous alignés par rapport à la disposition des cylindres. Cette contre-plaque permet, une fois installée et vissée sur la plaque en inox, de coincer le pied de chacun des cylindres entre celle-ci et la plaque en inox.

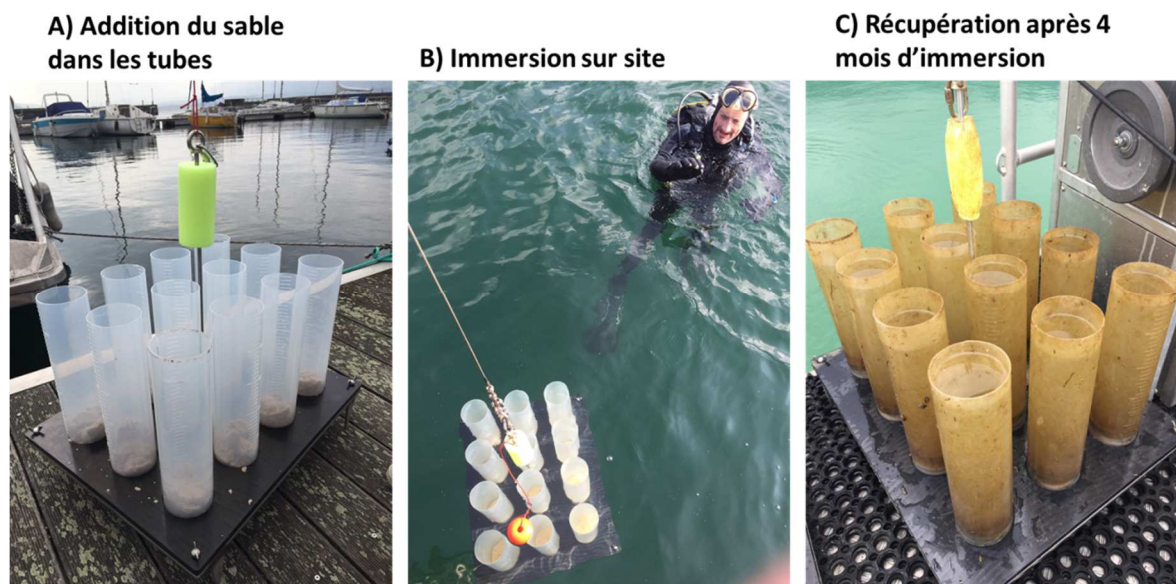


Figure 22 : Design, installation et récupération du système ExpoSET.

Ce système a été testé sur le site DELTA, anciennement sous l'influence direct du Tillet, sur une période de 4 mois du 1^{er} mars au 30 juin 2016, puis sur une deuxième période consécutive d'un peu plus de 3 mois du 30 juin au 10 octobre 2016. Ces 2 périodes ont été choisies pour intégrer les apports de MES au cours du printemps, puis de l'été jusqu'au début de l'automne. Parallèlement, un autre système ExpoSET a également été déployé sur un site de référence SUD, au sud du lac, proche des roselières, hors influence majeure de source de PCB.

D'un point de vue méthodologique, le jour du déploiement sur les sites, 12 cylindres gradués ont été installés et fixés à l'aide de la contre-plaque en PP sur chacun des systèmes ExpoSET. Puis, du sable de Fontainebleau (diamètre 150-200 μm) a été ajouté dans chacun des cylindres sur une épaisseur d'environ 1 cm (Figure 22A). Ce sable joue le rôle d'un substrat non contaminé, favorable à la croissance des larves de *C. riparius* au laboratoire, sur lequel les MES se déposent au cours de la période immergée dans le lac. Les cylindres ont été ensuite remplis avec l'eau du site afin de stabiliser le sable pour la manœuvre d'immersion. Enfin, le système a été immergé à l'aide d'un treuil (Figure 22B) et placé avec l'aide d'un plongeur sur le fond du lac de manière à ce que les cylindres soient orientés le plus verticalement possible pour maximiser la récupération de MES.

Le jour de la récupération sur les sites DELTA et SUD, chacun des systèmes ExpoSET a été ramené sur le bateau (Figure 22C). Les cylindres ont alors été bouchés pour ne pas perdre d'eau lors du transport vers le laboratoire. Lors de la récupération des systèmes au fond du lac, 4 carottes de sédiment ont été réalisées à la main par le plongeur sur chacun des sites (au moyen de tubes en PVC transparent de même diamètre que les cylindres utilisés pour le système ExpoSET). Ces carottes étaient réalisées de façon à obtenir au moins un quart du volume total occupé par l'eau du site au-dessus du sédiment. De plus, l'eau du site a également été échantillonnée dans 2 récipients en inox de 20 L.

De retour au laboratoire, pour chacun des sites, 4 cylindres ont été sacrifiés pour analyser les PCB dans les MES. Les 8 autres cylindres, ainsi que les 4 carottes contenant chacune le sédiment et l'eau surnageante du site ont été placés dans une chambre climatisée. Par ailleurs, pour chacun des sites, 4 cylindres contenant environ 1 cm d'épaisseur de sable de Fontainebleau (identique à celui utilisé pour le système ExpoSET) enrichi en Tetramin® (Ferrari et al. 2014) et 1,6 L d'eau du site préalablement filtrée à 100 µm ont été également installés dans la chambre climatisée, ainsi que 4 derniers cylindres contenant 1 cm d'épaisseur de sable de Fontainebleau également enrichi en Tetramin® et 1,6 L d'eau utilisée dans les élevages de *C. riparius* au laboratoire. Un échantillon d'eau de chacun des sites ainsi qu'un échantillon d'eau d'élevage ont également été gardés pour déterminer les concentrations en PCB. L'ensemble des systèmes d'exposition aux différentes conditions était soumis à une aération par bullage en continu, exposé sous environ 300 à 500 lux de lumière uniquement pendant 16 heures par jour et laissé à une température comprise entre 14 et 16°C pendant une semaine avant l'addition des larves de chironomes. La figure 23 montre l'installation. Globalement, pour chacun des sites (DELTA et SUD), les différentes conditions réalisées devaient permettre d'exposer les larves de *C. riparius* 1) à l'eau du site et aux MES intégrées sur la période immergée du système ExpoSET, 2) au sédiment du site et son eau surnageante, 3) uniquement à l'eau du site, et 4) à un témoin constitué de l'eau d'élevage. De cette manière, les différentes voies d'exposition des larves de chironomes aux PCB pouvaient être différenciées dans l'interprétation des résultats.

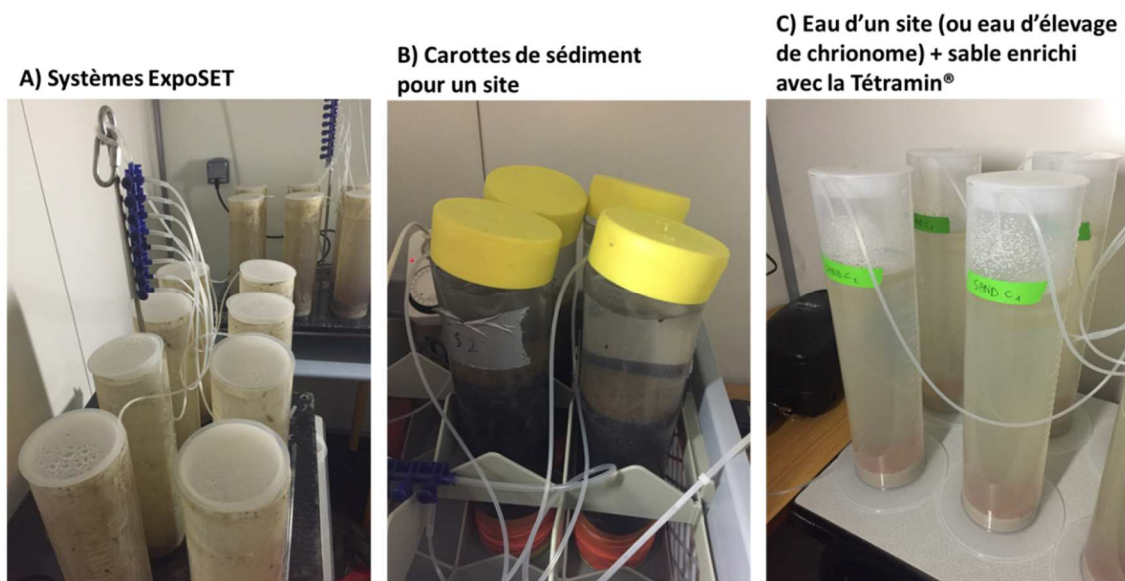


Figure 23 : Visualisation des systèmes d'exposition au laboratoire dans la chambre climatique (température entre 14 et 16°C, photopériode de 16h de lumière par jour d'intensité entre 300 et 500 lux, bullage en continu).

Le jour du début de l'exposition, c'est-à-dire 7 jours après la période de stabilisation, 100 larves de *C. riparius* préalablement amenées en début de stade IV ont été introduites dans chacun des cylindres et chacune des carottes, quelle que soit la condition testée (ce qui représentait un total de 3800 larves utilisées). Par ailleurs, un lot d'environ 400 chironomes témoin (T0) a en plus été prélevé pour analyser les PCB en début d'exposition. Les organismes étaient ensuite nourris *ad libitum* (1 mg.jr⁻¹ par larve de Tetramin® broyée)

puis encore 4 fois au cours des 7 jours d'exposition, sauf pour ceux exposés aux sédiments des 2 sites et ceux exposés aux MES pour 4 cylindres sur 8 par sites. Les conditions de température, d'aération et de lumière étaient les mêmes que pour la période de stabilisation. Après 7 jours d'exposition, l'eau surnageante dans chaque système d'exposition (cylindres ou carottes) a été éliminée par siphonage jusqu'à la surface du substrat (MES, sédiment ou sable) et passée sur un tamis de 0,5 mm de vide de maille afin de récupérer les larves qui pouvaient s'échapper du sédiment, mais également les organismes autochtones qui auraient pu coloniser les systèmes ExpoSET ou le sédiment sur le terrain. Un échantillon composite de la surface du sédiment (couche 0-0,5 cm) des 4 carottes a ensuite été prélevé pour chaque site. Enfin, les chironomes ont été récupérés par tamisage à 0,5 mm, comptés, rassemblés par condition (ce qui permettait d'obtenir des échantillons de 300 et 400 larves par condition pour les analyses). Lorsque des organismes autochtones étaient présents dans les MES ou les sédiments, ceux-ci ont été également prélevés. Puis, les échantillons ont été pesés et congelés, avant de suivre la procédure d'extraction et d'analyse des PCB.

