



HAL
open science

Accumulation de contaminants prioritaires par des invertébrés et poissons d'eau douce

Marc Babut, Benoit Ferrari, Mathilde Lauzent, Caroline Simonnet-Laprade,
Pierre Labadie, Hélène Budzinski

► **To cite this version:**

Marc Babut, Benoit Ferrari, Mathilde Lauzent, Caroline Simonnet-Laprade, Pierre Labadie, et al..
Accumulation de contaminants prioritaires par des invertébrés et poissons d'eau douce. Irstea, 5 rue
de la Doua, 69100 Villeurbanne; Onema. 2016. hal-04245858

HAL Id: hal-04245858

<https://ofb.hal.science/hal-04245858v1>

Submitted on 17 Oct 2023

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

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

Public Domain



Années 2013-2015 - Action 38

Accumulation de contaminants prioritaires par des invertébrés et poissons d'eau douce

Facteurs d'amplification trophique pour l'hexabromocyclododécane, le perfluorooctane sulfonate et les polybromodiphényléthers

Rapport final

Marc BABUT, Benoit FERRARI, Mathilde LAUZENT, Caroline SIMONNET-LAPRADE, Pierre LABADIE, Hélène BUDZINSKI

Décembre 2016

En partenariat avec UMR 5805 EPOC – équipe LPTC et Centre Ecotox EAWAG-EPFL



- **AUTEURS**

Marc BABUT, chercheur (Irstea, UR MALY, Laboratoire d'écotoxicologie), marc.babut@irstea.fr

Benoit FERRARI, chercheur (Centre Ecotox Eawag/EPFL, Suisse), benoit.ferrari@centreecotox.ch

Mathilde LAUZENT, doctorante, UMR 5805 EPOC, équipe LPTC

Caroline SIMONNET-LAPRADE, doctorante, UMR 5805 EPOC, équipe LPTC

Pierre LABADIE, chargé de recherche (CNRS, UMR 5805 EPOC, équipe LPTC) p.labadie@epoc.u-bordeaux1.fr

Hélène BUDZINSKI, directrice de recherche (CNRS, UMR 5805 EPOC, équipe LPTC)
h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

- **CORRESPONDANTS**

Onema : **Olivier PERCEVAL**, chargé de mission écotoxicologie, olivier.perceval@onema.fr

Partenaire : **Marc BABUT**, chercheur, marc.babut@irstea.fr

- **AUTRES CONTRIBUTEURS**

Bethany KUNZ, USGS, CERC, Columbia (MO), Etats-Unis

Raphael MONS, Irstea, Lyon-Villeurbanne

Alexandre SAPIN, Irstea, Lyon-Villeurbanne

Hervé QUEAU, Irstea Lyon-Villeurbanne

Patrice NOURY, Irstea Lyon-Villeurbanne

Adeline FRANCOIS, Irstea Lyon-Villeurbanne

Adrien MOREL Irstea, Aix-en-Provence

Jérémie LEBRUN, Irstea Antony

Bernard MOTTE, Irstea Lyon-Villeurbanne

Renaud TUTUNDJIAN, Irstea Lyon-Villeurbanne

Kévin LEQUETTE, Irstea Lyon-Villeurbanne

Alexandre CILIBERTI, Irstea Lyon-Villeurbanne

Lucile PERRIER, Irstea Lyon-Villeurbanne

Marie-Claude ROGER, Irstea Lyon-Villeurbanne

Droits d'usage : **restreinte (publications en préparation)**

Niveau géographique : national

Couverture géographique : bassin Rhône-Méditerranée

Niveau de lecture : professionnels, experts

[Les rubriques propres au partenaire (visa par ex.) peuvent être insérées dans cette page ou ajoutées sur une page supplémentaire]



• RESUME

La directive 2013/39 /UE modifiant les Directives 2000/60/CE et 2008/105/CE concernant les substances prioritaires dans le domaine de l'eau a introduit quinze nouvelles substances prioritaires au niveau communautaire, et promulgué les normes de qualité environnementale (NQE) correspondantes. Pour onze substances prioritaires, les NQE concernent le biote, et ciblent le poisson. Cette nouvelle orientation a soulevé un certain nombre de questions d'ordre méthodologique. L'une des options envisageables était de développer une approche graduée, permettant dans un premier temps de dépister les masses d'eau problématiques avec une approche à large échelle et relativement faible coût, pour dans un deuxième temps concentrer les efforts d'échantillonnage et d'analyse sur les masses d'eau plus problématiques. Cette stratégie implique de disposer de modèles prédictifs permettant d'estimer le dépassement des NQE biote à l'étape de dépistage. L'un de ces modèles est désigné sous le nom de « facteur d'amplification trophique » (TMF), qui représente « une estimation du changement moyen de la concentration d'un contaminant, normalisée par sa fugacité » pour un changement d'un niveau trophique.

Les principaux objectifs de cette action depuis 2013 concernaient la détermination de facteurs d'amplification trophique (TMF) pour trois « substances » prioritaires (SP), les polybromodiphényl-éthers (PBDE), le perfluorooctane sulfonate (PFOS), et l'hexabromocyclododécane (HBCDD), respectivement n° 5, 35 et 43 de la liste des substances prioritaires, et de contribuer au développement de l'approche graduée, en examinant principalement l'utilisation de deux organismes encagés : les larves de l'insecte *Chironomus riparius* et un crustacé amphipode (*Gammarus* spp.).

Pour le premier volet – détermination des TMF -, des prélèvements d'organismes benthiques et de deux espèces de poisson, le barbeau (*Barbus barbus*) et le chevaine (*Squalius cephalus*) ont été réalisés sur 9 sites en rivière, représentant différentes conditions (largeur, débit moyen ...) et des niveaux d'exposition élevés ou aux PBDE et à l'HBCDD pour plusieurs d'entre eux, tandis qu'aucun choix a priori n'était fait pour l'exposition au PFOS. L'ensemble des organismes des 5 premiers sites ont été conditionnés et analysés pour le PFOS et l'HBCDD, ainsi que pour les rapports isotopiques du carbone et de l'azote ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$), afin de déterminer leurs niveaux trophiques. Une partie des poissons a été disséquée, et les 3 fractions obtenues (filet, foie, ensemble carcasses-viscères-peau) ont été analysés séparément. De même, les échantillons d'organismes benthiques et des deux espèces de poisson de 5 sites ont été conditionnés et analysés pour les PBDE, $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$. Une partie des poissons a également été disséquée, et les 3 fractions obtenues (filet, foie, ensemble carcasses-viscères-peau) ont été analysés séparément.

A partir des données recueillies dans ce volet, des équations permettant de prédire les concentrations dans l'organisme entier à partir des concentrations dans le filet ont été développées par régression pour les trois SP. La relative faiblesse des effectifs de barbeaux disséqués a conduit dans certains cas à regrouper barbeaux et chevaines, après examen des distributions des concentrations.

Plusieurs méthodes de régression ont également été testées pour la détermination des TMF ; le modèle à effets mixtes, qui permet d'inclure les données censurées et de corriger les biais d'échantillonnage (notamment le déséquilibre des effectifs entre les niveaux trophiques), paraît représenter l'approche la plus rigoureuse et fiable. Les TMF obtenus à l'aide de ce modèle varient selon les sites entre 1.27 ± 0.15 et 4.09 ± 1.34 pour le PFOS, et 1.47 ± 0.02 et 7.92 ± 1.40 pour l'HBCDD (somme des isomères α , β et γ). Ces valeurs sont comparables aux TMF publiés pour ces deux composés, celles du PFOS étant toutefois situées dans la partie inférieure de la distribution. Les TMF des PBDE varient entre 1.7 et 5.7 (ensemble des congénères 28, 47, 99, 100, 153 et 154), et entre 1.6 et 7.2 pour le congénère 47, le plus abondant.

Pour le deuxième volet – test de l'application d'organismes encagés -, les cages ont été appliquées sur les mêmes sites, à raison de 2 campagnes par site et par an (juin et octobre) pour PFOS et HBCDD, et une seule campagne en juin pour les PBDE. Les organismes étaient nourris pendant le déploiement, conformément au protocole en vigueur dans le laboratoire. Les mêmes analyses ont été réalisées sur ces organismes que sur les organismes autochtones (contaminants, $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$). L'examen des données isotopiques montre que organismes encagés, quoique nourris de manière contrôlée, ont également eu recours aux ressources trophiques locales, en proportion variable selon le site, l'organisme, et la saison pour le gammare. Ces variations restaient toutefois inférieures à l'écart des rapports isotopiques entre organismes encagés et autochtones. Ces observations militent pour ne pas nourrir les organismes pendant le déploiement des cages, afin de se rapprocher des conditions d'exposition des organismes autochtones.

L'application des TMF déterminés en parallèle aux concentrations mesurées dans les organismes encagés a permis (en fixant des niveaux trophiques (TL) moyens pour les encagés, et en utilisant les TL moyens des sites pour les poissons) de tester de manière sommaire la prédiction de la contamination des barbeaux et des chevaines. Dans le cas du PFOS, les concentrations prédites sont inférieures aux concentrations observées dans 4 cas sur 5, mais la prédiction d'un dépassement ou non de la norme de qualité environnementale (NQE) est correcte dans tous les cas. Dans le cas de l'HBCDD les concentrations prédites sont similaires aux concentrations observées dans 2 cas sur 4, et nettement surestimées dans les 2 autres cas. Bien que les sites aient été choisis en fonction de niveaux d'exposition élevés, aucun dépassement de la NQE n'a cependant été constaté. Enfin, dans le cas des PBDE les concentrations prédites dans les poissons sont similaires aux concentrations observées dans 2 cas sur quatre, dont le site le plus contaminé, et inférieures dans les autres cas ; tous les sites dépassent la NQE.

Sans préjuger des conclusions opérationnelles qui seront tirées de ce travail, il paraît donc raisonnablement possible de poursuivre l'élaboration de la stratégie graduée de surveillance de l'état chimique dans le biote. Cette élaboration devra notamment optimiser le protocole d'encagement (nombre d'espèces, durées, absence de nourriture ajoutée) et fixer les conditions de l'extrapolation des concentrations mesurées dans les organismes encagés aux poissons, ainsi que celles de la comparaison aux NQE respectives.

- **MOTS CLES (THEMATIQUE ET GEOGRAPHIQUE)**

substance prioritaire – norme de qualité environnementale – bioamplification – facteur d'amplification trophique TMF – régression – perfluorooctane sulfonate PFOS – hexabromocyclododécane HBCDD – polybromodiphényl-éthers PBDE –
Bourbre, Furan, Leysse, Luynes, Ouche, Reyssoze, Rhône



- **ABSTRACT**

With the adoption of the European directive 2013/39/EU, following the directives 2000/60/EC and 2008/105/EC, fifteen new priority substances (PS) were added to the list, and the corresponding environmental quality standards (EQS) set as well. For eleven of these PS, the EQS are targeting biota, in particular fish. This new orientation raised various methodological issues. One possible option could be to implement a tiered approach, consisting at the first tier to screen the water bodies at a reasonable expense, so as to focus at the second tier on fish sampling in the water bodies at risk of exceeding the EQSs. Such an approach entails predictive models allowing estimating the probability of exceeding the EQSs at the first tier. One of these is the “trophic magnification factor” (TMF), i.e. “an estimation of the average change in contaminant concentrations, normalized for fugacity capacity, when moving from one trophic level up to the next in the food web.”

Since 2013, the first objective of this study was to develop trophic magnification factors (TMFs) for three PSs, namely the polybromodiphenyl-ethers (PBDE, PS n°5), the perfluorooctane sulfonate (PFOS, PS n°35), and the hexabromocyclododécane (HBCDD, PS n°43). The second objective was to contribute to the design of the abovementioned tiered approach, by testing the use of two caged organisms, namely the larvae of an insect (*Chironomus riparius*) and an amphipod (*Gammarus* spp.).

TMF determination:

Benthic invertebrates and fish from two species (barbel – *Barbus barbus*; chub - *Squalius cephalus*) were collected at five river sites, representing various conditions in terms of river width or flow. Exposure to PBDEs and/or HBCDD was expected to be high at several of these sites, whilst no expectation was made for PFOS. All the organisms were further analyzed for PBDEs, PFOS, HBCDD and isotopic ratios ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$), at 5 sites per PS. Some of the fish individuals were also dissected in three fractions (muscle, liver and a fraction regrouping the skin, the viscera and the carcass), and the fractions analyzed for PBDEs, or PFOS or HBCDD.

Regression models were derived from the results, so as to calculate whole-body concentrations from measurements in fillets (muscle) for the PSs. Nevertheless, the relative low sample size for dissected barbels led to pooling them with chubs, which was done after an examination of the respective distributions.

Several approaches were tested for determining TMFs, namely a simple linear regression, a Kendall regression (in order to include censored data), and a linear mixed effect model allowing to consider non-detect data as well as within-species variability of $\delta^{15}\text{N}$ and contaminant levels (random effects). The TMFs resulting from the mixed effect model, presumably the most interesting approach, ranged from 1.27 ± 0.15 to 4.09 ± 1.34 for PFOS and from 1.47 ± 0.02 to 7.92 ± 1.40 for HBCDD (sum of concentrations of α , β and γ isomers). These values are comparable to already published TMFs, though being for PFOS within the lower part of the distribution. For PBDEs, TMFs ranged between 1.71 ± 0.31 and 5.71 ± 2.62 (congeners 28, 47, 99, 100, 153 and 154 together) and between 1.55 ± 0.27 and 7.23 ± 2.85 for the congener 47 alone.

Implementation of a tiered approach – use of caged organisms:

Cages were deployed at the same sites as those used for the TMF development, twice a year (June and October) for one week in the case of PFOS and HBCDD; a single campaign was organized for PBDEs in June. Organisms were fed a controlled diet (Tetramin® for chironomids, and pre-conditioned alder leaves for gammarids), according to the protocol developed in our laboratory. The same analyses (PFOS, HBCDD, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) were performed on the caged organisms. Isotopic data show that caged organisms, although fed during their deployment, also used local trophic resources, in varying proportions. These proportions indeed varied according to the site, the caged species, and season in the case of gammarids. Nonetheless, these variations remained much lower than the difference between field and caged organisms' isotopic ratios. These observations strongly suggest modifying the protocol, and not feed the caged organisms during their deployment, in order to get closer to the field organisms' exposure conditions.

Applying the TMFs issued from this study to the concentrations measured in caged organisms allowed to perform a preliminary test of the first tier, i.e. by predicting PBDEs, PFOS or HBCDD concentrations in barbels or chubs. For this test we used mean trophic levels (TLs) (from field data) for the caged organisms, and site specific mean TLs for fish. For PFOS, the predicted concentrations remained below the measured ones at all

sites but one, but exceedance of the EQS (or not) was correctly predicted for all the sites. For HBCDD, the predicted concentrations are comparable to measured concentrations at two sites out of four, and notably overestimated at the two other. Although several of these sites were selected according to their high exposure status (based on sediment concentrations), none of them exceed the EQS for HBCDD. Finally, the predicted PBDE concentrations in fish were similar to the observed concentrations at 2 sites out of 4, including the most contaminated site. All these sites exceeded the EQS set for PBDEs.

Letting open the operational conclusions which might be derived from this work, the path towards a complete tiered approach for a survey of the chemical status in biota entails to optimize the caged organisms deployment (number of species, exposure duration, no food added). The rules for extrapolating from caged organisms to fish also need to be fixed, as well as the conditions of their comparison to EQSs.

- **KEY WORDS (THEMATIC AND GEOGRAPHICAL AREA)**

priority substance – environmental quality standard – biomagnification – trophic magnification factor TMF – regression – perfluorooctane sulfonate PFOS – hexabromocyclododécane HBCDD – polybromodiphenylethers PBDE

Rivers: Bourbre, Furan, Laysse, Luynes, Ouche, Reyssouze, Rhône



• **CONTENU**

1	Introduction	10
2	Méthodes	11
2.1	Sites choisis	11
2.2	Collecte d'invertébrés	12
2.3	Capture de poissons	13
2.4	Encagement de chironomes et de gammares	13
2.4.1	Gammares	13
2.4.2	Chironomes	13
2.5	Analyses	14
2.6	Bioamplification : BMF, TMF	14
3	Collecte des échantillons	15
3.1	Réalisation des campagnes d'exposition d'organismes encagés	15
3.1.1	Conditions d'encagement	16
3.1.2	Survie et croissance des organismes encagés	16
3.1.3	Contamination des organismes encagés à T0	17
3.2	Collecte d'invertébrés	18
3.3	Echantillonnage des poissons	19
4	Résultats	21
4.1	Sédiments superficiels	21
4.2	Données biométriques et description des réseaux trophiques du chevaine et du barbeau	22
4.2.1	Résultats des mesures d'isotopes	22
4.2.2	Choix des organismes représentant la ligne de base	23
4.2.3	Réseaux trophiques	24
4.2.4	Variabilité du fractionnement trophique (ΔN)	26
4.2.5	Niveaux trophiques des barbeaux et chevaines	27
4.2.6	Relations allométriques chez les poissons	28
4.2.7	Fractions isotopiques chez les organismes encagés	30
4.3	Perfluorooctane sulfonate (PFOS)	32
4.3.1	Accumulation par les organismes autochtones	32
4.3.2	Détermination des TMF	34
4.3.3	Accumulation par les organismes encagés – comparaison avec les organismes autochtones	38
4.4	Hexabromocyclododécanes (HBCDD)	39
4.4.1	Accumulation par les organismes autochtones	39
4.4.2	Détermination des TMF	41
4.4.3	Accumulation par les organismes encagés – comparaison avec les organismes autochtones	45
4.5	Polybromodiphényléthers (PBDE)	45
4.5.1	Accumulation par les organismes autochtones	45
4.5.2	Détermination des TMF	48
4.5.3	Accumulation par les organismes encagés – comparaison avec les organismes autochtones	56
4.6	Discussion	57
4.6.1	Bioamplification des composés	57
4.6.2	Variabilité des TMF	58
4.6.3	Conformité aux NQE	60
5	Conclusions – recommandations pour la mise en œuvre de la surveillance de l'état chimique dans le biote 61	
5.1	Mesurer les contaminants dans le muscle ou le corps entier ?	61
5.2	Utiliser des organismes encagés dans la surveillance de l'état chimique dans le biote ?	62
5.2.1	Voies d'exposition des organismes encagés	62
5.2.2	Prédiction des concentrations dans le poisson à l'aide des TMF	62
5.2.3	Considérations pratiques	65
6	Glossaire	67
7	Bibliographie	68
8	Table des illustrations	69
9	Annexes	70
9.1	Présentation des sites d'étude	70
9.2	Site d'approvisionnement en gammares	79

9.3	Récapitulatif des échantillons d'invertébrés et de poissons et des résultats d'analyses.....	80
9.4	Températures de l'eau pendant l'exposition des organismes encagés (°C)	81
9.5	Dual graphs des mesures d'isotopes	82
9.6	Niveaux trophiques des oligochètes	87
9.7	Tableau récapitulatif des TMF issus de cette étude	88
9.8	Valorisation	89

- **ACCUMULATION DE CONTAMINANTS PRIORITAIRES PAR DES INVERTEBRES ET POISSONS D'EAU DOUCE – FACTEURS D'AMPLIFICATION TROPHIQUE POUR L'HEXABROMOCYCLODODECANE ET LE PFOS**

1 Introduction

La directive 2013/39 /UE modifiant les Directives 2000/60/CE et 2008/105/CE concernant les substances prioritaires dans le domaine de l'eau introduit quinze nouvelles substances prioritaires au niveau communautaire, et promulgue les normes de qualité environnementale (NQE) correspondantes. Pour onze substances prioritaires, les NQE concernent le biote, et ciblent le poisson. Cette orientation est tout à fait nouvelle, et soulève un certain nombre de questions d'ordre méthodologique. Des discussions sont en cours au sein de l'UE pour élaborer la stratégie de surveillance des masses d'eau par rapport à cet objectif, dans un contexte de fortes contraintes sur les ressources mobilisables.

L'une des options envisagées par plusieurs Etats Membres (EM) est de développer une approche graduée, permettant dans un premier temps de repérer les masses d'eau problématiques avec une approche à large échelle et relativement faible coût, pour concentrer les efforts d'échantillonnage et d'analyse sur les masses d'eau plus problématiques.

Cette stratégie implique de disposer de modèles prédictifs permettant de prédire avec une certaine robustesse le dépassement des NQE biote à l'étape de dépistage.

Plusieurs possibilités sont envisagées en France pour l'étape de dépistage : échantillonnage et analyse de sédiments, mise en place d'échantillonneurs passifs, analyse d'invertébrés encagés, voire autochtones. Les modèles d'extrapolation aux concentrations dans le poisson et la procédure de comparaison aux NQE varieront en fonction de l'option choisie (Figure 1).

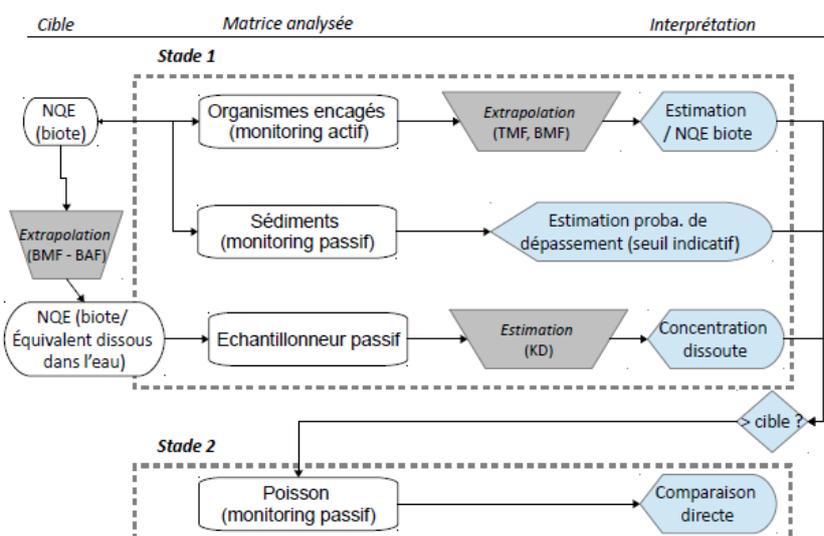


Figure 1 - Proposition d'approche graduée de surveillance du biote au titre de la DCE (Babut et al., 2013)

Les principaux objectifs de cette action concernent :

1. La détermination de facteurs d'amplification trophique (TMF) pour différentes SP pour lesquelles prévalent des NQE-biote.
2. La contribution au développement d'une approche graduée, utilisant un substitut du poisson en première intention (étape de dépistage) couplé à un modèle d'extrapolation au poisson.

En 2013 et 2014, les SP étudiées étaient le perfluorooctane sulfonate (PFOS) et l'hexabromocyclododécane (HBCDD). En 2015, l'étude a concerné les PBDE. Ce choix se justifie par plusieurs considérations :

- des 3 substances prioritaires dotées de NQE biote en 2008, les deux organiques ne dépassent jamais (hexachlorobutadiène) ou exceptionnellement (hexachlorobenzène, HCB) les NQE pour le biote (Babut et al., 2014). Dans le cas de l'HCB il s'agit en outre de contaminations historiques connues. La troisième (mercure, Hg) dépasse systématiquement la NQE biote dans le poisson, sans pour autant excéder (ou très exceptionnellement) la limite de consommation alimentaire.
- parmi les autres SP, les polybromodiphényléthers (PBDE) les résultats d'analyse disponibles sur le bassin Rhône-Méditerranée montrent un dépassement systématique de la NQE-biote (Babut et al.,

2014).

- le PFOS se présente de manière plus contrastée, avec un dépassement de la NQE dans 30% des échantillons analysés dans le bassin Rhône-Méditerranée (Babut *et al.*, 2014).
- pour l'hexabromocyclododécane (HBCDD) il n'y a que très peu de données disponibles actuellement sur la contamination du biote en zone continentale en France, en dehors de quelques analyses de poissons du Rhône et de la Saône (Miège *et al.*, 2012). En revanche des données sur la contamination des compartiments abiotiques (sédiment notamment) à l'aval de rejets industriels ou domestiques sont en cours d'acquisition.
- les PCB ont fait l'objet de nombreuses publications, et d'un certain nombre d'études en France, qui pourraient peut-être être exploitées de façon à dériver des TMF.

Dans le projet de directive « substances prioritaires », certaines substances sont considérées comme ubiquistes, dont Hg et PBDE (article 8bis de la directive 2013-39). Ces substances ubiquistes sont considérées comme connues, au point qu'il soit recommandé de les considérer à part dans la présentation des résultats¹. Il paraît donc plus important dans l'immédiat de travailler sur les substances pour lesquelles une fraction seulement des sites ou masses d'eau seraient non conformes, ou pour lesquelles on manque de données.

La mise en œuvre de cette action a comporté trois volets :

- a. une approche expérimentale visant à déterminer des TMF pour le PFOS, l'HBCDD et les PBDE sur deux sites ;
- b. une synthèse bibliographique des TMF publiés pour ces SP² ;
- c. le déploiement d'organismes engagés sur les sites d'étude, afin de comparer l'accumulation par ces organismes et celles des invertébrés autochtones.

2 Méthodes

2.1 Sites choisis

Les sites ont été choisis sur la base de deux critères principaux :

- Données préalables sur la contamination des poissons pour un des contaminants ciblés, PFOS et HBCDD en 2013 ou 2014, PBDE en 2015. Pour 2014, ce sont les données HBCDD de l'inventaire national (Botta et Dulio, 2014) qui ont gouverné le choix, ainsi qu'en 2015 pour les PBDE.
- La liste des sites les plus contaminés par l'HBCDD ou les PBDE a été filtrée de façon à cibler des stations du réseau de contrôle de surveillance (RCS) ou du réseau de contrôle opérationnel (RCO) sur lesquelles des pêches d'inventaire devaient être réalisées dans l'année.
- L'accessibilité des sites a également été prise en compte, notamment par rapport aux contraintes de l'encagement d'organismes.

Les neuf sites choisis (Figure 2 ; annexe 9.1) sont les suivants

- a. La Bourbre à La Verpillière (LVP) ; il s'agit d'un site du réseau de contrôle opérationnel (RCO), repéré sous la référence 06082260. Les poissons proviennent d'un site en amont sur le même cours d'eau (06080130, l'Isle d'Abeau).
- b. La Bourbre à Tignieu-Jamezieu (TIJ) ; il s'agit d'un site RCS (06083000).
- c. Le Furan à Andrézieux-Bouthéon (ADB) ; site RCS (04008000).
- d. La Luynes à Aix-en-Provence (LUY) ; site RCS/RCO (06194000).
- e. Le Rhône au niveau de la île de l'île du Beurre (BER) ; ce site n'appartient pas un des réseaux de surveillance. Géré par le Conservatoire de l'île du Beurre³, il a été utilisé par plusieurs études récentes sur le transfert vers le biote de contaminants persistants (PCB ; composés perfluorés). Le LEHNA (Université Lyon 1 – UMR 5023) y suit également les populations de poissons depuis plusieurs années, en lien avec la fédération de pêche concernée.
- f. l'Ouche à Fleurey-sur-Ouche (FLO) ; site RCS (06014970)
- g. la Reyssouze à Viriat (VAT) ; site RCS/RCO (06046000)

¹ Une autre implication de ce « statut » particulier, c'est que les sources sont en (grande) partie diffuses, ce qui les rend plus difficiles à maîtriser

² L'Ineris est par ailleurs chargé d'une mission plus large de recherche bibliographique sur les facteurs d'accumulation (BCF, BAF, BMF et TMF) sur l'ensemble des SP. En concertation avec eux, notre effort s'est concentré sur les TMF des deux SP concernées par cette étude

³ <http://www.iledubeurre.org/site/index.php>

- h. l'Ain à Saint-Maurice-de-Gourdans (MRG) ; site RCS/RCO (06092000)
- i. la Leysse au Bourget du Lac (BOL) ; site RCS (06073500)

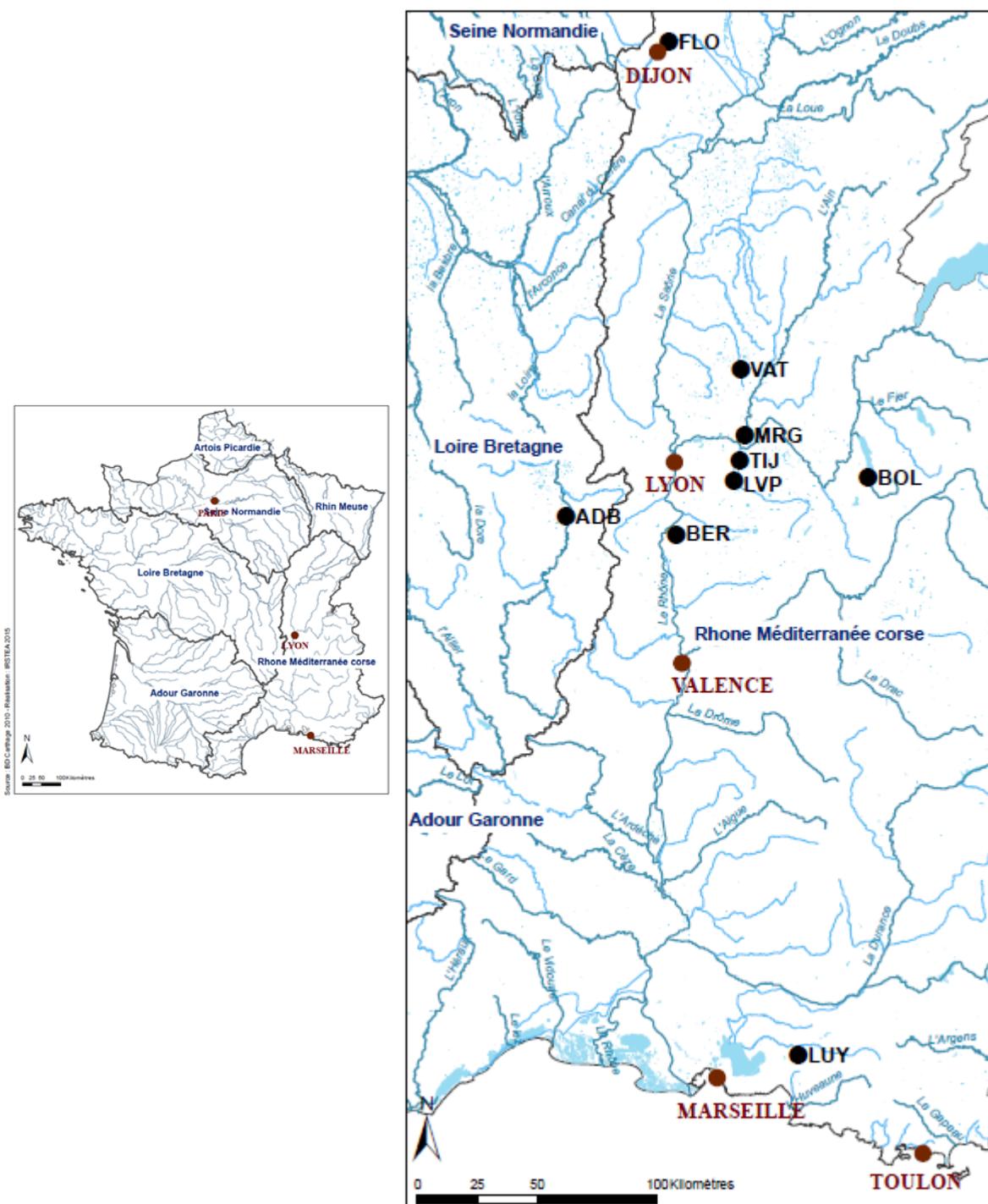


Figure 2 - Emplacement des sites d'étude (2013-2015)

Des fiches détaillées des sites d'étude figurent en annexe 9.1.

2.2 Collecte d'invertébrés

Des invertébrés benthiques ont été collectés sur les sites à l'aide d'un troubleau et de tamis de maille étagée de 2.5 mm à 500 µm, triés sur site par taxon, et répartis dans des contenants en plastique à moitié remplis d'eau du site, puis ramenés au laboratoire dans des glacières réfrigérées.

Après affinage du tri, les invertébrés ont été pesés, congelés et lyophilisés, puis transmis au LPTC pour analyse.

Dans la mesure du possible, cet échantillonnage devait viser en priorité les deux espèces encagées,

Gammarus fossarum et *Chironomus riparius*, ou des espèces proches (*Dikerogammarus villosus*, Chironominae), ainsi que d'autres invertébrés benthiques représentant différents comportements alimentaires.

Lors de la campagne d'automne 2014 et de la campagne 2015, des substrats artificiels ont également été implantés sur les sites, afin soit de compléter l'échantillonnage au troubleau, soit de constituer des échantillons de réserve pour des investigations complémentaires. Dans la plupart des cas, très peu d'organismes ont été collectés sur la durée d'exposition.

2.3 Capture de poissons

Les captures sont réalisées par pêche électrique en ciblant les espèces recommandées, chevaine (*Squalius cephalus*) et barbeau fluviatile (*Barbus barbus*). Les poissons sont anesthésiés à l'eugénol, puis transportés au laboratoire en glacière réfrigérée et maintenus à 4°C jusqu'à leur traitement, intervenant dans les 24 heures suivant le prélèvement. Les individus sont mesurés, pesés, puis congelés en sachets Zip-loc® ; un certain nombre d'individus sont disséqués préalablement et séparés en 3 fractions : foie, filet, et carcasse-viscères-peau (fraction incluant donc aussi le rein et une partie du sang, contenu dans la veine porte).

Les poissons ont été collectés à l'occasion des pêches d'inventaires réalisées par l'Onema ou Asconit dans la plupart des cas ; pour le site LUY, la pêche a été effectuée par Irstea.

2.4 Encagement de chironomes et de gammares

2.4.1 Gammares

Nous avons suivi le protocole développé dans le laboratoire pour cette espèce (Besse *et al.*, 2011, Besse *et al.*, 2012). Des gammares ont été prélevés avec un troubleau (500 µm) dans un site « de référence » (annexe 9.2), puis tamisés sur place (mailles de 2 à 2.5 mm) afin de séparer les individus adultes des juvéniles. Seuls les adultes ont été ramenés au laboratoire puis stabulés à 12°C pendant au minimum 15 jours dans des aquariums de 30 L, sous aération constante, dans une eau de forage (conductivité 600 µS.cm⁻¹) maintenue à une température de 12 ± 0.2°C et à une photopériode de 16h de jour / 8 h de nuit. Au cours de la stabulation, les organismes ont été nourris à l'aide d'un stock de feuilles d'aulne récoltées sur un site peu anthropisé dans les monts du Lyonnais. Les feuilles séchées sont préalablement conditionnées pendant 6 jours dans l'eau de forage. La veille du dépôt des cages et afin de limiter l'influence possible de la taille et du stade de reproduction, les mâles adultes de taille approximativement identiques sont séparés des femelles (identification à l'œil) et du reste de la population présente. Le jour du dépôt des cages, des cages de 20 mâles (récipients de 180 ml en polypropylène équipés à chaque extrémité d'un tamis de maille de 1mm) sont préparées avec la nourriture *ad libitum* (feuilles d'aulne conditionnées) pour une semaine. Ces cages sont alors maintenues dans un seau d'eau propre (e.g. celle des aquariums de stabulation) dans une glacière réfrigérée jusqu'à l'implantation sur site.