5.4.2 Résultats et discussion :

Quelle que soit la période d'immersion, les systèmes ExpoSET ont pu être transportés sans difficulté majeure au laboratoire et les échantillonnages de sédiment et d'eau ont pu être réalisés presque entièrement. Seules les carottes de sédiment du site SUD n'ont pas été réalisées lors de la récupération des systèmes à la fin de la 2^{ème} période d'immersion. D'un point de vue quantitatif, quels que soient la période et le site investigué, l'épaisseur de la couche de MES dans chacun des cylindres variait entre 0,5 et 1 cm.

Le tableau 3 présente les concentrations des 7 PCB_i ainsi que leurs sommes obtenues dans les MES récupérées dans les systèmes ExpoSET et dans le sédiment de surface des carottes (couche 0-0,5 cm) sur les 2 périodes d'immersion sur les sites DELTA et SUD. Les résultats des analyses montrent que le site DELTA est plus contaminé en PCB dans les MES et dans les sédiments que le site SUD pour les mêmes périodes d'immersion. Bien que le Tillet ne soit plus connecté directement au lac (présence du port à barques), il semble que des particules contaminées sont encore capables de sédimenter sur le site DELTA. Par ailleurs, le sédiment sur ce site reste fortement contaminé montrant que la pollution historique persiste encore 2 ans après les transformations faites en zone aval et embouchure au lac du Tillet.

Campagne	PCB#	Site DELTA		Site SUD	
		MES (ng/g m.s.)	Séd. (ng/g m.s.)	MES (ng/g m.s.)	Séd. (ng/g m.s.)
#1 (01/03 -> 30/06/16)	28	5,4	18,7	2,6	5,5
	52	3,6	15,2	1,5	<0,0247
	101	19,4	166,5	2,5	1,1
	118	7,1	59,8	0,7	1,9
	153	42,5	301,7	6,5	8,7
	138	28,1	213,8	2,8	5,4
	180	33,1	241,2	6,4	7,3
	somme	139,0	1016,9	23,1	30,0
#2 (30/06 -> 10/10/2016)	28	6,2	28,5	5,2	n.d.
	52	1,8	82,9	0,3	
	101	9,7	307,2	0,0	
	118	3,6	252,7	0,3	
	153	17,0	419,3	2,5	
	138	12,3	301,1	0,8	
	180	20,3	33,3	2,3	
	Somme	70,9	1425,0	11,3	

Tableau 3 : Concentration des 7 PCBi dans les MES récupérées dans les systèmes ExpoSET et dans le sédiment de surface des carottes (couche 0-0,5 cm) sur les 2 périodes d'immersion sur les sites DELTA et SUD (n.d. : non déterminé).

Les concentrations de la somme des 7 PCBi analysées dans l'eau filtrée des sites prélevées lors de la récupération des systèmes expoSET pour les 2 campagnes étaient comprises entre 0,6 et 1,7 ng/L.

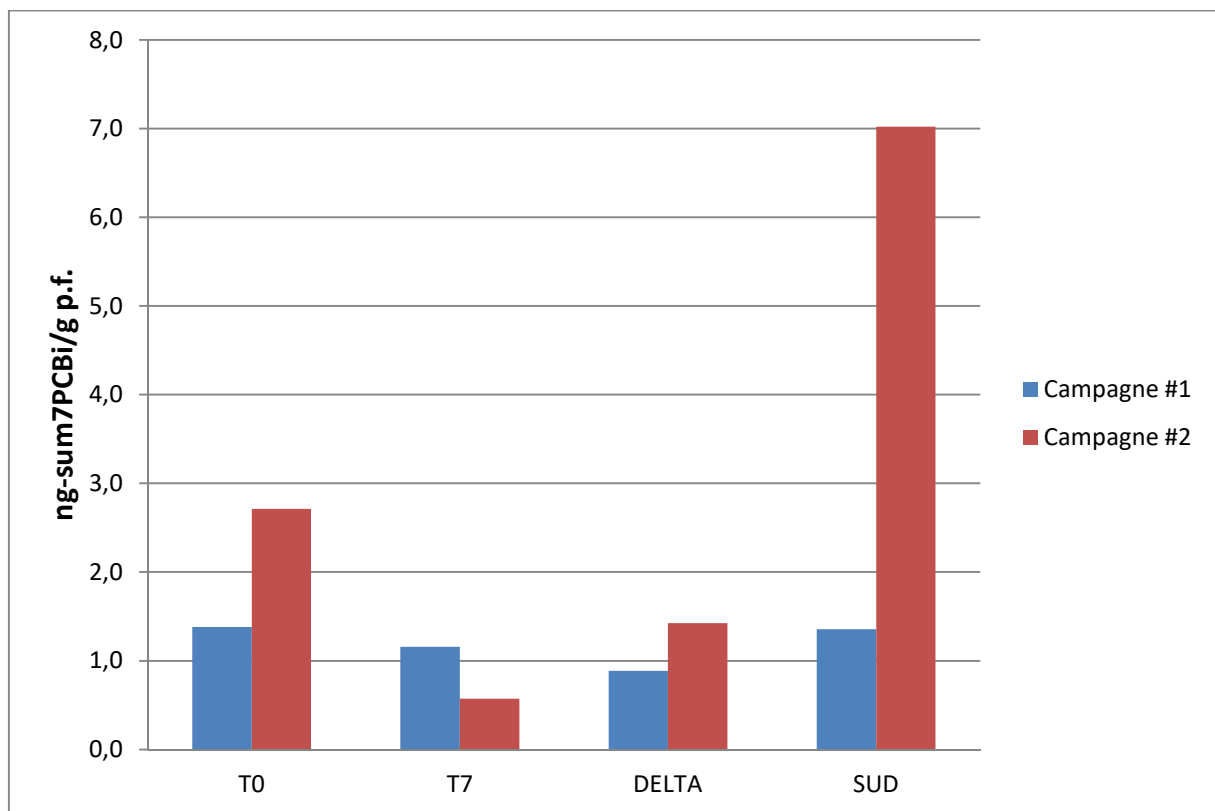


Figure 24 : Concentrations des 7 PCBi dans les larves de chironomes exposées au sable enrichi en Tetramin® et à l'eau filtrée à 100 µm d'élevage (T7), du site DELTA (DELTA) et du site SUD (SUD) pour les 2 campagnes. Les T0 correspondent aux concentrations de la somme des 7 PCBi dans les larves de chironomes avant exposition.

Lorsque les larves de chironomes étaient exposées au sable enrichi en Tetramin® et à l'eau filtrée à 100 µm provenant des 2 sites pour les 2 campagnes (Figure 24), les concentrations de la somme des 7 PCBi obtenues ne dépassaient pas 1,7 ng/g (p.f.). Ces concentrations étaient du même ordre de grandeur que celles des larves de chironomes avant et après exposition dans le sable et l'eau d'élevage (T0 et T7, Figure 7). Seule la concentration dans les larves exposées à l'eau du site SUD pour la campagne #2 atteignait 7 ng/g (p.f.). Cette concentration dans les larves ne s'explique pas compte-tenu que la concentration dans l'eau était la plus basse et correspondait à 0,6 ng/L.

Le tableau 4 présente les concentrations de la somme des 7 PCBi obtenues après analyse des chironomes récupérés dans les systèmes ExpoSET avec et sans ajout de nourriture (Tetramin®) et dans le sédiment des carottes sur les 2 périodes d'immersion sur les sites DELTA et SUD.

Campagne	Substrat testé	Site DELTA	Site SUD
		Somme des 7PCBi ng/g p.f.	
#1 (01/03 -> 30/06/16)	MES	24,3	22,9
	MES+Tetramin®	56,5	12,9
	SED	292,1	15,7
#2 (30/06 -> 10/10/2016)	MES	53,6	8,5
	MES+Tetramin®	67,5	10,8
	SED	257,1	n.d.

Tableau 4 : Concentration des 7 PCBi dans les chironomes récupérées dans les systèmes ExpoSET (sans ajout de nourriture = MES ; avec ajout de nourriture = MES+Tetramin®) et dans le sédiment des carottes sur les 2 périodes d'immersion sur les sites DELTA et SUD (n.d. : non déterminé).

Comparativement aux niveaux de concentrations obtenues dans les larves uniquement exposées à l'eau des sites (Figure 24), les concentrations sont globalement plus élevées. Les rapports entre les concentrations de larves exposées aux sédiments ou aux MES et les concentrations des larves exposées uniquement à l'eau des sites variaient de 9,5 à 329 (hors rapports utilisant la concentration dans les larves exposées à l'eau du site SUD pour la campagne #2). Ces rapports montrent que le sédiment et les MES représentent des voies d'exposition aux PCB importantes pour les larves de chironomes.

Globalement le niveau de contamination des chironomes exposés aux MES est plus élevé sur le site DELTA que sur le site SUD. Ces résultats confirment que les flux de PCB biodisponibles via le transport de MES contribuent toujours à la contamination de l'ancienne embouchure du Tillet. Cependant, les niveaux de concentration dans les chironomes exposés aux MES intégrées sur une période d'environ 4 mois sont moins importants que les niveaux mesurés avant ou après la restauration du Tillet dans les chironomes encagés (voir figure 21), même si ceux-ci ont été exposés aux MES intégrées seulement sur une période de 7 jours directement sur le site. Bien qu'un flux de contamination non négligeable existe sur ce site, une amélioration de la qualité de la MES est donc constatée. Pour les sédiments, les niveaux de contamination des chironomes restent assez élevés par rapport à ceux obtenus dans les chironomes encagés sur le site DELTA avant restauration (voir figure 20B ; 533 ng-7PCBi/g p.f. pour DELTA-SED en 2012-11). Les concentrations mesurées dans les

larves de chironomes montrent que la contamination historique est toujours potentiellement biodisponible pour la faune benthique, représentant donc une source de nourriture toujours contaminée à un niveau non négligeable pour les poissons.