Sur site, les cages sont disposées dans des caisses en plastique ajourées, et mises en place au fond de la rivière. Un enregistreur de température est placé dans la caisse.

Au bout d'une semaine, les caisses sont retirées, les cages ramenées au laboratoire en glacière réfrigérée. Les gammares sont comptés, pesés et congelés, puis lyophilisés avant envoi au laboratoire pour analyse.

Cent individus ont été implantés par site pour chaque substance (soit 10 cages au total) ; 20 gammares sont également mis à part le jour du dépôt des cages pour chaque substance, et constituent le témoin à T0.

2.4.2 Chironomes

Nous avons également suivi un protocole déployé au laboratoire (Ferrari *et al.*, 2014, Lopes *et al.*, 2011a). Des larves de chironomes provenant d'un élevage réalisé dans les conditions décrites dans la norme AFNOR T90-339-1 sont élevées jusqu'au début du stade IV. Le jour du dépôt des cages, pour chaque substance à doser 400 chironomes sont répartis dans 4 piluliers et transportés sur le site en glacière réfrigérée. A ce stade, ils sont implantés dans 4 dispositifs de contenance 1000 ml avec une ouverture fermée par un tamis de maille 0.3 mm et contenant du sable de Fontainebleau (diamètre 150-200 µm) sur ≈ 1 cm d'épaisseur disposés dans des caisses ajourées. Après ajout de nourriture *ad libitum* (1 mg.jr⁻¹ par larve de Tetramin® broyée), les caisses sont disposées au fond. 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) et par retour d'expérience (Lopes *et al.*, 2011a) afin que les chironomes exposés soient toujours dans une phase de croissance avant la pupation. 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, comptés, pesés et congelés, avant d'être lyophilisés.

Deux lots de 400 chironomes témoin (T0) sont préparés selon le même protocole que les chironomes encagés au début de chaque exposition.

2.5 Analyses

Le tableau récapitulatif des échantillons analysés pour le PFOS, l'HBCDD et les PBDE figure en annexe 9.3.

Pour l'analyse du PFOS et des diastéréoisomères d'HBCDD, l'extraction des analytes est réalisée par extraction micro-ondes. Les extraits obtenus sont purifiés par extraction sur phase solide séquentielle puis analysés par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (HPLC-MS/MS) (cf. (Bertin *et al.*, 2014, Munoz *et al.*, 2015) pour la méthode d'analyse du PFOS). La quantification est réalisée par étalonnage interne, à l'aide d'étalons marqués au ^{13}C . Des lots de blancs analytiques sont inclus dans chaque série d'analyse pour évaluer la contamination associée à la manipulation des échantillons au laboratoire et des tests de récupération sont réalisés sur matrice dopée.

L'extraction des PBDE a été effectuée à l'aide d'un ASE 350 (Dionex) (solvant utilisé : dichlorométhane). L'extrait obtenu est reconcentré grâce à un évaporateur à température et à vide modulable (Rapidvap). L'extrait est purifié sur une microcolonne contenant du cuivre activé et de la silice acidifiée à 40% H_2SO_4 (conditionnée avec 5 mL de pentane) et élué avec trois fois 5 mL d'un mélange pentane/dichlorométhane (90:10, v/v). L'éluât est reconcentré sous flux d'azote et repris dans 50-100 μL d'isooctane. Une quantité connue de marqueur seringue octachloronaphtalène (OCN) est ajoutée en fin de manipulation. Les PBDE sont analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS, Waters, Quatro micro GC). La quantification est faite par étalonnage interne grâce aux F-BDE-47, BDE-181 et BB-209. Les isotopes ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) sont mesurés simultanément dans les sédiments décarbonatés et les tissus biologiques en spectrométrie de masse (Isotopic Ratio Mass Spectrometry) (Bodin *et al.*, 2009).

2.6 Bioamplification : BMF, TMF

- Niveau trophique (TL)

Préalablement à l'estimation du TMF, il convient de déterminer le niveau trophique (TL) des espèces étudiées ; l'estimation du TL est souvent réalisée selon une équation similaire à l'Équation 1 ci-dessous (Fisk *et al.*, 2001).

$$TL - conso = 2 + (\delta^{15}\text{N}_{conso} - \delta^{15}\text{N}_{base})/3.8$$

Équation 1

avec $TL-conso$ le niveau trophique d'un organisme consommateur, $\delta^{15}\text{N}$ (‰) la différence entre les isotopes de l'azote, pour ce consommateur et pour l'organisme assigné à la ligne de base. Dans cette équation, l'organisme pris pour ligne de base est un consommateur primaire, il a donc un $TL = 2$. Le dénominateur (3.8 ‰) correspond à l'enrichissement trophique moyen repris de (Fisk *et al.*, 2001).

Une valeur moyenne de 3.4 ‰ est souvent utilisée pour le facteur d'enrichissement trophique de l'azote (Post, 2002). Dans l'étude « Transfert des PCB du sédiments au biote » réalisée sur le Rhône, l'enrichissement trophique, estimé par inférence bayésienne, s'est avéré supérieur à 3.4 ‰. (Borgâ *et al.*, 2012) recommandent néanmoins d'utiliser cette valeur en l'absence de connaissance spécifique des chaînes trophiques étudiées. Ces auteurs soulignent également qu'il peut être utile de normaliser $\delta^{15}\text{N}$ par l'âge pour corriger les variations du ΔN dues à ce facteur.

L'identification de l'organisme utilisé comme ligne de base ($TL=2$ dans l'Équation 1) est également un point critique.

- Facteur de bioamplification (BMF)

Il s'agit d'un quotient entre la concentration de la substance considérée dans un prédateur et sa proie (organismes entiers ; Équation 2). Il est d'usage de normaliser les concentrations par les taux de lipides respectifs lorsqu'il s'agit de substances hydrophobes, pour lesquels le taux de lipides influence l'accumulation.

$$BMF = \frac{[prédateur]}{[proie]}$$

Équation 2

[*prédateur*] désigne la concentration dans l'organisme prédateur, [*proie*] la concentration dans sa proie.

Certains auteurs, par exemple (Fisk *et al.*, 2001), ajustent le BMF en fonction des niveaux trophiques respectifs du couple prédateur proie (Équation 3). Cette pratique permet a priori de comparer les BMF d'une même substance entre différentes études, notamment lorsque ces BMF résultent de mesures in situ.

$$BMF_{TL} = \frac{BMF}{(TL_{prédateur}/TL_{proie})}$$

Équation 3

- Facteur d'amplification trophique (TMF)

Le TMF est estimé par régression linéaire sur les concentrations log-transformées et les TL, lorsque des données sont disponibles sur ≥ 2 TL (Équation 4) (Borgå *et al.*, 2012, Tomy *et al.*, 2004a).

$$\text{Log}[substance] = a + (b * TL)$$

Équation 4

Le TMF est déduit de l'Équation 4 en appliquant

$$TMF = e^b$$

Équation 5

Les deux équations peuvent être remplacées par des formules équivalentes en base décimale. Dans le cas des composés hydrophobes, les concentrations de contaminant sont souvent ajustées par rapport au taux de lipides (Fisk *et al.*, 2001).

Plusieurs approches de régression ont été testées pour ajuster les données expérimentales à l'Équation 4 : une régression simple lorsque les données n'étaient pas censurées (i.e. taux de détection 100 %), régression de Kendall pour des taux de détection entre 20% et 100% (fonction *cenken* sous R), et régression linéaire généralisée à effets fixes et aléatoires⁴ (fonction *lme4* sous R) pour tenir compte à la fois des données censurées et des effectifs déséquilibrés selon les niveaux trophiques. La première et la troisième approches permettent d'obtenir également l'erreur sur la pente et sur l'ordonnée à l'origine ; par ailleurs, on obtient également des indications sur la fiabilité des régressions pour la première (R^2 , p -value) et la deuxième (τ , p -value) mais pas la troisième, où l'estimation de la qualité de la régression repose sur le critère AIC.

BMF ou TMF peuvent être calculés pour des composés individuels, ce qui paraît a priori plus rigoureux, ou pour des groupes de composés dont les concentrations sont additionnées. Dans ce cas, il faudrait théoriquement que les proportions de chaque composé soient conservées entre les différents niveaux trophiques, ce qui n'est pas vraiment le cas ni pour l'HBCDD ni pour les PBDE puisqu'il y a biotransformation ou sélectivité de l'absorption (Hakk et Letcher, 2003), ou en tous cas que les modifications de composition du mélange n'affectent (en plus ou en moins) que les composants de ce mélange.

3 Collecte des échantillons

3.1 Réalisation des campagnes d'exposition d'organismes encagés

Cinq campagnes ont été réalisées, en parallèle à la collecte d'invertébrés :

- Du 25 juin au 2 juillet 2013 à LVP et BER ; retrait des cages chironomes le 30 juin à BER, en raison de la température
- Du 30 septembre au 7 octobre 2013 à LVP et BER ; retrait des cages chironomes le 4 octobre à BER, en raison de la température
- du 3 au 10 juin 2014 (ADB, LUY, TIJ) ; retrait des cages chironomes le 6 sur tous les sites, en raison de la température et du WE de Pentecôte.
- du 8 octobre au 15 octobre 2014 (ADB, LUY, TIJ) ; les cages de chironomes ont été récupérées à Luynes le 13 octobre, et le 15 sur les deux autres sites. En raison de crues importantes, les chironomes n'ont pu être nourris à Tignieu-Jamezyieu (TIJ), et avec retard à Andrézieux-Bouthéon (ADB). Les gammars n'ont pas survécu à ADB.
- Du 1^{er} au 12 juin 2015 (BOL, FLO, MRG, TIJ, VAT) ; au lieu d'implanter et reprendre les cages aux

⁴ General Linear Mixed Model, GLMM

mêmes dates sur tous les sites, l'implantation a été réalisée en plusieurs jours la première semaine, les retraits des deux types de cage étant réalisés après 7 jours.

3.1.1 Conditions d'encagement

Les températures moyennes journalières relevées sur les neuf sites des cinq campagnes d'encagement figurent en annexe 9.3 ci-dessous.

En 2013, les températures relevées sont plus élevées à l'automne qu'au printemps, et dans le Rhône (BER) par rapport au canal Catelan (LVP), tout en étant peu variables en moyenne pour les 2 sites. Les durées d'exposition des chironomes ont été réduites en conséquence à BER. En 2014, les températures sont plus élevées dans la Luynes en octobre qu'en juin. Elles augmentent sensiblement et rapidement sur les sites d'Andrézieux-Bouthéon et Tignieu-Jamezieu en juin, tandis qu'en octobre elles sont plus basses et diminuent graduellement. Cependant, les contraintes logistiques, auxquelles se sont ajoutés des aléas météorologiques (orages) en octobre, n'ont pas permis d'ajuster de manière optimale les durées d'encagement des chironomes. En juin 2015, les températures étaient globalement élevées pour le chironome à tous les sites, alors que les contraintes logistiques n'ont pas permis d'ajuster les durées d'exposition des chironomes.

3.1.2 Survie et croissance des organismes encagés

- **Survies :**

En 2013 et 2014, les dispositifs ont été dédoublés puisqu'il y a deux SP étudiées sur chaque site. En 2015, l'étude ne comportait qu'une seule campagne pour une seule SP.

Année	Site	Lot	chironomes		gammares	
			juin	octobre	juin	octobre
2013	BER	1	96.0	96.0	98.0	98.0
		2	92.0	96.0	99.0	98.0
	LVP	1	87.0	87.0	98.0	92.0
		2	95.0	60.0	96.0	95.0
2014	ADB	1	80.0	72.5	86.0	0.0
		2	77.3	76.3	96.0	0.0
	LUY	1	70.5	59.0	93.0	86.0
		2	77.3	57.3	94.0	91.0
	TIJ	1	67.8	69.5	93.0	86.0
		2	77.5	85.0	93.0	87.0
2015	BOL	-	47.0		91.0	
	FLO	-	82.3		98.0	
	MRG	-	31.8		85.0	
	TIJ	-	64.8		90.0	
	VAT	-	49.3		77.0	

Tableau 1 – Taux de survie des organismes encagés (%)

A l'exception des campagnes d'octobre 2014 (crues) et de juin 2015 (température) pour le chironome, les taux de survie sont satisfaisants pour les deux organismes. Les taux de survie sont plus variables en octobre, en raison notamment des épisodes de crue intervenus pendant l'encagement en 2014 : les chironomes n'ont pas été affectés à ADB et TIJ, et présentent une survie plus faible à LUY ; les gammares ont survécu de manière similaire en juin et en octobre à LUY et TIJ, tandis qu'à ADB l'ensablement des cages les a privés d'oxygène.

D'une manière générale, les taux de survie chez les chironomes et les gammares sont comparables à ceux obtenus sur plus de 20 sites différents au cours d'exposition répétées en 2009 et 2010 pour le chironome, et en 2009 pour le gammare (Lopes *et al.*, 2011a). Pour le chironome, le 25ème percentile des valeurs obtenues pour la survie correspond à 64.8%, 56% et 83% respectivement pour cette étude, l'étude de 2009 et celle de 2010. Pour le gammare, le 25ème percentile des valeurs obtenues pour la survie correspond à 86 et 85% respectivement pour cette étude et l'étude de 2009. A partir de ces valeurs, des seuils d'acceptabilité des tests dans les protocoles d'encagement pourraient être proposés à 60% pour le chironome et 80% pour

le gammare.

- Croissance des chironomes : mesure de taille sur 3 ou 4 réplicats pour les témoins T0, et 1 à 2 lots pour les sites selon les années.

Site	Lot	juin		octobre	
		Masse finale / ind. (mg)	durée (jours)	Masse finale / ind. (mg)	durée (jours)
ADB	1	3.42	3	3.61	7
	2	2.97		2.74	
BER	1	6.8	4	5.3	4
	2	5.8		5.7	
BOL	-	4.01	7		
FLO	-	3.55	7		
LUY	1	3.82	3	3.69	5
	2	-		3.12	
LVP	1	7.8	7	7.7	7
	2	9.1		6.2	
MRG	-	2.63	7		
TIJ	1	2.22	3	3.92	7
	2	2.32		4.27	
TIJ	(2015)	5.11	7		
VAT	-	4.53	7		

Tableau 2 – Croissance des chironomes engagés

Grâce au protocole d'ajustement des temps d'exposition, aucune larve survivante n'a atteint le stade de pupation. Par ailleurs, la variabilité inter-sites est importante, avec des coefficients de variation (CV) correspondant à 46% pour la période de juin et 32 % pour la période d'octobre. Cette variabilité peut provenir de l'influence de plusieurs facteurs, comme la température, les crues, ou encore la taille moyenne des chironomes qui était différente à chaque déploiement des caisses. Il faut noter que même si les chironomes étaient nourris *ad libitum* avec de la Tetramin®, ils ont pu également profiter comme source de nourriture de la présence de particules probablement de qualité différente sur chaque site.

En termes de recommandations pour l'utilisation dans le cadre d'un monitoring, la question de ne finalement pas ajouter de la Tetramin se pose compte tenu du faible gain sur la variabilité intersites, puisque l'objectif est de mesurer un niveau d'imprégnation des proies d'une façon optimum sur le site considéré.

3.1.3 Contamination des organismes engagés à T0

Lors de la campagne de juin 2013, il a été constaté de fortes concentrations d' α , β et γ -HBCDD dans les chironomes (respectivement 36.8 ; 10.4 et 7.04 ng.g⁻¹ pf), et dans une nettement moindre mesure dans les gammares (respectivement 3.71 ; <LD ; 0.91 ng.g⁻¹ pf). Ces concentrations ont chuté chez les chironomes dès la campagne d'octobre 2013, et sont restées à un niveau <LQ, voire <LD en 2014. En revanche chez les gammares les concentrations relevées à T0 sont restées élevées en octobre 2013 (6.37 ng.g⁻¹ pf pour l'isomère α , < LD et 0.91 ng.g⁻¹ pf pour les isomères β et γ), avant de retomber à des niveaux <LD ou <LQ en juin et octobre 2014. Le constat de contamination avant encagement pour la campagne de juin 2013 a conduit à réaliser des analyses d'HBCDD chez les gammares avant stabulation ; les résultats confirment que l'origine de la contamination se trouvait dans les locaux d'Irstea.

De même, il a été constaté des niveaux de PFOS (et de la somme des concentrations de PFAS analysés) similaires dans les organismes à T0 et dans les organismes engagés après exposition (Figure 3). L'augmentation plus rapide de la somme des concentrations de 17 PFAS que du PFOS seul (somme des isomères L+R) indique que d'autres composés interviennent dans la contamination. Alors qu'en octobre 2013 la contribution majoritaire était due au PFTTrDA (2.25 ng.g⁻¹ pf chez les gammares), et dans une moindre mesure au PFOS, d'autres acides carboxyliques perfluorés (PFOA, PFUnDA, PFTeDA)

apparaissent également en proportion notable dans les échantillons de l'automne 2014. Aucune analyse de gammars avant stabulation n'a été réalisée. Toutefois, un contrôle avait été fait sur le site d'approvisionnement au printemps 2013, montrant un niveau de contamination comparable aux organismes à T0 de 2013 et du printemps 2014 ($\Sigma\text{PFAS} = 5.2 \pm 2.1 \text{ ng.g}^{-1} \text{ pf}$; $\text{PFOS} = 0.93 \pm 0.21 \text{ ng.g}^{-1} \text{ pf}$).

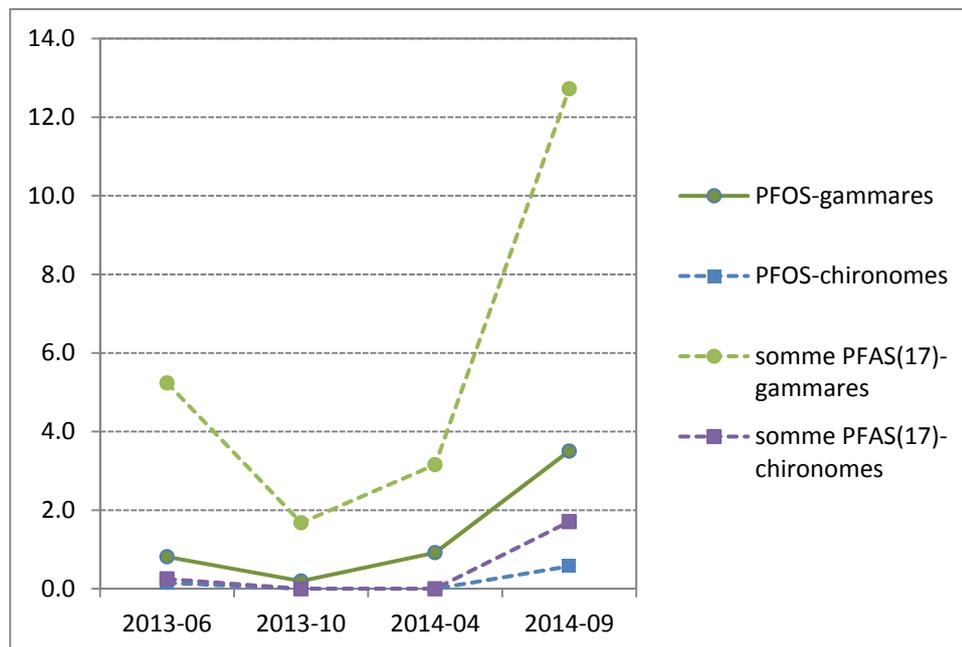


Figure 3 - Concentrations de PFOS et autres PFAS dans les organismes encagés à T0 ($\text{ng.g}^{-1} \text{ pf}$)

L'origine de l'HBCDD dans les élevages d'Irstea est très probablement à mettre en relation avec les travaux de construction, achevés en octobre 2012. L'HBCDD est utilisé comme retardateur de flamme dans les matériaux isolants et équipements électroniques, il est donc vraisemblable qu'il imprégnait l'atmosphère du site après réception des bâtiments. L'origine des PFAS pourrait être liée à l'eau du forage utilisé pour alimenter les élevages.

Les T0 des chironomes présentent des concentrations <LD pour tous les congénères de PBDE analysés ; le T0 gammare présente en revanche des niveaux mesurables de BDE47 et 99, et des niveaux intermédiaires entre LD et LQ ou proches de la LQ pour les BDE 28 et 100. L'origine des PBDE dans ces organismes (contamination au site d'approvisionnement ou durant la stabulation à Irstea) n'a pas été déterminée.

Les conséquences de ces observations sont discutées aux § 4.3.3, 4.4.3, 4.5.3 et 5.2 ci-dessous.

3.2 Collecte d'invertébrés

- 27 et 28 juin 2013 (LVP) ; 02/07/2013 (BER)
- 8 et 9 octobre 2013 (LVP) ; 29 octobre 2013 (BER)
- 3-4 juin 2014 à Luynes (LUY) ; 5 juin 2014 à Tignieu-Jamezieu (TIJ) et Andrézieux-Bouthéon (ADB)
- 8-9 octobre 2014 (LUY) ; 15 octobre 2014 (ADB) ; pas de collecte à TIJ, où le débit était défavorable pendant la période visée. En raison des crues, les substrats artificiels n'ont rien collecté à ADB et LUY. En revanche, malgré la perte d'un des deux substrats à TIJ, des gammars en quantité suffisante ont pu être récoltés sur ce site.
- 1^{er} juin 2015 à VAT, 2 juin à TIJ, 4 juin à FLO, 5 juin à MRG et 10 juin à BOL.

Les invertébrés collectés ont été triés autant que possible à la famille sur le terrain ; dès le retour au laboratoire, les échantillons séchés, pesés, congelés immédiatement, puis lyophilisés.

Le Tableau 3 résume la diversité et les quantités (nombre d'échantillons analysables) collectées sur les 9 sites pour les 5 campagnes.

Invertébrés	ADB 2014 06/10	BER 2013 06/10	BOL 2015 06	FLO 2015 06	LUY 2014 06/10	LVP 2013 06/10	MRG 2015 06	TIJ 2014-15 06/10-06	VAT 2015 06
Anisoptères	4			1		4	1	2	1
Aselle	2								1
Baetidés					1			2	
Bithynia				1					
Chironomes	4	2	1		2				1
<i>C. fluminea</i>		1							1
Crevettes		4		1					
Coléoptères								1	
Corixidae				1					
Dikérogammare		1							
Dyticidae		1							
<i>Ephemera danica</i>			1	1			1	1	
Ephéméroptères			1	1			1	1	1
Gammares		1	1	1	4	4	1	5	1
Heptagenidae				1					
Hétéroptères	1							1	
Mollusques (spp.)				1					
Oligochètes	2	3	1		2	4		3	1
physe	2								
Pisidium								2	
planaires								1	
<i>P. antipodarum</i>	2								
Radix				1					
sangsues				1		1	1	2	1
Sialidé		1				1			
simulies								2	
Stagnicola				1					
Trichoptères			1	1	2		1	3	1
Zygotères	3	2	1	1		4	1	3	1

Tableau 3 – Genres et effectifs d'invertébrés collectés en juin et octobre 2014

3.3 Echantillonnage des poissons

En 2013, seuls des poissons des 2 espèces cible provenant de la banque d'échantillons résultant du plan d'action PCB ont été exploités, à savoir :

- BER : des goujons, gardons et barbeaux collectés dans le cadre d'une étude sur l'accumulation des composés poly- et perfluorés (PFAS) soutenue par le Plan Rhône. Les PFAS étant analysés dans les filets et foies de ces poissons dans le cadre dudit projet, nous utiliserons les données PFOS des barbeaux pour la présente étude. Les barbeaux de l'étude Plan Rhône (N=20) ont donc fait l'objet d'analyses d'HBCDD.
- LVP : échantillons de filets de barbeau fluviatile (N=4) et chevaine (N=5) individuels provenant du site CATISL, situé à environ 3 km en amont du site de collecte des invertébrés et d'exposition des cages.

2014 - 2015:

- ADB : pêche d'inventaire par points réalisée en régie par l'Onema le 15 juillet 2014. Onze chevaines ont été mis à part à cette occasion et conservés aux fins d'analyse.
- BOL : pêche d'inventaire par points réalisée en régie par l'Onema le 29 juillet 2015. Dix barbeaux et cinq chevaines ont été mis à part à cette occasion et conservés aux fins d'analyse.
- FLO : pêche d'inventaire réalisée par Asconit le 2 juin 2015. Cinq barbeaux et sept chevaines récupérés pour l'analyse.
- LUY : pas de pêche d'inventaire prévue en 2014 ; nous avons prélevé vingt chevaines par pêche électrique ciblant les habitats le 3 juillet 2014.
- MRG : pêche d'inventaire par points réalisée en régie par l'Onema le 21 juillet 2015. Neuf barbeaux et sept chevaines ont été récupérés pour l'analyse.
- TIJ : pêche d'inventaire par points réalisée par Asconit pour le compte de l'Onema le 24 septembre 2014. Dix barbeaux et huit chevaines mis à part aux fins d'analyse, de PFOS et d'HBCDD en 2014, et

de PBDE en 2015.

- VAT : pêche d'inventaire par points réalisée en régie par l'Onema le 23 juillet 2015. Neuf chevaines ont été récupérés pour l'analyse.

Un certain nombre d'individus, d'une taille suffisante ont été disséqués et conservés en 3 fractions (muscle, foie, carcasse+viscères+peau), afin de pouvoir étudier la distribution des contaminants dans ces fractions et sa variabilité, et *in fine* estimer la concentration totale à partir des analyses dans une fraction, en particulier le muscle. Les résultats des pêches et du pré-traitement des échantillons est résumé au Tableau 4 ci-dessous.

Site	Barbeaux		Chevaines	
	entiers	disséqués	entiers	disséqués
ADB	-	-	7	4
BER	-	20 ⁵	-	-
BOL	4	6	-	5
FLO	5	-	7	-
LUY	-	-	10	10
LVP (CATISL)	5	-	5	-
MRG	6	3	6	1
TIJ	5	5	7	1
VAT	-	-	4	5

Tableau 4 - Effectifs et utilisation des poissons collectés

Sans préjuger de la qualité de la dissection proprement dite (filet bien séparé de cvp par exemple), notons que les pertes ont été globalement limitées, puisque la masse reconstituée (somme des masses des fractions) représente 90 à 101% des masses des poissons entiers (moyenne 97%).

⁵ En réalité les foies d'une dizaine d'individus, et les filets de tous, ont été prélevés et analysés dans le cadre d'un autre projet, mais pas les carcasses et viscères.

4 Résultats

L'ensemble des résultats bruts est présenté en annexe 9.3 (fichier à part).

4.1 Sédiments superficiels

L'échantillonnage et l'analyse de sédiments superficiels, pas directement nécessaire pour la détermination des TMF, n'ont été réalisés qu'à partir de 2014. Les mesures de PFOS à BER proviennent d'un projet exécuté en parallèle⁶. Les analyses de sédiments en 2014 ont porté sur PFOS, HBCDD et isotopes, en 2015 sur PBDE et isotopes.

Sites	Campagne	$\delta^{13}C$	$\delta^{15}N$	PFOS	HBCDD	PBDE
ADB	juin-14	-25.35	4.62	0.97	9.19	
	oct-14	nm (*)	nm (*)	nm (*)	nm (*)	
BER	août-12			0.23	-	
	mars-13	nm	nm	0.40	nm	
	oct-13			0.33	nm	
LUY	juin-14	-25.39	7.05	0.55	10.35	
	oct-14	-24.82	5.14	0.76	1.00	
LVP	juin-13	nm	nm	nm	nm	
	oct-13			nm	nm	
TIJ	juin-14	-27.31	4.71	0.69	39.35	
	oct-14	nm (*)	nm (*)	nm (*)	nm (*)	
	juin-15	-27.76	4.72			0.66
BOL	juin-15	-27.418	2.147			nd
FLO	juin-15	-28.640	4.519			nd
MRG	juin-15	-28.897	4.984			nd
VAT	juin-15	-27.756	4.718			1.42

Tableau 5 – Mesures isotopiques (‰) et contaminants (ng.g⁻¹ ps) dans les sédiments superficiels

nd : non déterminé (tous les congénères <LD) ; nm : non mesuré ; (*) une crue a eu lieu pendant la campagne, perturbant sensiblement sa réalisation (cf. aussi § 2.4 et 3.2. nd : non déterminé, suite à des problèmes techniques sur l'appareil. PFOS : somme de l'isomère linéaire et des isomères ramifiés ; HBCDD somme des isomères α , β et γ ; PBDE somme des congénères 28, 47, 99, 100, 153 et 154 (i.e. les congénères inclus dans le paramètre PBDE de la liste des substances prioritaires au titre de la DCE).

Les concentrations de PFOS des sédiments 5 sites investigués en 2013-2014 sont nettement supérieures à la médiane des concentrations relevées en France dans le cadre de l' « étude prospective » (Munoz *et al.*, 2015). L'HBCDD est plus rarement détecté dans les cours d'eau français (< 20 %, même cadre que le PFOS), mais les valeurs reportées dans le Tableau 5 ci-dessus sont inférieures au 90^{ème} percentile des mesures de cette étude (64.04 ng.g⁻¹ ps ; (Botta et Dulio, 2014). A noter également la présence de BDE 209 à BOL (2.63 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ps), VAT (137 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ps) et TIJ (15.7 **mg.kg**⁻¹ ps). Le mélange technique Déca-BDE ayant été autorisé plus longtemps que les mélanges Penta- et Octa-BDE qui correspondent aux congénères constituant le paramètre PBDE de la DCE, la présence du BDE209 associée aux niveaux plus élevés de Σ PBDE (tous les congénères ou seulement les 6 congénères DCE) témoigne vraisemblablement d'une activité industrielle récente à l'amont. A contrario l'absence du BDE 209 pourrait signifier que les activités rejetant des retardateurs de flamme ont cessé, ou que les rejets sont mieux traités.

Deux groupes de sites se distinguent par rapport aux valeurs de $\delta^{13}C$: LUY et ADB, où ces valeurs sont moins négatives (de l'ordre de -25 ‰), et BOL, FLO, MRG, TIJ et VAT (entre -27 ‰ et -29 ‰). Cette différence renvoie probablement à l'origine de la matière organique à chaque site. La signature isotopique des sédiments est liée à celle des sols, elle-même reflétant celle de la végétation (Brunet, 2004). Le $\delta^{13}C$ à ADB et LUY est proche des valeurs du phytoplancton et du microphytobenthos, et dans la gamme des plantes en C3 (dont des algues) (Dubois, 2012). Les autres sites présentent également des valeurs de $\delta^{13}C$ comprises dans la fourchette des sols portant des plantes en C3 (arbres, mousses ... : -30 ‰ à -20 ‰), Les valeurs plus négatives pourraient être dues à l'influence de l'urbanisation (combustion de matière organique récente ou fossile) (Mariotti, 1991).

⁶ Transfert de composés perfluorés du sédiment au poisson – Projet réalisé dans le cadre du volet recherche du plan Rhône, soutenu par l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse et la Région Rhône-Alpes (sept. 2011 – mars 2016)

Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ sont assez homogènes, entre 4 et 5 ‰, à l'exception de BOL (2.2 ‰), ainsi que de VAT et du prélèvement de juin à LUY (≈ 7 ‰). Ce jeu de données paraît trop réduit pour évaluer si les différences sont significatives. Comme pour le $\delta^{13}\text{C}$, les variations de $\delta^{15}\text{N}$ dans les sédiments sont en rapport avec les origines de la matière organique, soit autotrophe ou matière organique réfractaire des sols autour de 4 ‰ (Tomaszek *et al.*, 2009) ; les sources anthropiques ou l'élevage devraient également contribuer à ces variations (Anderson et Cabana, 2006),

4.2 Données biométriques et description des réseaux trophiques du chevaîne et du barbeau

4.2.1 Résultats des mesures d'isotopes

L'erreur moyenne de mesure sur ces paramètres est de $\pm 0,7$ ‰ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et $\pm 0,4$ ‰ pour le $\delta^{15}\text{N}$. Cette erreur représente le cumul de la variabilité de l'analyse et de celle de la matrice. Pour des matrices très homogènes, l'erreur se situe plutôt autour de $\pm 0,2$ ‰. Pour un certain nombre d'échantillons, l'écart-type des mesures sur les 3 ou 4 réplicats dépasse largement ces valeurs moyennes ; nous avons alors considéré que les réplicats responsables de ces écart-type élevés ne devaient pas être pris en compte ; cela ne concerne que 2 échantillons pour le $\delta^{13}\text{C}$, et 2 pour le $\delta^{15}\text{N}$.

Les gammes de valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ dans l'ensemble des organismes par site sont représentées Figure 4. Les différences sont significatives aussi bien pour le $\delta^{13}\text{C}$ (test de Kruskal-Wallis, p -value < 0.0001 ; comparaisons par paires à l'aide d'un test bilatéral de Dunn) que pour le $\delta^{15}\text{N}$ (même procédure, p -value < 0.0001 pour le test de Kruskal-Wallis). Les sites LVP, BER, MRG FLO et TIJ (2014 et 2015) sont caractérisés par des valeurs plus négatives pour le $\delta^{13}\text{C}$, LUY et ADB présentant des valeurs plus élevées. Pour le $\delta^{15}\text{N}$, ADB, LUY et VAT se distinguent par des valeurs significativement plus élevées, BOL, FLO et MRG au contraire par des valeurs basses. Les différences entre les sites pour le $\delta^{15}\text{N}$ seraient à relier aux pressions anthropiques dans le bassin versant (Anderson et Cabana, 2006). Chez les poissons, la même approche statistique permet de distinguer le site de BER (valeurs moins négatives) pour le $\delta^{13}\text{C}$; pour le $\delta^{15}\text{N}$ les sites de ADB et LUY sont également distincts des autres sites. Dans les lacs, les variations de $\delta^{13}\text{C}$ entre zone littorale (moins < 0) et zone pélagique s'expliquent par la différence de productivité, elle-même influencée par l'agitation du milieu et la disponibilité du C inorganique (Post, 2002). Les sites LVP et TIJ, qui appartiennent au même bassin versant, et BER, pourraient ainsi témoigner d'une productivité plus faible.