Concernant l'influence de la nourriture artificielle dans le protocole d'exposition, l'ajout de nourriture au cours des expositions des larves de chironomes aux MES accroît le poids individuel des larves d'un facteur 1,7 par rapport au poids individuel des chironomes qui n'ont pas été nourris. En effet, la moyenne du poids d'une larve (toutes conditions confondues) en fin d'expérimentation sans ajout de Tetramin® était de $4,8 \pm 1,3$ mg (p.f.), alors que celui d'une larve avec ajout de nourriture était de $8,3 \pm 1,5$ mg (p.f.). Cette différence de croissance liée à l'apport de nourriture peut avoir un impact sur la concentration des PCB dans les chironomes. Cependant les résultats ne montrent pas de tendance claire sur les concentrations obtenues au regard de la somme des 7 PCB_i (Tableau 4). En effet, dans 3 cas sur 4, les concentrations en PCB dans les larves ayant également profité de la nourriture ajoutée sont plus élevées que les concentrations en PCB dans les larves exposées seulement aux MES. Ces concentrations peuvent varier du simple au double. Dans un seul cas, l'inverse est observé. Le PCB#153 étant le plus abondant (car le moins métabolisé) dans la majorité des conditions testées, la prise en compte uniquement de ce congénère permet de donner une vision plus claire de l'influence de l'ajout de nourriture (Figure 25).

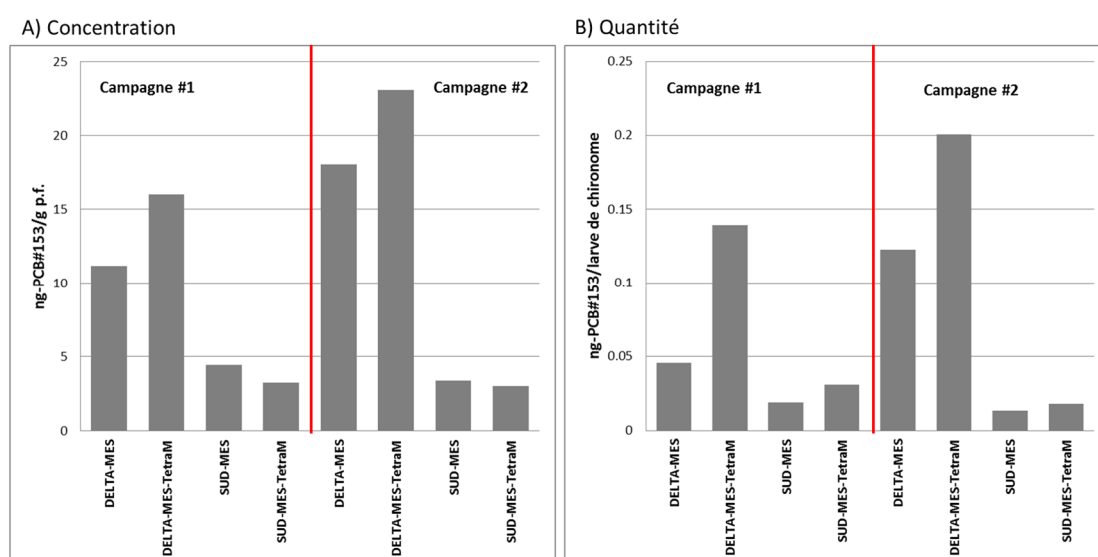


Figure 25 : Concentration (A) et quantité par individu (B) en PCB#153 dans les larves de chironomes exposées aux MES des sites DELTA et SUD avec et sans ajout de Tetramin® (TetraM) pour les 2 campagnes.

En effet, dans ce cas, la concentration en PCB#153 augmente d'un facteur 1,3 environ dans les larves ayant bénéficié de nourriture artificielle en plus de MES provenant du site DELTA quelle que soit la campagne (Figure 25A). En revanche, cette concentration diminue d'un facteur 1,2 environ dans les larves ayant bénéficié de nourriture artificielle en plus de MES provenant du site SUD quelle que soit la campagne (Figure 25A). Il semble qu'en fonction du degré de contamination de MES, l'influence de la nourriture ne soit pas la même. Dans ce cas, lorsqu'un apport de nourriture est réalisé, les concentrations dans les larves sur les

sites peu contaminés pourraient être sous-estimées, et à l'inverse, surestimées sur les sites contaminés significativement. Par ailleurs, lorsque les résultats sont interprétés à partir des données en quantité de PCB#153 par larve de chironome, quelle que soit la condition testée, la quantité en PCB#153 augmente dans les larves qui sont nourries en plus avec de la Tetramin® (Figure 25B). Dans ce cas, l'addition de nourriture provoque une surestimation de la quantité de PCB#153 présente dans les larves en fin d'exposition aux MES, ce qui pourrait avoir des conséquences sur le calcul de transfert de masse de PCB dans le réseau trophique.

L'influence de la nourriture artificielle peut être également observée du point de vue de la répartition des congénères. En effet, dans la figure 26, la répartition des 7 PCBi dans les larves de chironomes exposées aux MES des sites DELTA et SUD avec et sans ajout de Tetramin® (TetraM) pour les 2 campagnes montre des différences notables de profil. Cette différence est plus flagrante pour la première campagne (Figure 26A). Dans ce cas, l'ajout de nourriture aux MES augmente le pourcentage du PCB#101 pour les sites DELTA et SUD au détriment du PCB#28. Lors de la deuxième campagne, cette tendance est toutefois moins perceptible pour le site DELTA. Par ailleurs, à condition égale sans ajout de nourriture entre les 2 campagnes (c'est-à-dire DELTA-MES et SUD-MES), les profils des congénères sont différents, ce qui pourrait dénoter une différence de biodisponibilité des congénères liée à une différence de qualité de MES entre les 2 périodes d'immersion.

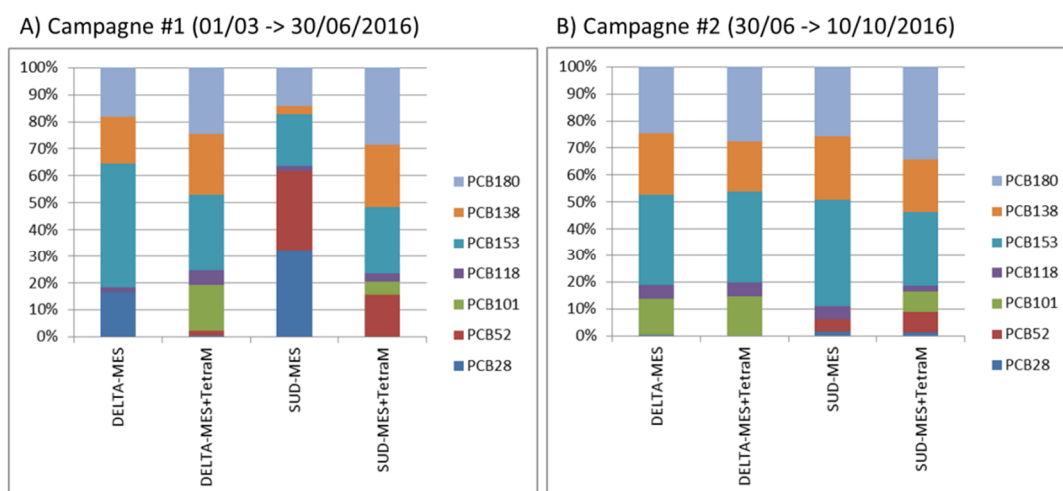


Figure 26 : Répartition des 7 PCB indicateurs dans les larves de chironomes exposées aux MES des sites DELTA et SUD avec et sans ajout de Tetramin® (TetraM) pour la campagne #1 (A) et la campagne #2 (B).

Bien que certaines tendances se dessinent, d'autres expérimentations doivent être menées afin de pouvoir conclure sur l'effet de l'ajout de la nourriture sur la bioaccumulation des PCB dans les larves. A cet effet, des échantillons de larves de chironomes ont été prévus pour analyser les rapports isotopiques du carbone et de l'azote (δC^{13} et δN^{15}) afin de mieux évaluer si les organismes ont eu recours aux ressources trophiques apportées par les MES et les sédiments.

Les résultats d'analyses des sédiments, MES et larves de chironomes permettent de calculer un facteur d'accumulation du compartiment considéré (sédiment ou MES) au biote (BAF).

Ce BAF est un quotient dont le numérateur est la concentration du contaminant considéré dans le biote, et le dénominateur celle dans le sédiment ou la MES. Normalement dans sa version la plus utilisée, les deux éléments du quotient sont normalisés par rapport au taux de lipides pour le biote et au taux de COT pour le sédiment (ou MES) pour faciliter la comparaison entre des sites très différents. Dans notre étude, nous avons choisi de ne pas normaliser les données utilisées puisque les sites DELTA et SUD font partie du même écosystème lacustre. Par ailleurs, afin de faciliter les comparaisons, les BAF ont été calculés pour le PCB#153 (congénère le plus abondant dans la majorité des conditions testées ; tableau 5). Les résultats montrent qu'il existe une bonne cohérence entre les BAF calculés à partir des concentrations dans les MES et les sédiments en PCB#153 pour un même site pour la première campagne. Lorsque les 2 campagnes sont comparées pour le site DELTA, seuls les BAF calculés à partir des concentrations dans les sédiments sont du même ordre de grandeur. En revanche, le BAF obtenu à partir de la concentration dans les MES lors de la 2^{ème} campagne est environ 4 fois supérieur à celui de la première campagne. Ce résultat pourrait souligner une différence de biodisponibilité des PCB liée à une différence de qualité de MES entre les 2 périodes d'immersion. Cette tendance n'est pas visible dans les sédiments puisque ceux-ci intègrent les MES anciennes et nouvelles. Afin de renforcer cette hypothèse, des échantillons de MES ont été collectés spécifiquement pour déterminer leur composition en matière organique par spectrofluorimétrie.

		Site DELTA	Site SUD
Campagne	Substrat testé	BAF PCB#153	
#1 (01/03 -> 30/06/16)	MES	0.262	0.680
	SED	0.270	0.651
#2 (30/06 -> 10/10/2016)	MES	1.062	1.376
	SED	0.201	n.d.

Tableau 5 : BAF calculés respectivement à partir des concentrations en PCB#153 dans les chironomes récupérées dans les systèmes ExpoSET (sans ajout de nourriture = MES) et dans les MES et à partir de celles dans les chironomes et les sédiments des carottes sur les 2 périodes d'immersion sur les sites DELTA et SUD (n.d. : non déterminé).

Chacun des systèmes ExpoSET a été laissé sur les sites pendant une période d'environ 4 mois. Ces systèmes ont montré qu'ils étaient bien conçus pour la récupération de la MES. On a pu montrer également qu'ils pouvaient constituer un habitat artificiel pouvant être colonisé par des organismes autochtones. Lors de la première campagne, des larves de chironomes (espèces non identifiées mais différentes de *C. riparius*) ont été retrouvées dans les MES piégées dans les systèmes ExpoSET, mais également dans les carottes de sédiment. La concentration de la somme des 7 PCB_i dans ces larves autochtones retrouvées dans les MES et dans le sédiment sur le site DELTA correspondait respectivement à 64 ng/g (p.f.) et 612 ng/g (p.f.). Ces concentrations étaient supérieures à celles obtenues dans les larves de *C. riparius* utilisées dans cette étude (voir tableau 4). Cependant le rapport entre les concentrations dans les larves de laboratoire exposées aux MES et au sédiment est du même ordre de grandeur que celui obtenu à partir des concentrations dans les larves autochtones

qui ont colonisé les différents substrats (i.e., 0,10 pour les larves autochtones et 0,08 pour les larves de laboratoire). L'approche utilisée semble donc refléter une certaine réalité du terrain.

Validité des outils et considérations pratiques

Globalement, l'ensemble des résultats obtenus montre la pertinence de l'utilisation des chironomes dans des approches type diagnostic pour le suivi de tendance des pressions de contamination aux PCB dans les sédiments et les MES avant et après remédiation des sites contaminés. Ces méthodes in-situ et ex-situ sont bien complémentaires des analyses chimiques pour caractériser au mieux le degré d'imprégnation du milieu en PCB, évaluer leur biodisponibilité, préciser le risque potentiel de transfert le long de la chaîne trophique, définir l'importance des effets de la remédiation sur le lac en tenant compte des variations saisonnières.

Ces outils nécessitent toutefois d'être encore améliorés et validés, notamment en standardisant mieux la variabilité liée aux conditions environnementales fluctuantes pour une meilleure lecture des tests in-situ, ou encore en répondant plus précisément à la question d'ajout ou non de nourriture artificielle au cours des expositions. Ces aspects ont cependant déjà été abordés et les résultats obtenus à ce jour permettent d'aller plus loin dans la réflexion et la mise en place d'expérimentations futures pour permettre une meilleure standardisation des outils.

En ce qui concerne l'encagement sur le terrain, le protocole actuel permet d'ajuster un temps d'exposition au cycle de vie biologique des larves de chironomes pour obtenir un certain poids frais par individu en fonction de la température du site, plutôt que de définir un temps d'exposition fixe quel que soit la campagne de terrain. En procédant de cette manière, les poids frais par individu obtenus en fin d'exposition sont équivalents entre les sites aux différentes saisons, ce qui permet une meilleure comparaison des résultats en gommant l'effet possible du poids sur les concentrations en PCB dans les larves. Cependant, cette manière de procéder n'a été testée qu'avec ajout de nourriture. Cet ajout pourrait amener un biais dans les estimations des concentrations en PCB dans les larves, comme révélé dans les expérimentations ex-situ à l'aide du système ExpoSET. Pour rappel, en terme de concentrations en PCB#153 mesurées dans les larves, les tendances à la sur- ou sous-estimation sont liées à l'ajout de nourriture et pourraient également être fonction du degré de contamination des MES. Lorsque les quantités de PCB#153 dans les larves sont prises en compte, les tendances étaient plutôt à la surestimation, quelle que soit la condition testée. Par ailleurs, Babut et al. (2016) ont montré que les organismes encagés, quoique nourris de manière contrôlée pendant leur étude, ont également eu recours aux ressources trophiques locales, en proportion variable selon le site étudié, l'organisme, et la saison. De ce fait, les auteurs militeraient plutôt pour ne pas nourrir les organismes pendant le déploiement des cages, afin de se rapprocher des conditions d'exposition des organismes autochtones. Dans notre étude, une première recommandation serait donc de ne pas nourrir, quel que soit le système utilisé (i.e. encagement ou ExpoSET) tout en continuant à maîtriser les temps d'exposition en fonction du cycle de vie des larves. Une étude complémentaire devrait être faite sur des échantillons stockés en prévision pour la mesure des isotopes stables afin d'aider à clarifier la question du bénéfique ou non d'ajouter de la nourriture artificielle.

Bien que les 2 outils soient tout à fait valables pour être utilisés dans le suivi de tendance des pressions de contamination aux PCB dans les sédiments et les MES, le système ExpoSET permet d'intégrer en plus une plus longue période de récupération des MES (i.e. 4 mois contre 7 jours maximum pour l'encagement). Cette méthode a d'ailleurs permis de souligner

l'influence possible de la qualité de la matière organique sur la biodisponibilité des PCB en fonction des saisons. La nature de la matière organique influence probablement l'enrichissement des chironomes en PCB et donc peut contribuer à la variabilité de la contamination de la nourriture disponible pour les organismes de niveau trophique supérieur. Des analyses complémentaires ont été prévues pour vérifier si il existe une différence de qualité de la matière organique sur les deux périodes d'intégration des MES. Des expérimentations complémentaires seront à prévoir par la suite pour étayer ces observations. Par ailleurs, le système ExpoSET offre aussi une possibilité de récupérer des organismes autochtones en agissant comme substrat artificiel tout au long de la période d'immersion. Au cours de cette étude, il a été possible de récupérer des chironomes autochtones, des amphipodes, des bivalves et même des plantes aquatiques. La récupération du biofilm présent sur les tubes est également envisageable. Cette étude a permis d'une part d'exposer des chironomes aux MES et d'autre part aux sédiments en place. Quelle que soit l'approche méthodologique utilisée (i.e., in-situ ou ex-situ), cette étude montre que le suivi de la dynamique de contamination par l'exposition des chironomes aux MES est mieux adapté pour évaluer l'effet direct de la restauration sur le site, alors que le suivi par l'exposition des chironomes aux sédiments est plus pertinent pour rendre compte de l'évolution de la contamination historique dans le temps et pour estimer le niveau de contamination résiduel des proies. Cette approche permet donc de fonctionner à 2 échelles temporelles. En effet, bien qu'il puisse y avoir une diminution de la contamination entrant dans le lac, la pollution historique présente dans les sédiments est toujours élevée et biodisponible pour contribuer à un transfert important tout au long de la chaîne trophique.

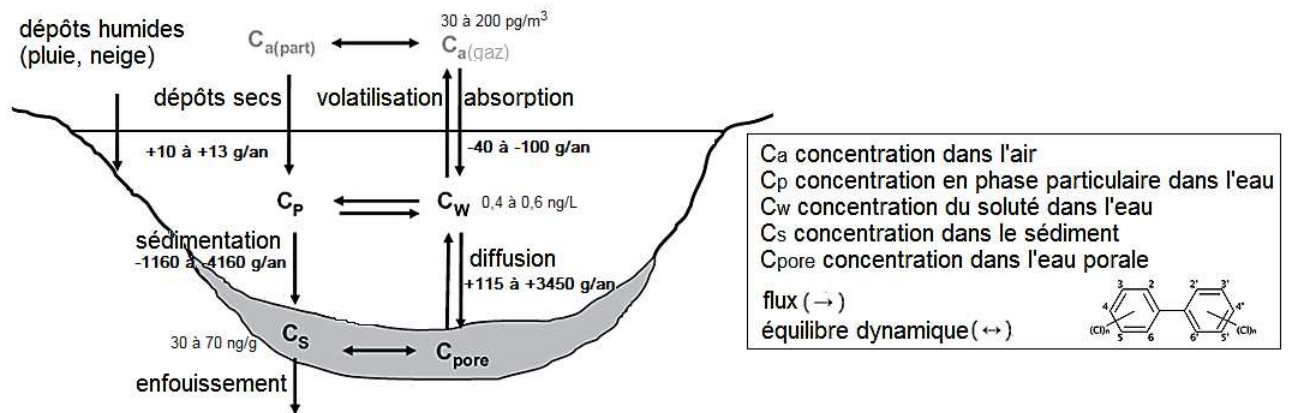
Références

- AFNOR (2010). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité des sédiments d'eau douce vis-à-vis de *Chironomus riparius*. Norme NF T 90-339-1.
- Armitage, P.D., Cranston, P.S., Pinder, L.C.V., 1995. *The Chironomidae: Biology and Ecology of Non-Biting Midges*, first ed. Chapman and Hall, London, p. 572.
- Babut, M., Ferrari, B., Lauzent, M., Simonnet-Laprade, C., Labadie, P., Budzinski, H. (2016). Accumulation de contaminants prioritaires par des invertébrés et poisons d'eau douce: Facteurs d'amplification trophique pour l'hexabromocyclododécane, le perfluorooctane sulfonate et les polybromodiphényléthers. Rapport pour l'Action n°38 du programme 2013-2015, ONEMA, Paris, France, p.90.
- Babut, M., Labadie, P., Simonnet-Laprade, C., Munoz, G., Roger, M.-C., Ferrari, B.J.D., Budzinski, H., Sivade, E. (2017). Per- and poly-fluoroalkyl compounds in freshwater fish from the Rhône River: influence of fish size, diet, prey contamination and biotransformation. *The Science of Total Environment*, 605-606: 38-47.
- Bertin, D., Ferrari, B.J.D., Labadie, P., Sapin, A., Garric, G., Budzinski, H., Houde, M., Babut, M. (2014). Bioaccumulation of perfluoroalkyl compounds in midge (*Chironomus riparius*) larvae exposed to sediment. *Environmental Pollution*, 189: 27-34.
- Bervoets, L., Meregalli, G., De Cooman, W., Goddeeris, B., Blust, R. (2004). Caged midge larvae (*Chironomus riparius*) for assessment of metal bioaccumulation from sediments in situ. *Environ. Toxicol. Chem.*, 23: 443–454.
- Casado-Martinez, C., Molano-Leno, L., Grandjean, D., De Alencastro, L.F., Werner, I., Ferrari, B.J.D. (2016). Impacts des sédiments sur la qualité de l'eau : Surveillance écotoxicologique de la qualité de la rivière Venoge (VD). *Aqua&Gas*, 96(4): 56-63.