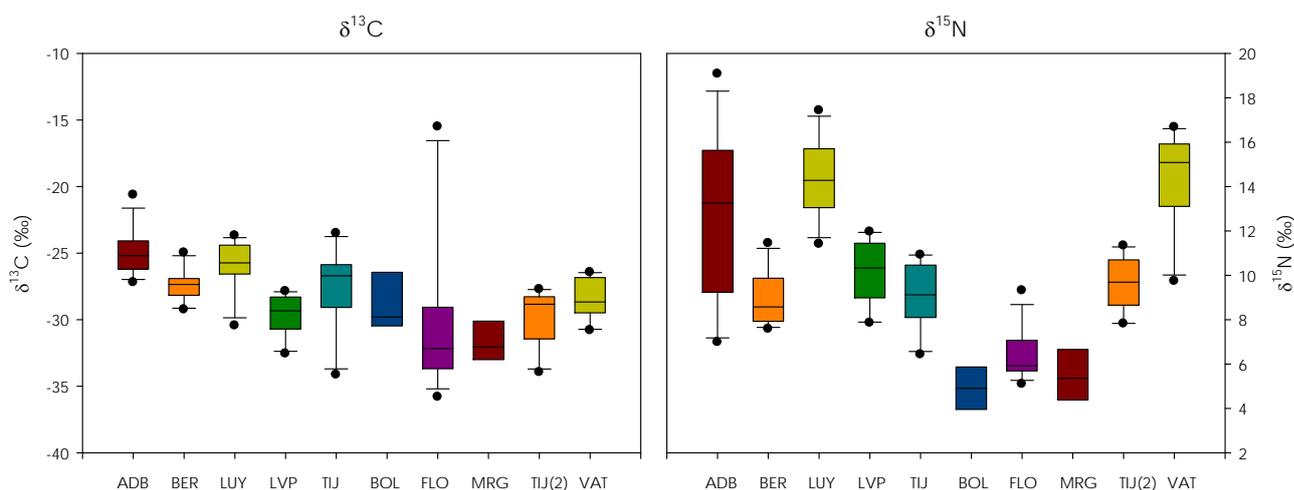


Figure 4 – Boîtes à moustache des mesures d'isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) chez les invertébrés

Tous sites et espèces confondus, les moyennes des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des filets et des poissons entiers capturés en 2014 sont respectivement de -25.10 ‰ et -24.86 ‰, non différentes au risque de 5% (test de Kolmogorov-Smirnov, p -value 0.81). Pour le $\delta^{15}\text{N}$, les moyennes respectives sont de 14.95 ‰ et 14.22 ‰ ; le même test statistique indique que les deux groupes ne sont pas significativement différents au risque de 5%, mais la p -value est ici proche du seuil (0.08). Sur les chevaines seuls (site LUY), les moyennes de $\delta^{13}\text{C}$ restent proches et non significativement différentes (p -value 0.31), par contre pour $\delta^{15}\text{N}$, les moyennes des mesures dans le filet (14.90 ‰) et l'organisme entier (15.45 ‰) sont significativement différentes (p -value

0.007). Pour le barbeau (site TIJ), les moyennes de $\delta^{13}\text{C}$ sont encore équivalentes (p -value 0.67), tandis que les moyennes de $\delta^{15}\text{N}$ (14.37 ‰ pour le filet et 13.79 ‰ pour l'organisme entier) sont significativement différentes (p -value 0.037). Tant pour le chevaie à LUY que pour le barbeau à TIJ, l'écart des moyennes de $\delta^{15}\text{N}$ dans le filet et l'organisme entier (<1‰) est toutefois nettement inférieur au ΔN ; il semble donc possible d'assumer l'erreur sur la détermination du niveau trophique commise en utilisant indifféremment les filets ou les organismes entiers, ce qui en revanche augmentera la robustesse de l'estimation des TMF.

Comme indiqué au § 2.6, la détermination des niveaux trophiques suit une procédure empirique, consistant à estimer la position trophique d'un organisme (taxon) à partir de la position trophique assignée à un organisme bien caractérisé (« ligne de base ») et du taux de fractionnement trophique de l'azote (ΔN).

4.2.2 Choix des organismes représentant la ligne de base

Le choix des organismes représentant la ligne de base soulève d'importantes difficultés ; l'organisme choisi doit capturer la variabilité temporelle du $\delta^{15}\text{N}$ des producteurs primaires et des sources d'énergie d'origine détritique. D'autre part, la détermination du niveau trophique d'un consommateur ayant plusieurs sources de carbone requiert des organismes représentant ces sources ; au-delà de deux sources il faut aussi recourir à des isotopes additionnels, tels le $\delta^{34}\text{S}$ (Post, 2002). Cet auteur, à la suite de plusieurs autres tels que (Vander Zanden et Rasmussen, 2001), recommande d'utiliser des consommateurs primaires longévives (e.g. mollusques bivalves ou gastéropodes) comme ligne de base ; dans le cas d'un écosystème comportant peu d'espèces reliées entre elles, la ligne de base peut être assignée à une espèce dont la position trophique est bien comprise. Toutefois, les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ mesurées chez des consommateurs primaires sont assez variables ; les brouteurs-racleurs⁷ présentent des valeurs $\delta^{15}\text{N}$ significativement plus élevées, les racleurs⁸ des valeurs basses (Anderson et Cabana, 2007). De plus les racleurs sont bien distribués du point de vue spatial. La variabilité intersites des TL calculés suggère de l'omnivorie parmi certains consommateurs primaires. Anderson et Cabana recommandent par conséquent d'utiliser des gratteurs comme ligne de base, de préférence à une moyenne des consommateurs primaires.

De fait, nous n'avons pas trouvé de mollusques sur tous les sites ; certains de ces sites présentaient une faible diversité, en regard de la contrainte de la masse à échantillonner. Pour ces différentes raisons, les choix opérés pour la ligne de base à chaque site ne suivent pas toujours les recommandations ci-dessus.

- ADB : les valeurs $\delta^{15}\text{N}$ les plus basses correspondent aux taxons HET (Hétéroptères) et CHI (Chironomes, à hémoglobine en l'occurrence). Le taxon Hétéroptères regroupe plusieurs genres : le genre *Nepomorpha* comprend des espèces plutôt prédatrices tandis que le genre *Corixidae* est plutôt détritivore, consommateur d'algues microscopiques ; le genre *Gerromorpha* a un comportement de prédateur/charognard (Tachet *et al.*, 2010). A défaut d'une détermination taxonomique plus fine, l'échantillon HET correspondrait (valeur moyenne) à un TL de 2.
- BER : le mollusque corbicule (*Corbicula fluminea*, bivalve filtreur, vivant dans le sédiment) est présent sur ce site de manière récurrente. Cette espèce a été utilisée précédemment comme ligne de base sur ce site (Lopes *et al.*, 2011b). Les autres mollusques (gastéropodes ou bivalves) sont présents de manière plus variable. La corbicule reste donc le choix optimal, avec TL=2.
- LUY : les taxons invertébrés collectés sur ce site présentent des valeurs $\delta^{15}\text{N}$ élevées par rapport à d'autres sites (Figure 4). Les valeurs les plus basses correspondent aux oligochètes (N=2, $\delta^{15}\text{N}$ moins élevé en automne), gammare (N=2, $\delta^{15}\text{N}$ moins élevé en automne), chironomes (N=1 ; espèce sans hémoglobine) et Hydropsychidae (HYD). Selon (Tachet *et al.*, 2010), le niveau trophique des oligochètes varie sensiblement selon les genres ; de plus la variation de $\delta^{15}\text{N}$ entre juin et octobre contrevient aux critères de choix des organismes pour la ligne de base. Il en va de même pour les gammares, sujets également à l'omnivorie. En revanche les Hydropsychidae sont épibenthiques – filtreurs ; ils seraient donc a priori moins sujets à des variations saisonnières de $\delta^{15}\text{N}$ que les gammares, et plus longévives que les chironomes. Leur TL est égal à 2.
- LVP : la macrofaune invertébrée à ce site est assez pauvre ; aucun mollusque n'a été collecté. Le seul taxon consommateur primaire est représenté par les oligochètes, qui occupent de fait la position trophique la plus basse. Selon le genre, le TL des oligochètes varie entre 1 et 3 (Tachet *et al.*, 2010) ; la moyenne des TL sur 12 genres est égale à 2 ; faute de mieux, la ligne de base à LVP

⁷ Ou racleur ; traduction du terme « collector » chez Anderson C, Cabana G (2007). Estimating the trophic position of aquatic consumers in river food webs using stable nitrogen isotopes. *Journal of the North American Benthological Society*, **26**: 273-285. recoupée avec la description des traits chez Tachet H, Richoux P, Bournaud M, Usseglio-Polatera P (2010). *Invertébrés d'eau douce - Systématique, biologie, écologie*. Vol. CNRS éditions

⁸ « scraper » chez Anderson C, Cabana G (2007). Estimating the trophic position of aquatic consumers in river food webs using stable nitrogen isotopes. *Journal of the North American Benthological Society*, **26**: 273-285., ce qui se traduit par « racleur » ; la distinction entre « collector » et « scraper » n'est pas évidente à rendre, dans la mesure où Anderson et Cabana donnent très peu d'indications taxonomiques sur les organismes ainsi regroupés

sera représentée par les oligochètes (moyenne de 2 valeurs de $\delta^{15}\text{N}$), avec un TL=2.

- TIJ (2014) : aucun mollusque, ni de taxon gratteur n'ont pu être collectés. La position trophique la plus basse est représentée par la similie (SIM), taxon filtreur de plancton. Ce taxon présente au moins une partie des caractéristiques d'une bonne ligne de base, avec TL = 2.
- BOL : la macrofaune invertébrée collectée à ce site est assez peu diversifiée (5 taxa en quantité suffisante pour l'analyse) ; en particulier, aucun mollusque n'a été trouvé. Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ les plus basses sont obtenues pour les oligochètes (4.33 ‰) et les trichoptères (3.58 ‰). De même qu'à LVP, la ligne de base sera donc représentée par les oligochètes avec un TL=2.
- FLO : outre l'échantillon composé d'éphémères, les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ les plus basses sont relevées pour *Radix* (5.43 ‰), pour un pool de mollusques mélangés, pour un échantillon de *Bithynia* (5.88 ‰), et un de *Stagnicola* (5.57 ‰), mollusque gastéropode de la famille des Lymnaeidae – de même que *Radix* (Tachet *et al.*, 2010)-. L'échantillon de *Bithynia* et le pool de mollusques présentent une signature de $\delta^{13}\text{C}$ distincte, et il est préférable de retenir un échantillon taxonomiquement homogène. *Stagnicola* et *Radix* présentent des comportements alimentaires voisins selon (Tachet *et al.*, 2010) et des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ très voisines. La ligne de base sera représentée par *Radix*, TL= 2.
- MRG : la macrofaune invertébrée collectée à ce site est peu diversifiée (7 taxa en quantité suffisante pour l'analyse) ; aucun mollusque n'a été collecté. Les plus basses valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ correspondent à l'échantillon de sangsue (signature $\delta^{13}\text{C}$ très différente des autres invertébrés), et à l'échantillon d'éphémères (4.38 ‰). Le groupe des Ephéméroptères est diversifié, mais selon (Tachet *et al.*, 2010) la plupart des larves sont détritivores ; certaines ont cependant un comportement prédateur. Compte tenu de la basse valeur de $\delta^{15}\text{N}$ observée pour ce taxon sur ce site, il semble faisable de le retenir comme ligne de base, avec TL = 2.
- TIJ (2015) : contrairement à 2014, un échantillon de mollusque (*Pisidium*) a été obtenu ; il présente en outre une signature en $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ très voisine de celle des similies utilisées comme ligne de base en 2014, et qui sont encore présentes dans le jeu de données 2015. La ligne de base sur ce site pour 2015 peut être représentée par *Pisidium*, avec un TL = 2.
- VAT : les valeurs en $\delta^{15}\text{N}$ mesurées sur ce site sont très élevées comparées aux autres (9.74 à 16.67 ‰ pour les invertébrés), la plus basse étant observée pour l'échantillon de chironome. Néanmoins, on peut retenir la corbicule pour la ligne de base, sur la base du même raisonnement que pour le site de BER ; on notera aussi que l'échantillon d'éphémères, taxon utilisé pour la ligne de base à MRG, présente une signature très voisine de celle des corbicules. La corbicule est affectée d'un TL=2.

4.2.3 Réseaux trophiques

Les relations trophiques probables sont définies sur la base des comportements alimentaires (Tachet *et al.*, 2010) et affinées à l'aide des données isotopiques (graphiques par site en annexe 9.5).

4.2.3.1 ADB

Eu égard aux valeurs de $\delta^{13}\text{C}$, les taxons POT et HET (après élimination d'une des mesures) n'appartiennent pas au même ensemble que les autres organismes.

- ANI, ZYG : valeurs $\delta^{15}\text{N}$ similaires aux CHE prédateur de larves d'insectes, entre autres.
- HYD : valeur maximale de $\delta^{15}\text{N}$ pour ce site ; capture des particules en suspension (microphytes, débris végétaux < 1mm, micro-invertébrés) à l'aide d'un « filet » ;
- ASE : détritivore (microphytes, macrophytes ...) ; proie des planaires, sangsues et poissons
- PHY : herbivore et détritivore ; proie des poissons, voire de coléoptères
- OLI : détritivore, souvent fousseur ; proie des poissons et d'autres invertébrés
- CHI : détritivore, proie des poissons et d'autres invertébrés

On peut considérer des relations prédateurs-proie entre Odonates (Anisoptères et Zygoptères) et chironomes, oligochètes et possiblement aselles, et de même pour les chevaines, qui consommeraient également des physes.

4.2.3.2 BER

Les gastéropodes (GAST), herbivores, de même que le *Potamopyrgus antipodarum* (POT) présentent de ce fait des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ moins négatives que les autres taxons échantillonnés. Ils se situeraient donc hors du réseau trophique conduisant au barbeau. Cette vision est cependant assez réductrice, dans la mesure où des résidus de mollusques ont été observés dans les contenus stomacaux des barbeaux de ce site (données non publiées).

La signature $\delta^{13}\text{C}$ des barbeaux juvéniles (100-150mm) est significativement différente de celle des individus de grande taille (test de Mann-Whitney, p -value = 0.001) ; en d'autres termes, les « gros » barbeaux (>450mm) consomment plus de proies dont la signature $\delta^{13}\text{C}$ est plus détritique, mais ne consomment pas

que ces proies- là, d'où leur position proche de celle des invertébrés de la lône.

- CRV (*Atyaephyra desmarestii*) : omnivore ; proie des poissons
- DYT : les larves sont prédatrices ; les adultes sont broyeurs / prédateurs
- SIA : les larves se nourrissent de CHI ; les adultes ont un $\delta^{15}\text{N}$ inférieur à celui du CHI
- DIK : omnivore prédateur (en théorie) ; à BER il affiche un $\delta^{15}\text{N}$ relativement bas (8.28 ‰ comparé au chironome (8.68 ‰) ou aux oligochètes (8.77‰))
- GAM : détritivore (omnivore)

Compte tenu de son $\delta^{15}\text{N}$ assez bas, nous avons conclu que le Dikérogammare ne consommait pas de chironome ou d'oligochète. Les contenus stomacaux des barbeaux ne contenaient pas de résidus pouvant être attribués aux Odonates ni aux crevettes ; le calcul du ΔN n'a donc pas pris ces taxons en considération. Par ailleurs, les barbeaux juvéniles ont également été écartés de ce calcul, puisqu'ils n'utilisent pas les mêmes ressources trophiques que les gros.

4.2.3.3 LUY

D'après les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$, l'échantillon identifié comme Baetidés (BAE)⁹ n'appartient pas au même réseau trophique que les autres taxons invertébrés, ni que les chevaines. Les trichoptères (TRI) collectés possédaient un fourreau fait de particules de bois, et appartiennent donc à la famille des Limnophilidae : il s'agit d'un taxon détritivore, non carnivore, ainsi que d'une proie pour les poissons. Concernant les autres taxons présents, leur comportement trophique est décrit aux § précédents.

4.2.3.4 LVP

Les données isotopiques sur ce site sont assez variables. Les gammares et les odonates (anisoptères, ANI et zygoptères, ZYG) affichent des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ nettement plus négatives au printemps ; cet écart est logique pas de C autotrophe disponible en hiver), mais l'écart (≈ 2.5 ‰) est important comparativement aux autres sites. Les chevaines présentent sur le graphique (annexe 9.5 ci-dessous) des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ moins négatives que les barbeaux et les invertébrés échantillonnés, suggérant l'utilisation d'autres sources de C, non identifiées. Cependant la différence $\delta^{13}\text{C}$ entre chevaines et barbeaux n'est pas significative (test de Mann-Whitney, p -value 0.066) ; compte tenu de la valeur du seuil de significativité (0.05) et des faibles effectifs, il paraît difficile de tirer une conclusion ferme.

- Les sialidés (SIA) consomment des oligochètes (OLI), et constituent des proies pour les deux espèces de poissons et les Odonates.
- Les gammares (GAM) et odonates (ANI et ZYG) consomment également OLI.
- Les sangsues (SAN) consomment OLI et GAM.
- ANI et ZYG consomment GAM, de même que SAN.

4.2.3.5 TIJ (2014)

On peut considérer que les réseaux trophiques des barbeaux et des chevaines sont différents (test de Mann-Whitney sur $\delta^{13}\text{C}$, p -value = 0.003). Le réseau des barbeaux inclurait tous les invertébrés échantillonnés, celui des chevaines exclurait les Baetidés (BAE)¹⁰, tout en exploitant d'autres sources de C, non identifiées.

- Les planaires (PLA) sont prédateurs d'autres invertébrés, vivants ou morts.
- Les sangsues (SAN, Hirudinea) ont également un comportement prédateur.
- Les trichoptères (TRI) sont nettement détritivores, constituent des proies possibles pour ZYG, mais peu probables pour ANI, PLA, ou SAN

4.2.3.6 BOL

Les quelques taxons invertébrés obtenus sur ce site présentent des signatures $\delta^{13}\text{C}$ contrastées, d'une part oligochètes, éphémères et zygoptères avec des valeurs entre -30 et -31 ‰ (source de carbone d'origine détritivore), de l'autre les trichoptères et gammares entre -26 et -27‰. La plupart des barbeaux présentent des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ proches du premier groupe d'invertébrés, entre -29 et -30 ‰, tandis que les deux chevaines et 1 barbeau sont proches du deuxième groupe. Le dernier barbeau présente une valeur $\delta^{13}\text{C}$ intermédiaire, suggérant qu'il s'alimente aux deux sources de C. Les faibles effectifs ne permettent pas de tester statistiquement la différence entre barbeaux et chevaines.

- Le réseau trophique à considérer en priorité pour l'élaboration de TMF comprendrait donc les individus BAF1, BAF4, et BAF7 à BAF10, ainsi que les oligochètes, éphémères et zygoptères.
- A noter également que les larves d'éphémères sur ce site présentent une valeur $\delta^{15}\text{N}$ similaire à celle des zygoptères, suggérant qu'il s'agit d'un taxon prédateur (différent des éphémères collectés à MRG).

⁹ Cette position trophique paraît surprenante pour des Baetidés, connus comme consommateurs primaires ; la valeur élevée de $\delta^{15}\text{N}$ pourrait être due à la consommation de résidus d'organismes, par exemple larves de chironomes, ...

¹⁰ Même remarque que ci-dessus

4.2.3.7 FLO

Les signatures $\delta^{13}\text{C}$ sont peu dispersées, entre -27.9 ‰ (*Stagnicola*) et -35.6 ‰ (Heptagenidae), tous les individus de poisson, tant barbeaux que chevaines, étant également dans cet intervalle. La source de C de tous ces organismes est donc détritique, liée au sédiment. Seuls deux échantillons invertébrés (*Bithynia*, mollusques spp.) présentent des valeurs de C témoignant d'une source pélagique (-15.5 ‰ et -17.6 ‰ respectivement), et n'appartiennent pas aux réseaux trophiques des barbeaux et chevaines.

- Les échantillons de *Bithynia* et mollusques spp. n'appartiennent pas aux réseaux trophiques des poissons analysés et ne doivent pas être pris en compte dans la détermination du TMF.

4.2.3.8 MRG

Les poissons des 2 espèces, ainsi que tous les invertébrés sauf la sangsue, présentent des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ assez négatives, entre -28.5 ‰ et -33.6 ‰. Toutefois les chevaines ont une signature $\delta^{13}\text{C}$ moins négative que celle des barbeaux et de tous les invertébrés sauf la sangsue. La position des chevaines diffère significativement de celle des barbeaux pour les deux rapports isotopiques (test de Mann-Whitney). Par conséquent les chevaines se nourrissent à partir de ressources non représentées dans le jeu de données.

- Le réseau trophique des chevaines est différent de celui des barbeaux pour ce site.
- Dans la mesure où les taxons d'invertébrés analysés appartiennent essentiellement au réseau trophique du barbeau, il n'est pas possible de déterminer de TMF pour le chevine pour ce site.
- La sangsue ne doit pas non plus être prise en compte dans la détermination du TMF.

4.2.3.9 TIJ (2015)

Le jeu de données comprend les mêmes poissons qu'en 2014 (du moins ceux pour lesquels la quantité de lypophilisat disponible permettait d'analyser les PBDE), soit 5 barbeaux et 4 chevaines. Les barbeaux présentent des signatures en $\delta^{13}\text{C}$ comprises entre -29.5 ‰ et -31.1 ‰, tandis que les chevaines se situent entre -24.9 ‰ et -26.7 ‰. Les invertébrés collectés en 2015 présentent des valeurs $\delta^{13}\text{C}$ dans la même gamme que les barbeaux, à l'exception de l'échantillon d'éphémère, qui présente une valeur plus négative (-33.95 ‰).

- Les réseaux trophiques des barbeaux et des chevaines sont séparés (cf. 4.2.3.5 ci-dessus).
- Les invertébrés collectés en 2015 sont principalement consommés par les barbeaux.
- Il ne sera pas possible de déterminer des TMF fiables pour les chevaines, dans la mesure où leurs proies n'ont pas été échantillonnées et analysées.

4.2.3.10 VAT

Seuls des chevaines ont été capturés à ce site ; ils présentent des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ comprises entre -26.3 ‰ et -28.8 ‰, similaires à celles des invertébrés, à l'exception des chironomes (-30.8 ‰) et des éphémères (-30.0 ‰), dont la source de C est plus détritique (sédimentaire). Comme signalé précédemment, les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ sont élevées pour tous les organismes (invertébrés et poissons), et l'amplitude de variation est faible, de 9.7 ‰ pour le chironome à 18.2 ‰ pour le chevine présentant la valeur la plus élevée.

- Compte tenu de la faible amplitude de variation du $\delta^{15}\text{N}$, il sera a priori difficile d'obtenir un TMF fiable à ce site.

4.2.4 Variabilité du fractionnement trophique (ΔN)

L'écart de $\delta^{15}\text{N}$ entre un prédateur et sa proie varie entre 2 ‰ et 5 ‰ (Post, 2002), voire -0.7 ‰ à 9.2 ‰ (Vander Zanden et Rasmussen, 2001). Lorsqu'on considère un réseau trophique, où les prédateurs consomment souvent plusieurs types de proies, avec pour conséquence que l'écart entre un prédateur et une de ses proies peut être moindre qu'un niveau trophique, il convient de considérer un fractionnement trophique moyen (ΔN). La valeur de 3.4 ‰, qui ressort comme la valeur centrale d'une revue bibliographique étendue (Post, 2002), est souvent retenue. Elle reste une estimation moyenne, et robuste, du ΔN sur des voies trophiques multiples.

Il y a cependant de multiples causes de variation du fractionnement trophique, notamment aux échelons les plus bas des réseaux telle que dégradation bactérienne des particules organiques, efficacité d'assimilation (Goedkoop *et al.*, 2006).

Nous avons estimé les taux de fractionnement de chaque site (Tableau 6) sur la base des relations trophiques décrites au § 4.2.3, afin d'évaluer l'influence de ce paramètre sur les niveaux trophiques estimés.

Site	ΔN (‰)	écart-type ΔN
ADB	5.18	2.58
BER	2.35	1.26
LUY	2.75	0.75
LVP	2.51	1.26
TIJ (2014)	3.10	1.52
BOL	3.20	1.54
FLO	3.43	1.34
MRG	2.56	0.90
TIJ (2015)	3.16	1.84
VAT	2.33	1.27

Tableau 6- Fractionnement trophique moyen à chaque site d'étude

A l'exception du site d'Andrézieux-Bouthéon (ADB), les ΔN estimés sont le plus souvent inférieurs au taux moyen de 3.4 ‰ ; par voie de conséquence les TL obtenus en utilisant des ΔN spécifiques de chaque site sont supérieurs à ceux résultant de l'application du taux standard, sauf à ADB. Le site ADB mis à part, l'écart médian est de 0.1 TL pour les invertébrés et de 0.39 TL chez les poissons¹¹ ; pour ADB, l'écart médian est de -0.58 TL pour les invertébrés, et -0.85 TL pour les poissons.

4.2.5 Niveaux trophiques des barbeaux et chevaines

Nous discutons ici des valeurs de TL pour le barbeau et le chevaine ; ces valeurs proviennent de la base de données en ligne Fishbase (équivalent à une synthèse bibliographique), d'études antérieures sur le Rhône, et des données de la présente étude (années 2013 et 2014). Pour faciliter cette comparaison, tous les TL sont estimés sur la base du ΔN standard de 3.4 ‰.

Les valeurs des niveaux trophiques (TL) des deux espèces de poisson étudiées ont été recherchées dans Fishbase¹². Il y a très peu d'information d'ordre méthodologique accompagnant ces valeurs, et les références bibliographiques ne sont pas toujours clairement indiquées.

- Barbeau : 3.1 ± 0.39 sur la base d'études de la diète ;
- Chevaine : 3.0 ± 0.5 d'après des études de terrain ;

Ces valeurs sont relativement cohérentes avec celles observées dans l'étude « Transfert de contaminants hydrophobes du sédiment au biote - Construction de modèles dans une perspective de gestion » (Babut *et al.*, 2011). Pour le barbeau les valeurs de TL étaient de 3.51 ± 0.13 à la lône de la Morte (MTE ; près de Bégner-Cordon), 2.79 ± 0.24 sur le site du Grand Large (GDL, canal de Jonage, amont de Lyon) et 3.62 ± 0.23 à l'île du Beurre (BER, Rhône à l'aval de Vienne). Pour le chevaine, les TL étaient de 3.17 ± 0.25 à la Morte, 2.96 ± 0.16 au Grand Large, et 3.47 ± 0.32 à BER (Figure 5). Dans la présente étude, incluant le site de BER en 2011, les TL obtenus sont assez variables, notamment pour le chevaine, et couvrent une gamme de valeurs plus étendue que celles reportées dans Fishbase (Figure 5 ; Tableau 7 – TL estimés sur la base d'un $\Delta N = 3.4$ ‰).

¹¹ Un chevaine « outlier » non pris en compte à LUY

¹² <http://fishbase.org/search.php>

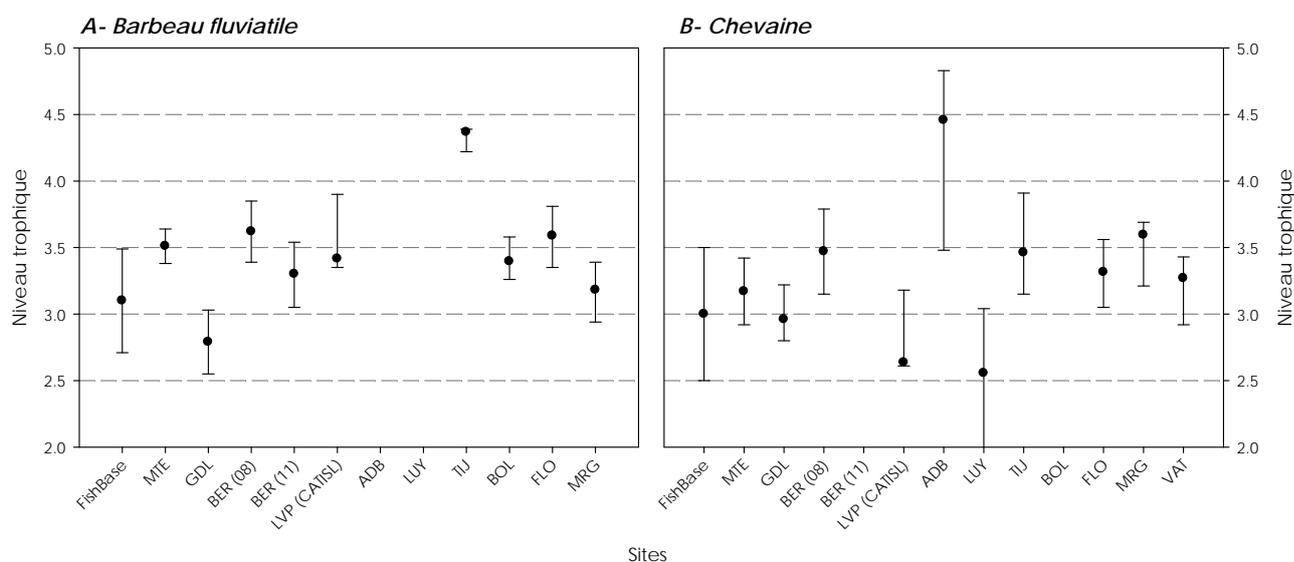


Figure 5 – Comparaison des niveaux trophiques de poissons du Rhône (2008) et de la présente étude (min-médiane-max) avec les valeurs de Fishbase (médiane \pm EC)

Sites	Barbeau			Chevaine		
	Min	Médiane	Max	Min	Médiane	Max
ADB	-	-	-	3.48	4.46	4.83
BER	3.12	3.39	3.64	-	-	-
LUY	-	-	-	1.38	2.56	3.04
LVP	3.35	3.42	3.90	2.61	2.64	3.18
TIJ	4.22	4.37	4.39	3.15	3.46	3.91
BOL	3.26	3.38	3.58	3.47	-	3.50
FLO	3.35	3.59	3.81	3.05	3.31	3.56
MRG	2.94	3.18	3.39	3.21	3.60	3.69
VAT	-	-	-	2.92	3.27	3.43

Tableau 7 – Valeurs de TL des barbeaux (*B. barbuis*) et chevaines (*S. cephalus*) dans cette étude

L'utilisation des TL de Fishbase pourrait donc conduire sur certains sites à sous-estimer ou surestimer les TL, tandis que, sur la base limitée de cette comparaison, Fishbase conduirait pour le chevaine et la brème à sous-estimer les TL dans quelques cas. D'autre part, l'incertitude associée aux valeurs de Fishbase est a priori plus importante que celle de chaque site.

4.2.6 Relations allométriques chez les poissons

- Barbeau

20 individus ont été collectés sur le site de BER en 2011, dont 11 de petite taille (100-150 mm) et 9 de taille nettement plus importante (400-600 mm) ; les plus gros individus ont été disséqués (foies et filets), mais carcasses et viscères n'ont pas été pesées. 5 individus capturés sur le site de CATISL (3 km en amont de LVP) étaient disponibles dans la banque d'échantillons sous forme de filet lyophilisés. En 2014, cette espèce n'a été capturée que sur le site de TIJ et 5 individus ont été disséqués. En 2015, des barbeaux ont pu être obtenus à 3 des 5 sites étudiés (BOL, FLO, MRG). Les foies et filets ont été mis à part pour 14 individus au total. L'ensemble des individus de ces 6 sites présentent des relations entre masse et taille similaires (Figure 6), permettant de regrouper les échantillons pour les tests statistiques, notamment ceux impliquant les fractions.

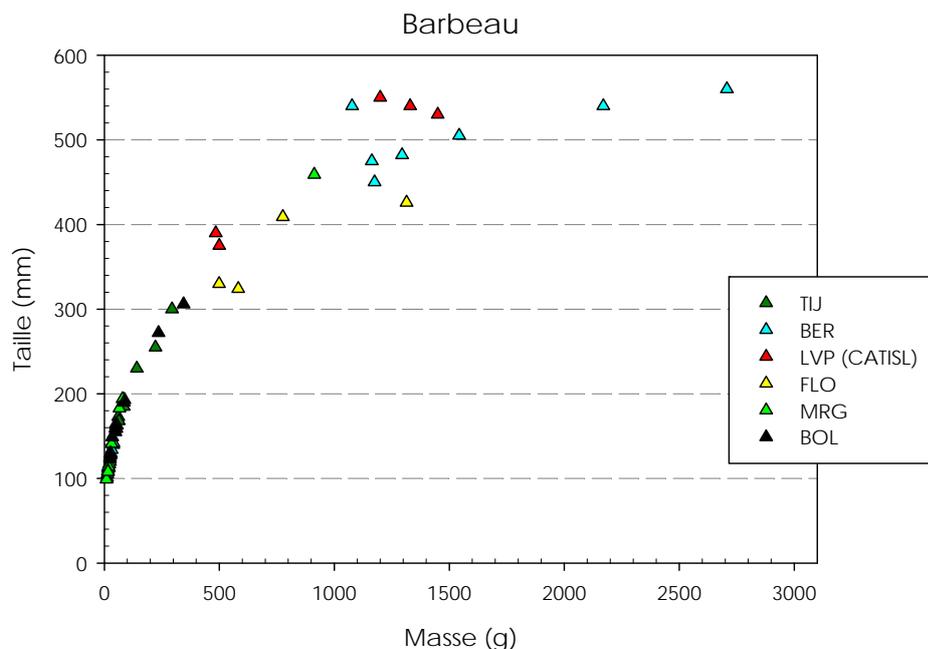


Figure 6 - Relation masse (g) et taille (mm) chez les barbeaux (6 sites)

Si l'on regroupe les observations de TIJ, MRG et BOL (N=13), les masses respectives de foie et de filet sont corrélées (test de Spearman, coefficient de détermination 0.65, p -value 0.001), de même que les masses des filets et des fractions cvp (test de Spearman, coefficient de détermination 0.85, p -value < 0.0001) et cvp – masse totale (test de Spearman, coefficient de détermination 0.957 p -value < 0.0001) ainsi que foie-masse totale (coefficient de Spearman 0.852, p -value < 0.0001). A BER les masses respectives de foie et de filet sont corrélées à la masse totale (test de Spearman, coefficients de détermination 0.978 et 0.922, p -value < 0.0001).

- Chevaîne

Bien que provenant de sites éloignés et indépendants les uns des autres, les chevaines du site étudié en 2013 (LVP-CATISL, échantillonné en 2011), des 3 sites échantillonnés en 2014, et des 4 sites échantillonnés en 2015 présentent des relations entre taille et masse similaires (Figure 7), autorisant donc à regrouper les chevaines des 3 sites pour les tests statistiques mettant en jeu cette espèce et ces variables. Au total 24 individus ont été disséqués en 3 fractions (foie, filet, carcasse+viscères+peau).

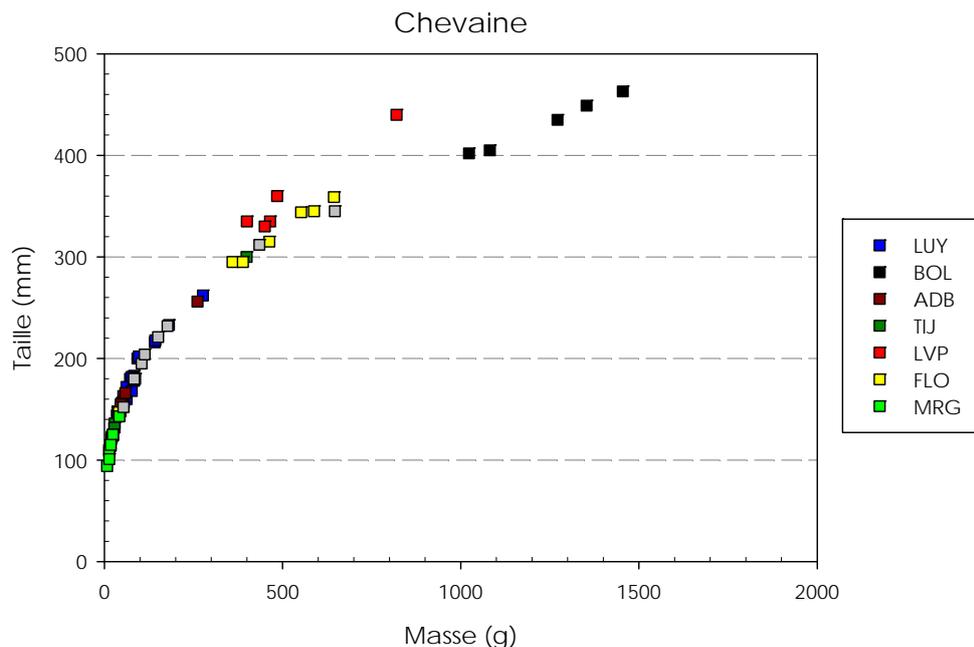


Figure 7 – Relation masse (g) et taille (mm) chez les chevaines (7 sites)

Les masses des 3 fractions (foie, filet, cvp) sont corrélées entre elles, ainsi qu'avec la masse totale (N=26 ; test Spearman, coefficients de détermination foie-filet de 0.876, p -value < 0.0001 ; coefficient de

détermination filet-cvp 0.867, p -value <0.0001 ; coefficient de détermination cvp-masse totale 0.976 p -value < 0.0001 ; foie-masse totale, coefficient de détermination 0.933, p -value < 0.0001).