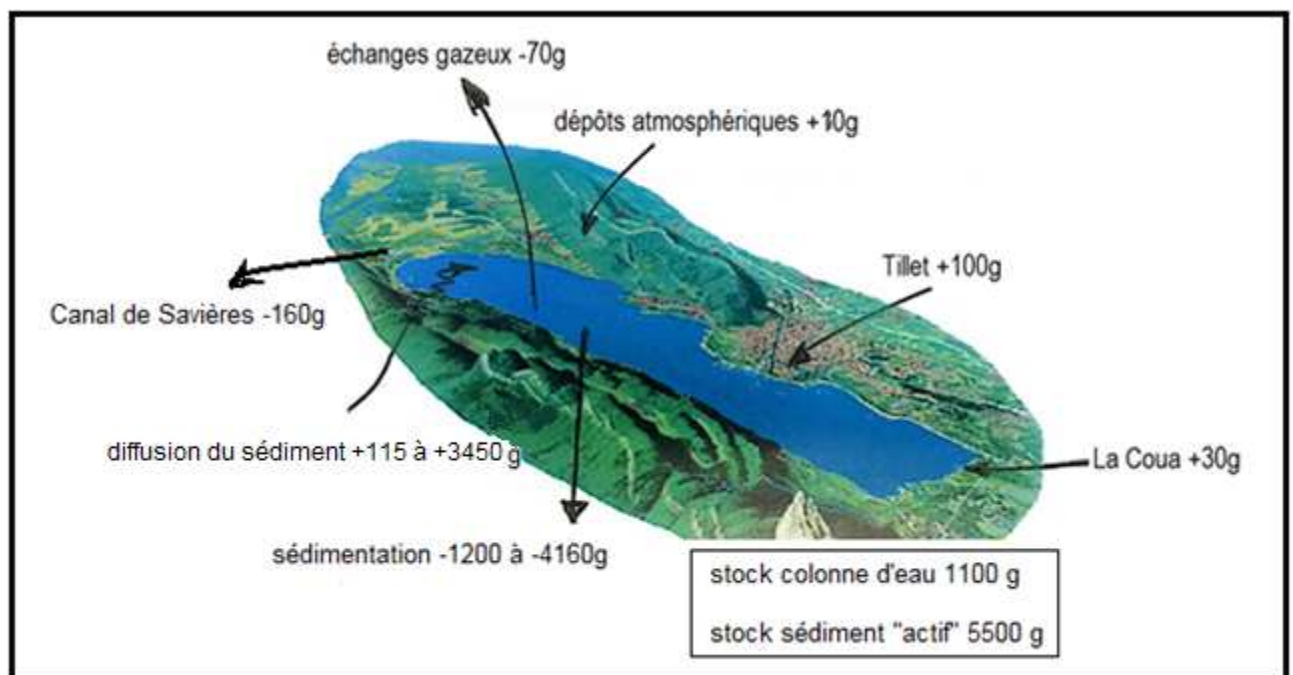
- Covich, A.P., Palmer, M.A., Crowl, T.A. (1999). The role of benthic invertebrate species in freshwater ecosystems: Zoobenthic species influence energy flows and nutrient cycling. *BioScience*, 49(2): 119–127.
- Crane, M., Higman, M., Olsen, T., Simpson, P., Callaghan, A., Fisher, T. and Kheir, R. (2000). An in situ system for exposing aquatic invertebrates to contaminated sediments. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19: 2715–2719.
- Dabrin, A., Durand, C.L., Garric, J., Geffard, O., Ferrari, B.J.D., Coquery, M. (2012). Coupling geochemical and biological approaches to assess availability of cadmium in freshwater sediment. *Science of the Total Environment*, 424: 308-315.
- de Bisthoven, L.J., Gerhardt, A. and Soares, A.M.V.M. (2004). Effects of acid mine drainage on larval *Chironomus* (Diptera, Chironomidae) measured with the Multispecies Freshwater Biomonitor. *Environ. Toxicol. Chem.*, 23: 1123–1128.
- Diepens, N.J., Arts, G.H.P., Brock, T.C.M., Smidt, H., Van Den Brink, P.J., Van Den Heuvel-Greve, M.J., Koelmans, A.A. (2014). Sediment toxicity testing of organic chemicals in the context of prospective risk assessment : a review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 44(3): 255–302.
- Ferrari, B.J.D., Faburé, J. (2017). Field assessment of reproduction-related traits of chironomids using a newly developed Emergence platform (E-Board). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 137: 186-193.
- Ferrari, B.J.D., Vignati, D.A.L., Dominik, J. (2014). Bioaccumulation kinetics and effects of sediment-bound contaminants on chironomids in deep waters: new insights using a low-disturbance in situ system. *Environmental Technology*, 35(4): 456-469
- Landrum, P.F., Tigue, E.A., Driscoll, S.K., Gossiaux, D.C., Van Hoof, P.L., Gedeon, M.L., Adler, M. (2001). Bioaccumulation of PCB congeners by *Diporeia* spp.: kinetics and factors affecting bioavailability. *J. Great Lakes Res.* 27(2): 117–133.
- Leppänen, M.T., Ristola, T., Johnson, J., Burton, G.A. (2006). Applying adult emergence as an endpoint in a post-exposure laboratory test using two midge species (Diptera: Chironomidae). *Chemosphere*, 64: 1667-1674.
- Meregalli, G., Vermeulen, A.C. and Ollevier, F. (2000). The use of chironomid deformation in an in situ test for sediment toxicity. *Ecotox. Environ. Safety*, 47: 231-238.
- OECD (2010) Test guideline 233 Sediment-water Chironomid life-cycle toxicity test using spiked water or spiked sediment.
- Péry, A.R.R., Garric, J., (2006). Modelling effects of temperature and feeding level on the life cycle of the midge *Chironomus riparius*: an energy-based modelling approach. *Hydrobiologia* 553: 59–66.
- Péry, A.R.R., Mons, R., Flammarion, P., Lagadic, L. and Garric, J. (2002). A modelling approach to link food availability, growth, emergence, and reproduction for the midge *Chironomus riparius*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21: 2507–2513.
- Schmitt-Jansen, M., Veit, U., Dudel, G. and Altenburger, R. (2008). An ecological perspective in aquatic ecotoxicology: Approaches and challenges. *Basic and Applied Ecology*, 9: 337–345.
- Sibley, P.K., Benoit, D.A., Balcer, M.D., Phipps, G.L., West, C.W., Hoke, R.A., Ankley, G.T. (1999). In situ bioassay chamber for assessment of sediment toxicity and bioaccumulation using benthic invertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18: 2325–2336.
- Sidney, L.A., Diepens, N.J., Guo, X., Koelmans, A.A. (2016). Trait-based modelling of bioaccumulation by freshwater benthic invertebrates. *Aquatic Toxicology*, 176: 88-96.
- Soares, S., Cativa, I., Moreira-Santos, M., Soares, A.M.V.M. and Ribeiro, R. (2005). A short-term sublethal in situ sediment assay with *Chironomus riparius* based on postexposure feeding. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 49: 163-172.

6 Principales conclusions

Flux et concentrations de PCB - Lac du Bourget (2015-2016)



Bilan de masse – Lac du Bourget (2015-2016)



Facteurs d'influence de l'imprégnation aux PCB des espèces piscicoles

Les paramètres trophiques n'expliquent pas, sinon peu, les variabilités interspécifiques ou interindividuelles des concentrations en PCB des espèces piscicoles du Tillet ou du lac du Bourget. Si l'habitat trophique (et donc son niveau de contamination de base) contribue quelque peu à expliquer les [PCB] des espèces du Tillet, ainsi que des corégones du lac, la variabilité expliquée reste faible. La bioamplification ne semble pas jouer un rôle important dans le contexte étudié. La contamination des poissons du système lac du Bourget-Tillet semble plus clairement contrôlée par des processus non trophiques.

Relation entre la contamination de la masse d'eau et l'imprégnation aux PCB de l'espèce piscicole emblématique du lac du Bourget

Le facteur de bioaccumulation (BAF) des PCB par l'Omble Chevalier dans l'écosystème lacustre vaut en moyenne $10^{5,8}$ pour l'ensemble des mesures réalisées de 2015 à 2017. La concentration dans la colonne d'eau devra passer sous le seuil de 0,2 ng/L pour que la chair de l'omble respecte la valeur réglementaire européenne de 125 ng/g.