4.2.7 Fractions isotopiques chez les organismes encagés

4.2.7.1 Effet de l'encagement sur les signatures isotopiques

Les fractions $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ ont été mesurées chez les organismes encagés, chironomes et gammares, avant mise en place (T0) et à la fin de la période d'exposition (Tf). Pour rappel, les organismes encagés ont été nourris pendant cette période, au moyen de feuilles d'aulnes disposées dans la cage dès le départ pour les gammares, et de Tétramin® à T0 et au bout de 48 à 72 h pour les chironomes.

Les données isotopiques obtenues sont conformes à ce qu'on pouvait attendre, eu égard à la nature de l'alimentation apportée : signature $\delta^{13}\text{C}$ plus détritivore (plus négative) pour les gammares que pour les chironomes, $\delta^{15}\text{N}$ plus élevé pour les chironomes, en raison de la farine de poisson incluse dans la Tétramin®.

La signature isotopique évolue pendant l'encagement (Tableau 8), les écarts entre Tf et T0 étant supérieurs à l'écart-type des mesures. La signature en $\delta^{13}\text{C}$ des chironomes devient généralement plus négative (plus de C détritique, i.e. sédimentaire, à Tf qu'à T0) 13 fois sur 15 ; les 2 fois où elle est plus positive après encagement correspondent à la campagne du printemps 2013. La signature en $\delta^{15}\text{N}$ diminue à ADB et TIJ, suggérant une position trophique plus basse ; elle augmente à tous les autres sites. L'effet des saisons paraît faible pour $\delta^{15}\text{N}$, et un peu plus marqué pour $\delta^{13}\text{C}$.

La signature en $\delta^{13}\text{C}$ des gammares évolue systématiquement vers des valeurs moins négatives, plus fortement à l'automne qu'au printemps. Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ tendent à augmenter, sauf à BER et TIJ à l'automne ainsi qu'à BOL. Les conditions à TIJ en octobre 2014 étaient assez particulières (forte crue).

CHI	$\delta^{15}\text{N}$ ‰	$\delta^{13}\text{C}$ ‰	GAM	$\delta^{15}\text{N}$ ‰	$\delta^{13}\text{C}$ ‰
BER-13-06	0.84	0.58	BER-13-06	0.98	0.35
BER-13-10	1.11	-0.73	BER-13-10	-0.31	1.32
LVP-13-06	1.44	0.11	LVP-13-06	0.66	0.43
LVP-13-10	1.24	-0.70	LVP-13-10	0.10	1.08
ADB-14-06	-0.28	-1.68	ADB-14-06	1.95	0.45
ADB-14-10	-0.29	-1.36	-	-	-
LUY-14-06	0.64	-1.47	LUY-14-06	1.61	0.11
LUY-14-10	0.63	-1.15	LUY-14-10	0.06	0.34
TIJ-14-06	-1.42	-3.45	TIJ-14-06	0.33	0.23
TIJ-14-10	-1.42	-3.14	TIJ-14-10	-0.89	0.78
BOL-15-06	-3.93	-0.65	BOL-15-06	-0.18	0.66
FLO-15-06	0.37	-0.81	FLO-15-06	0.18	0.60
MRG-15-06	0.82	-1.45	MRG-15-06	0.05	0.78
TIJ-15-06	3.05	-1.19	TIJ-15-06	1.07	0.36
VAT-15-06	-1.42	-2.65	VAT-15-06	0.29	0.36

Tableau 8 - Evolution des signatures isotopiques pendant l'encagement

Ces observations suggèrent donc que les organismes encagés se nourrissent aussi à partir de sources locales, et plus particulièrement de particules sédimentaires pour le chironome, cohérent avec les variations de $\delta^{13}\text{C}$ (plus souvent vers des signatures plus négatives), et de proies vivantes d'origine pélagique (plancton ?) pour les gammares, hypothèse soutenue par la signature C moins négative, et l'augmentation du $\delta^{15}\text{N}$. Les variations de $\delta^{15}\text{N}$ chez le chironome encagé paraissent moins explicables : la diminution franche, et répétable d'une campagne à l'autre, observée à TIJ et ADB est cohérente avec une alimentation moins protéinée parce que plus sédimentaire, l'augmentation de $\delta^{15}\text{N}$ plus ou moins forte sur les 3 autres sites est en contradiction avec cette hypothèse. Toutefois, on remarquera que pour BER et LVP il s'agit aussi des sites où la variation de $\delta^{13}\text{C}$ au cours de l'encagement est la plus faible, ce qui pourrait signifier que les chironomes encagés exploiteraient plusieurs sources de nourriture.

Ainsi, pour le chironome et le gammare l'amplitude de l'utilisation de ressources trophiques autochtones est site-dépendante : maximale à TIJ, plus modérée à ADB, LUY, BOL, FLO et MRG et VAT., elle est plus faible à BER et LVP. L'évolution des signatures isotopiques des gammares dépend à la fois des sites et des saisons, l'écart sur $\delta^{13}\text{C}$ étant plus grand à l'automne, alors qu'il est plus faible, voire marque une diminution pour $\delta^{15}\text{N}$.

4.2.7.2 Comparaison avec les organismes autochtones

Parmi les invertébrés collectés in situ, on s'intéresse aux chironomes et oligochètes à comparer aux chironomes encagés (Figure 8 A), et aux gammarès et *Dikerogammarus* pour comparaison aux gammarès encagés (Figure 8 B).

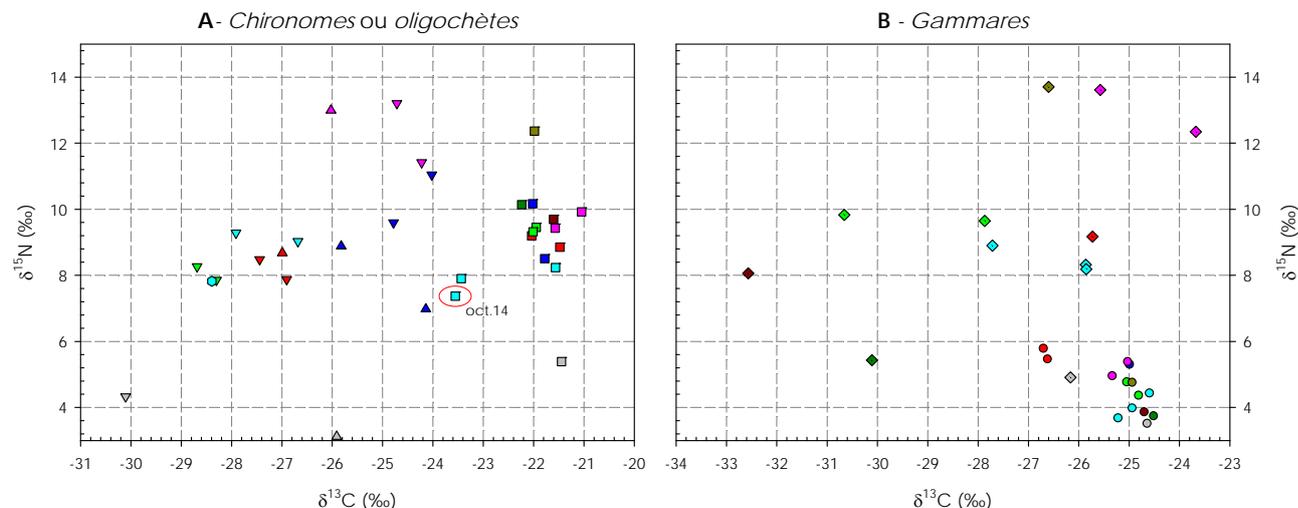


Figure 8 – Comparaison des signatures isotopiques des organismes encagés et autochtones

Les couleurs désignent les sites : BER -rouge ; LVP – vert pomme ; ADB – bleu ; LUY – fuchsia ; TIJ – cyan ; BOL – gris clair ; FLO – rouge foncé ; MRG – vert ; VAT : jaune foncé. Les organismes sont différenciés par les formes des symboles : ■ chironomes encagés ; ▲ chironomes autochtones ; ▼ oligochètes ; ● simuliés ; ● gammarès encagés ; ◆ gammarès autochtones

La signature $\delta^{13}\text{C}$ des chironomes et oligochètes in situ varie selon le site tout en étant relativement homogène à chaque site. Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ sont systématiquement plus négatives que celles des chironomes encagés (test de Mann-Whitney, p -value < 0.0001), qui sont relativement groupées, deux échantillons à TIJ, en octobre 2014 (désignés par un cercle rouge) et en juin 2015, se rapprochant toutefois des valeurs in situ. L'échantillon d'octobre 2014 avait subi un fort épisode de crue pendant l'encagement. La signature $\delta^{15}\text{N}$ varie plus ou moins en fonction des saisons ; à part à LUY les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des chironomes ou oligochètes autochtones se situent dans la même gamme de valeurs que celles des chironomes encagés (test de Mann-Whitney, les deux groupes ne sont pas significativement différents). On notera que les Chironomidae prélevés à LUY, à la différence de ceux collectés à BER et ADB, appartenaient à une espèce sans hémoglobine (famille des Tanypodinae), dont les larves sont prédatrices (Tachet *et al.*, 2010). Par ailleurs les oligochètes, et dans une certaine mesure les sédiments, de LUY présentent également une signature $\delta^{15}\text{N}$ plus élevée que d'autres sites.

La signature $\delta^{13}\text{C}$ des gammarès in situ varie également selon les sites ; à LVP l'écart entre fin de printemps et automne est important comparativement à LUY, mais dans les 2 cas la signature $\delta^{13}\text{C}$ est plus négative au printemps qu'à l'automne. Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des autochtones sont significativement différentes de celles des gammarès encagés (test de Mann-Whitney, p -value 0.003). La signature en $\delta^{15}\text{N}$ est assez stable à chaque site, et significativement plus élevée que celles des encagés (test de Mann-Whitney, p -value < 0.0001).

4.2.7.3 Implications pour l'interprétation de l'exposition des organismes encagés

En ce qui concerne les chironomes, dans la majorité des cas (8/10) il y a eu consommation de particules sédimentaires en plus de la nourriture apportée, ce qui est intéressant dans la perspective de détecter des contaminants hydrophobes. L'amplitude de cette consommation dépend du site. Les chironomes encagés ont une signature $\delta^{13}\text{C}$ clairement différente des organismes autochtones homologues, et une signature $\delta^{15}\text{N}$ similaire (sauf dans un cas). Par conséquent on peut suspecter que les chironomes encagés accumuleront les contaminants hydrophobes, associés aux particules sédimentaires, moins que les chironomes (ou oligochètes) autochtones.

Les gammarès en revanche acquièrent systématiquement une signature $\delta^{13}\text{C}$ moins négative pendant l'encagement, suggérant qu'ils absorbent une nourriture d'origine pélagique en sus des feuilles disposées dans les cages. L'évolution contrastée du $\delta^{15}\text{N}$ et du $\delta^{13}\text{C}$ entre juin et octobre indique que la nature des proies varie selon les saisons. Les variations observées dans les signatures sont néanmoins plus faibles que l'écart avec les gammarès autochtones, qui concerne principalement le $\delta^{15}\text{N}$. Ceci amène à poser

l'hypothèse que les gammars engagés accumuleront bien les contaminants hydrophobes, mais moins toutefois que les gammars autochtones, dans la mesure où leurs ressources trophiques sont moins variées.

L'utilisation ou non de nourriture ajoutée pendant l'encagement des organismes est donc un point important à discuter. Dans le cas d'ajout de nourriture, l'objectif est de maintenir les organismes dans des conditions standardisées entre les sites et de les y maintenir, pour minimiser l'influence du facteur nourriture sur les traits suivis (e.g. croissance, reproduction...). Cependant, dans le cadre d'une approche visant à évaluer l'accumulation de contaminants, et compte tenu des observations ci-dessus sur les isotopes stables, le fait de ne pas ajouter de la nourriture standardisée (Tetramin® pour les chironomes et feuilles d'aune pré-conditionnées pour les gammars), mais de laisser les organismes utiliser les ressources de chacun des sites permettrait de se rapprocher de la dynamique d'accumulation des invertébrés in situ. L'ajout de ressources déjà présentes sur les sites pourraient aussi être une piste à explorer (par exemple : pré-conditionnement des cages pour les chironomes avec des particules présentes sur le site, ajout de ressources variées dans les cages pour les gammars comme des galets recouvert de biofilms et des feuilles présentes sur le site). A noter que le fait de ne pas nourrir les chironomes au cours des expositions faciliterait également l'utilisation de cette méthodologie pour le gestionnaire.

4.3 Perfluorooctane sulfonate (PFOS)

4.3.1 Accumulation par les organismes autochtones

Les concentrations de perfluorooctane sulfonate (PFOS) rapportées ci-dessous correspondent à la somme des concentrations de l'isomère linéaire (L) et des isomères ramifiés (R)¹³. Les LD (estimées dans la masse fraîche pour un taux moyen d'humidité de 80%) varient entre 0.03 et 0.125 ng.g⁻¹ (pf) pour les invertébrés, selon le type d'isomère et la masse d'échantillon disponible, et entre 0.012 et 0.015 ng.g⁻¹ (pf) pour les poissons, à part les foies pour lesquels les LD se situent entre 0.095 et 0.125 ng.g⁻¹. Les LQ sont fixées à x3 les LD. Les deux groupes d'isomères sont quantifiés dans 100% des échantillons de poisson ; les isomères L sont détectés dans 95 % des échantillons d'invertébrés, et dans seulement 77% de ces échantillons pour les isomères R. Les isomères ramifiés représentent en général moins de 10% de la concentration totale en PFOS

Le Tableau 9 présente les données de PFOS obtenues pour les échantillons d'invertébrés et de poissons collectés sur les 5 sites étudiés pour cette substance. Pour les poissons, les concentrations sont rapportées à l'individu entier, soit analysé directement, soit concentration reconstituée à partir de l'analyse des fractions (cf. § 4.3.1.2 ci-dessous).

Sites	Effectif	Min	P25	Médiane	Moyenne	P75	Max
ADB	Inv.	8	0.64	0.87	2.76	8.17	30.67
	CHE	7	29.19	33.81	35.00	44.08	102.81
	CHE-FIL	4	15.36	-	22.68	-	53.88
BER	Inv.	17	0.10	2.55	4.53	9.01	25.98
	BAF-FIL	20	2.90	5.52	7.30	7.06	10.92
LUY	Inv.	11	0.13	3.02	4.32	7.87	29.95
	CHE	10	3.59	6.55	9.19	11.11	20.48
	CHE-FIL	5	1.85	3.23	3.30	3.17	3.86
LVP	Inv.	10	1.29	1.66	2.11	2.39	4.60
	BAF-FIL	4	5.38	-	8.02	-	12.59
	CHE-FIL	5	1.62	1.91	2.49	2.35	3.19
TIJ	Inv.	8	<LD	7.58	9.00	12.48	28.86
	BAF	8	22.57	41.92	45.29	45.42	63.06
	CHE	8	11.30	29.71	31.37	47.18	133.95
	BAF-FIL	5	15.26	16.66	17.75	18.40	22.57
	CHE-FIL	1	5.92	-	-	-	-

Tableau 9 – Distribution du PFOS (ng.g⁻¹ pf) dans les échantillons collectés *in situ*

Avec : Inv. : Invertébrés ; BAF : barbeau fluviatile ; CHE : chevaine ; FIL : analyse dans le filet

Le classement des sites par ordre de contamination décroissant varie selon le compartiment considéré : le site ADB apparaît comme le plus contaminé par le PFOS pour les chevaines, ainsi que pour les sédiments (cf. Tableau 5 p21), mais pas pour les invertébrés ; TIJ, qui présente la concentration médiane la plus élevée

¹³ Les isomères R résulteraient principalement de la production de PFOS par le procédé ECF (cf. Prevedouros K, Cousins IT, Buck RC, Korzeniowski SH (2006). Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environ Sci Technol*, **40**: 32-44.), abandonné par 3M en 2002.

pour les invertébrés, mais aussi la plus forte variabilité, apparaît en seconde position pour les poissons.

4.3.1.1 Accumulation par les invertébrés

Sur l'ensemble des sites, la gamme des concentrations observées va de <LD à 107.5 ng.g⁻¹ (pf), la distribution étant fortement asymétrique (biaisée à gauche).

La comparaison des concentrations entre campagnes d'été et d'automne n'est possible que sur 3 sites (Figure 9), en raison principalement des crues advenues en octobre 2014 à ADB et TIJ. Il n'apparaît aucun effet saison sur ce graphique.

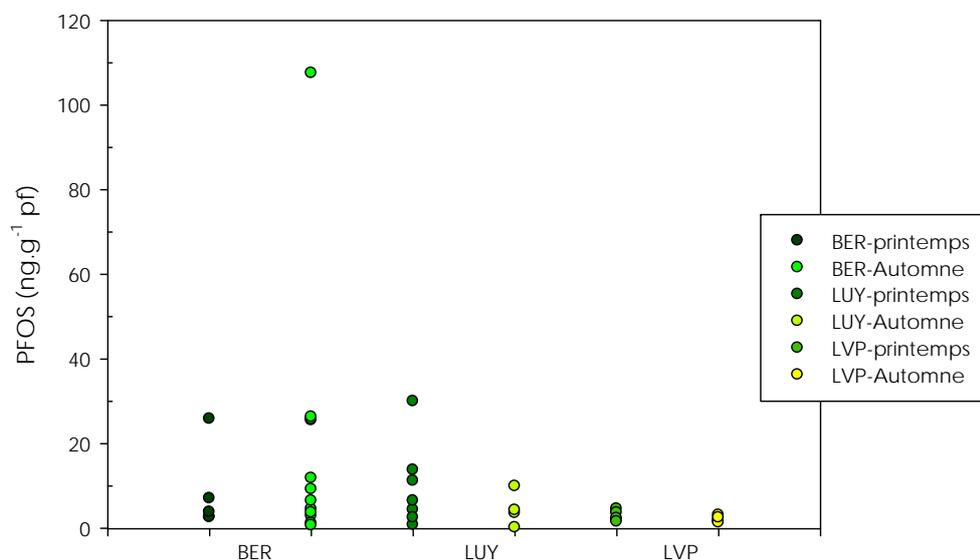


Figure 9 – Variabilité des concentrations de PFOS des invertébrés en fonction des saisons

Les différences entre sites ne sont pas significatives au seuil $\alpha=0.05$; les concentrations de PFOS ne sont pas corrélées aux isotopes. Les oligochètes présentent des concentrations élevées comparativement à d'autres taxons, notamment les chironomes.

4.3.1.2 Accumulation dans les poissons

La distribution des concentrations mesurées dans les fractions de poissons aux différents sites est présentée au Tableau 10. Les foies sont plus contaminés que l'ensemble carcasse+viscères+peau, les filets étant systématiquement moins contaminés que cette fraction cvp. En termes de charge, les foies représentent cependant une proportion minoritaire de la charge totale des individus : 4% \pm 2% pour le barbeau (N=5), 4% \pm 1% chez le chevine (N=9). Le filet représente 14% \pm 3% de la charge totale en PFOS chez le barbeau, et 14% \pm 5% chez le chevine.

Site	Esp.	Fract.	Effectif	Min	P25	Médiane	Moyenne	P75	Max
ADB	CHE	filet	3	15.36	-	17.16	-	-	53.88
		foie		105.93	-	114.40	-	-	304.92
		cvp		37.28	-	42.23	-	-	119.25
BER	BAF	filet	20	2.90	5.52	7.30	7.06	8.51	10.92
		foie	9	36.27	51.22	59.28	63.51	61.99	137.46
LUY	CHE	filet	5	1.85	3.23	3.30	3.17	3.60	3.86
		foie		16.00	17.07	17.60	19.35	20.90	25.19
		cvp		8.11	8.11	11.15	11.69	8.11	16.44
TIJ	BAF	filet	5	15.26	16.66	17.75	18.40	19.75	22.57
		foie		100.44	107.40	118.73	115.04	120.57	128.03
		cvp		51.26	59.65	64.66	65.68	59.65	84.47
	CHE	filet	1	5.92	-	-	-	-	-
		foie		41.94	-	-	-	-	-
		cvp		18.24	-	-	-	-	-

Tableau 10 – Distribution du PFOS dans les poissons (foie, filet, carcasse/viscères/peau) en ng.g⁻¹ (pf)

BAF : barbeau fluviatile ; CHE : chevine ; cvp : ensemble carcasse – viscères - peau

Chez le chevaïne, les concentrations de PFOS (somme des isomères) sont corrélées négativement à la taille (N=26 ; test de Spearman, p -value = 0.015, coefficient de détermination 0.227). Cette corrélation n'est pas observée chez le barbeau (N=8).

Pour le barbeau (donc seulement à TIJ), les concentrations dans le filet et dans l'organisme entier ne sont pas corrélées si l'on s'en tient au seuil standard $\alpha=0.05$ (Spearman, coefficient de détermination = 0.49, p -value 0.233) ce qui s'explique probablement au moins en partie par le faible effectif (N=5). En revanche, les concentrations dans le filet des chevaïnes sont corrélées aux concentrations dans l'organisme entier (Spearman, coefficient de détermination = 0.694, p -value 0.008). Il est donc possible de prédire la concentration brute dans le chevaïne entier à partir de l'analyse des filets (Équation 6 ; R^2 0.951, p -value <0.0001 ; l'ordonnée à l'origine a été fixée à 0).

$$[PFOS_{WB}] = (1.908 \times [PFOS_{filet}])$$

Équation 6

Cependant, dans la mesure où les ratios entre concentrations dans les filets et organismes entiers sont similaires pour les deux espèces (Figure 10), il semble possible de regrouper l'ensemble des données afin de disposer d'un modèle suffisamment robuste (Équation 7 ; R^2 0.884, p -value < 0.0001 ; l'ordonnée à l'origine a été fixée à 0).

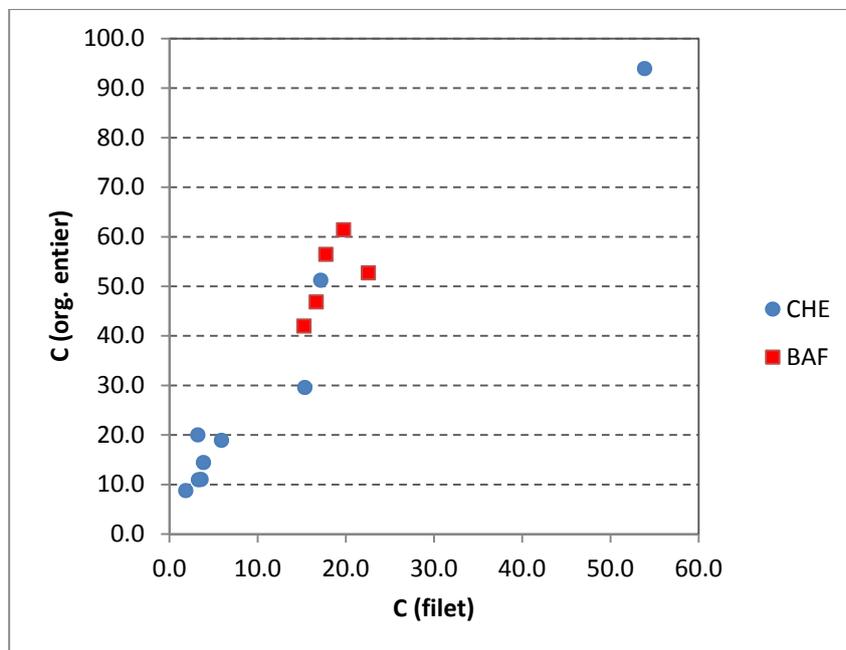


Figure 10 – Concentrations de PFOS (L+R) dans les filets et organismes entiers (ng.g⁻¹ pf)

$$[PFOS_{WB}] = (2.20 \pm 0.167 \times [PFOS_{filet}])$$

Équation 7

Avec $[PFOS_{WB}]$ la concentration en PFOS dans le chevaïne entier, et $[PFOS_{filet}]$ la concentration (non ajustée) dans le filet.

4.3.2 Détermination des TMF

Les données disponibles pour déterminer les TMF du PFOS sont résumées ci-dessous. Dans le cas des poissons, il s'agit soit de concentrations mesurées, soit de concentrations dans l'organisme entier recalculées à partir des concentrations dans les fractions, soit (à BER et LVP) de concentrations estimées à partir de l'Équation 7.

ADB : 8 taxons invertébrés, 7 poissons individuels (CHE uniquement) ; TL compris entre 2.41 (chironome) et 5.41 (Hydropsychidae). TL-CHE entre 4.34 et 4.66.

BER : 17 taxons invertébrés (3 campagnes), 20 poissons individuels (BAF uniquement, concentrations WB estimées). Dans la mesure où le PFOS est relativement soluble, il n'a pas semblé nécessaire d'exclure les petits BAF, dont la signature isotopique témoigne de sources de C plus pélagiques (cf. annexe 9.5).

TL compris entre 1.77 (Sialidé) et 3.64 (BAF, dont le TL minimum = 3.12).
 LUY : 11 taxons invertébrés, 10 poissons individuels (CHE uniquement) ; TL compris entre 1.69 (gammare) et 3.04 (CHE ; TL-CHE minimum = 2.28).
 LVP : 10 taxons invertébrés, 9 poissons individuels (4 BAF et 5 CHE) ; TL compris entre 1.94 (oligochète) et 3.90 (BAF). Les TL des poissons sont compris entre 2.61 (CHE) et 3.90 (BAF).
 TIJ : 8 taxons invertébrés, 16 poissons individuels (8 BAF, 8 CHE). Les TL sont compris entre 2.42 (Hétéroptère) et 4.39 (BAF), les poissons ayant des TL de 3.15 (CHE) à 4.39.

Selon (Borgå *et al.*, 2012), il conviendrait d'analyser les contaminants d'intérêt sur un gradient de 3 TL pour assurer la robustesse des TMF ; ce n'est le cas qu'à ADB. Sur les autres sites, l'écart entre TL min et max est plus proche de 2, voire inférieur à 1.5 à LVP.

Site	TMF(1)	R ² (p-value)	TMF(2)	τ (p-value)	TMF(3)
ADB	3.60 ±1.82	0.329 (0.025)	6.21	0.51 (0.009)	3.10 ±0.62
BER	5.73 ±2.41	0.33 (0.0002)	7.1	0.42 (0.0002)	PNS
LUY	5.42 ±3.33	0.28 (0.01)	PNS	0.30 (0.061)	4.09 ±1.35
LVP	3.91 ±1.16	0.55 (0.0003)	4.62	0.59 (0.0005)	2.55 ±0.18
TIJ	2.50 ±0.48	0.76 (<0.0001)	2.32	0.55 (0.002)	2.59 ±0.13

Tableau 11 – TMF du PFOS pour les 5 sites

(TMF(1) = régression simple ; TMF(2) régression de Kendall ; TMF(3) = modèle GLMM). PNS = pente non significativement différente de 0.

Les régressions simples sont toutes significatives au seuil $\alpha = 0.05$, mais la variance expliquée (i.e. R² ajusté) reste faible. Ceci pourrait être dû au fait que l'échantillonnage n'a ciblé qu'une partie des proies consommées par les poissons. La régression de Kendall, qui n'a pas de justification réelle dans le cas présent puisqu'il n'y a pas de valeur censurée, génère des TMF similaires à la régression simple (à ± 0.5 près) mais pour un site la pente n'est pas significativement différente de 0 et le TMF ne peut être déterminé. Enfin le modèle à effets fixes et aléatoires (GLMM) produit également des TMF similaires à ceux de la régression simple, plus faibles dans 4 cas sur 5. Même si l'on considère la borne inférieure des intervalles de confiance, le PFOS est bioamplifié dans les 5 sites (dans le cas des régressions simples).

Les TMF obtenus par régression simple (TMF(1)) sont comparables avec ceux déjà publiés (Tableau 12), et tendent à être plus faibles que ceux obtenus en milieu marin, possiblement en raison de l'extension réduite des chaînes trophiques en rivière.

Milieu	Zone géographique	Chaîne trophique	TL supérieur	TMF	Commentaires	Référence
Eau douce	tempérée (Grand Lacs - Ontario)	macroinvertébrés (<i>Diporeia hoyi</i> , <i>Mysis relicta</i>) - alose (<i>Alosa pseudoharengus</i>), éperlan (<i>Osmerus mordax</i>), chabot (<i>Cottus cognatus</i>) – truite de lac (<i>Salvelinus namaycush</i>)	5.0	5.9	Ligne de base : plancton. 1 TL = 3.8 ‰ - Plusieurs organismes benthiques (<i>Diporeia</i> , <i>Cottus</i>), exclus du calcul. BMF 'org-benthiques' = 1.86	(Martin <i>et al.</i> , 2004)
Eau de mer	arctique	clam (<i>Mya truncata</i> ; <i>Serripes groenlandica</i>) - crevette (<i>Pandalus borealis</i> ; <i>Hymenodora glacialis</i>)- zooplancton - deepwater redfish (<i>Sebastes mentella</i>) – cabillaud arctique (<i>Boreogadus saida</i>)- morse (<i>Odobenus rosmarus</i>) - beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>) et narval (<i>Monodon monoceros</i>)	3.9 - 4.0	3.1	Ligne de base : clam. 1 TL = 3.8 ‰ concentrations mesurées dans le foie pour les mammifères et le redfish. BMFs [0.4 - 9.0], selon les couples prédateur-proie	(Tomy <i>et al.</i> , 2004a)
				1.7 ± 1.3	extrapolation, sur la base de (i) une estimation de la masse totale des cétacés à l'aide d'un modèle âge-croissance, (ii) une estimation de la proportion de la masse du foie par rapport à la masse totale (2%), (iii) une estimation de la concentration en PFOS (ratio foie/plasma 1:3) dans le plasma, (iv) un calcul de la charge en PFOS dans l'ensemble des organes sur la base de la distribution du PFOS (mesuré ou estimé), (v) le calcul de la concentration dans l'organisme entier	(Houde <i>et al.</i> , 2006a)
Eau de mer	tempérée / tropicale	Tambour brésilien (<i>Micropogonias undulatus</i>), sar salème (<i>Lagodon rhomboides</i>), tambour rouge (<i>Sciaenops ocellatus</i>), tambour croca (<i>Leiostomus xanthurus</i>), acoupa pintade (<i>Cynoscion nebulosus</i>), mullet cabot (<i>Mugil cephalus</i>), grand dauphin (<i>Tursiops truncatus</i>)	4 - 4.5	1.8 ± 1.2	PFOS mesuré dans le plasma de dauphins vivants; la distribution tissulaire a été déterminée pour 2 individus morts. Calcul de la charge dans chaque organe (masse tissulaire * PFOS concentration), puis estimation de la concentration « organisme entier » à l'aide du % de chaque organe chez les 2 individus morts	(Houde <i>et al.</i> , 2006a)

Tableau 12 – Synthèse bibliographique - TMF du PFOS

Milieu	Zone géographique	Chaîne trophique	TL supérieur	TMF	Commentaires	Référence
Eau douce	tempérée	Visons en cage nourri à base de carpes	?		BMF [11-23]	(Houde <i>et al.</i> , 2006b) (revue)
Eau douce	tempérée	Aigle pêcheur ou vison - saumon Chinook	?		BMF [5-10] (mesures dans le foie)	
Eau de mer	arctique	zooplankton, amphipode (<i>Themisto libellula</i>), copépode (<i>Calanus hyperboreus</i>) – cabillaud boréal (<i>Boreogadus saida</i>), hareng de la côte Pacifique (<i>Clupea pallasii</i>), omoul anadrome (<i>Coregonus autumnalis</i>) - beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>) / phoque annelé (<i>Phoca hispida</i>)	3.6 - 3.8	6.3 (2.4-16.6)	plancton analysé en tant que pools, poisons analysés individuellement (tissus non spécifiés); mammifères, analyse du foie et de la graisse sous-cutanée.	(Tomy <i>et al.</i> , 2009)
Eau de mer	arctique	lichens (<i>Cladina rangiferina</i>); algues (<i>Fucus gardneri</i>); bivalves (<i>Mytilus edulis</i>); poisson : cabillaud boréal (<i>Boreogadus saida</i>), capelin (<i>Mallotus villosus</i>) et chaboisseau arctique (<i>Myoxocephalus scorpioides</i>); eider (<i>Somateria mollissima sedentaria</i>); mammifères: beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>), phoque annelé (<i>Phoca hispida</i>)	5.0	17.4 (pf - 11.9 - 26.0) 11.0 (pp - 6.9 - 17.4)	Mesures organismes entiers pour lichens, algues, et poissons; analyses de tissus pour les eiders et mammifères. Calculs des TMF sur base du poids frais (pf) et rapporté aux protéines (pp). La correction par rapport aux protéines est basée sur la littérature. TMF ~0.47 (0.27-0.85) lorsque seuls les organismes piscivores sont pris en compte.	(Kelly <i>et al.</i> , 2009)
Eau douce	tempérée	Truite arc en ciel (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) adulte (taille commercialisable) nourries 28 jours avec des aliments enrichis.	-	-	Dépuration 28 jours, puis dissection et mesure dans chaque organe. BMF ajustés par rapport à la croissance, à l'efficacité d'assimilation et la dépuración. BMF = 0.42	(Goeritz <i>et al.</i> , 2013)
Eau douce	tempérée	Phytoplancton, zooplancton (cladocères, rotifères), bivalves, crevettes, poisson (9 spp.), oiseaux piscivores	4.6	2.9		(Xu <i>et al.</i> , 2014)
Estuaire	tempérée	Polychètes, clams, crabes, zooplancton, gammarès, crevettes, sole, flet, bar, maigre	3.98 ¹⁴	1.5 ± 0.1	L-PFOS	(Munoz <i>et al.</i> , in prep.)
Terrestre	arctique	lichen-plantes, caribou, loup	?	2.3 ± 2.6	Mesures dans les tissus ; les concentrations dans les organismes entiers sont extrapolées	(Müller <i>et al.</i> , 2011)

Tableau 12 – Synthèse bibliographique - TMF du PFOS (suite et fin)

¹⁴ D'après Pasquaud, S., Pillet, M., David, V., Sautour, B., Elie, P., 2010. Determination of fish trophic levels in an estuarine system. Estuarine, Coastal and Shelf Science 86, 237-246

4.3.3 Accumulation par les organismes encagés – comparaison avec les organismes autochtones

Les chironomes grossissent et grandissent pendant l'exposition ; il faut donc tenir compte de cet effet dans l'interprétation des concentrations à la fin de l'encagement (T_f). La concentration ajoutée nette (C_{an}), incluant l'éventuelle élimination, et tenant compte de la dilution par la croissance, s'écrit :

$$C_{an} = C_f - \frac{C_0 \times m_0}{m_f}$$

Équation 8

Avec C_0 la concentration mesurée à T_0 , m_0 et m_f les masses respectives moyennes d'un chironome à T_0 et T_f , C_f la concentration mesurée à T_f . Dans le cas particulier où C_0 serait <LD, on considère que $C_{an} = C_f$. Pour les gammares, il n'y a pas de croissance pendant l'encagement ; la concentration ajoutée s'écrit donc :

$$C_{an} = C_f - C_0$$

Équation 9

C_{an} est un moyen de comparer les sites ou les espèces encagées entre eux en réduisant la variabilité ; pour la comparaison aux organismes autochtones, C_f devrait suffire.