Bio-indication de la contamination de l'écosystème lacustre

Deux méthodologies ont été utilisées (i.e., in-situ ou ex-situ) pour le suivi de la dynamique de contamination des chironomes par exposition aux particules contaminées par les PCB (MES ou sédiments). L'exposition aux MES est mieux adaptée pour évaluer l'effet direct de la restauration sur le site, alors que le suivi par l'exposition des chironomes aux sédiments est plus pertinent pour rendre compte de l'évolution de la contamination historique dans le temps et pour estimer le niveau de contamination résiduel des proies des espèces piscicoles. Les résultats démontrent clairement que malgré la diminution de la contamination entrant dans le lac, la pollution historique présente dans les sédiments est toujours élevée et bio-disponible.

Conclusion générale

La contamination aux PCB du Lac du Bourget, lié à des apports conséquents depuis une source ponctuelle (site industriel et rivière Tillet), a diminué suite aux travaux de dépollution de cette source en 2012-2013. Toutefois, le stock présent dans le sédiment soumis à la bioturbation est élevé (≈ 5 kg Σ PCBi) et contribue à la valeur élevée de concentration de la colonne d'eau (0,5 ng Σ PCBi/L) par diffusion des PCB.

La concentration dans la colonne d'eau ne pourra diminuer significativement (par volatilisation des PCB à l'atmosphère) qu'après réduction des intrants via les affluents (suppression de la contamination résiduelle du Tillet ou du Canal de Terre Nue).

L'imprégnation des espèces piscicoles lacustres (corégone et omble chevalier) semble contrôlée principalement par mécanisme de bioconcentration. L'atteinte de valeurs d'imprégnation inférieure au seuil réglementaire européen pour l'Omble chevalier nécessite une concentration dans l'eau inférieure à 0,2 ng Σ PCBi/L.

L'utilisation des larves de Chironome comme bioindicateur de la contamination de l'écosystème aquatique s'est révélé être un outil écotoxicologique pertinent.

7 Annexes

7.1 **Annexe 1 : fiche résumée de l'Accord Cadre ZABR- Agence de l'Eau**

Titre du projet : Quantification de la restauration des écosystèmes lacustres impactés par les polluants organiques persistants et gain écologique associé « POP RESTOLAC »

Personne responsable : Emmanuel NAFFRECHOUX (LCME Université de Savoie)

Equipes de recherche « ZABR » concernées :

LCME (université de Savoie) : E Naffrechoux, P Fanget, N Cottin
CARTELL (INRA – université de Savoie) : E Lyautey

Autres partenaires :

- Recherche : Pôle ECOTOX EPFL : B Ferrari
- Institutionnel : CISALB : S Cachera

Thème de rattachement ZABR : Polluants Hydrosystèmes Santé
prioritairement :

transferts de contaminants, devenir et risque
caractérisation des trajectoires évolutives des systèmes

secondairement :

hiérarchisation des actions de réhabilitation et de protection au regard de leur efficacité et de leur
efficacité environnementale

Thème de rattachement Agence de l'Eau :

La réduction des pressions par les substances chimiques, notamment :

Q12 :

- caractériser l'effet des pressions et des rejets de substances
- préciser l'influence des pollutions historiques à la contamination de l'eau et des poissons et les
risques associés à leur remobilisation

Q28 (par extension des résultats obtenus) :

- établir un diagnostic sur la contamination des eaux côtières et de transition par les substances et
leurs effets sur les communautés aquatiques

Q29 (par extension des résultats obtenus) :

- préciser et dimensionner le rôle du sédiment dans le transfert des polluants, par son rôle
puits/source en particulier en lagunes

Site ou Observatoire de rattachement ZABR:

SOERE OLA : lac du Bourget et ses affluents Leysse et Tillet

Finalités et attendus opérationnels :

Nous avons l'ambition de déterminer (i) l'intensité et la vitesse des processus « naturels » de décontamination des écosystèmes lenticques pollués par les composés organiques persistants semi-volatils COSV (ii) la relation entre la pollution du milieu (eau et sédiments) et la contamination des organismes aquatiques.

L'objectif est aussi de définir un instrument opérationnel pour l'aide à la décision dans la définition des stratégies et des politiques de gestion des sites pollués connectés à des écosystèmes aquatiques en validant un "modèle" applicable à différents polluants organiques (HAP, PCB, PBDE, PFOS, etc).

Ces objectifs sont a priori généralisables par l'étude d'un site pilote, le lac du Bourget et deux affluents contaminés historiquement par les PCB. En effet, la diversité des sources de contamination du lac (ponctuelles via ses affluents ou diffuses via les dépôts atmosphériques) et la diversité des propriétés physico-chimiques (Koa, Kow, Kaw, etc) des 7 molécules indicatrices de la pollution par les polychlorobiphényles (PCBi) permettent de généraliser les résultats à d'autres systèmes aquatiques lenticques ou lotiques (voire littoraux marins).

La finalité opérationnelle de cette recherche est d'adapter les actions à mener pour limiter ou supprimer le transfert aux milieux aquatiques des molécules organiques toxiques et persistantes de sites contaminés en identifiant l'efficacité et les limites des opérations de dépollution conduites sur un des lacs naturels les plus pollués d'Europe par les PCB.

Les données de la littérature relative à l'étude des grands lacs nord-américains montrent que la volatilisation des PCB depuis la colonne d'eau est la voie principale de décontamination d'un lac pollué par des COSV. Toutefois, aucune donnée n'est disponible pour des systèmes lacustres de dimensions comparables aux lacs péri-alpins européens. L'enfouissement des polluants dans le sédiment, suivi de leur dégradation anaérobie, est également une voie connue de « décontamination » du milieu lacustre. Les vitesses de déchloration des PCB sont « site-dépendant ». Elles seront donc déterminées à la fois pour prévoir le temps de retour à un niveau acceptable de concentration en PCB mais aussi en vue d'établir une méthodologie transposable à d'autres sites et d'autres COSV. L'ensemble des résultats de ce projet permettront *in fine* de mieux connaître la dynamique de retour à un bon état chimique/écologique des systèmes lenticques pollués par des composés organiques persistants.

Les travaux réalisés récemment dans le cadre ZABR/agence de l'eau sur les espèces piscicoles du fleuve Rhône se sont focalisés sur la relation sédiment-poisson. Les résultats expliquent une part de la corrélation entre qualité du sédiment et imprégnation PCB du poisson mais ne sont pas extrapolables à la contamination des poissons en milieu marin. Nos récents travaux, menés en mésocosmes sur des organismes « modèle », tendent à montrer une possibilité de contamination directe des espèces aquatiques par la fraction des polluants dissous et colloïdaux dans l'eau. La contamination au PCB d'organismes aquatiques occupant des « positions trophiques » distinctes (invertébrés et poissons) sera étudiée en regard du degré de contamination du sédiment ET de la colonne d'eau.

Une des originalités de ce projet consistera donc à évaluer la part de contamination aux PCB (et autres COSV *in extenso*) des peuplements piscicoles via la colonne d'eau. Enfin, ce projet améliorera également les outils de diagnostic de l'état chimique des milieux aquatiques vis à vis de polluants hydrophobes à l'état de traces (du pg/L au ng/L), en mettant notamment à disposition un test de bioaccumulation autorisant la prévision de la contamination de la masse d'eau et des espèces piscicoles.

Objectifs et méthodologie :

Les actions prévues visent à :

- évaluer la répartition des PCB_i dans la colonne d'eau au cours des saisons (dissous, adsorbés sur des fractions de taille différente, stratifiés ou non...)
- estimer les flux entrants (dépôts atmosphériques, re-suspension depuis le sédiment, apports des affluents) et sortants (enfouissement dans le sédiment et volatilisation à l'atmosphère) afin de quantifier la vitesse des processus de "décontamination naturelle" de la masse d'eau
- évaluer la fonction de corrélation entre la concentration en PCB de la masse d'eau et la concentration en PCB_i d'espèces piscicoles "sensibles" (Omble, Lavaret) en vue de caractériser les facteurs influençant la contamination du poisson
- mettre au point un test de bio-accumulation des PCB dans des larves encagées de chironome (*Chironomus riparius*) et définir la fonction de corrélation entre la contamination de l'organisme et celle de l'eau et du sédiment,
- prédire la date de retour à des seuils acceptables (au sens réglementaire) de concentration en PCB_i dans l'eau et la chair de poissons.

Les compétences des équipes CARTELE (limnologie, réseau trophique lacustre, microbiologie), LCME (chimie, transfert des POP) et ECOTOX (toxicologie) ainsi que le support technique et logistique du CISALB (prélèvement par bateau, mesure de débit des affluents, connaissance et gestion du milieu) permettront d'assurer la réalisation de ce projet.

Les méthodes mises en œuvre font appel aux disciplines de l'écologie, de la microbiologie et de la chimie. Les actions principales sont programmées comme suit :

1. Quantification des PCB dans l'écosystème lacustre (février 2015 à juin 2016)

i) caractérisation de l'état chimique du lac (février 2015 - mai 2015 - octobre 2015 - février 2016 - mai 2016)

La contamination aux PCB des différentes fractions particulières en suspension et de la phase dissoute de la colonne d'eau sera mesurée aux périodes caractéristiques de l'écosystème limnique, en quatre

points du lac du Bourget selon un transect N-S, à différentes profondeurs. Les concentrations en PCB seront quantifiées par GC-PDHID

ii) caractérisation de la contamination piscicole (pêches d'automne 2014, 2015 et 2016)

iii) détermination des flux de volatilisation et d'enfouissement (janvier 2015 à janvier 2016)

iv) biodégradation anaérobie des PCB (février 2015 à mars 2016)

Etude en microcosmes de la cinétique de déchloration réductrice en anaérobiose avec ou sans ajout d'un accepteur d'électrons pour des sédiments contaminés avec de l'Aroclor 1260, pendant une période de 12 mois. L'activité bactérienne sera caractérisée par ciblage de gènes taxonomiques et fonctionnels spécifiques aux bactéries du genre *Dehalococcoides*, impliquées dans les processus de déshalorespiration ; leur diversité, abondance et activité seront déterminées par séquençage et PCR quantitative en temps réel sur les gènes cibles et leur transcrits.