L'accumulation nette pendant l'encagement est présentée au Tableau 13. Les cellules surlignées de la ligne chironomes (CHI) correspondent aux cas où $C_0 < LD$; les cellules hachurées de la ligne gammares (GAM) correspondent aux cas où C_0 est proche de C_f .

	BER		LVP		ADB		LUY		TIJ	
	06-13	10-13	06-13	10-13	06-14	10-14	06-14	10-14	06-14	10-14
CHI	0.48	0.45	0.11	0.16	1.17	0.39	0.49	0.31	0.39	0.34
GAM	0.21	1.15	-0.01	0.43	2.37	-	-1.37	0.54	-1.13	2.37

Tableau 13 – Accumulation de PFOS au cours de l'encagement

Dans l'ensemble, il n'apparaît pas de différence marquée de concentration ajoutée entre les campagnes de printemps et d'automne, sauf à ADB et LUY, pour lesquels la campagne d'automne a été perturbée par une crue. Il est en revanche difficile de comparer les performances des 2 organismes, parce que le nombre de sites est faible et à cause de l'instabilité des C_0 .

En utilisant GAM en octobre : TIJ>LUY>BER>LVP ; ADB ne peut être comparé aux autres sites sur cette campagne, mais ressort comme fortement contaminé en juin. Seul TIJ est classé différemment par CHI et GAM. A part TIJ, ce classement est similaire à celui établi sur la base des mesures dans les poissons, toutes espèces confondues, et en tenant compte des concentrations estimées (ADB~TIJ>BER≥LUY>LVP). Il est en revanche assez différent de celui donné par les invertébrés (tous taxons confondus) : TIJ>BER>LUY>ADB>LVP), mais dans ce dernier cas la comparaison est difficile, la composition des assemblages étant assez variable.

La Figure 11-A présente les concentrations brutes dans les chironomes encagés aux différents sites (carrés), ainsi que celles des chironomes autochtones (triangles) sur les 3 sites où il a été possible d'en prélever (BER, ADB et LUY). A ADB et LUY les concentrations dans les chironomes encagés sont similaires à celles des autochtones, alors qu'à BER elles diffèrent sensiblement. Contrairement aux mesures d'isotopes, il n'a pas paru pertinent de représenter les oligochètes sur le graphique, parce qu'ils présentent des teneurs en PFOS très élevées par comparaison aux chironomes autochtones, ce qui peut être dû à un comportement trophique différent (Hare *et al.*, 2001), ou à une élimination plus rapide (Bertin *et al.*, in prep. (revision)). Dans le cas des gammares (Figure 11-B), les concentrations dans les autochtones sont supérieures à celles des encagés dans 2 sites sur 4¹⁵ (BER, TIJ) et similaires dans 2 autres cas (LVP, LUY).

¹⁵ Pas de gammares autochtones à ADB

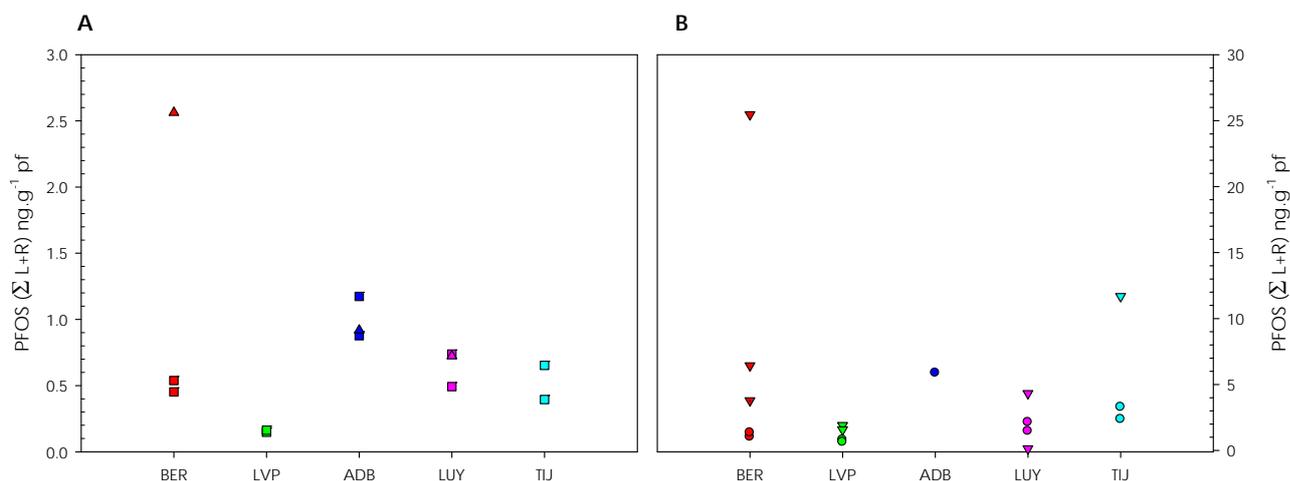


Figure 11 - PFOS dans les organismes encagés (carrés) et autochtones (triangles) A – chironomes ; B – gammares

Les gammares autochtones de LUY présentent également des valeurs élevées de $\delta^{15}\text{N}$, mais les autres sites ont des valeurs similaires ; de même, les TL des gammares autochtones sont similaires sur ces sites, entre 1.69-2.06 à LUY et 2.52-2.56 à TIJ ou LVP. Ces différences ne s'expliquent donc pas de manière simple par la trophie.

4.4 Hexabromocyclododécanes (HBCDD)

4.4.1 Accumulation par les organismes autochtones

Les concentrations d'hexabromocyclododécane (HBCDD) rapportées ci-dessous correspondent à la somme des concentrations des stéréo-isomères α , β et γ . Les LD (estimées dans la masse fraîche pour un taux moyen d'humidité de 80%) varient de 0.04 à 0.09 ng.g⁻¹ (pf) selon les isomères, et les LQ de 0.12 à 0.29 ng.g⁻¹ (pf). L'isomère α est détecté dans 92.7 % des invertébrés, et 100% des poissons ; en revanche les deux autres isomères sont moins fréquemment détectés : 12.2 % et 47.8 % chez les invertébrés et les poissons respectivement pour l'isomère β , et 63.4 % et 65.2 % respectivement pour l'isomère γ . Ces résultats s'expliquent par la métabolisation plus importante des isomères β et γ (Koch *et al.*, 2015, Zegers *et al.*, 2005).

Le Tableau 14 présente la distribution des concentrations pour la somme des 3 isomères aux différents sites ; compte tenu des fréquences de détection plus basses des isomères β et γ , il n'a pas paru possible d'estimer les concentrations dans les individus entiers à partir de l'analyse des fractions pour la somme des isomères. Cette estimation n'a été faite que pour l'isomère α (cf. § 4.4.1.2 ci-dessous).

Sites	Effectif	Min	P25	Médiane	Moyenne	P75	Max
ADB	Inv.	10	0.14	0.25	0.36	0.63	1.90
	CHE	6	3.41	3.66	4.00	4.11	5.05
	CHE-FIL	4	0.71	-	0.88	-	2.00
BER	Inv.	6	0.09	0.31	0.60	0.75	1.54
	BAF-FIL	20	0.41	0.88	1.66	5.08	20.86
LUY	Inv.	8	0.25	0.47	1.64	1.41	2.03
	CHE	10	0.13	0.43	1.51	1.34	1.93
	CHE-FIL	5	0.03	0.04	0.05	0.08	0.08
LVP	Inv.	8	0.04	0.12	0.19	0.28	0.36
	BAF-FIL	4	1.23	-	4.13	-	9.11
	CHE-FIL	5	0.09	0.12	0.20	0.30	0.41
TIJ	Inv.	9	<LD	0.29	0.69	1.47	2.17
	CHE	7	0.08	0.22	0.32	0.33	0.48
	CHE-FIL	1	0.09	-	-	-	-
	BAF	3	2.97	-	3.34	-	3.95
	BAF-FIL	5	1.20	1.50	1.61	1.72	1.79

Tableau 14 – Distribution de l'HBCDD (ng.g⁻¹ pf, somme des isomères) dans les échantillons collectés *in situ*

Avec : Inv. : Invertébrés ; BAF : barbeau fluviatile ; CHE : chevaine ; FIL : analyse dans le filet

Le classement des sites ADB, LUY et TIJ par ordre de contamination décroissant varie selon le

compartiment considéré : pour les sédiments, TIJ est plus contaminé que LUY et ADB, tandis que pour les invertébrés si l'on considère les valeurs médianes LUY est plus contaminé que les autres sites. Les chevaines sont en revanche plus contaminés à ADB qu'aux 2 autres sites.

4.4.1.1 Accumulation par les invertébrés

Sur l'ensemble des sites, les concentrations de Σ HBCDD varient <LD à 4.83 ng.g⁻¹ (pf), avec une asymétrie marquée. La valeur médiane de la proportion d'isomère α est égale à 95% (56 – 100%).

Bien qu'il y ait des données sur deux saisons à 4 sites, la mise en évidence d'un éventuel effet saison reste délicate, en raison des effectifs variables et de l'hétérogénéité des taxons capturés. Graphiquement il n'apparaît pas d'effet saison (Figure 12 ; concentrations brutes).

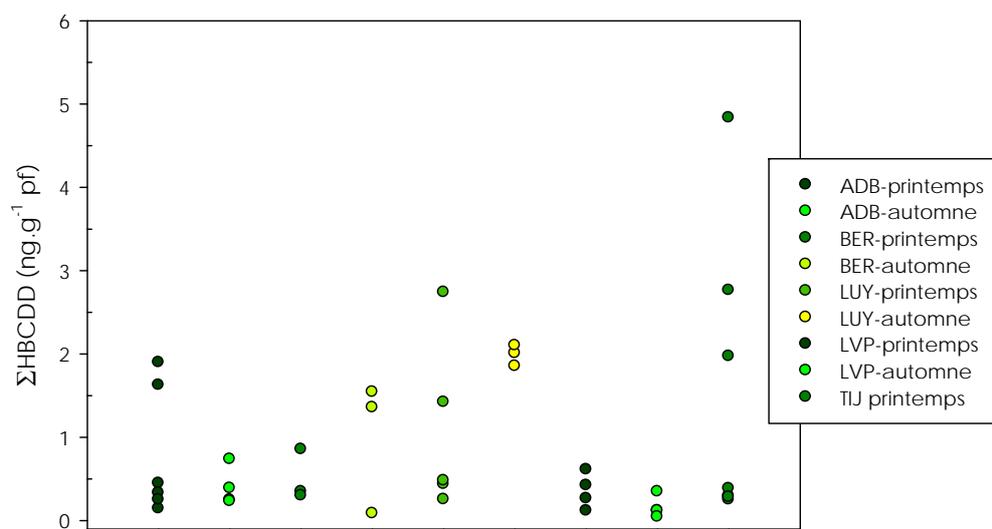


Figure 12 - Variabilité des concentrations d'HBCDD en fonction des saisons

L'effet du taux de lipides a été testé par ANCOVA, avec Σ HBCDD en variable dépendante, %lipides et sites en variables explicatives (N=40) ; l'effet taxon n'a pas été testé, en raison d'effectifs très disparates selon le taxon. Le R² reste faible (0.39) ; l'effet éventuel des lipides n'est pas significatif au seuil $\alpha=0.05$. L'effet sites n'est pas significatif non plus, en raison de la forte variabilité intra-sites, en particulier quand des taxons très contaminés sont détectés.

Les concentrations de Σ HBCDD ne dépendent pas des valeurs de $\delta^{13}C$ ni de $\delta^{15}N$ (ANCOVA, incluant les taux de lipides en variable explicative).

4.4.1.2 Accumulation dans les poissons

La distribution des concentrations mesurées dans les fractions de poissons sur les 2 sites où il a été possible de le faire est présentée au Tableau 15. La fraction carcasse-viscères-peau (cvp), qui est ici la plus grasse, présente des teneurs plus élevées que le foie, les filets étant la fraction la moins contaminée.

Site	Esp.	Fract.	Effectif	Min	P25	Médiane	Moyenne	P75	Max
ADB	CHE	cvp	2	6.29	-	-	-	-	13.72
		filet	4	0.71	-	0.88	-	-	2.00
		foie	2	1.06	-	-	-	-	5.92
LUY	CHE	cvp		0.19	0.19	1.59	1.29	1.88	2.59
		filet	5	0.03	0.04	0.05	0.08	0.08	0.17
		foie		0.33	0.55	0.57	0.60	0.63	0.93

Tableau 15 - Distribution de l'HBCDD (somme des isomères) dans les poissons (foie, filet, cvp) ng.g⁻¹ (pf)

L'isomère α représente 94 à 100% (médiane 98.8 %) de la somme des isomères α , β et γ pour les poissons analysés entiers. Cet isomère est également majoritaire dans les fractions analysées, mais paraît plus variable dans les filets (58.2 – 100% pour BAF, 71-100 % pour CHE), les proportions les plus basses correspondant aux plus petits individus. Chez le chevaine, la proportion d'isomère α dans le foie est

comprise entre 79 et 98 %, et 99 à 100 % dans la fraction cvp. Ces observations, notamment la prépondérance de l'isomère α dans l'environnement, à la différence de la composition des mélanges techniques, sont cohérentes avec la littérature (cf. notamment (Koch *et al.*, 2015, Zegers *et al.*, 2005).

L'HBCDD étant très hydrophobe ($\log Kow = 5.63^{16}$), nous avons examiné l'effet du taux de lipides sur son accumulation dans l'organisme (poisson) entier à l'aide :

- d'une ANCOVA sur les chevaines des 3 sites étudiés en 2014 (N=23), avec la taille et lipides en variables explicatives quantitatives et le site en variable qualitative. L'effectif comprend 5 individus à LUY et 2 à ADB pour lesquels la concentration dans l'individu entier est calculée à partir de celle des fractions. Le R^2 ajusté est égal à 0.81 (p -value < 0.0001). Les 3 variables explicatives (taux de lipides, taille et site) ont une influence significative (p -value respectivement < 0.0001, 0.006 et 0.004).
- une deuxième ANCOVA sur les filets de barbeaux de 3 sites (TIJ, CATISL, BER, N=29, dont 20 à BER), avec la taille et lipides en variables explicatives quantitatives et le site en variable qualitative. Le R^2 ajusté est plus faible, 0.599, p -value < 0.0001 ; la taille (p -value < 0.0001) et le site (p -value 0.005) ont une influence significative, mais pas le taux de lipides (p -value 0.43).

Chez le chevaine (N=7), les lipides et l' α HBCDD sont plus concentrés dans la fraction cvp (carcasse/viscères/peau), puis le foie et enfin le filet. Ces différences ne sont cependant pas significatives au seuil $\alpha=0.05$ (test de Kruskal-Wallis, p -value 0.423). Les concentrations dans le filet et la fraction cvp sont corrélées (Spearman, coefficient de détermination = 0.675, p -value = 0.034). En revanche ce n'est pas le cas des taux de lipides dans les mêmes fractions.

Il est donc possible de prédire la concentration brute dans le chevaine entier à partir de l'analyse des filets (Équation 10, $R^2=0.964$, p -value < 0.0001, N=7). Il est également possible de prédire la concentration en α HBCDD ajustée à 5% de lipides dans les chevaines entiers (Équation 11 ; $R^2=0.564$, p -value = 0.007).

$$[\alpha HBCDD_{WB}] = (4.634 \pm 0.372 \times [\alpha HBCDD_{filet}])$$

Équation 10

Etant donné que les concentrations des isomères β et γ sont faibles ou <LD dans les poissons testés, on peut aussi appliquer l'Équation 10 à l'estimation de Σ HBCDD dans les chevaines entiers.

L'Équation 11 a été dérivée par régression linéaire pour estimer la concentration dans l'organisme entier ajusté à 5% de lipides à partir de la concentration dans le filet :

$$[\alpha HBCDD_{WB-5\%lip}] = (2.771 \pm 0.684 \times [HBCDD_{filet}])$$

Équation 11

Avec $[\alpha HBCDD_{WB}]$ la concentration en α HBCDD dans le chevaine entier, $[\alpha HBCDD_{WB-5\%lip}]$ la concentration en α HBCDD dans le chevaine entier ajustée à 5% de lipides, et $[\alpha HBCDD_{filet}]$ la concentration (pf, non ajustée) dans le filet.

Le nombre limité de barbeaux capturés en 2014 et disponibles pour des dissections n'a pas permis de tester les relations entre fractions pour l'HBCDD, puisque le foie a été entièrement utilisé pour les analyses de composés perfluorés. C'est pourquoi, il a été décidé d'utiliser le quotient médian des concentrations corps entier – filet du chevaine pour estimer les concentrations d'HBCDD dans les barbeaux entiers à partir des analyses de filet, soit 5.098 pour les concentrations pf, et 2.484 pour les concentrations dans la fraction lipidique. Il aurait été possible également de procéder par régression linéaire, comme dans le cas du PFOS ; aucune de ces approches ne sera très fiable, eu égard au faible nombre d'individus et à l'extrapolation d'une espèce à l'autre.

4.4.2 Détermination des TMF

ADB : 10 taxons invertébrés, 8 poissons individuels (CHE uniquement) ; TL compris entre 1.85 (chironome) et 4.85 (CHE).

BER : 6 taxons invertébrés, 20 poissons individuels (BAF uniquement) ; TL compris entre 1.85 (Corbicule) et 3.64 (BAF).

LUY : 8 taxons invertébrés, 10 poissons individuels (CHE uniquement, dont 5 estimés à partir du filet) ; TL compris entre 1.38 (un CHE) – 1.42 (oligochète) et 2.94 (CHE).

LVP : 8 taxons invertébrés, 9 poissons individuels (BAF et CHE, estimés à partir du filet) ; TL compris entre

¹⁶ Source ECHA

1.94 (Oligochète) et 3.90 (BAF).

TIJ : 9 taxons invertébrés, 16 poissons individuels (BAF et CHE) ; TL compris entre 2.0 (simulie) et 4.39 (BAF).

Comme dans le cas du PFOS, les écarts TL min-max sont en général à la valeur recommandée (Borgå *et al.*, 2012), sauf à ADB.

Les TMF déterminés à partir des concentrations en pf sont présentés au Tableau 16 pour la somme des 3 isomères, ainsi que pour les isomères α et γ ; il n'est pas possible de déterminer de TMF pour l'isomère β , en raison de la proportion élevée de valeurs censurées.

A- Somme des isomères α, β, γ

Site	TMF(1)	R ² (p-value)	TMF(2)	τ (p-value)	TMF(3)
ADB	2.18 ±0.55	0.36 (0.008)	2.66	0.49 (0.005)	1.47 ±0.02
BER	8.19 ±0.96	0.47 (0.0001)	ns	0.26 (0.07)	7.92 ±1.40
LUY	ns	0.0046 (0.79)	ns	-0.01 (1.00)	ns
LVP	8.25 ±1.63	0.33 (0.016)	11.83	0.37 (0.04)	3.40 ±1.74
TIJ	4.22 ±0.77	0.40 (0.0007)	4.69	0.39 (0.006)	2.83 ±0.64

B- α -HBCDD

Site	TMF(1)	R ² (p-value)	TMF(2)	τ (p-value)	TMF(3)
ADB	2.23 ±0.58	0.34 (0.01)	2.83	0.52 (0.003)	1.37 ±0.04
BER	10.96 ±1.08	0.47 (0.0001)	ns	0.26 (0.07)	11.36 ±2.95
LUY	ns	0.007 (0.74)	ns	-0.01 (1.00)	ns
LVP	10.03 ±1.90	0.30 (0.02)	14.74	0.38 (0.04)	3.64 ±2.46
TIJ	4.85 ±0.80	0.43 (0.0004)	5.92	0.42 (0.003)	3.32 ±0.99

C- γ -HBCDD

Site	TMF(1)	R ² (p-value)	TMF(2)	τ (p-value)	TMF(3)
ADB	-	-	ns	0.22 (0.22)	1.41 ±0.11
BER	-	-	ns	-0.06 (0.66)	ns
LUY	-	-	ns	0.12 (0.48)	ns
LVP	-	-	ns	-0.06 (0.76)	ns
TIJ	-	-	ns	0.15 (0.29)	4.00 ±4.14

Tableau 16 – TMF de l'HBCDD (somme des principaux isomères ou isomères dominants)

TMF(1) : régression linéaire ; TMF(2) : Kendall ; TMF(3) : modèle linéaire à effets mixtes ; ns – non significatif

La régression de Kendall ne permet pas de déterminer de TMF dans 2 cas sur 5, tandis que le modèle GLMM et la régression simple produisent des résultats plus ou moins comparables : écart important à LVP, et dans une moindre mesure à ADB, valeurs similaires à BER et TIJ. Il n'a pas été possible de déterminer de TMF pour le site de LUY, pourtant aussi fortement contaminé par l'HBCDD que le site ADB d'après les analyses de sédiments (Tableau 8 p 30). La détermination des TMF sur la base des concentrations justées aux taux de lipides tend à lisser les valeurs et produit des TMF plus bas, sauf à ADB (cf. annexe 9.7).

Il y a relativement peu de TMF disponibles dans la littérature ; la gamme des TMF publiée est similaire à celle de la présente étude (Tableau 17).

Milieu	Zone géographique	Chaîne trophique	TL supérieur	TMF	Commentaires	Référence
Eau douce	tempérée (Grand Lacs - Ontario)	plancton : mysis (<i>Mysis relicta</i>) - amphipode (<i>Diporeia hoyi</i>) - chabot (<i>Cottus cognatus</i>) - éperlan (<i>Osmerus mordax</i>) - alose (<i>Alosa pseudoharengus</i>) – truite de lac (<i>Salvelinus namaycush</i>)	5.0	6.3	Ligne de base : plancton (TL = 1) – Analyses de pools pour plankton, callionyme et éperlan. BMF [1 - 10.8], selon le stéréoisomère et le couple prédateur – proie considérés.	(Tomy <i>et al.</i> , 2004b)
Eau douce	tempérée (Grand Lacs - Winnipeg)	Phyto- and zooplancton (mixture) - moules (<i>Lampsilis radiata</i>) – poissons : laquaiche aux yeux d’or (<i>Hiodon alosoides</i>) meunier noir (<i>Catostomus commersoni</i>), lote (<i>Lota lota</i>), méné émeraude (<i>Notropis atherinoides</i>), corégone (<i>Coregonus clupeaformis</i>), doré (<i>Stizostedion vitreum</i>)	~2.5	2.3 (α , β - /lipides); 4.8 (γ , /lipides); 3.1 (Σ HBCD, /lipides)	Analyse du muscle (poissons) et tissus mous (moules), pas d’extrapolation aux concentrations dans l’organisme entier pour déterminer les TMF. Moules exclues de la régression à cause de leur régime alimentaire. r^2 et p values des isomères α and β inappropriées.	(Law <i>et al.</i> , 2006)
Eau de mer	arctique	clams (<i>Mya truncate</i> and <i>Serripes groenlandica</i>) - zooplancton - crevette (<i>Pandalus borealis</i> et <i>Hymenodora glacialis</i>) – sébaste du Nord (<i>Sebastes mentella</i>) – cabillaud boréal (<i>Boreogadus saida</i>) - morse (<i>Odobenus rosmarus</i>) - beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>) / narval (<i>Monodon monoceros</i>)	5.0	2.1 – 2.2	Analyses sur organismes entiers, sauf pour les mammifères, dont seule la graisse sous-cutanée. Bioamplification seulement pour l’énantiomère (-) α .	(Tomy <i>et al.</i> , 2008)
Eau de mer	arctique	zooplancton, amphipode (<i>Themisto libellula</i>), copepod (<i>Calanus hyperboreus</i>) – cabillaud boréal (<i>Boreogadus saida</i>), hareng de la côte Pacifique (<i>Clupea pallasii</i>), omoul anadrome (<i>Coregonus autumnalis</i>) - beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>) / phoque annelé (<i>Phoca hispida</i>)	3.6 - 3.8	< 1 (tous isomères; 0.6 pour isomère α)	Ligne de base = copépode (TL = 2); plancton analysé en pools, poissons individuellement (matrice non précisée); mammifères, analyse de la graisse sous-cutanée et du foie. Les mammifères ont des concentrations inférieures au cabillaud boréal, et un profil d’isomère différent (α dominant). BMF (α) [0.1 - 1.7], normalisé par le % lipides, calculé pour des tissus spécifiques	(Tomy <i>et al.</i> , 2009)
Eau douce	tempérée	Invertébrés : escargot Chinois (<i>Cipangopaludina chinensis</i>), crevette bouquet (<i>Macrobrachium nipponense</i>) – poissons : carpe (<i>Cirrhinus molitorella</i>), carassin (<i>Carassius auratus</i>), poisson-serpent (<i>Ophicephalus argus</i>) – serpent d’eau (<i>Enhydris chinensis</i>)	4.5	2.19 - 2.22 (isomères α)	Site proche d’un site de recyclage de déchets électroniques. TL < 3. TMF sur Σ HBCDD = 1.83, régression non significative ($p=0.12$). isomères γ non bioamplifiés	(Wu <i>et al.</i> , 2010)

Tableau 17 – Synthèse bibliographique sur les TMF pour l’HBCDD

Milieu	Zone géographique	Chaîne trophique	TL supérieur	TMF	Commentaires	Référence
Eau de mer	arctique	Moule bleue – ver arénicole - crabe – œufs d’oiseaux : eider, goéland à dos noir	4.0	9.1 (isomère α , pf) 2.6 (idem, lipides)	Est-ce une chaîne alimentaire? Les mesures dans les crabs ne s’ajustent pas dans la régression. Sur la base du BMF, pas d’amplification entre moule et crabe	(Haukås <i>et al.</i> , 2010)
Eau douce	tempérée	Amie (?) - escargot Chinois – crabe Chinois à mitaine - goujon - carassin – anguille de rizièrre - poisson à tête de serpent – grenouille dorée – goéland argenté	5.06	2.58 (isomère α , lipides)	TL < 3.	(Zhang <i>et al.</i> , 2013)
Eau de mer		crevette mantis - bulot - crabe - anchois - pieuvre - vive – poisson crocodile à queue barrée – poisson-chat (marin) – petite courbine	4.92	1.74 (isomère α , lipide)		

Tableau 17 – Synthèse bibliographique sur les TMF pour l’HBCDD (suite et fin)

4.4.3 Accumulation par les organismes encagés – comparaison avec les organismes autochtones

Le cadre d'interprétation est identique à celui posé pour le PFOS (cf. § 4.3.3 p38). L'accumulation nette pendant l'encagement est présentée au Tableau 18. Les cellules hachurées correspondent aux cas où les concentrations à T0 étaient élevées (contamination au laboratoire, cf. §3.1.3 p17).

	BER		LVP		ADB		LUY		TIJ	
	06-13	10-13	06-13	10-13	06-14	10-14	06-14	10-14	06-14	10-14
CHI		0.38		-0.09	9.08	0.78	0.16	1.63	9.78	1.08
GAM	0.22	-2.00	0.72	-3.34	0.94	-	0.73	3.34	0.58	0.50

Tableau 18 – Accumulation de Σ HBCDD au cours de l'encagement

Les résultats sont assez variables, tant pour C_{an} que pour le classement des sites. Alors qu'en juin, avec le chironome, $TIJ \approx ADB > LUY$, en octobre le classement devient $LUY > TIJ > ADB$. C'est probablement une conséquence des crues advenues pendant l'exposition des cages en octobre, plus longuement à ADB et TIJ qu'à LUY. Toutefois, il est possible aussi que les émissions d'HBCDD soient plus variables que celles du PFOS, pour lequel les C_{an} paraissent moins variables.

Sur les 3 sites étudiés en 2014, pour la campagne de juin, le classement donné par les chironomes est similaire à celui des poissons, mais pas des invertébrés ; le classement par les gammares est plus proche des invertébrés autochtones.

La Figure 13-A présente les concentrations brutes d'HBCDD (somme des 3 isomères) dans les chironomes encagés aux différents sites (carrés), ainsi que celles des chironomes autochtones (triangles pointe en haut) et oligochètes (losanges). La Figure 13-B présente la même comparaison pour les gammares encagés (ronds) et les gammares ou Dikérogammares autochtones (triangles pointe en bas).

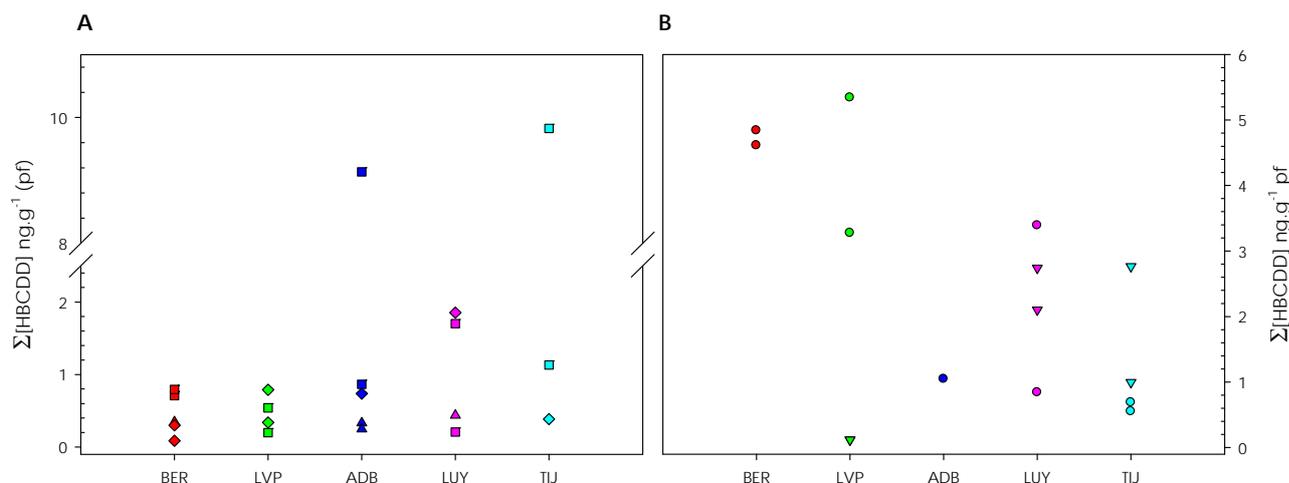


Figure 13 – Σ HBCDD (ng.g^{-1} pf) dans les organismes encagés (CHI carrés, GAM cercles) et autochtones (triangles pointés en haut : chironomes, pointe en bas : gammares, losanges oligochètes) A – chironomes encagés ; B – gammares encagés.

Il n'apparaît pas de patron évident dans la comparaison entre encagés et autochtones, ni pour les chironomes ni pour les gammares. De même, l'hypothèse posée plus haut (cf. § 4.2.7.3) selon laquelle les chironomes encagés accumuleraient moins que les organismes autochtones homologues n'est pas vérifiée. L'hypothèse inverse avait été posée pour les gammares, en raison de la plus grande variété de ressources trophiques disponibles pour les gammares autochtones, elle ne se vérifie pas non plus.

4.5 **Polybromodiphényléthers (PBDE)**

4.5.1 Accumulation par les organismes autochtones

Les LD de chaque congénère varient en fonction des séries analysées ; nous avons pris le parti d'assigner une LD par congénère, exprimée par rapport à la matière sèche, pour toutes les matrices : la LD assignée correspond à la valeur maximale des LD de l'ensemble des séries. Ensuite il est possible d'estimer la LD par rapport à la matière fraîche pour chaque échantillon, en fonction des taux d'humidité respectifs. Cela a permis de décrire les distributions en tenant compte des valeurs censurées. Le fait de choisir une seule LD-matière sèche par congénère conduit à classer <LD un certain nombre d'échantillons, lorsque la LD de la série où ils ont été analysés était inférieure. Cette correction concerne 2 sédiments (BOL pour les BDE 47,

99 et 209), et VAT pour les BDE 153 et 209), 9 échantillons d'invertébrés pour 1 ou 2 congénères, et 6 échantillons de poissons (idem).

Les distributions des congénères dans les invertébrés et poissons sont résumées au Tableau 19 ci-dessous.

Site	Organismes	Effectif	min	25ème centile	médiane	75ème centile	max	Moyenne géométrique
BOL	INV	7	0.13	0.20	0.31	0.39	0.54	
	BAF	10	1.84	1.99	2.38	3.40	3.60	2.51
	CHE	2	1.04	-	-	-	1.27	-
FLO	INV	14	<0.02	0.03	0.08	0.11	0.25	
	BAF	4	0.55	-	-	-	1.66	-
	CHE	7	0.07	0.23	0.28	0.30	0.39	0.23
MRG	INV	7	<0.017	0.07	0.13	0.25	0.79	
	BAF	9	0.51	1.10	1.26	1.33	1.48	1.12
	CHE	6	0.70	0.99	1.22	1.62	2.90	1.30
TIJ	INV	10	<0.015	0.65	1.57	1.90	4.14	
	BAF	5	6.87	7.78	8.38	11.08	11.13	8.88
	CHE	4	0.90	-	-	-	2.27	-
VAT	INV	10	<0.017	0.35	0.61	1.16	2.72	
	CHE	8	2.45	3.51	4.18	4.67	6.15	3.99

Tableau 19 – Distribution de Σ PBDE (congénères 28, 47, 99, 100, 153 et 154) dans les compartiments biotiques

(INV : invertébrés ; BAF : *B. barbus* ; CHE : *S. cephalus*)

Les mesures réalisées dans les invertébrés et les poissons conduisent à classer les sites de la même façon : TIJ>VAT>BOL>MRG>FLO.

4.5.1.1 Accumulation par les invertébrés

Les congénères les plus fréquemment détectés sont le BDE 47 (85.4 %), le BDE 99 (77.1 %) et le BDE 100 (54.2 %) ; les congénères 28, 49, 153 et 209 sont détectés dans 20 à 27 % des échantillons. Les congénères 66 et 183 sont détectés dans 12.5 % et 4.2 % respectivement, et le BDE 126 n'est jamais détecté. Les occurrences des congénères moins fréquemment détectés varient selon les sites ; le BDE 209 n'est présent qu'à TIJ (9 échantillons sur 10) et VAT (1 échantillon sur 10). De même, le BDE 66 n'est observé qu'à TIJ et VAT ; le BDE 49 est présent sur tous les sites, mais c'est à TIJ, et dans une moindre mesure à VAT, qu'il est le plus fréquent. A contrario les congénères 153 et 154 ne sont jamais détectés à FLO.

Le BDE47 représente 28 % à 100 % de la somme Σ PBDE_{DCE} (médiane 48.6 %).

Les concentrations de BDE47 (mesurables, N=41 pour 48 échantillons collectés) sont corrélées à la Σ PBDE_{DCE}. Le BDE47 est un bon prédicteur de Σ PBDE_{DCE} chez les invertébrés :

$$\Sigma\text{PBDE}_{\text{DCE}} = 2.02 (\pm 0.08) * [\text{BDE47}] + 0.064 (\pm 0.05) \quad (R^2 \text{ 0.941, } p\text{-value} < 0.0001)$$

Équation 12

En revanche, les concentrations de BDE47 >LD ne sont pas corrélées au taux de lipides des invertébrés (test de Pearson, $N = 38$, $p\text{-value} = 0.876$). Une ANCOVA réalisée sur les mêmes données fait ressortir un effet site important ($p\text{-value} < 0.0001$), ainsi qu'un effet taxon ($p\text{-value} = 0.016$), mais aucun effet du taux de lipides. A noter cependant que les effectifs de chaque taxon sont faibles (1 à 5) en regard du nombre de taxons (15).

4.5.1.2 Accumulation par les poissons

Toutes matrices et tous sites confondus, la teneur en BDE47 et la somme des concentrations des congénères à prendre en compte dans le cadre de la DCE (Σ PBDE_{DCE}) sont corrélées (coefficient de corrélation de Pearson 0.993, $p\text{-value} < 0.0001$).

La Figure 14 présente les distributions des concentrations de BDE47 par fraction, tous sites confondus. Le filet présente des concentrations plus faibles pour les deux espèces, le foie et la fraction *cvp* (carcasse + viscères + peau) des concentrations plus élevées. Les concentrations de PBDE sont plus variables dans le

foie des barbeaux que dans celui des chevaines, mais les deux groupes ne diffèrent pas significativement, sans qu'on puisse exclure que ce soit une conséquence du faible nombre d'échantillons.

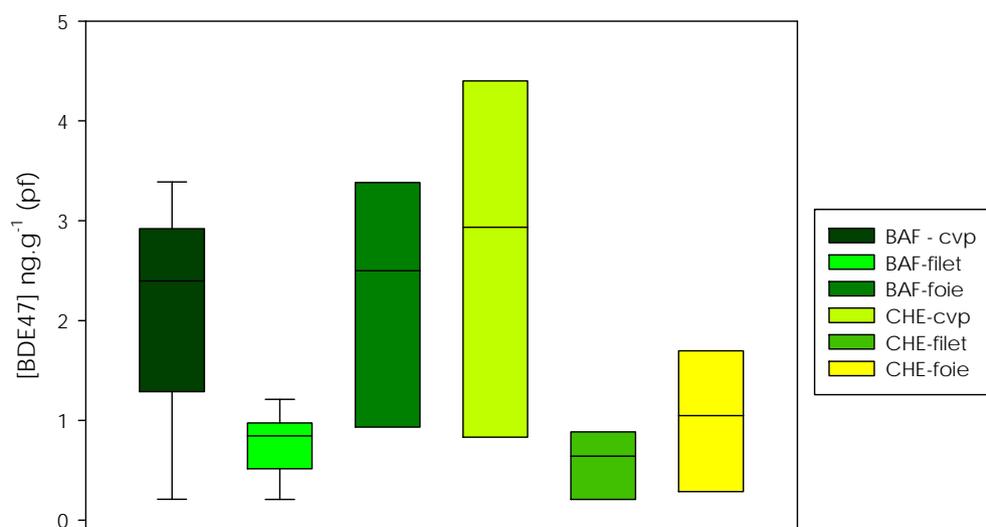


Figure 14 _ Distribution des concentrations de BDE 47 selon les fractions analysées

Les teneurs en BDE47 ou $\Sigma PBDE_{DCE}$ des filets et de l'organisme entier sont corrélées (test de Pearson), mieux pour le chevaïne que pour le barbeau (R^2 respectifs 0.864 et 0.624 pour BDE47, p -value respectives 0.001 et 0.02) ou l'ensemble barbeau-chevaïne. Dans le cas du BDE47, les pentes des régressions linéaires entre concentrations dans le filet et l'organisme entier sont de 2.77 (± 0.22) ($R^2=0.63$, p -value <0.0001) ou 3.47 (± 0.26) ($R^2=0.86$, p -value <0.0001), selon que l'on considère les barbeaux et chevaines ensemble, ou seulement les chevaines.

La régression linéaire pour $\Sigma PBDE_{DCE}$ sur la base des mesures pour barbeaux et chevaines ensemble est décrite par l'Équation 13 ci-dessous (R^2 0.62, p -value <0.0001). La pente de la relation inverse est de 0.308 (± 0.024).

$$[PBDE_{WB}] = 2.98 (\pm 0.23) \times [PBDE_{filet}]$$

Équation 13

Les congénères BDE66 et 209 ne sont jamais détectés dans les échantillons de poisson. Pour le BDE209, cette observation diffère des résultats des analyses de PBDE dans le cadre du plan d'actions PCB (Babut *et al.*, 2011), où ce congénère avait été détecté dans plus de 90 % des 755 échantillons (filet) analysés à l'époque, y compris chez les chevaines et barbeaux. Par ailleurs, le congénère BDE99 est moins fréquemment détecté chez les poissons que chez les invertébrés : 23.6 % pour barbeau et chevaines, 77.1 % pour les invertébrés. Par ailleurs, le BDE47 représente 40 % à 100 % de la somme $\Sigma PBDE_{DCE}$ (médiane 74.7 %) et la distribution de cette proportion chez les deux espèces de poissons diffère significativement de la distribution chez les invertébrés (test de Kolmogorov-Smirnov, p -value < 0.0001). Ces différents éléments suggèrent une débromination des congénères les plus bromés (Stapleton *et al.*, 2006) de manière plus prononcée chez les poissons par rapport aux invertébrés, le BDE47 étant le composé final de ce processus (Browne *et al.*, 2009).

La Figure 15 présente les taux de lipides dans les organismes entiers par site (incluant 8 barbeaux et 8 chevaines pour lesquels ces taux représentent la moyenne pondérée des taux des fractions). Ces taux sont assez variables selon les sites et les espèces. Les barbeaux à TIJ présentent des taux de lipides significativement plus élevés que les chevaines à FLO et TIJ, Les autres cas ne diffèrent ni avec les barbeaux de TIJ, ni avec les chevaines de FLO et TIJ (test de Kruskal-Wallis, p -value 0.001, et test post-hoc de Dunn).

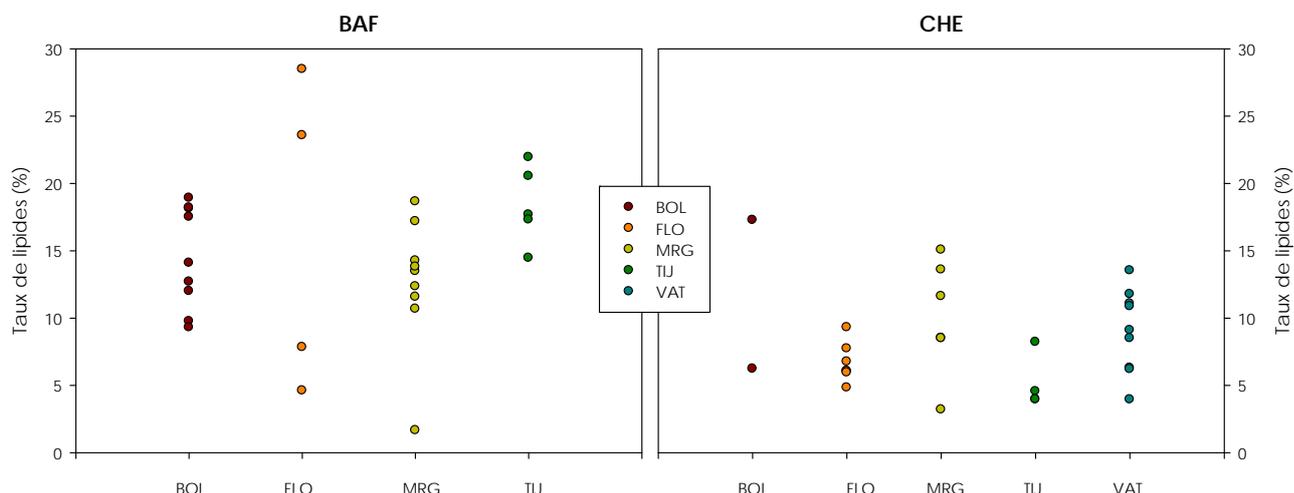


Figure 15 – Distribution des taux de lipides (organismes entiers) en fonction des sites et des espèces

Il est plus difficile d'examiner la variabilité des taux de lipides dans les filets : les 17 échantillons ne sont pas répartis équitablement entre les sites, et seuls deux d'entre eux (BOL et VAT) présentent des effectifs ≥ 5 pour une même espèce (barbeau à BOL 7.4 % à 9.1 % de lipides, chevaine à VAT 2.7 % à 5.5 %). Il n'est pas possible de distinguer l'influence de l'espèce d'un effet site sur la variable taux de lipides.

La relation entre le taux de lipides et la contamination des organismes entiers, représentée par le BDE47 ou $\Sigma PBDE_{DCE}$ a été étudiée par analyse de covariance (ANCOVA), avec le taux de lipides comme variable explicative quantitative, et le site et l'espèce comme variables explicatives qualitatives. La relation est très significative, avec dans les deux cas plus de 65% de la variabilité expliquée (R^2 0.66 et 0.67, p -value < 0.0001 pour BDE 47 et $\Sigma PBDE_{DCE}$ respectivement). Le taux de lipides (p -value < 0.0001), le site (idem) et l'espèce (p -value = 0.03) influent tous significativement la contamination des poissons. Ceci justifie d'ajuster les niveaux de contamination en fonction du taux de lipides, comme recommandé dans le guide technique européen (E.C., 2014). Par contre ce guide ne dit rien de la prise en compte de l'espèce, dont on voit ici qu'elle influe aussi sur l'accumulation des PBDE alors que les TL des chevaines et barbeaux ne sont pas significativement différents.

L'estimation des concentrations dans le filet à partir des concentrations dans l'organisme entier est faite à l'aide de l'Équation 14, obtenue par régression linéaire sur la base des données des mêmes individus que dans l'Équation 13.

$$[PBDE_{fil}] = 0.311(\pm 0.025) \times [PBDE_{WB}]$$

Équation 14

$[PBDE_{fil}]$ et $[PBDE_{wb-lip}]$ représentent la somme des concentrations des congénères pris en compte par la DCE ($\Sigma PBDE_{DCE}$) exprimées par rapport aux lipides.

4.5.2 Détermination des TMF

Les TMF ont été déterminés selon la même démarche que précédemment (cf. § 2.6), appliquée au BDE47 et à $\Sigma PBDE_{DCE}$, ainsi qu'aux congénères BDE99 et 100 lorsque possible.

BOL : 7 taxons invertébrés dont 3 $>$ LD (BDE47 et $\Sigma PBDE_{DCE}$), 12 poissons (individus), dont 6 $>$ LD pour le BDE47, et 9 pour $\Sigma PBDE_{DCE}$. TL compris entre 1.64 et 3.58.

FLO : 14 taxons invertébrés dont 10 $>$ LD (BDE47 et $\Sigma PBDE_{DCE}$), 11 poissons tous $>$ LD pour le BDE47 et pour $\Sigma PBDE_{DCE}$. TL compris entre 1.90 et 3.81.

MRG : 7 taxons invertébrés dont 5 $>$ LD (BDE47 et $\Sigma PBDE_{DCE}$), 15 poissons dont 9 $>$ LD pour le BDE47 et pour $\Sigma PBDE_{DCE}$. TL compris entre 1.98 et 3.69.

TIJ : 10 taxons invertébrés dont 9 $>$ LD, 9 poissons dont 5 $>$ LD pour le BDE47, et $\Sigma PBDE_{DCE}$. TL compris entre 2.00 et 4.39.

VAT : 10 taxons invertébrés dont 9 $>$ LD, 8 poissons dont 8 $>$ LD pour le BDE47 et $\Sigma PBDE_{DCE}$. TL compris entre 0.95 et 3.43.

Les écarts de TL sont donc légèrement inférieurs au minimum de 2 proposé (Borgå *et al.*, 2012), sauf à TIJ et VAT. Les TMF obtenus sont présentés au Tableau 20 ci-dessous (A : BDE47 ; B ; Σ PBDE_{DCE}).

(A)

Site	TMF(1)	R ² (p-value)	TMF(2)	τ (p-value)	TMF(3)
BOL	11.6 ±0.9	0.84 (0.0005)	9.5	0.6 (0.05)	4.8 ±1.6
FLO	-	-	4.8	0.7 (0.00001)	3.0 ±0.4
MRG	-	-	ns	0.4 (0.07)	ns
TIJ	-	-	8.9	0.6 (0.001)	7.2 ±2.9
VAT	-	-	3.7	0.5 (0.001)	1.6 ±0.3

(B)

Site	TMF(1)	R ² (p-value)	TMF(2)	τ (p-value)	TMF(3)
BOL	5.7 ±0.9	0.72 (0.004)	ns	0.5 (0.08)	2.6 ±0.8
FLO	-	-	4.2	0.6 (0.00003)	3.5 ±0.7
MRG	-	-	ns	0.3 (0.11)	ns
TIJ	-	-	5.8	0.6 (0.0015)	5.7 ±2.6
VAT	-	-	2.8	0.5 (0.0016)	1.7 ±1.4

Tableau 20 – TMF du BDE 47 (A) et de Σ PBDE_{DCE} (B)

TMF(1) : régression linéaire ; TMF(3) : modèle linéaire à effets mixtes ; ns – non significatif

Compte tenu des restrictions déjà évoquées sur les analyses de lipides, la détermination de TMF sur la base de concentrations ajustées aux taux de lipides (TMF_{lip}) n'a été possible que dans un plus petit nombre de cas que les TMF rapportés au Tableau 20 ci-dessus. Le TMF_{lip} du BDE47, déterminé par GLMM, est ainsi estimé à 2.7 ±0.4 à FLO, 2.8 ±0.3 à TIJ et 5.9 ±4.9 à MRG. Dans le cas de Σ PBDE_{DCE}, la même approche donne TMF_{lip} = 2.9 ±0.5 à FLO, 2.9 ±0.3 à TIJ et indéterminé (pente non significative) à MRG.

Parmi les autres congénères de PBDE, le BDE100 est doté de suffisamment de données non censurées pour pouvoir calculer des TMF sur 4 sites : FLO, MRG, TIJ et VAT. La pente à MRG est non significative. Les TMF (non ajustés) déterminés par GLMM vont de 2.9 ±0.7 à VAT, à 10.7 ±4.4 à TIJ ; les TMF_{lip} valent 8.1 ±2.5 à FLO et 4.6 ±0.7 à TIJ. Pour le BDE99, il y aurait suffisamment de données non censurées pour calculer des TMF à TIJ et VAT, mais les pentes ne sont pas significatives.

L'application de la régression de Kendall (prenant en compte les données censurées, dans certaines limites) ne permet pas d'obtenir plus de TMF que la procédure GLMM. La différence entre TMF obtenus par GLMM et Kendall n'est pas significative, qu'il s'agisse des TMF non ajustés ou des ou des TMF_{lip} (Mann-Whitney sur BDE47, 100 et Σ PBDE_{DCE}). Les écarts entre les deux approches se réduisent après ajustement des concentrations par les taux de lipides (cf. récapitulatif des TMF en annexe 9.7).

Les TMF obtenus pour le BDE47 (ajustés ou non aux teneurs en lipides) sont comparables ou supérieurs aux valeurs publiées jusqu'à présent, notamment celles concernant des écosystèmes en climat tempéré (Tableau 21). Il en va de même pour Σ PBDE_{DCE}, sachant toutefois que ces publications ne précisent pas toujours quels congénères sont pris en compte dans la somme.

Milieu	Zone géographique	Chaîne trophique	TL supérieur	Congénère	TMF	Etendue	Commentaires	Référence
Eau douce	tempérée (Grands Lacs - Winnipeg)	Phyto- et zooplancton - moules (<i>Lampsilis radiata</i>) - poissons laquaiche (<i>Hiodon alosoides</i>) meunier noir (<i>Catostomus commersoni</i>), lote (<i>Lota lota</i>), méné émeraude (<i>Notropis atherinoides</i>), corégone (<i>Coregonus clupeaformis</i>), doré (<i>Stizostedion vitreum</i>)	~2.5	47 99 100 209 ΣPBDE	5.2 1.5 3 10.4 3.7		Analyse des filets (poisons) et tissus mous (moules). Pas d'estimation des conc. dans l'org. entier pour la détermination du TMF. Moules exclues de la régression en raison de leur mode d'alimentation.	(Law <i>et al.</i> , 2006)
Eau marine	arctique	macroalgues (<i>Fucus gardneri</i>), bivalves (<i>Mytilus edulis</i>), morue boréale (<i>Boreogadus saida</i>), capelin (<i>Mallotus villosus</i>) chaboisseau arctique (<i>Myoxocephalus scorpioides</i>); tissus et organes de mammifères marins : including beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>), phoques annelés (<i>Phoca hispida</i>).	4.0 - 4.5	28 47 49 66 99 100 153 154	0.96 1.6 1.2 0.44 0.76 0.96 0.88 0.81	0.57–1.6 1.2–2.0 0.73–1.9 0.25–0.77 0.57–1.0 0.72–1.3 0.54–1.4 0.47–1.4	Site lointain, afin d'éliminer l'influence de sources locales de contamination sources. PBDEs sont moins efficacement assimilés que les PCBs, et biotransformés	(Kelly <i>et al.</i> , 2008)
Eau marine	tempérée Chine du Nord, baie de Bohai	Zooplancton, crabe (<i>Portunus trituberculatus</i>), clam (<i>Ruditapes philippinarum</i>), crevette fousseuse (<i>Upogebia</i> sp.), bulot (<i>Rapana venosa</i>), coquille ST-Jacques (<i>Argopecten irradians</i>); vive (<i>Lateolabrus japonicus</i>), poisson-chat (<i>Chaeturichthys sitgmatias</i>), poisson-crocodile à queue barrée (<i>Platycephalus indicus</i>), loup (<i>Obontamblyopus rubicundus</i>), tambour jaune (<i>Nibea albiflora</i>) mullet (<i>Liza so-iuy</i>); goéland argenté (<i>Larus argentatus</i>)		28 47 66 99 100 153 154 183 ΣPBDE	4.85	3.57 7.24 2.01 1.56 3.23 3.53	Concentrations normalisées par les lipides. Si le goéland est exclu de la série de données, seul le TMF du BDE47 a une <i>p</i> -value correcte	(Wan <i>et al.</i> , 2008)

Tableau 21 - Synthèse bibliographique : TMF des PBDE

Milieu	Zone géographique	Chaîne trophique	TL supérieur	Congénère	TMF	Etendue	Commentaires	Référence
Eau douce	Subtropicale (lac de barrage)	escargot (<i>Cipangopaludina chinensi</i>), carpe de vase (<i>Cirrhinus molitorella</i>), carpe commune (<i>Cyprinus carpio</i>), carassin (<i>Carassius auratus</i>), crevette (<i>Macrobrachium nipponense</i>); serpent d'eau (<i>Enhydris chinensis</i>) poisson à tête de serpent (<i>Channa argus</i>)	3.64-4.60	28 47 66 99 100 153 154 209 ΣPBDE	1.64 2.28 0.73 0.53 2.64 0.81 2.25 0.26 1.86		Éléments de discussion (en introduction) sur l'influence de la physique du système (zones ouvertes, e.g. estuaires, côtes) vs fermées (lacs de barrage) sur le TMF. Dans le cas étudié, la présence de sources (usines d'électronique) n'est pas discutée	(Wu <i>et al.</i> , 2009)
Eau marine	Tempérée Baie de Tokyo	Bar japonais (<i>Lateolabrax japonicus</i>), « gobie à nageoire jaune » (<i>Mugilogobius abei</i>), crabe vert (<i>Chiromantes dehaani</i>), crabe grapsid (<i>Hemigrapsus penicillatus</i>), moule verte (<i>Perna viridis</i>), huitre pacifique (<i>Crassostrea gigas</i>), moule zébrée (<i>Mytilopsis sallei</i>)					Analyse des PBDEs dans les parties musculaires des crabes et bar. Régression des concentrations de PBDEs sur δ ¹⁵ N (TL non indiqués), montrant la bioamplification de certains congénères	(Mizukawa <i>et al.</i> , 2009)
Eau marine	Subtropicale Estuaire Pearl River	Crabes (<i>Ovalipes punctatus</i> , <i>Scylla serrata</i>), mollusques (<i>Tegillarca granosa</i> , <i>Oncomelania hupensischiui</i>), poissons (<i>Mugil cephalus</i> , <i>Odontamblyopus rubicundus</i> , <i>Cynoglossus robustus</i> , <i>Siganus canaliculatus</i> , <i>Sillago sihama</i> , <i>Psenopsis anomala</i> , <i>Anguilla japonica</i> , <i>Platycephalus indicus</i> , <i>Pseudosiaena crocea</i> , <i>Harpodon nehereus</i>)	3.8 ± 0.38	28 47 66 99 100 153 154 ΣPBDE	0.78 2.29 1.86 2.63 2.95 2.34 2.75 2.04		Échantillons composites pour invertébrés et petits poissons ; poissons individuels lorsque taille suffisante. Espèce entre TL 2.4 et 3.8	(Yu <i>et al.</i> , 2009)

Tableau 21- Synthèse bibliographique : TMF des PBDE (suite)

Milieu	Zone géographique	Chaîne trophique	TL supérieur	Congénère	TMF	Etendue	Commentaires	Référence
Eau marine	tempérée port de Sydney	poissons (<i>Pseudorhombus jenynsii</i> , <i>Pomatomus saltator</i> , <i>Acanthopagrus australis</i> , <i>Monocanthus chinensis</i> , <i>Mugil cephalus</i> , <i>Girella tricuspidata</i>). Invertébrés = crabe nageur bleu (<i>Portunus pelagicus</i>), encornet (<i>Loligo</i> sp).	4.5	28 47 49 66 85 99 100 153 154 ΣPBDE	3.3 4.1 9.6 2.6 2.2 3.2 4.7 2.8 3.9 3.9		Echantillons composites, concentrations tissulaires, normalisées par les lipides	(Losada <i>et al.</i> , 2009)
Eau douce	tempérée Chine du Nord, Lac Baiyangdian	Zooplancton, mollusques (<i>Viviparus</i> , <i>Anodonta</i>), crevette (<i>Macrobrachium nipponense</i>), crabe (<i>Eriocheir sinensis</i>), carpe commune (<i>Cyprinus carpio</i>), carassin doré (<i>Carassius auratus</i>), carpe à grosse tête (<i>Aristichthys nobilis</i>), amour blanc (<i>Ctenopharyngodon idella</i>), poisson à tête de serpent (<i>Channa argus</i>), poisson-chat jaune (<i>Pelteobagrus fluvidraco</i>), anguille de rizière (<i>Monoperus ablus</i>), loche asiatique (<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>).	≈ 5	28 47 66 85 99 100 153 154 183 ΣPBDE	1.41 1.31 2.07 1.55 1.39 1.82 1.65 2.08 1.64 1.61		L'étude cible des espèces élevées à des fins commerciales (poissons, tortues, canards) à côté de la chaîne trophique	(Hu <i>et al.</i> , 2010)
Eau marine	Tempérée Méditerranée occidentale	Chaîne trophique du merlu (<i>Merluccius merluccius</i>) : phytoplancton, zooplancton, crustacés, poisson		47	1.22		Les concentrations augmentent des merlus petits à moyens, puis diminuent légèrement, mais les BMF respectifs suivent à peu près la tendance inverse	(Harmelin-Vivien <i>et al.</i> , 2012)

Tableau 21 - Synthèse bibliographique : TMF des PBDE (suite)

Milieu	Zone géographique	Chaîne trophique	TL supérieur	Congénère	TMF	Etendue	Commentaires	Référence
Eau marine	Tempérée Baie de Liaodong, mer de Bohai, Chine du Nord	Chaîne trophique incluant un producteur primaire, 9 espèces d'invertébrés, 9 espèces de poisson et une espèce d'oiseau de mer	4.02	28	1.93	2.14	Etendue marine semi-fermée, entourée de zones industrielles en expansion : peu d'échanges avec la mer ouverte, facteur reconnu d'accumulation accrue des contaminants. Les espèces étudiées ont des taux de lipides relativement élevés. TMF plus bas si l'oiseau n'est pas pris en compte (colonne de gauche)	(Ma et al., 2013)
				47	3.19	3.85		
				66	2.84	3.14		
				77	2.11	3.73		
				99	1.93	2.72		
				100	3.21	4.44		
				153	1.65	2.54		
	154	2.52	3.28					
		ΣPBDE		2.21	3.50			
Eau douce	Tempérée Lac Majeur (Italie)	Chaîne trophique pélagique : zooplancton, alose (<i>Alosa agone</i>), lavaret (<i>Coregonus lavaretus</i>)		28	0.60		2 classes d'âge considérées pour le poisson. PBDEs mesurés dans le filet.	(Poma et al., 2014)
				47	1.80			
				99	1.50			
				100	1.30			
				153	0.50			
				154	0.80			
				183	0.30			
	209	0.7						
Estuaire	Tempérée Estuaire connecté à la baie d'Ariake (Japon)	Poisson : gobie javelin (<i>Acanthogobius hasta</i>), gobie moucheté (<i>Acanthogobius flavimanus</i>), spotnape ponyfish (<i>Nuchequula nuchalis</i>), mullet (<i>Mugil cephalus</i>), bar (<i>Lateolabrax sp.</i>); mollusques (<i>Cerithidea rhizophorarum</i>)	3.5 ± 0.52	28/33	1.03		TLmollusque = 2, ΔN = 3.4 ‰ ; étendue TL range ~1.5, p-values des TMF > 0.05	(Kobayashi et al., 2015)
				47	1.65			
				66	1.37			
				99	0.98			
				100	1.66			
				153	1.27			
				154	1.66			
				183	0.43			
	209	nc						
		ΣPBDE		1.17				

Tableau 21 - Synthèse bibliographique : TMF des PBDE (Fin)

Milieu	Zone géographique	Chaîne trophique	TL supérieur	Congénère	BMF	Etendue	Commentaires	Référence
Eau douce	tempérée	Mélange technique Penta-BDE administré à des visons (<i>Mustela vison</i>) femelles adultes et leur portée, juvéniles.		28	5.6 (4.2)	1.2 (0.8)	Concentrations tissulaires (normalisées par les lipides) non différentes entre les groupes. BMF basé sur l'organisme entier (à gauche) ou le muscle (intervalle de confiance).	(Zhang <i>et al.</i> , 2008)
				47	7.1 (5.4)	2.6 (1.7)		
				99	2.4 (1.6)	0.9 (0.5)		
				100	3.5 (2.6)	1.2 (0.9)		
				153	12.8 (7.3)	5.2 -2.7)		
Eau marine	tempérée Mer du Nord	marsouin (<i>Phocoena phocoena</i>) and phoque (<i>Phoca vitulina</i>), sole (<i>Solea solea</i>) ou merlan (<i>Merlangius merlangus</i>)		28	11 (15)	0.5 (0.3)	Concentrations tissulaires normalisées par les lipides ; 4 groups (age*genre) par espèce. Pas de différence due au genre chez juvéniles. BMFs reportés = marsouins adultes > juvéniles. Situation inverses pour phoques.	(Weijs <i>et al.</i> , 2009)
				47	15 (10)			
				99	33 (23)			
				100	15 (9.7)			
				153	77 (53)			
	154	50 (32)						
Eau marine	Tempérée Côte Atlantique	Phoque (<i>Phoca vitulina concolor</i>) merlu (<i>Merluccius bilinearis</i> , merluce blanche (<i>Urophycis tenuis</i>), hareng (<i>Clupea harengus</i>), plie (<i>Hippoglossides platessoides</i>), alose (<i>Alosa pseudoharengus</i>), flet (<i>Pseudopleuronectes americanus</i>), maquereau (<i>Scomber scombrus</i>).		ΣPBDE		17.1-76.5	BMF ajustés au taux de lipides, entre phoques et leurs proies. Les données suggèrent une exposition récente aux mélanges techniques octa- et deca-BDE, et la débromination du BDE-209 dans le poisson.	(Shaw <i>et al.</i> , 2009)

Tableau 22 - Synthèse bibliographique : BMF des PBDE

Milieu	Zone géographique	Chaîne trophique	TL supérieur	Congénère	BMF	Etendue	Commentaires	Référence
Eau douce	Tempérée Lac Michigan	plancton, <i>Diporeia</i> spp., saumon Chinook (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>), truite de lac (<i>Salvelinus namaycush</i>), corégone (<i>Coregonus clupeaformis</i>).	47			1.07 - 2.25	Concentrations dans les filets de poissons, normalisées par les lipides ; BMF ajustés au $\delta^{15}\text{N}$ (et non au TL)	(Kuo <i>et al.</i> , 2010)
			99			0.49-0.73		
			100			1.09-1.52		
			153			0.33-1.43		
			154			0.37-1.44		
Eau marine	Tempérée Méditerranée occidentale	Merlu (<i>Merluccius merluccius</i>), phyto- et zooplancton, crustacés	209			0.01-0.59	BMF ajusté au TL; varie selon les classes de taille du merlu (de même que la diète).	(Harmelin-Vivien <i>et al.</i> , 2012)
			47	0.66	0.32-1.19			
Eau douce	tempérée	Zooplancton, alose (<i>Alosa agone</i>), corégone (<i>Coregonus lavaretus</i>)	28		0.6	BMF ajustés au TL. Varient plus ou moins selon la saison	(Poma <i>et al.</i> , 2014)	
			47		2.1			
			99		1.6			
			100		1.4			
			153		0.6			
			154		0.8			
			183		0.3			
209		0.8						

Tableau 22 - Synthèse bibliographique : BMF des PBDE (suite et fin)

4.5.3 Accumulation par les organismes encagés – comparaison avec les organismes autochtones

Plusieurs échantillons d'invertébrés encagés sont également concernés par le lissage des LD expliqué précédemment : gammares T0 et à BOL pour le BDE 28, chironomes à FLO pour les BDE 47 et 99, chironome à VAT pour le BDE49, gammares à VAT pour les BDE 66 et 153.

Les témoins avant encagement (T0) présentent des concentrations <LD pour tous les congénères chez les chironomes (2 échantillons analysés, compte tenu des dates d'encagement réparties sur plusieurs semaines). En revanche le témoin gammare présente des concentrations non négligeables (par rapport aux gammares après encagement) de BDE28, 47 et 99. L'origine de cette contamination n'a pas été déterminée précisément¹⁷.

Pour les chironomes, la somme des concentrations de tous les congénères analysés est généralement supérieure à la somme des congénères pris en compte par la directive 2013/039 (Σ PBDE_{DCE} soit les congénères BDE28, 47, 99, 100, 153 et 154). Le classement des sites par ordre de contamination croissant est le suivant : MRG<FLO<BOL<VAT<TIJ. Dans le cas des gammares, les positions relatives de FLO et MRG sont inversées. Le BDE 209 n'est détecté qu'à 3 des 5 sites, BOL, VAT et surtout TIJ, où il atteint un niveau élevé chez le gammare (5.8 ng.g⁻¹ pf) et exceptionnel (153 µg.kg⁻¹ pf) chez le chironome. Ces résultats sont cohérents avec les observations dans les autres compartiments.

Les concentrations de BDE47 et de Σ PBDE_{DCE} sont corrélées (coefficient Pearson 0.933, *p*-value 0.0002) ; par ailleurs, les gammares présentent des taux de lipides plus élevés que les chironomes (8.6 – 11.3 % et 2.3 – 2.8 % respectivement), ce qui contribue à l'accumulation de PBDE plus élevée chez les gammares.

L'estimation de la concentration nette accumulée par les organismes encagés se fait selon l'approche présentée au § 4.3.3 ; dans le cas des chironomes, la concentration accumulée pendant l'encagement est égale à la concentration finale, puisque les mesures à T0 sont <LD. L'évaluation de cette concentration ajoutée est plus incertaine dans le cas des gammares, en raison du niveau de contamination des T0. Les résultats de cette évaluation pour les deux espèces encagées sont présentés au Tableau 23 ci-dessous. Le classement des sites obtenu sur la base des concentrations nettes ajoutées est identique à celui obtenu avec les concentrations brutes.

	BOL	FLO	MRG	TIJ	VAT
CHI	0.14	0.05	<LD	0.80	0.55
GAM	0.22	-0.11	0.05	0.90	0.70

Tableau 23 - Accumulation de PBDE (Σ PBDE_{DCE}) au cours de l'encagement

L'ajustement aux taux de lipides des concentrations ajoutées devrait tenir compte de l'évolution du taux de lipides pendant l'encagement. Les taux de lipides n'ont pu être mesurés dans les échantillons T0 (manque de matériau) pour les chironomes ; cependant, aucun PBDE n'était détectable dans ces échantillons, il paraît donc possible de calculer les concentrations ajustées aux lipides dans les chironomes uniquement sur la base des concentrations finales. En revanche, les gammares à T0 présentent un taux de lipides de 9.4 %, similaire à ceux des gammares à T final (8.6 – 11.3 %). Dans ce cas également, les concentrations ajustées peuvent être ...

Le petit nombre d'échantillons interdit de faire une comparaison statistique des concentrations accumulées dans les organismes autochtones (chironomes, oligochètes ou gammares) et encagés (chironomes ou gammares), d'autant plus que chironomes et oligochètes étaient absents sur deux sites (FLO et MRG). On peut noter cependant que les niveaux de Σ PBDE_{DCE} dans les organismes encagés étaient inférieurs aux niveaux observés dans les organismes autochtones homologues, à l'exception de TIJ et VAT pour les chironomes (Figure 16).