2. Mise au point d'un test de bioaccumulation (février 2015 à mars 2016)

L'intérêt croissant pour ce genre d'outils s'explique en partie par la réalisation d'expositions semi-contrôlées et réalistes sur le plan environnemental, limitant les difficultés à extrapoler les données obtenues en laboratoire, mais également par sa complémentarité aux approches de surveillance des populations et des communautés autochtones. Le chironome est choisi ici pour sa pertinence source trophique dans les lacs et comme acteur dans le cycle de la matière organique particulaire sédimentée. Le protocole utilisé sera inspiré de celui décrit par Ferrari et al. (2014). Brièvement, des larves de chironomes provenant d'un élevage seront élevées jusqu'au début du stade IV. Les chironomes seront distribués dans des dispositifs de contenance 1000 mL avec une ouverture fermée par un tamis de maille 0,3 mm et contenant soit du sable, soit du sédiment du site d'étude sur ≈ 1 cm d'épaisseur. L'ensemble sera sécurisé dans des caisses ajourées disposées au fond ou maintenues dans la colonne d'eau. Au terme de la période d'exposition (max 7 jours), la concentration en PCB des chironomes sera déterminée (relation tâche 1) ; une analyse de traceurs isotopiques (C, N) sera également réalisée (relation tâche 3). Les expositions pourront être répétées en fonction des saisons afin de prendre en compte l'influence de la température et la nature de la matière organique. L'engagement d'organismes invertébrés au contact du sable non-contaminé permettra de déterminer la part de la bioaccumulation dû à l'adsorption/absorption de PCB dans la colonne d'eau (matières en suspension et dissous) par rapport à celle du sédiment lacustre (cage contenant le sédiment). Enfin, des tests de cinétique d'accumulation sur des échantillons de sédiment et d'eau brute (MES et dissous) du lac seront réalisés au laboratoire afin de modéliser la bioaccumulation et de comparer les approches *in situ* vs *ex-situ*.

3. Détermination de la fonction de corrélation de contamination aux PCB (février 2015 à mars 2016)

L'analyse des relations entre contamination aux PCB et comportement trophique, à l'échelle des espèces (ombles versus corégones) et des individus sera réalisée par utilisation de marqueurs trophiques. La variabilité inter et intra-spécifique habitats (pélagique, littoral ou benthique) et comportements trophiques (plus ou moins prédateurs) sera évaluée pour les deux espèces cibles (ombles et lavarets) selon une combinaison de traceurs isotopiques (H, C, S et N) et lipidiques (acides gras des lipides neutres). Les échantillons seront récoltés sur une centaine d'individus de chaque espèce, de préférence en fin d'été et les mesures de marqueurs trophiques et de PCB_i seront réalisées conjointement pour chaque individu. Une estimation de la variabilité isotopique spatiale des sédiments sera réalisée en relation avec la tâche 1. La modélisation statistique permettra d'évaluer dans quelle mesure la variabilité dans les taux de contaminations des poissons peut être attribuée aux comportements et aux habitats trophiques (Lopes et al, 2011). La comparaison des concentrations en PCB_i de la chair de poissons avec les concentrations dans la colonne d'eau apportera une information complémentaire à la voie trophique de contamination.

4. Interprétation des données et rédaction des livrables (juillet 2016 à novembre 2016)

Budget global du projet, durée et aide annuelle demandée :

Le budget global pour les deux unités impliquées, LCME et CARRTEL, (main d'œuvre scientifique et technique incluse) est estimé à 82 k€ HT.

Le budget demandé est de 40 889 € HT.

La durée du projet est de 2 ans, l'aide sollicitée est d'environ 20 440 € HT/an.

L'aide demandée est un complément à l'auto-financement du projet, destiné à couvrir :

- frais de déploiement du matériel sur le lac et son BV (installation trappes à sédiments rivière et lac, installation bouée-support de capteur passif)
- frais d'analyse (solvants, produits et petits matériels de laboratoire) pour environ 250 échantillons
- frais de mission
- indemnités de 4 stagiaires niveau DUT ou master 2.

Publications du consortium sur les 4 dernières années en lien avec ce thème :

LOPES C, PERGA ME, PERETTI A, ROGER MC, PERSAT H, BABUT M. (2011) Is PCBs concentration variability between and within freshwater fish species explained by their contamination pathways? *Chemosphere* 85(3):502-508.

COTTIN N., PERGA M.-E., CACHERA S., GIREL C., JALINOUX R., JENNY J.-P., NAFFRECHOUX E. (29-31 octobre 2012) La contamination historique aux PCB et aux HAP du bassin versant du lac du Bourget : quel impact sur la ressource en eau? GRUTTEE, Aix en Provence, France.

LYAUTEY E., HALLIN S., TEISSIER S., IRIBAR A., COMPIN A., PHILIPPOT L., GARABETIAN F. (2013) Abundance, activity and structure of denitrifier communities in phototrophic river biofilms (River Garonne, France). *Hydrobiologia*, 716:177–187.

CLEMENT B., NAFFRECHOUX E., COTTIN N., FERRARI B., VERNEAUX V., CLAPPE S., LYAUTEY E., CACHERA S. (12-16 mai 2013) POPs fluxes from Tillet, a tributary of Lake Bourget, and their effects on aquatic biota through chemical, biological and ecotoxicological studies. SETAC Europe 23rd Annual Meeting, Glasgow, Ecosse.

NAFFRECHOUX E. (25-28 juin 2013) Fate of PCB in aquatic ecosystems: cold case or hot topic? EuCheMS 14th International Conference on Chemistry and the Environment, Barcelone, Espagne.

FERRARI B.J.D., VIGNATI D.A.L., DOMINIK J. (2014) Bioaccumulation kinetics and effects of sediment-bound contaminants on chironomids in deep waters: new insights using a low-disturbance in situ system. *Environmental Technology*, 35(4): 456-469.

7.2 **Annexe 2 : méthodologie de quantification des PCB**

Extraction et purification des sédiments

Le sédiment humide est tamisé à 2mm avant extraction afin d'éliminer les éventuels végétaux et/ou graviers.

La teneur en eau et la perte au feu sont alors réalisés sur un aliquot.

Teneur en eau

1g de sédiment pesé précisément est placé durant 24h dans une étuve thermostatée à 105°C ; le sédiment préalablement refroidit au dessiccateur est alors pesé (balance Mettler Toledo new classic ML)

Perte au feu

L'échantillon sec est alors placé 2h à 525°C puis placé au dessiccateur jusqu'à refroidissement complet ; la masse de sédiment est alors pesée précisément (balance Mettler Toledo new classic ML)

Extraction au solvant

Les sédiments sont extraits au solvant sous pression à chaud en utilisant le système Dionex ASE 200 ;

3g de sédiment humide tamisé à 2mm sont séchés par ajout de sulfate de sodium anhydre (préalablement chauffé à 400°C/2 heures puis refroidit au dessiccateur) et broyé au mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine

Le sédiment sec est alors placé dans une cellule d'extraction ASE de 33 ml ; 20 µL d'étalon interne (PCB-116 d5) d'une concentration de 0.5 µg/ml est ajouté à l'échantillon sec à l'aide d'une seringue Hamilton de 100µL.

L'extraction ASE est alors réalisée durant 3 cycles (100°C – 100 bars) à l'aide d'un solvant acétone/dichloromethane (50 :50)

L'extrait obtenu est évaporé sous azote en utilisant un système de concentration TurboVap II jusqu'à un volume de 1 ml environ puis évaporé jusqu'à 100µL sous flux d'azote ultra-pur et repris par 1 ml d'heptane.

Purification de l'extrait

2.2 g de silice (purifié par passage à 525°C/2 heures) est placé dans une colonne en verre munie d'un fritté en verre. L'extrait obtenu est alors placé sur la silice. L'élution se fait par un mélange heptane/dichloromethane :

- une 1^{ère} élution avec 20ml du mélange en proportion (98 :2)
- une 2^{ème} élution avec 10ml du mélange en proportion (80 :20)

Les deux fractions sont réunies et concentré au TurboVap jusqu'à un volume de 1mL ;

Le soufre potentiellement présent dans le sédiment est éliminé par complexation avec du cuivre préalablement activé à l'acide sulfurique. L'échantillon est alors filtré sur PTFE 0.2µm puis évaporé jusqu'à 100µL environ sous flux d'azote ultra-pur. Le volume d'échantillon restant est mesuré précisément à l'aide d'une seringue Hamilton de 100µL et complété à 200µL avec de l'heptane avant l'analyse par chromatographie gazeuse.

Extraction et purification des poissons, chironomes et zooplancton

Prélèvement des filets de poisson, du zooplancton / conservation du matériel biologique :
Les filets de poissons sont prélevés à l'aide d'un scalpel propre, broyés à l'ultra-turax (4000 tr/min) et conservés au congélateur à -18°C jusqu'à l'analyse.

Les chironomes sont conservés au congélateur à -18°C jusqu'à leur analyse.

Le zooplancton est prélevé à l'aide d'un filet à zooplancton de maille 200µm et plongé à la profondeur désirée ; Plusieurs « traits de zoo » sur la colonne d'eau sont réalisés afin d'obtenir une quantité suffisante de matière.

Au laboratoire, le zooplancton récupéré dans un faible volume d'eau est alors filtré sur filtre en fibre de verre GF/F et le filtre est alors extrait au solvant sous pression à chaud en utilisant l'ASE DIONEX 200 (cf 4 extraction de la phase particulaire)

Analyse isotopique C, N, S :

2g de filet fraîchement prélevé sont séchés à l'étuve à 50°C durant 48 heures puis broyés au mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine et placée dans des tubes plastiques de 2ml avant d'être envoyé pour l'analyse isotopique au Canada (laboratoire SINLAB)

Extraction aux ultra-sons

5g de poisson ou 1g de chironome sont pesés précisément (balance Mettler Toledo new classic ML) et ajouté à 25ml d'un mélange heptane/acétone (75 :25) ainsi que 20µl d'une solution de PCB116-d5 à 0.5µg/ml utilisée comme étalon interne.

Le mélange est placé 1h dans un bain ultra-sons à 40°C. L'extrait obtenu est récupéré après décantation. Une deuxième extraction est alors réalisée sur le décantat avec 25ml du même mélange et placé 1h dans un bain ultra-sons à 40°C. Les deux fractions organiques sont mélangées.

Teneur en lipides des poissons

5ml d'extrait organique obtenu après extraction aux ultra-sons est évaporé sous flux d'azote ultra-pur jusqu'à poids constant. La teneur en lipides s'exprime en g de lipides/g de poisson extrait.

L'extrait organique est évaporé sous azote jusqu'à un volume de 1ml environ puis sous flux d'azote ultra-pur jusqu'à un volume de 100µL environ et complété à 1ml avec de l'heptane avant de subir une purification sur silice acide (50g de silice purifié par passage à 525°C/2h sont mélangés à 25 ml d'acide sulfurique concentré).

Purification de l'extrait

3 g de silice acide précédemment obtenue sont placés dans une colonne en verre munie d'un fritté en verre. L'extrait obtenu est alors placé en tête de colonne.

L'élution se fait par un mélange heptane/dichlorométhane :

- une 1^{ère} élution avec 20ml du mélange en proportion (98 :2)
- une 2^{ème} élution avec 10ml du mélange en proportion (80 :20)

Les deux fractions sont réunies et concentré au TurboVap jusqu'à un volume de 1ml ;

L'échantillon est alors filtré sur PTFE 0.2µm puis évaporé jusqu'à 100µL environ sous flux d'azote ultra-pur. Le volume d'échantillon restant est mesuré précisément à l'aide d'une seringue Hamilton de 100µL et complété à 200µL avec de l'heptane avant l'analyse par chromatographie gazeuse.

Prélèvement, Extraction et Purification des mousses de polyuréthane utilisées pour les prélèvements atmosphériques

Types de mousses

Mousse PU pour échantillonnage passif de diamètre 14 cm et de 1.35 cm d'épaisseur pour les prélèvements atmosphériques de la phase gazeuse (Tisch environmental 1/2" x 5 1/2")

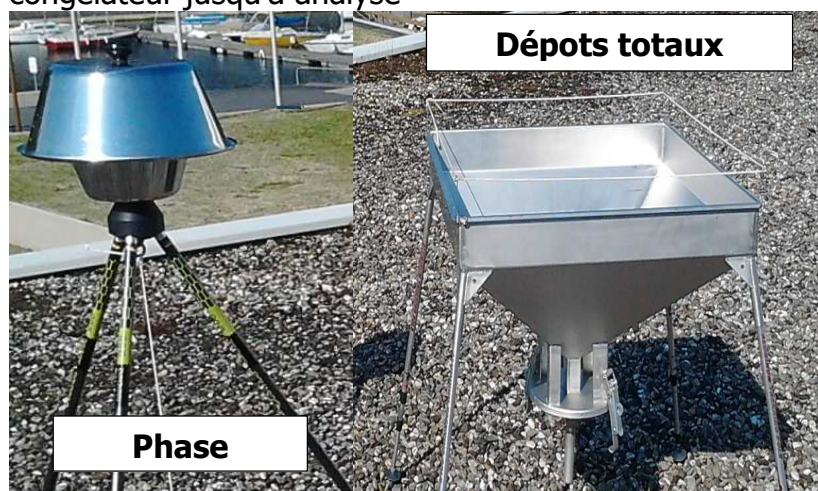
Mousse PU de diamètre 25 mm et de 75 mm de longueur (ECOMESURE) pour les prélèvements des dépôts totaux (secs et humides)

Conditionnement des mousses avant prélèvement

Les disques de PUF sont extraits au soxhlet 2x6 heures (soit environ 40 cycles) par un mélange acétone/dichlorométhane (50-50) puis mis sous vide dans un dessiccateur pour éliminer le solvant ; ils sont ensuite conservés dans du papier aluminium et placés au congélateur jusqu'à leur utilisation pour les prélèvements atmosphériques.

Prélèvement atmosphérique :

Les mousses PolyUréthane sont placées dans des dispositifs de prélèvements passifs et laissées environ 2-3 mois au contact de la phase atmosphérique puis conservées au congélateur jusqu'à analyse



Extraction au solvant

Les mousses PU sont extraites au solvant sous pression à chaud en utilisant le système DIONEX ASE 200.

La mousse est alors placée dans une cellule d'extraction ASE de 33 ml après avoir été enroulée dans un tissu Kimtech propre.



Accelerated Solvent Extraction (ASE) of Polychlorinated Biphenyls from Polyurethane Foam Adsorbent Cartridges (Dionex, application note 333)

20 µL d'étalon interne (PCB-116 d5) d'une concentration de 0.5 µg/ml est ajouté dans la mousse à l'aide d'une seringue Hamilton de 100µL.

L'extraction ASE est alors réalisée à 90°C et 100 bars de pression à l'aide d'un solvant acétone (100%) durant 2 cycles puis dichlorométhane (100%) durant 2 autres cycles. Les deux fractions sont rassemblées. L'eau est éliminée par ajout de sulfate de sodium anhydre. L'extrait obtenu est évaporé sous azote en utilisant un système de concentration TurboVap II jusqu'à un volume de 1 ml environ puis évaporé jusqu'à 100µL sous flux d'azote ultra-pur et repris par 1 ml d'heptane.

Purification sur silice

2.2 g de silice (purifié par passage à 525°C/2 heures) est placé dans une colonne en verre munie d'un fritté en verre. L'extrait obtenu est alors placé sur la silice. L'élution se fait par un mélange heptane/dichlorométhane :

- une 1^{ère} élution avec 20ml du mélange en proportion (98 :2)
- une 2^{ème} élution avec 10ml du mélange en proportion (80 :20)

Les deux fractions sont réunies et évaporé sous azote jusqu'à un volume de 1ml ;

L'échantillon est alors filtré sur PTFE 0.2µm puis évaporé jusqu'à 100µL environ sous flux d'azote ultra-pure. Le volume d'échantillon restant est mesuré précisément à l'aide d'une seringue Hamilton de 100µL et complété à 200µL avec de l'heptane avant l'analyse par chromatographie gazeuse.

Prélèvement, Extraction et Purification des mousses de polyuréthane utilisées pour les prélèvements aqueux

Prélèvement des échantillons aqueux

L'eau est prélevée à l'aide d'un dispositif actif de prélèvement de la phase particulaire et dissoute à un débit de 1mL/min ;

La phase particulaire est séparée de la phase dissoute sur filtres en fibre de verre GF/F.

La phase dissoute est ensuite passée sur mousse de polyuréthane de diamètre 25 mm et de longueur 75 mm (ECOMESURE).

Conditionnement des filtres et des mousses avant prélèvement

Les filtres GF/F sont conditionnés par passage au four à 525°C durant 4 heures.

Les disques de PUF sont extraits au soxhlet 2x6 heures (soit environ 40 cycles) par un mélange acétone/dichlorométhane (50-50) puis mis sous vide dans un dessiccateur pour éliminer le solvant ; ils sont ensuite conservés dans du papier aluminium et placés au congélateur jusqu'à leur utilisation pour les prélèvements atmosphériques.

Extraction de la phase particulaire ou dissoute

Les filtres GFF et les mousses PUF sont extraites au solvant sous pression à chaud en utilisant le système DIONEX ASE 200.

Les filtres GFF sont placés dans une cellule d'extraction ASE de 33 mL.

La mousse polyurethane est alors placée dans une cellule d'extraction ASE de 33 mL après avoir été enroulée dans un tissu Kimtech propre.

20 µL d'étalon interne (PCB-116 d5) d'une concentration de 0.5 µg/mL est ajouté à l'aide d'une seringue Hamilton de 100µL.

L'extraction ASE est alors réalisée à 90°C et 100 bars de pression à l'aide d'un solvant acétone (100%) durant 2 cycles puis dichlorométhane (100%) durant 2 autres cycles. Les deux fractions sont rassemblées. L'eau est éliminée par ajout de sulfate de sodium anhydre.

L'extrait obtenu est évaporé sous azote en utilisant un système de concentration TurboVap II jusqu'à un volume de 1 ml environ puis évaporé jusqu'à 100µL sous flux d'azote ultra-pur et repris par 1 ml d'heptane.

Purification sur silice

2.2 g de silice (purifié par passage à 525°C/2 heures) est placé dans une colonne en verre munie d'un fritté en verre. L'extrait obtenu est alors placé sur la silice. L'élution se fait par un mélange heptane/dichlorométhane :

- une 1^{ère} élution avec 20ml du mélange en proportion (98:2)
- une 2^{ème} élution avec 10ml du mélange en proportion (80:20)

Les deux fractions sont réunies et évaporé sous azote jusqu'à un volume de 1mL ;

L'échantillon est alors filtré sur PTFE 0.2µm puis évaporé jusqu'à 100µL environ sous flux d'azote ultra-pure. Le volume d'échantillon restant est mesuré précisément à l'aide d'une seringue Hamilton de 100µL et complété à 200µL avec de l'heptane avant l'analyse par chromatographie gazeuse.

Dosage des PCB par chromatographie gazeuse-PDID

Les 7 PCB indicateurs (CB28, 52, 101, 118, 138, 153, 180) sont analysés par chromatographie gazeuse (Clarus 580 Perkin Elmer) couplé à un détecteur par ionisation à décharge pulsée (VICI, PDID mode ECD).

Les PCB sont séparés sur une colonne Optima5 30m, 0.25µm MACHEREY NAGEL avec le programme de température suivant 60°C/1min ; rampe de 10°C/min jusqu'à 240°C, puis de 5°C/min jusqu'à 320°C, puis 320°C durant 5 min.

Les PCB sont identifiés par leur temps de rétention.

L'étalonnage interne pour quantification utilise l'étalon interne PCB-116 d5 c.