¹⁷ Elle peut provenir du site d'approvisionnement (plausible), ou de la période de stabulation au laboratoire (moins probable compte tenu du profil)

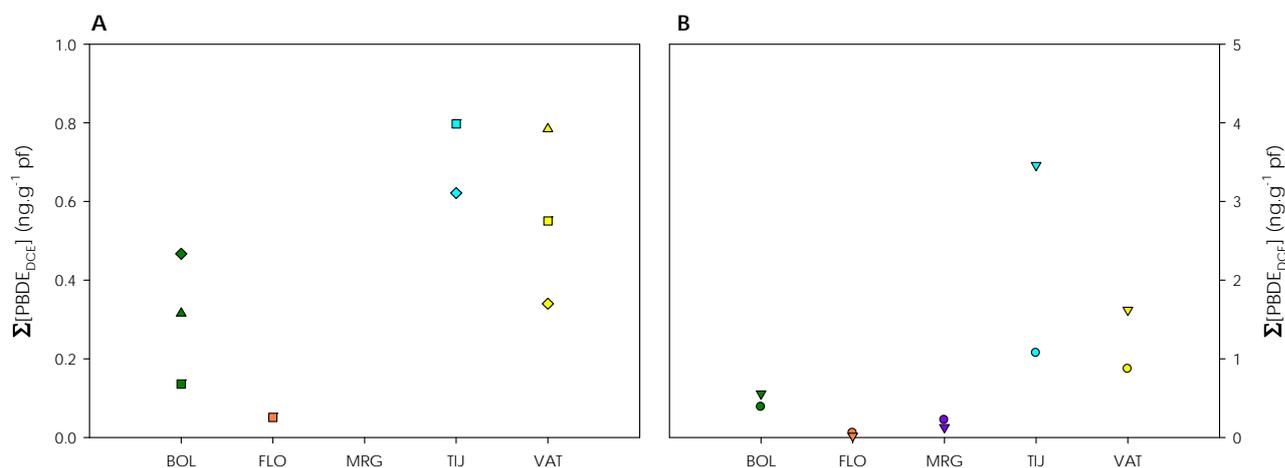


Figure 16 – Σ PBDE(DCE) dans les organismes encagés (carrés) et autochtones (triangles : chironomes ou gammares ; losanges : oligochètes) A – chironomes ; B – gammares

4.6 Discussion

4.6.1 Bioamplification des composés

4.6.1.1 Perfluorooctane sulfonate (PFOS)

Plusieurs études n'observent pas de bioamplification pour le PFOS (Lescord *et al.*, 2015), d'autres au contraire observent des TMF nettement > 1 (cf. Tableau 12 p 36). Les TMF observés sur les 5 sites d'étude (Tableau 11) sont > 1 , et comparables à ceux reportés sur d'autres sites en eau douce et zone tempérée. Toutefois ils n'expliquent qu'une part limitée de la variance de l'accumulation dans le cas de la méthode de calcul par régression simple. Plusieurs facteurs sont susceptibles d'influer sur l'accumulation des PFAS : température, abondance de la nourriture, âge, transport (longue) distance du PFOS (Bustnes *et al.*, 2015)¹⁸, et donc de faire varier les TMF. La température serait négativement corrélée à l'accumulation, mais son effet est complexe puisqu'en même temps la disponibilité des proies a tendance à s'accroître avec les températures moyennes. Il n'y a pas d'évidence ici d'un effet température sur les TMF du PFOS, mais le jeu de données est limité, ainsi que la gamme de variation des températures (cf. annexe 9.4),

4.6.1.2 Hexabromocyclododécane (HBCDD)

La bioamplification de l'HBCDD n'est pas observée dans tous les cas publiés (cf. Tableau 17), bien que l'isomère α soit plus souvent considéré comme bioamplifié. Les valeurs de TMF obtenues dans 4 des 5 sites français (Tableau 16) sont relativement comparables aux valeurs publiées, voire supérieures pour 2 d'entre eux. Pour un site, qui est celui présentant la plus faible extension de TL parmi les organismes échantillonnés, le TMF n'a pu être déterminé.

L'accumulation de l'HBCDD n'est pas influencée par le taux de lipides chez les invertébrés des sites d'étude, ce qui avait déjà été signalé dans une autre étude impliquant des moules et des polychètes (Haukås *et al.*, 2010). Chez les poissons, l'effet des lipides sur l'accumulation s'est avéré significatif pour le chevine, mais pas chez le barbeau (cf. § 4.4.1.2) ; cependant dans le cas des barbeaux le test a été fait sur filet, alors que pour le chevine c'est l'organisme entier qui a été pris en compte. De plus chez le chevine l'HBCDD s'accumule plus dans les viscères ; les taux de lipides des viscères et du muscle ne sont pas corrélés. Il pourrait donc y avoir aussi un effet des lipides chez le barbeau, mais les données recueillies n'ont pas permis de le démontrer. Dans la mesure où (i) il n'y a pas d'influence des lipides sur l'accumulation de l'HBCDD pour les invertébrés, et (ii) l'influence des lipides ne peut être évaluée que pour une espèce de poissons, il ne nous a pas paru satisfaisant de retenir les TMF de l'HBCDD calculés par rapport à la fraction lipidique. Cette orientation est cohérente avec la conclusion de (Sørmo *et al.*, 2006) indiquant que les BMF calculés par rapport à la masse fraîche de l'organisme entier sont plus réalistes que ceux rapportés aux lipides, en raison de la variabilité des taux de lipides. Les TMF calculés par rapport à la fraction lipidique ont toutefois été déterminés et figurent à l'annexe 9.7 à titre indicatif.

4.6.1.3 Polybromodiphényléthers (PBDE)

Chez les invertébrés analysés, il n'apparaît pas de relation entre le taux de lipides et l'accumulation des

¹⁸ L'étude citée porte sur une chaîne trophique terrestre, et un site éloigné des sources anthropiques.

PBDE, contrairement à des observations dans d'autres milieux aquatiques (Kuo *et al.*, 2010, Yu *et al.*, 2009). Cette observation pourrait être mise en relation avec le taux de matière organique des sédiments, qui est aussi un facteur influençant l'accumulation des PBDE par les invertébrés benthiques, ainsi qu'avec les niveaux d'exposition aux PBDE (Dinn *et al.*, 2012). En revanche chez les poissons des sites d'étude la relation est significative (cf. § 4.5.1.2), justifiant de déterminer des TMF sur la base de concentrations ajustées par le taux de lipides.

Selon les données bibliographiques recueillies (Tableau 21 ; Tableau 22), certains congénères BDE ne sont pas systématiquement bioamplifiés : BDE28, BDE99 ou BDE100 en particulier. En revanche le BDE47 est présente des BMF ou TMF systématiquement >1. Certaines des valeurs de TMF reportées dans ces tableaux sont discutables, notamment lorsque les échantillons analysés pour les maillons situés aux étages supérieurs des chaînes trophiques sont constitués de fractions (filet de poisson). L'évaluation de la bioamplification des PBDE est rendue plus difficile en raison de la capacité de certains organismes de métaboliser certains de ces composés (débromination). Les concentrations accumulées ont donc tendance à diminuer pour les composés sujets à débromination, et à augmenter pour le BDE47, composé terminal du processus de débromination (Browne *et al.*, 2009).

L'examen du rapport de concentrations du BDE47 sur Σ PBDE_{DCE} montre une différence significative des distributions de ce rapport entre les invertébrés et les poissons (test Kolmogorov-Smirnov, p -value < 0.0001). Ce rapport est en outre faiblement corrélé au niveau trophique (Pearson, $R^2 = 0.220$, p -value < 0.0001) lorsqu'on prend en compte les données des 5 sites. Bien que les niveaux trophiques respectifs des barbeaux et des chevaines ne soient pas significativement différents, les barbeaux présentent un rapport [BDE47]/[Σ PBDE_{DCE}] plus élevé que les chevaines (test de Mann-Whitney, p -value < 0.0001), suggérant une métabolisation plus active chez les barbeaux.

La biotransformation est reconnue comme un des facteurs pouvant fausser l'appréciation de la bioamplification, par diminution des concentrations accumulées (Mackay *et al.*, 2016)]. A contrario, dans le cas de composés dont la présence dans l'environnement résulte à la fois de rejets directs et de biotransformation de « précurseurs », comme le PFOS, cette dernière conduit à surestimer les BMF ou TMF, ce qui est jugé pénalisant dans une perspective réglementaire et conduit certains auteurs à suggérer de privilégier des approches de laboratoire pour déterminer des BMF « vrais » (Franklin, 2016). Le cas du BDE47 est analogue à celui du PFOS, en ce sens qu'il se situe à l'extrémité du processus de biotransformation de PBDE plus fortement bromés (Stapleton *et al.*, 2004). Cependant, dans une perspective de prédiction des niveaux de concentration dans les maillons supérieurs des chaînes trophiques in situ (perspective de protection des milieux ou de restauration) cette surestimation ne paraît pas gênante (plus simpliste qu'une modélisation combinant les deux processus d'accumulation et de transformation, mais possiblement aboutissant à un résultat similaire).

Dans la perspective d'application des TMF pour la surveillance de l'état chimique dans le biote, les conséquences potentielles de la biotransformation inciteraient donc à utiliser uniquement les TMF du BDE47 ou de Σ PBDE_{DCE}.

4.6.2 Variabilité des TMF

La présente étude de même que la bibliographie font ressortir des valeurs variables des TMF pour une même SP ; plusieurs éléments peuvent expliquer ces différences, certains liés aux incertitudes inhérentes à la détermination des TMF, d'autres à la variabilité propre des écosystèmes. Il nous paraît important de distinguer ces deux aspects dans une perspective opérationnelle : en effet, les incertitudes peuvent être réduites, tandis que la variabilité peut au mieux être décrite (Von Stackelberg *et al.*, 2008).

Concernant les TMF, les facteurs de variabilité renvoient en premier lieu à la composition et la stabilité des réseaux trophiques, notamment au niveau des prédateurs, dont la diète est plus variée, tandis que les proportions respectives de chaque type de proie ne sont pas prises en compte. Dans une étude comparative sur les TMF de composés organochlorés et perfluoro-alkyles dans un réseau trophique marin en zone arctique, (Kelly *et al.*, 2009) notent également que les organismes aériens éliminent plus lentement les perfluorés, ce qui conduit à des TMF significativement >1, contrairement aux organismes aquatiques de ce réseau. Ainsi, aux principales suppositions sous-jacentes au modèle TMF, à savoir que le transfert d'énergie, la biotransformation et le fractionnement isotopique sont similaires entre les différents maillons du réseau (Borgå *et al.*, 2012), il faudrait également ajouter une hypothèse relative à la cinétique d'élimination des composés. Enfin, on peut supposer que les TMF varient aussi en fonction des niveaux d'exposition des écosystèmes ; ce facteur est difficile à analyser ; un certain nombre d'études citées plus haut concernent explicitement des zones éloignées de sources anthropiques, mais pour d'autres le niveau d'exposition n'est pas connu.

Les principales sources d'incertitude, selon (Borgå *et al.*, 2012), se rapportent au choix de la (ou des) ligne(s) de base, au fractionnement isotopique, aux biais d'échantillonnage et aux biais statistiques. La fraction des organismes prédateurs analysée, et l'extrapolation éventuelle à l'organisme entier, sont également des sources d'incertitude importantes (Houde *et al.*, 2006a). Ces différentes sources d'incertitude ont été autant que faire se peut réduites ou maîtrisées dans la présente étude :

- Sélection de taxons consommateurs primaires, si possible racleurs (Anderson et Cabana, 2007) ; cela n'a toutefois pas été possible à tous les sites. Une alternative pourrait être de mesurer le $\delta^{15}\text{N}$ des sédiments superficiels ; en effet sur 8 échantillons (2014-2015) nous notons une corrélation significative entre le $\delta^{15}\text{N}$ des sédiments collectés et celui des lignes de base choisies ($R^2=0.73$, p -value 0.007). De fait, le $\delta^{15}\text{N}$ des organismes échantillonnés en un point donné du réseau hydrographique reflète l'origine des apports d'azote dans le bassin versant amont (Anderson et Cabana, 2006). Dans la mesure où la ligne de base est censée être moins affectée par l'enrichissement trophique que les TL supérieurs, cette observation paraît assez logique, et pourrait être exploitée dans une perspective opérationnelle après vérification sur un plus grand nombre de sites. L'utilisation de sédiments en ligne de base ne poserait pas de problème majeur non plus en termes de $\delta^{13}\text{C}$: en effet, les mesures de $\delta^{13}\text{C}$ dans les sédiments (N=9) sont également corrélées aux médianes des $\delta^{13}\text{C}$ des invertébrés des mêmes sites, sans filtrage des données¹⁹ ($R^2=0.79$, p -value 0.001). Le $\delta^{13}\text{C}$ des sédiments n'est en revanche pas corrélé au $\delta^{13}\text{C}$ des chironomes encagés ($R^2=0.13$, p -value 0.34), ni au $\delta^{13}\text{C}$ des gammares encagés ($R^2=0.415$, p -value 0.06). Cependant, le $\delta^{15}\text{N}$ des chironomes encagés est bien corrélé à celui des sédiments ($R^2=0.69$, p -value 0.006), mais pas le $\delta^{15}\text{N}$ des gammares ($R^2=0.31$, p -value 0.12). Dans la mesure où les organismes ont été nourris pendant l'encagement, le lien trophique avec le sédiment a cependant été minimisé, de manière différente pour les deux organismes.
- Evaluation du fractionnement isotopique pour chaque site ; dans 5 sites sur 9, le ΔN moyen obtenu est inférieur d'environ 1 ‰ à la valeur standard (3.4 ‰) appliquée dans la plupart des études publiées. Dans 4 cas (dont les deux passages à TIJ) les valeurs d'enrichissement trophique moyen sont proches de la valeur standard, et un site présente une valeur plus élevée. Cependant dans tous les cas l'intervalle de confiance englobe la valeur standard. En appliquant un ΔN spécifique, les niveaux trophiques du barbeau apparaissent plus élevés d'environ 0.5-0.6 TL qu'avec $\Delta\text{N} = 3.4$ ‰, l'effet sur le chevaine étant plus variable. Toutefois, nous avons conservé le ΔN couramment utilisé dans la littérature pour déterminer les TMF, afin de faciliter la comparaison avec les valeurs déjà publiées.
- Examen des relations entre concentrations dans des fractions telles que le filet et l'organisme entier, ce qui a permis de déterminer des TMF homogènes pour tous les sites, y compris ceux pour lesquels seuls des filets avaient été analysés. Toutefois l'analyse des organismes entiers, ou celle des fractions incluant la peau, introduit une autre source d'incertitude, en raison des difficultés du broyage.
- Les biais d'échantillonnage et les biais statistiques renvoient à l'utilisation d'échantillons composites pour les maillons à la base des réseaux trophiques, tandis que les échelons plus élevés sont considérés au niveau individuel, et au déséquilibre des effectifs qui s'ensuit. Nous avons testé plusieurs approches statistiques, à savoir la régression linéaire, la régression de Kendall et un modèle à effets mixtes. La régression de Kendall permet d'inclure les données censurées, mais n'apporte pas de gain significatif quant aux biais liés à l'échantillonnage (effectifs déséquilibrés). Elle n'a pas permis de déterminer de TMF dans un plus grand nombre de cas que la régression simple ou le modèle GLMM. Dans le cas du PFOS (Tableau 11 p 35), le TMF et l'écart type sont plus faibles (sauf à TIJ) avec le modèle à effets mixtes qu'avec la régression linéaire. C'est aussi généralement le cas pour ΣHBCDD , ainsi que pour l'isomère α , à l'exception d'un site (Tableau 16 p42). Le modèle GLMM paraît donc plus fiable que la régression linéaire.

A ces sources d'incertitude on pourrait ajouter le niveau d'exposition des sites et sa variabilité temporelle, et la biodisponibilité des contaminants, au niveau de base des réseaux trophiques. L'influence de ces facteurs sur les TMF n'a pu être étudiée ici.

Les TMF issus de la présente étude sont inférieurs à la médiane des valeurs publiées pour le PFOS, et similaires pour l'HBCDD (Figure 17). En revanche les TMF des PBDE que nous avons déterminés sont plus élevés que ceux publiés jusqu'à présent.

¹⁹ Médianes calculées sur tous les échantillons d'invertébrés, alors que certains peuvent être considérés comme n'appartenant pas au réseau trophique des poissons échantillonnés (cf. 4.2.3 p24)

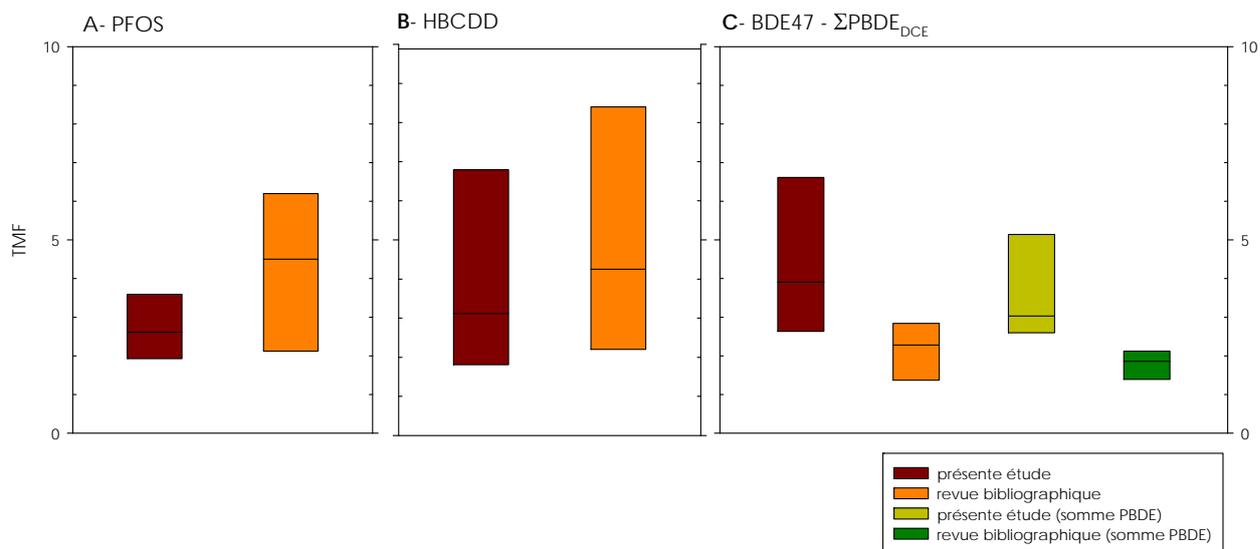


Figure 17 – Variabilité des TMF de la présente étude et dans la littérature

Certains TMF publiés n'ont pas été pris en compte dans cette comparaison, comme ceux de (Kelly *et al.*, 2009) pour le PFOS, ou les TMF déterminés par rapport aux concentrations dans les lipides pour l'HBCDD. Par contre il n'a pas été fait de distinction entre écosystèmes d'eau douce ou salée.

Dans le cas de l'HBCDD plusieurs sites de cette étude ont été sélectionnés en raison de niveaux d'exposition élevés ; cela n'a pas été le cas du PFOS, dont les TMF sont apparemment moins variables. Il est donc possible que la variabilité des TMF du PFOS de cette étude soit sous-estimée.

Malgré les sources d'incertitude (nombreuses) dont sont affectés les TMF, et la connaissance encore très incomplète de leur variabilité intra- et inter-écosystèmes (Borgå *et al.*, 2013, Borgå *et al.*, 2012), cette métrique reste préférable au facteur de bioamplification (BMF), qui dépend de relations prédateur-proie spécifiques (Tomy *et al.*, 2004a).

4.6.3 Conformité aux NQE

L'objectif principal de cette étude n'était pas de classer les masses d'eau par rapport aux contaminants à l'étude, ni de tester des approches dans ce sens²⁰. Cependant, il nous a paru utile d'examiner ce point afin de pouvoir évaluer la capacité prédictive des organismes encagés (étape 1 de la démarche, cf. Figure 1 p10).

La conformité des sites s'apprécie en comparant la moyenne géométrique des concentrations à la NQE (E.C., 2014). Cette procédure a été appliquée pour les sites présentant des effectifs capturés supérieurs ou égaux à 5 à 7 individus, sachant qu'à partir de 7 on obtient une probabilité d'au moins 80% de faire moins de 20% d'erreur (Mathieu et Babut, 2012).

4.6.3.1 Perfluorooctane sulfonate (PFOS)

La NQE pour le PFOS est égale à 9.1 ng.g^{-1} (pf), et a été reprise d'une recommandation de norme sanitaire. Elle s'applique donc au filet. En conséquence, pour atteindre l'effectif minimal souhaité sur chaque site, il faudrait soit estimer les concentrations dans le filet à partir des mesures dans les individus entiers, soit convertir la NQE en son équivalent pour l'organisme entier. C'est cette deuxième option qui a été retenue, à l'aide de l'Équation 7 p34, soit 20.02 ng.g^{-1} (pf).

Les sites ADB (moy.géo. = 24.33 ng.g^{-1} pf) et TIJ (moy.géo. = 31.70 ng.g^{-1} pf) seraient ainsi non conformes, les 3 autres restant néanmoins conformes.

Bien que les chevaines et les barbeaux, dans la plupart des cas, aient des TL inférieurs au TL de l'€fish (4 pour les eaux continentales) de référence, il ne nous a pas semblé nécessaire dans un premier temps d'ajuster la NQE aux TL de chaque site. Cet ajustement aurait normalement pour effet de diminuer légèrement la NQE.

4.6.3.2 Hexabromocyclododécane (HBCDD)

La NQE pour l'HBCDD (somme des isomères) est égale à 167 ng.g^{-1} (pf), mais cette fois elle concerne le risque pour les prédateurs (mammifères ou oiseaux piscivores) ; elle s'applique donc au poisson entier.

²⁰ Puisqu'à notre connaissance, les règles de qualification des masses d'eau ne sont pas complètement arrêtées lorsque la NQE cible le biote.

En appliquant la même approche de classification que ci-dessus, aucun des 5 sites étudiés serait non conforme.

4.6.3.3 PBDE

La NQE des PBDE (somme des concentrations des congénères 28, 47, 99, 100, 153 et 154) est égale à 0.0085 ng.g^{-1} (pf) et s'applique aux filets, puisqu'elle fait référence à une recommandation relative à la l'alimentation humaine. En recalculant les concentrations dans le filet pour tous les poissons pour lesquels les PBDE ont été mesurés dans l'organisme entier (cf. Équation 14) puis la moyenne géométrique par espèce et par site, on constate sans surprise que cette NQE est dépassée, très largement, dans tous les sites, d'un facteur ≈ 10 pour le site le moins contaminé (FLO) à un facteur ≥ 300 pour le plus contaminé (TIJ).

Lorsqu'on compare la moyenne géométrique des concentrations dans le poisson entier à chaque site à la limite préconisée pour la protection des espèces piscivores autres que l'homme (44 ng.g^{-1} pf), aucun site ne dépasse.

5 Conclusions – recommandations pour la mise en œuvre de la surveillance de l'état chimique dans le biote

5.1 Mesurer les contaminants dans le muscle ou le corps entier ?

Le guide technique pour la surveillance de l'état chimique dans le biote (E.C., 2014) reconnaît deux matrices pour le poisson : le filet, et le poisson entier. Il n'oriente pas le choix vers l'une ou l'autre, mais indique des pistes pour les relier. L'examen des concentrations contaminants dans le corps entier paraît justifiée lorsque la NQE se réfère au risque d'empoisonnement secondaire des prédateurs, qui ne sont pas supposés détailler le filet ; c'est notamment le cas pour l'HBCDD. A contrario, lorsque la NQE est établie en référence à un risque pour l'homme, la matrice devrait plutôt être le filet. Cette divergence peut être surmontée en analysant une seule matrice (organisme entier ou filet) et en prédisant la concentration dans l'autre matrice. Cela peut être pratiqué à l'aide de ratios (par exemple (Lescord *et al.*, 2015) signalent un rapport de 2 à 5 entre les concentrations d'acides perfluoro-carboxyliques dans les homogénats et le filet de jeunes ombles chevaliers), ou à l'aide de régressions (cf. § 4.3.1.2 et 4.4.1.2), de préférence en forçant l'ordonnée à l'origine. Ces régressions ne sont pas disponibles pour toutes les SP concernées. Les résultats de la présente étude permettent de proposer des régressions pour deux SP (Équation 7 pour le PFOS, Équation 10 pour l'HBCDD). Il y aurait lieu le cas échéant d'améliorer la régression pour le PFOS pour le barbeau, et de consolider ces résultats, qui reposent sur un nombre limité de sites, pour les deux SP, en particulier l'HBCDD.

Nous n'avons pas trouvé beaucoup d'indications publiées sur les pratiques envisagées par d'autres états membres ; l'agence de protection de l'environnement écossaise (Scottish EPA), dans son rapport anticipant la mise en place de la surveillance de l'état chimique dans le biote, discute un certain nombre d'options et de questions à régler, mais la question de la matrice n'est pas discutée, et le choix du filet est donc la seule option envisagée (Macgregor *et al.*, 2011).

Nous avons tenté de résumer les avantages et inconvénients des deux matrices dans le Tableau 24, sur la base de l'expérience pratique acquise dans cette étude.

	<i>Filet</i>	<i>Organisme entier homogénéisé</i>
<i>Préparation</i>	Dissection du poisson frais	Pas de dissection
<i>Lyophilisation</i>	Aisée, volumes maîtrisés	Longue, volumes parfois importants
<i>Broyage</i>	Facile, rapide	Difficile (peau, tête ...), résultats hétérogènes
<i>Niveau de contamination</i>	Niveaux modérés à faibles	Niveaux élevés

Tableau 24 – Comparaison des matrices filet et homogénat de poissons entiers

Les principaux inconvénients du filet sont liés à la dissection, et au niveau de contamination plus réduit que les homogénats. Ces inconvénients paraissent cependant mineurs par rapport aux homogénats ; dès lors que la sensibilité analytique serait suffisante par rapport aux NQE, l'absence de détection ne paraît pas un problème dans la perspective du rapportage. En revanche les homogénats de poissons entiers sont longs à réaliser, coûteux en temps, et peuvent induire des erreurs dues à l'hétérogénéité des broyats, notamment chez les individus moyens ou gros.

Nous recommandons de baser la surveillance sur les filets, en consolidant les facteurs de conversion (ou les

régressions) en priorité pour l'HBCDD (Équation 8 / Équation 11).

5.2 Utiliser des organismes engagés dans la surveillance de l'état chimique dans le biote ?

L'utilisation éventuelle d'organismes engagés pour la surveillance de l'état chimique dans le biote pose la question de ce que représente la concentration mesurée dans ces organismes par rapport aux processus à l'œuvre dans le milieu :

- a. Les voies d'exposition des engagés, ou les niveaux de contaminants accumulés, sont-ils comparables à ceux des organismes homologues in situ ? Cette condition paraît essentielle pour pouvoir extrapoler au niveau de contamination chez le poisson. Quels sont les facteurs influençant l'exposition des engagés ?
- b. Les teneurs dans les poissons peuvent-elles être prédites de manière satisfaisante à partir des mesures dans les engagés ? Le caractère satisfaisant sera obtenu si les concentrations prédites sont situées dans l'intervalle de variabilité des concentrations mesurées, ou si la classification par rapport à la NQE est identique dans les deux cas.

A côté de ces questions de fond, un certain nombre de questions touchant au protocole (nourriture, durée d'exposition, etc.) devront également être traitées avant mise en œuvre de cette surveillance en routine.

5.2.1 Voies d'exposition des organismes engagés

Le constat que la signature isotopique des organismes engagés évolue pendant l'engagement (§ 4.2.7.1 p30) signifie que ces organismes se nourrissent avec des aliments (proies) du site, ce qui est plutôt un élément intéressant pour des contaminants suspects de bioamplification. En revanche, les évolutions de signature sont sites-dépendantes pour les deux organismes, et saison-dépendante pour le gammare. Étant site-dépendantes, ces évolutions de signature en l'état du protocole (organismes nourris) ne peuvent être prises en compte pour calibrer l'accumulation pendant l'engagement. Il serait probablement plus pertinent de ne pas nourrir les organismes pendant la durée d'exposition, comme cela a déjà été pratiqué lors d'autres études d'engagement (Lopes *et al.*, 2011a), ce qui n'affecterait au demeurant pas beaucoup leur survie. Le fait de ne pas ajouter de la nourriture standardisée (Tetramin® pour les chironomes et feuilles d'aulne pré-conditionnées pour les gammares), mais de laisser les organismes s'imprégner des ressources trophiques locales permettrait d'accroître l'exposition, tout en rapprochant le statut trophique des engagés de celui des organismes autochtones. L'ajout de ressources déjà présentes sur les sites pourrait être aussi une option à étudier. Ces développements devraient donc être étudiés avant de standardiser le protocole d'engagement applicable à la surveillance de l'état chimique dans le biote.

L'examen des données isotopiques des organismes engagés et des invertébrés in situ a ainsi conduit à poser deux hypothèses :

- a) les chironomes engagés accumuleront moins les contaminants hydrophobes, associés aux particules sédimentaires, que les chironomes (ou oligochètes) autochtones ;
- b) les gammares engagés accumuleront bien les contaminants hydrophobes, mais moins toutefois que les gammares autochtones, dans la mesure où leurs ressources trophiques sont moins variées

Dans le cas du PFOS, les concentrations nettes ajoutées (C_{an} , cf. Tableau 13 p38) varient indépendamment des concentrations dans le sédiment pour le chironome ; comme indiqué plus haut, les concentrations ajoutées pour le gammare sont plus incertaines. Il ne se dégage pas non plus de patron évident en comparant directement les concentrations mesurées dans les chironomes engagés et les organismes in situ. Chez les gammares, les organismes in situ semblent plus chargés dans deux sites (BER, TIJ), et peu différents dans deux autres (LVP, LUY ; Figure 11 p39). Il en va de même de l'HBCDD (C_{an} , cf. Tableau 18 et Figure 13). Enfin, il n'y a pas non plus de patron évident en ce qui concerne les écarts de rapports isotopiques (Figure 8) versus les C_{an} des deux SP. Il n'est donc pas possible de vérifier les hypothèses ci-dessus sur la base de ces données (peu nombreuses).

5.2.2 Prédiction des concentrations dans le poisson à l'aide des TMF

Pour que la prédiction des concentrations dans les barbeaux ou chevaines soit correcte, on peut appliquer deux critères complémentaires :

1. Les gammes de concentrations prédites/observées (e.g. box-plot) sont similaires, ou
2. lorsque la NQE est comprise dans l'intervalle des concentrations mesurées (ou prédites), l'application du TMF aux concentrations mesurées dans les engagés aboutit au même classement que les mesures dans le poisson (i.e. > ou < NQE).

La prédiction des concentrations dans le poisson (BAF ou CHE) suit l'Équation 15, qui dérive de l'Équation 4 :

$$C_{pois} = C_{inv} \times TMF^{(TL_{pois} - TL_{inv})}$$

Équation 15

Avec C_{pois} la concentration prédite dans le poisson, C_{INV} la concentration mesurée dans les invertébrés encagés, TL_{pois} le niveau trophique de l'espèce de poisson considérée, et TL_{INV} celui du taxon invertébré (gammare ou chironome) considéré.

Nous avons réalisé cette comparaison dans les conditions suivantes :

- TMF obtenu par régression GLMM, pour chaque site et chaque SP.
- TL assigné aux organismes encagés²¹ : moyenne des TL des organismes autochtones homologues (CHI ou GAM) sur l'ensemble des sites ; il n'était pas possible d'assigner des TL spécifiques des sites pour ces deux espèces, qui ne sont pas systématiquement présentes.
- TL des poissons : moyenne des TL estimés à chaque site, pour chaque espèce ; lorsqu'une des deux espèces cible était absente, pas de prédiction pour cette espèce.

On obtient entre 2 (2 espèces encagées, 1 saison, 1 espèce de poisson présente) et 8 (2 espèces encagées, 2 saisons, 2 espèces de poisson présentes) valeurs prédites par site et par SP ; celles-ci sont représentées Figure 18.

Dans le cas du PFOS, l'Équation 15 tend à sous-estimer les concentrations dans 4 cas sur 5 (i.e. le 75^{ème} percentile des concentrations prédites est \leq 25^{ème} percentile des concentrations mesurées). Le seul cas où les intervalles interquartiles sont plus ou moins comparables est le site ADB (Furan), avec toutefois une variabilité importante des concentrations prédites (l'effectif des observations, soit 7 individus, étant a priori suffisant). Cependant, la prédiction de dépassement de la NQE est correcte dans 4/5 cas.

Les raisons de la sous-estimation des teneurs en PFOS restent actuellement hypothétiques, et peuvent concerner non seulement le TMF, mais également les autres termes de l'Équation 15 (i.e. TL respectifs des poissons et des organismes, concentrations dans les organismes encagés). Les chironomes accumulent peu le PFOS, qu'ils éliminent rapidement (Bertin *et al.*, in prep); les gammares accumulent des niveaux plus élevés, mais n'atteignent apparemment pas l'équilibre en 21 jours (Bertin *et al.*, 2016). Ces deux organismes, lorsqu'encagés et nourris, diffèrent des autochtones en termes de comportement trophique, et pourraient sous-estimer les teneurs accumulées par les mêmes organismes en place (§ 4.2.7.3). Par ailleurs, le seul site pour lequel l'intervalle de variation des concentrations prédites recoupe celui des concentrations mesurées présente une concentration élevée dans les gammares encagés et dans une moindre mesure les chironomes), mais pas de gammares autochtones, ainsi qu'un TL élevé pour les chevaines. La comparaison des concentrations dans les organismes autochtones et les encagés (Figure 11) était non concluante. Ceci suggère que dans l'ensemble les organismes encagés sous-estimeraient l'accumulation du PFOS par rapport aux organismes autochtones, et pourraient ne pas permettre de prédire correctement la conformité à la NQE. Ceci reste à vérifier sur un plus grand nombre de sites, et en améliorant le protocole de façon à écarter l'effet confondant de la nourriture ajoutée (cf. 4.2.7.3).

Aucun TMF pour l'HBCDD n'ayant été déterminé pour le site de Luynes (LUY), la comparaison entre concentrations prédites et observées est limitée à 4 sites (Figure 18 B) ; pour les sites de BER et LVP, les intervalles de variation sont comparables ; en revanche, les concentrations prédites à ADB et TIJ surestiment fortement les valeurs mesurées. Aucun site n'approchant la NQE, ce deuxième critère tombe.

²¹ On ne peut pas déterminer le TL des encagés en utilisant l'Équation 1, dans la mesure où ils n'appartiennent pas au réseau trophique local s'ils sont nourris

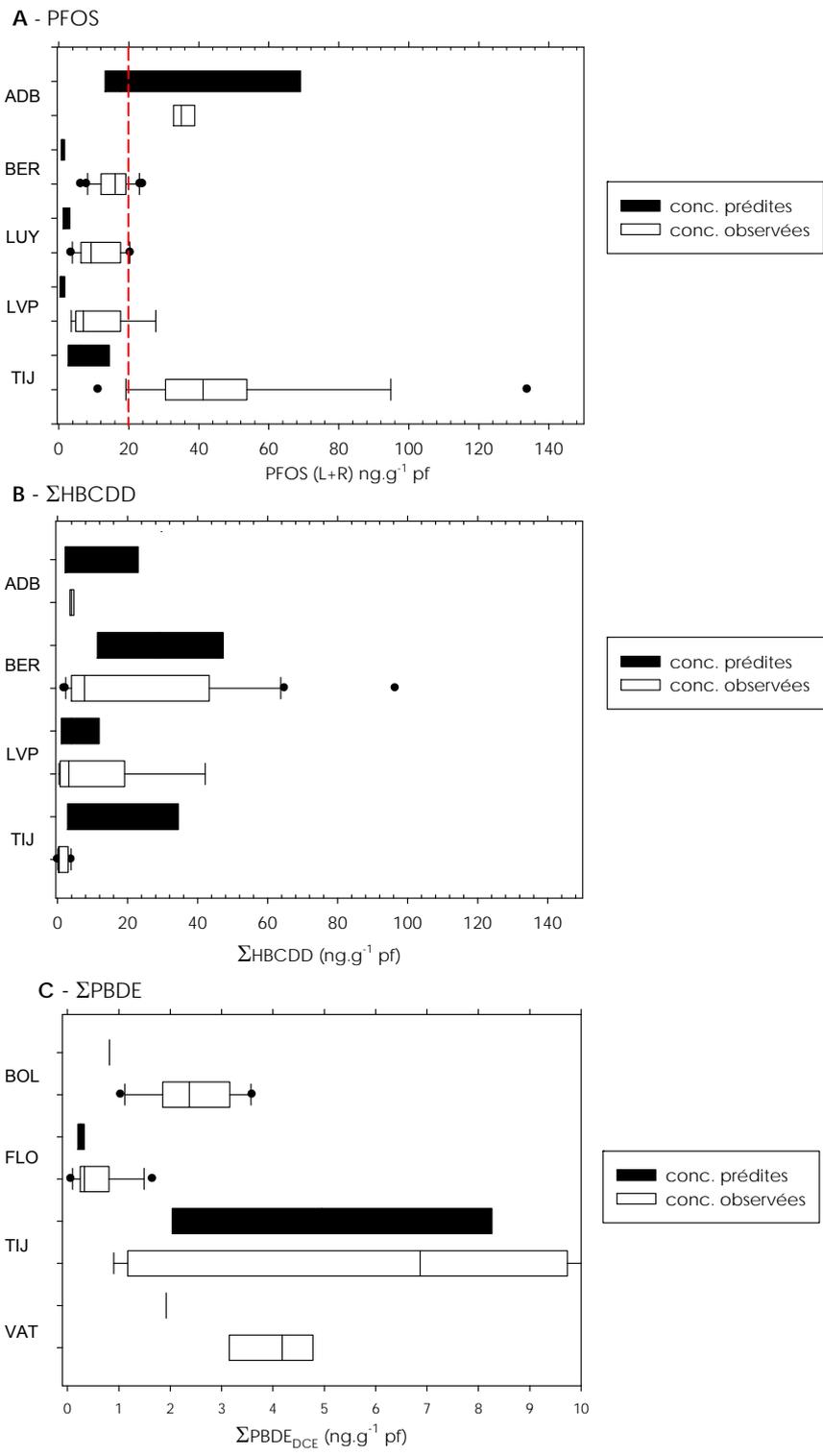


Figure 18 – Comparaison des concentrations prédites (à l’aide des TMF de chaque site) et observées

Pour les PBDE, la prédiction n’est possible que pour 4 sites, puisqu’il n’a pas été possible de déterminer de TMF à MRG. A FLO et TIJ, les concentrations prédites sont similaires aux concentrations observées, tandis qu’à BOL et VAT la prédiction sous-estime largement les concentrations observées. Il n’est pas possible non plus ici de vérifier le deuxième critère (conformité aux NQE), puisque tous les sites sont non conformes.

En tout état de cause, la stratégie de surveillance à mettre en œuvre in fine utilisera vraisemblablement une seule valeur de TMF ; celle-ci devra permettre de prédire avec une certitude raisonnable l’absence de dépassement de la NQE plutôt que l’inverse (i.e. objectif de minimiser les erreurs de type II, ou faux négatifs). Cela conduirait à utiliser un percentile élevé (75^{ème}, ou 90^{ème}) des TMF ; dans ce cas, les concentrations de PFOS prédites à ADB sont encore surestimées, à TIJ les boites à moustaches des

concentrations prédites/observées sont similaires (plus variables pour les concentrations prédites), et les prédictions restent inférieures aux observations pour les autres sites. En revanche la prédiction de conformité à la NQE devient correcte dans tous les cas pour le PFOS. A noter que pour appliquer cette démarche à l'avenir, il faudra soit disposer de TL à chaque site pour les barbeaux et chevaines, soit utiliser un TL fixé pour chaque espèce, qui reste à déterminer.

5.2.3 Considérations pratiques

La mise en œuvre de la surveillance de l'état chimique dans le biote à l'aide d'organismes encagés, si elle semble possible au vu des résultats présentés ici, passera nécessairement par la rédaction d'un protocole standardisé. Avant que cette rédaction soit finalisée, un certain nombre de questions doivent encore être examinées :

- Choix des espèces encagées : nous avons étudié ici deux espèces (une larve d'insecte, *Chironomus riparius*, et le gammare *Gammarus* spp.) ; d'autres organismes, par exemple des mollusques, pourraient aussi être considérés. Les capacités accumulatrices varient entre les organismes, il paraît en effet préférable de baser la surveillance plusieurs espèces, afin de ne pas risquer de sous-estimer le niveau de contamination.
- Période d'encagement : nous n'avons pas noté d'avantage à l'une ou l'autre période en termes de température de l'eau (périodes chaudes certaines années en juin, d'autres aussi bien en octobre) ; le risque d'être confronté à des crues pourrait être plus important à l'automne. Cela reste à vérifier sur un plus grand nombre de sites de déploiement.
- Durée de l'encagement : la durée d'encagement des chironomes sera au maximum d'une semaine – à ajuster selon la température au moment du déploiement, cf. § 2.4.2). Pour le gammare, la durée d'exposition dans cette étude a été fixée à la même durée que pour les métaux (Lopes *et al.*, 2011a). Cependant cette durée pourrait être insuffisante pour certains composés organiques, notamment le PFOS (Bertin *et al.*, in prep (revision)). La durée optimale d'exposition des gammares devrait tenir compte des cinétiques d'accumulation (et d'élimination). A noter que pour des moules zébrées (*Dreissena polymorpha*) encagées les durées d'exposition appliquées vont jusqu'à un mois (Bourgeault et Gourlay-Francé, 2013), voire même 6 semaines (Bervoets *et al.*, 2005) ; les durées allongées peuvent présenter aussi des avantages en termes d'organisation logistique, par rapport à des expositions d'une semaine.

Comme développé plus haut, il paraît préférable de ne pas nourrir les organismes encagés pendant le déploiement ; pour le gammare, il faut dans ce cas concevoir les cages pour qu'il puisse s'abriter.

- Des facteurs d'amplification trophique (TMF) ont été proposés pour deux composés de la liste prioritaire (perfluorooctane sulfonate, PFOS, n° 35, et hexabromocyclododécane, HBCDD, n° 43) en minimisant autant que faire se peut les sources d'incertitude, notamment l'effet des biais d'échantillonnage.
 - Les TMF les plus fiables obtenus (modèle à effet mixte) varient selon les sites entre 1.27 ± 0.15 et 4.09 ± 1.34 pour le PFOS, et 1.47 ± 0.02 et 7.92 ± 1.40 pour l'HBCDD (somme des isomères α , β et γ).
 - Ces valeurs sont comparables aux TMF publiés pour ces deux composés.
- Un certain nombre d'individus de barbeaux et de chevaines ont fait l'objet d'analyses par fraction (filet, foie et ensemble carcasse-viscère-peau), afin de déterminer des régressions permettant d'estimer les concentrations dans l'organisme entier à partir de celles du filet.
 - Ces régressions ont été développées pour le PFOS, ce qui avait surtout de l'intérêt pour cette étude, mais en présente moins pour la mise en œuvre de la surveillance, et pour l'HBCDD. Pour ce composé, il conviendrait de consolider les résultats sur quelques sites complémentaires.
 - L'analyse dans le filet (deuxième étape de la stratégie graduée) est en tout état de cause plus fiable et plus simple à mettre en œuvre que celle des organismes entiers.
- Le déploiement de deux organismes encagés sur les sites où des TMF ont été développés a permis de commencer à tester la stratégie en deux étapes envisagées pour la surveillance de l'état chimique dans le biote.
 - Les organismes encagés, quoique nourris de manière contrôlée pendant cette étude, ont également eu recours aux ressources trophiques locales, en proportion variable selon le site, l'organisme, et la saison pour l'un d'entre eux. Cette observation milite pour ne pas nourrir les organismes pendant le déploiement des cages, afin de se rapprocher des conditions d'exposition des organismes autochtones.
 - L'application des TMF déterminés dans cette étude aux concentrations mesurées dans les organismes encagés permet de prédire la contamination des barbeaux et des chevaines. Dans le cas du PFOS, les concentrations prédites sont nettement inférieures aux concentrations observées dans 4 cas sur 5, mais la prédiction d'un dépassement ou non de la norme de qualité environnementale (NQE) est correct dans tous les cas. Dans le cas de l'HBCDD les concentrations prédites sont similaires aux concentrations observées dans 2 cas sur 4, et nettement surestimées dans les 2 autres cas. Bien que les sites aient été choisis en fonction de niveaux d'exposition élevés, aucun dépassement de la NQE n'a été constaté.
 - Les conditions de l'extrapolation des concentrations mesurées dans les organismes encagés aux poissons dans le cadre de la stratégie graduée de la surveillance de l'état chimique dans le biote devront être fixées : choix d'une valeur de TMF par composé, assignation de niveaux trophiques (TL) pour les organismes (si ces TL ne sont pas déterminés expérimentalement pour chaque site, ce qui paraît assez probable).
- Dans la perspective de la mise en œuvre de la stratégie graduée de surveillance de l'état chimique dans le biote, il conviendra de finaliser (standardiser) le protocole pour la première étape, reposant sur l'encagement d'organismes. Nous proposons
 - D'encager au moins deux espèces,
 - pour une durée d'une semaine au maximum pour le chironome, et une durée plus longue, à optimiser, pour le gammare.
 - Les organismes ne devraient pas être nourris pendant le déploiement, ce qui devrait aussi amener à modifier la conception des systèmes d'exposition.

6 Glossaire

Bioamplification : processus d'accroissement des concentrations de certains contaminants dans les réseaux trophiques : indicateurs BMF ou TMF.

BMF : facteur de bioamplification. Il s'agit du rapport des concentrations d'un contaminant entre le prédateur et sa proie (nourriture. Il y a bioamplification quand ce facteur est ≥ 1

BSAF : facteur d'accumulation entre sédiment et biote (invertébré benthique par exemple). A la base (Ankley, 1992), quotient entre la concentration dans un organisme normalisée par le taux de lipides et celle dans le sédiment normalisée par le taux de carbone organique. Pour des contaminants comme les perfluorés, dont l'accumulation ne dépend pas du taux de lipides, cette définition ne s'applique pas. Dans ce cas le BSAF correspond au rapport de la concentration dans le biote et celle dans le sédiment ajusté par le taux de carbone organique, qui est reconnu comme influençant la concentration de PFOS dans le sédiment (Higgins *et al.*, 2007).

$\delta^{13}\text{C}$: différence entre les isotopes ^{12}C et ^{13}C du carbone. Le ^{13}C variant très peu entre les proies et leur prédateur, le $\delta^{13}\text{C}$ contribue à la description des réseaux trophiques.

$\delta^{15}\text{N}$: différence entre les isotopes ^{14}N et ^{15}N , deux isotopes stables de l'azote, le 14 étant majoritaire. En raison d'une élimination plus lente la proportion de ^{15}N augmente de la proie au prédateur. Cette caractéristique est utilisée pour la description des réseaux trophiques

€fish : poisson virtuel, d'un niveau trophique de 4 dans les eaux continentales, et ayant une teneur en lipides de 5 % (ou un taux de matières sèches de 26 %). Les NQE ciblant le biote sont en général définies par rapport à ce poisson virtuel ; les concentrations de substances prioritaires mesurées devraient en théorie être ajustées aux caractéristiques de l'€fish (E.C., 2014).

NQE : norme de qualité environnementale. Seuil de qualité chimique, terme introduit par la directive 2000/60 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. Les méthodes de détermination des normes de qualité environnementale selon les compartiments surveillés sont définis dans le guide technique n° 27 (E.C., 2011).

$\Sigma\text{PBDE}_{\text{DCE}}$: somme des concentrations des congénères de polybromodiphényl-éthers visés par la directive 2013/039 : BDE28, 47, 99, 100, 153 et 154

TL : niveau trophique. Cette notion correspond à la position d'un organisme dans une chaîne (ou un réseau) trophique, les producteurs primaires occupant le niveau 1. Le niveau trophique est dérivé de mesures des isotopes de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$).

TMF : facteur d'amplification trophique. Ce terme désigne l'enrichissement moyen d'un contaminant dans une chaîne trophique. Il s'obtient par régression des concentrations mesurées aux différents niveaux par rapport aux niveaux trophiques.

7 Bibliographie

- Anderson C, Cabana G (2006). Does $\delta^{15}\text{N}$ in river food webs reflect the intensity and origin of N loads from the watershed? *Sci Tot Environ*, 367: 968-978.
- Babut M, Roy A, Lopes C, Pradelle S (2011). Contamination des poissons d'eau douce par les PCB et d'autres contaminants persistants dans le bassin Rhône-Méditerranée. Détermination de facteurs d'accumulation sédiments-poissons et d'une valeur seuil dans le sédiment au-delà de laquelle les poissons risquent de dépasser le seuil réglementaire de consommation, Cemagref - DREAL Rhône-Alpes, Délégation de bassin, Lyon.
- Bertin D, Ferrari BJD, Labadie P, Sapin A, Beaudouin R, Pery ARR, Garric J, Budzinski H, Babut M (in prep). Refining uptake and depuration constants for fluoroalkyl chemicals in *Chironomus riparius* larvae on the basis of experimental results and modelling. *Ecotoxicol Environ Saf*
- Bertin D, Ferrari BJD, Labadie P, Sapin A, Garric J, Budzinski H, Houde M, Babut M (2014). Bioaccumulation of perfluoroalkyl compounds in midge (*Chironomus riparius*) larvae exposed to sediment. *Environ Pollut*, 189: 27-34.
- Bertin D, Labadie P, Ferrari BJD, Sapin A, Garric J, Geffard O, Budzinski H, Babut M (2016). Potential exposure routes and accumulation kinetics for poly- and perfluorinated alkyl compounds for a freshwater amphipod: *Gammarus* spp. (Crustacea). *Chemosphere*, 155: 380-387.
- Borgå K, Kidd KA, Muir DCG, Berglund O, Conder JM, Gobas FAPC, Kucklick J, Malm O, Powell DE (2012). Trophic magnification factors: Considerations of ecology, ecosystems and study design. *Integr Environ Assess Manag*, 8: 64-84.
- Botta F, Dulio V (2014). Résultats de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des DOM, ONEMA - INERIS
- Browne EP, Stapleton HM, Kelly SM, Tilton SC, Gallagher EP (2009). In vitro hepatic metabolism of 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE 99) in Chinook Salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*). *Aquat Toxicol*, 92: 281-287.
- Brunet F (2004). Variations de la signature isotopique $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous dans les rivières et les fleuves.
- Dinn PM, Johannessen SC, Ross PS, Macdonald RW, Whitticar MJ, Lowe CJ, van Roodselaar A (2012). PBDE and PCB accumulation in benthos near marine wastewater outfalls: The role of sediment organic carbon. *Environ Pollut*, 171: 241-248.
- Dubois S (2012). Composition et transfert trophique de la matière organique particulaire dans le bassin d'Arcachon.
- E.C. (2011). Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) - Guidance Document n° 27 - Technical Guidance for deriving Environmental Quality Standards. Report No. Technical Report - 2011-055
- E.C. (2014). Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) - Guidance Document No. 32 on Biota monitoring (The implementation of EQSBIOTA) under the Water Framework Directive, European Union
- Franklin J (2016). How reliable are field-derived biomagnification factors and trophic magnification factors as indicators of bioaccumulation potential? Conclusions from a case study on per- and polyfluoroalkyl substances. *Integr Environ Assess Manag*, 12: 6-20.
- Higgins CP, McLeod PB, Macmanus-Spencer LA, Luthy RG (2007). Bioaccumulation of perfluorochemicals in sediments by the aquatic oligochaete *Lumbriculus variegatus*. *Environ Sci Technol*, 41: 4600-4606.
- Kuo Y-M, Sepúlveda M, Hua I, Ochoa-Acuña H, Sutton T (2010). Bioaccumulation and biomagnification of polybrominated diphenyl ethers in a food web of Lake Michigan. *Ecotoxicology*, 19: 623-634.
- Mackay D, Celsie AKD, Arnot JA, Powell DE (2016). Processes influencing chemical biomagnification and trophic magnification factors in aquatic ecosystems: Implications for chemical hazard and risk assessment. *Chemosphere*, 154: 99-108.
- Mariotti A (1991). ^{13}C natural abundance, tracer of soil organic matter dynamics and of the evolution of continental paleoecosystem changes. *Cahiers - ORSTOM, Serie Pedologie*, 26: 299-313.
- Munoz G, Giraudel J-L, Botta F, Lestremau F, Dévier M-H, Budzinski H, Labadie P (2015). Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: A French nationwide survey. *Sci Tot Environ*, 517: 48-56.
- Stapleton HM, Brazil B, Holbrook RD, Mitchelmore CL, Benedict R, Konstantinov A, Potter D (2006). In vivo and in vitro debromination of decabromodiphenyl ether (BDE 209) by juvenile rainbow trout and common carp. *Environ Sci Technol*, 40: 4653-4658.
- Stapleton HM, Letcher RJ, Li J, Baker JE (2004). Dietary accumulation and metabolism of polybrominated diphenyl ethers by juvenile carp (*Cyprinus carpio*). *Environ Toxicol Chem*, 23: 1939-1946.
- Tachet H, Richoux P, Bournaud M, Usseglio-Polatera P (2010). Invertébrés d'eau douce - Systématique, biologie, écologie. Vol. CNRS éditions
- Tomaszek JA, Koszelnik P, Gruca-Rokosz R (2009). The distribution and isotopic composition of carbon and nitrogen as indicators of organic-matter fluxes in the Solina Reservoir (south-east Poland). *Marine and Freshwater Research*, 60: 647-652.
- Yu M, Luo X-J, Wu J-P, Chen S-J, Mai B-X (2009). Bioaccumulation and trophic transfer of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in biota from the Pearl River Estuary, South China. *Environ Int*, 35: 1090-1095.

8 Table des illustrations

Figures

Figure 1 - Proposition d'approche graduée de surveillance du biote au titre de la DCE (Babut et al., 2013) .	10
Figure 2 - Emplacement des sites d'étude (2013-2015)	12
Figure 3 - Concentrations de PFOS et autres PFAS dans les organismes encagés à T0 (ng.g ⁻¹ pf).....	18
Figure 4 – Boîtes à moustache des mesures d'isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) chez les invertébrés.....	22
Figure 5 – Comparaison des niveaux trophiques de poissons du Rhône (2008) et de la présente étude (min-médiane-max) avec les valeurs de Fishbase (médiane \pm EC).....	28
Figure 6 - Relation masse (g) et taille (mm) chez les barbeaux (6 sites).....	29
Figure 7 – Relation masse (g) et taille (mm) chez les chevaines (7 sites).....	29
Figure 8 – Comparaison des signatures isotopiques des organismes encagés et autochtones	31
Figure 9 – Variabilité des concentrations de PFOS des invertébrés en fonction des saisons.....	33
Figure 10 – Concentrations de PFOS (L+R) dans les filets et organismes entiers (ng.g ⁻¹ pf).....	34
Figure 11 - PFOS dans les organismes encagés (carrés) et autochtones (triangles) A – chironomes ; B – gammares.....	39
Figure 12 - Variabilité des concentrations d'HBCDD en fonction des saisons	40
Figure 13 – ΣHBCDD (ng.g ⁻¹ pf) dans les organismes encagés (CHI carrés, GAM cercles) et autochtones (triangles pointes en haut : chironomes, pointe en bas : gammares, losanges oligochètes) A – chironomes encagés ; B – gammares encagés.....	45
Figure 14_ Distribution des concentrations de BDE 47 selon les fractions analysées	47
Figure 15 – Distribution des taux de lipides (organismes entiers) en fonction des sites et des espèces.....	48
Figure 16 – $\Sigma\text{PBDE(DCE)}$ dans les organismes encagés (carrés) et autochtones (triangles : chironomes ou gammares ; losanges : oligochètes) A – chironomes ; B – gammares.....	57
Figure 17 – Variabilité des TMF de la présente étude et dans la littérature	60
Figure 18 – Comparaison des concentrations prédites (à l'aide des TMF de chaque site) et observées	64

Tableaux

Tableau 1 – Taux de survie des organismes encagés (%).....	16
Tableau 2 – Croissance des chironomes encagés	17
Tableau 3 – Genres et effectifs d'invertébrés collectés en juin et octobre 2014.....	19
Tableau 4 - Effectifs et utilisation des poissons collectés	20
Tableau 5 – Mesures isotopiques (‰) et contaminants (ng.g ⁻¹ ps) dans les sédiments superficiels	21
Tableau 6- Fractionnement trophique moyen à chaque site d'étude.....	27
Tableau 7 – Valeurs de TL des barbeaux (B. barbus) et chevaines (S. cephalus) dans cette étude.....	28
Tableau 8 - Evolution des signatures isotopiques pendant l'encagement	30
Tableau 9 – Distribution du PFOS (ng.g ⁻¹ pf) dans les échantillons collectés in situ.....	32
Tableau 10 – Distribution du PFOS dans les poissons (foie, filet, carcasse/viscères/peau) en ng.g ⁻¹ (pf)	33
Tableau 11 – TMF du PFOS pour les 5 sites	35
Tableau 12 – Synthèse bibliographique - TMF du PFOS	36
Tableau 13 – Accumulation de PFOS au cours de l'encagement.....	38
Tableau 14 – Distribution de l'HBCDD (ng.g ⁻¹ pf, somme des isomères) dans les échantillons collectés in situ	39
Tableau 15 - Distribution de l'HBCDD (somme des isomères) dans les poissons (foie, filet, cvp) ng.g ⁻¹ (pf).....	40
Tableau 16 – TMF de l'HBCDD (somme des principaux isomères ou isomères dominants).....	42
Tableau 17 – Synthèse bibliographique sur les TMF pour l'HBCDD	43
Tableau 18 – Accumulation de ΣHBCDD au cours de l'encagement	45
Tableau 19 – Distribution de ΣPBDE (congénères 28, 47, 99, 100, 153 et 154) dans les compartiments biotiques	46
Tableau 20 – TMF du BDE 47 (A) et de $\Sigma\text{PBDE}_{\text{DCE}}$ (B)	49
Tableau 21 - Synthèse bibliographique : TMF des PBDE.....	50
Tableau 22 - Synthèse bibliographique : BMF des PBDE	54
Tableau 23 - Accumulation de PBDE ($\Sigma\text{PBDE}_{\text{DCE}}$) au cours de l'encagement.....	56
Tableau 24 – Comparaison des matrices filet et homogénat de poissons entiers.....	61

9 Annexes

9.1 Présentation des sites d'étude

► ADB – Andrézieux-Bouthéon (42)

Cours d'eau : le Furan

Station : 04420054 (Onema) – raccordée à 04008000 (Agence Loire-Bretagne)

Lieu-dit « La Fabrique »

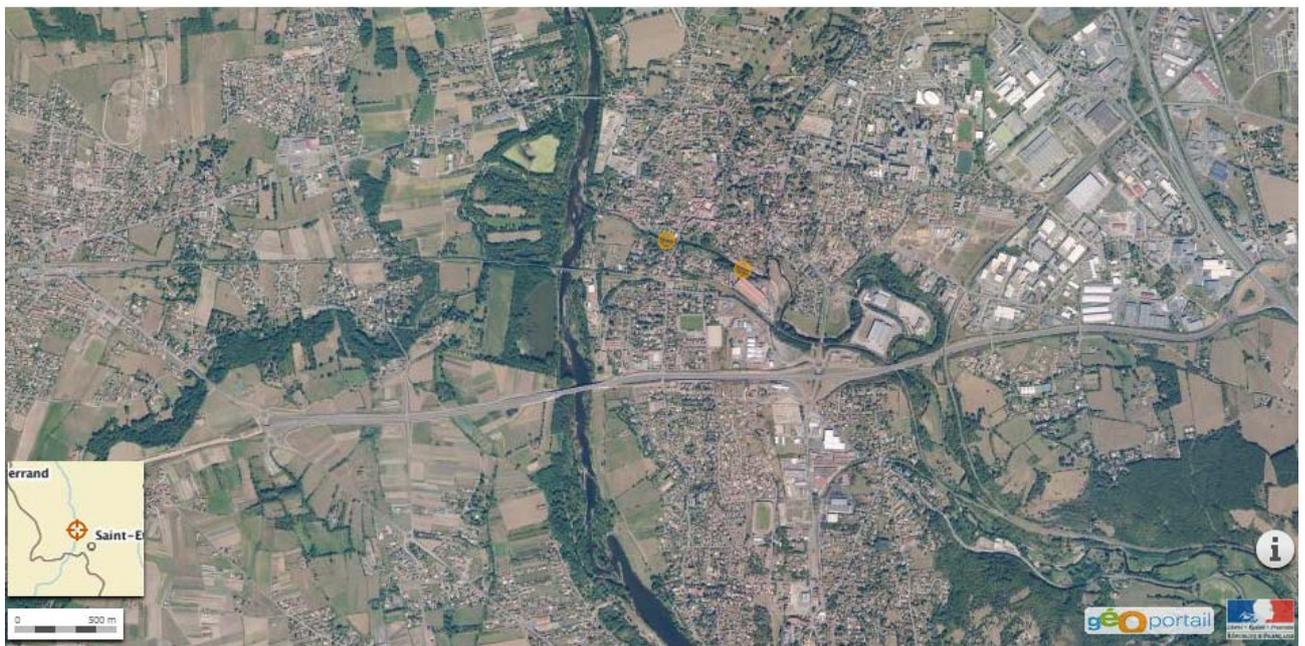
Altitude : 375 m

X Lambert 93 : 797574

Y Lambert 93 : 6492480

Latitude : 45°31'24.92" N

Longitude : 4°15'23.50" E



Le point jaune-orange le plus à gauche signale la position des cages, et le centre de la zone échantillonnée pour les invertébrés ; le point à droite correspond approximativement au centre de la zone de pêche (largeur : 15 m (tronçon pêché \approx 250 m).

► BER - Lône de l'île du Beurre Tupins et Semons (69)

Cours d'eau : le Rhône

Lieu : Centre d'observation de la nature de l'île du Beurre

(http://www.iledubeurre.org/site/index.php?option=com_content&view=article&id=196:contactez-nous&catid=34:informations-pratiques&Itemid=61)

Aval du barrage de Vaugris, rive droite du Rhône ; latitude 45° 28' 35.00" N, longitude 4° 46' 55.46" E

Ce site est l'un des sites de l'étude « transfert des PCB du sédiment au biote – construction de modèles » (Babut *et al.*, 2011)

Altitude : 160 m

Latitude : 45°27' 50.06" N

Longitude : 4° 48' 13.29"E



Vue détaillée du site de l'île du Beurre (BER)

Les prélèvements et encagements d'invertébrés ont été réalisés dans la partie aval de la lône.

► BOL – le Bourget du Lac (73)

Cours d'eau : la Leysse

Station : 06073500 – RCS (RCO)

Altitude : 245 m

X Lambert 93 : 922870

Y Lambert 93 : 6509627

Latitude : N 45°38.985'

Longitude : E 5° 51.712'



Le point jaune-orange en haut de l'image correspond à la station RCS, où ont été réalisés les encagements et les prélèvements d'invertébrés ; le point de même couleur en bas de l'image correspond au centre approximatif de la zone de pêche. La distance entre les deux points est d'environ 2.5 km.

► FLO - Fleurey sur Ouche (21)

Cours d'eau : l'Ouche

Station : 06014970 - RCS

Altitude : 270 m

X Lambert 93 : 840466

Y Lambert 93 : 6692159

Longitude : N 47°18.910'

Latitude : E 4°51.531'



Le site d'implantation des cages et de prélèvement des invertébrés est situé à droite de la photo (point jaune orangé), le site de pêche à gauche, la distance entre les deux points est d'environ 1.230 km.

► LUY - Luynes (13)

Cours d'eau : la Luynes

Station : 0619400 – RCO/RCS

Pont D59b

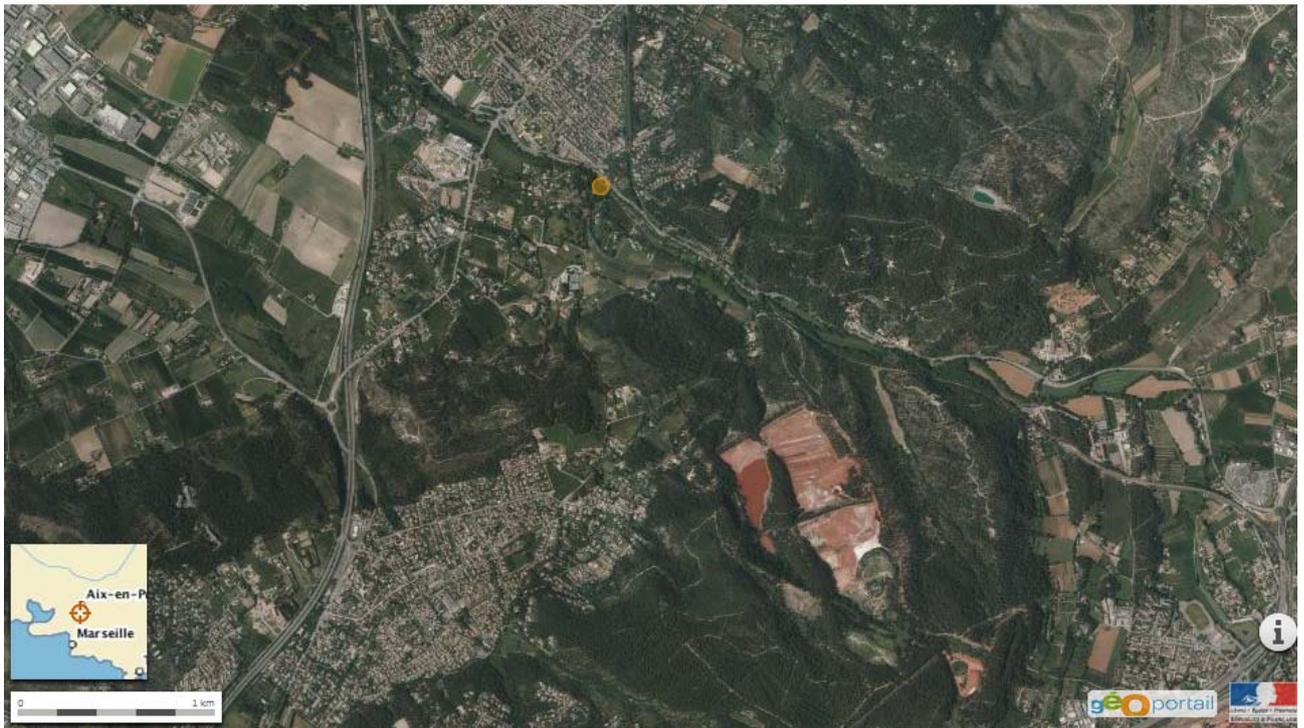
Altitude : 155 m

X Lambert 93 : 896064

Y Lambert 93 : 6267461

Latitude : N 43° 28' 45.92"

Longitude : E 5° 25' 23.91"



Pêche, encagement et prélèvements d'invertébrés réalisés exactement au même endroit.

► LVP - La Verpillière (38)

Cours d'eau : canal Catelan (affluent de la Bourbre)

Station : 06082260 - RCO

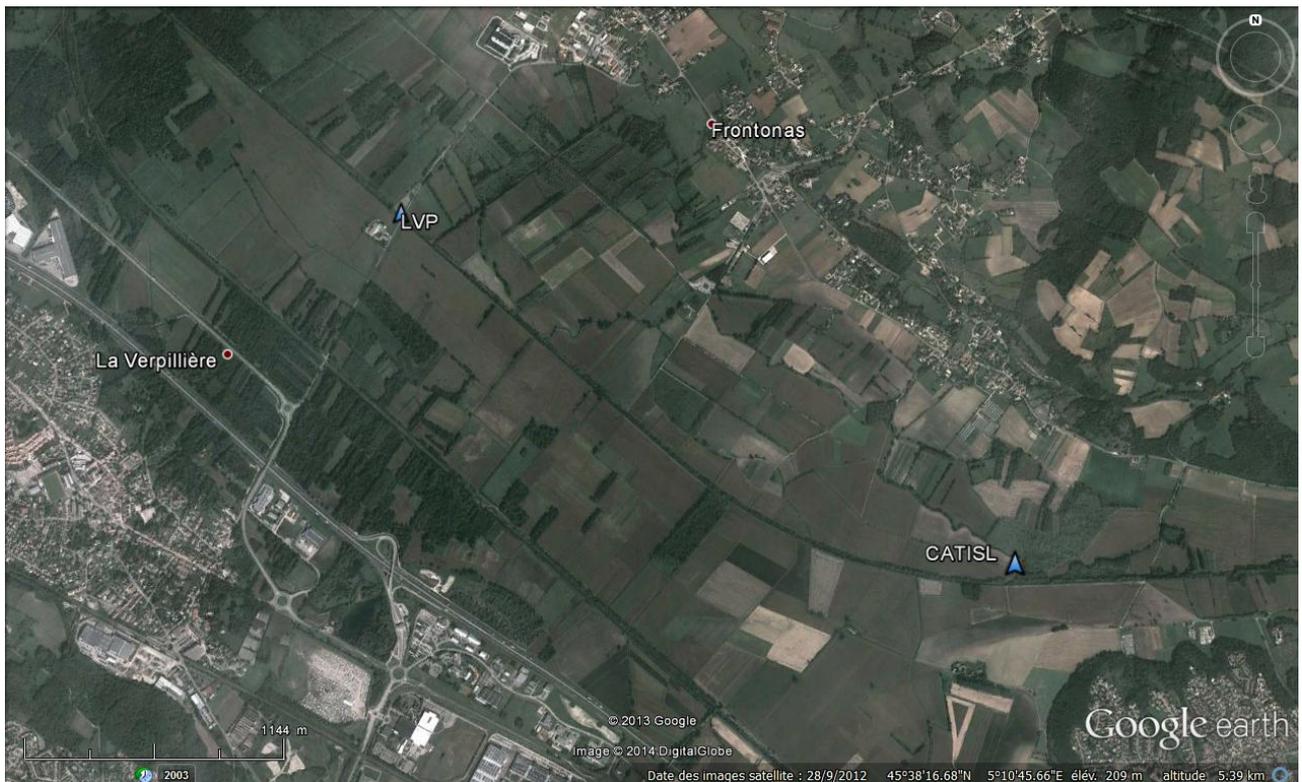
Pont sur la D126 entre Frontonas et la Verpillière.

Altitude : 208 m

X Lambert 93 : 868563

Y Lambert 93 : 6507411

Latitude 45° 38' 43.01" N, longitude 5° 09' 52.36" E



Vue aérienne du site de La Verpillière (LVP) sur le Canal Catelan, parallèle à La Bourbre. La Bourbre et le canal confluent en haut à gauche de la figure.

Les encagements ont été réalisés en aval du pont, à une cinquantaine de mètres. Les invertébrés ont été prélevés dans un intervalle de 100 mètres de part et d'autre du pont.

Provenance des échantillons de poisson : site 06080130 (noté CATISL dans l'échantillothèque et sur la vue ci-dessus), 3.4 km à l'amont du site 06082260 (LVP).

► MRG- Saint Maurice de Gourdans (01)

Cours d'eau : l'Ain

Station : 06092000 RCS/RCO

Altitude : 195 m

X Lambert 93 : 871773

Y Lambert 93 : 6526506

Latitude : 45° 48' 58.72" N

Longitude : 5° 12' 32.48" E



Prélèvement et encagement d'invertébrés en rive droite (au Nord), prélèvements de poissons sur le bief à partir du point en rive gauche.

► TIJ - Tignieu-Jamezieu (38)

Cours d'eau : la Bourbre

Station : 06082500 RCS

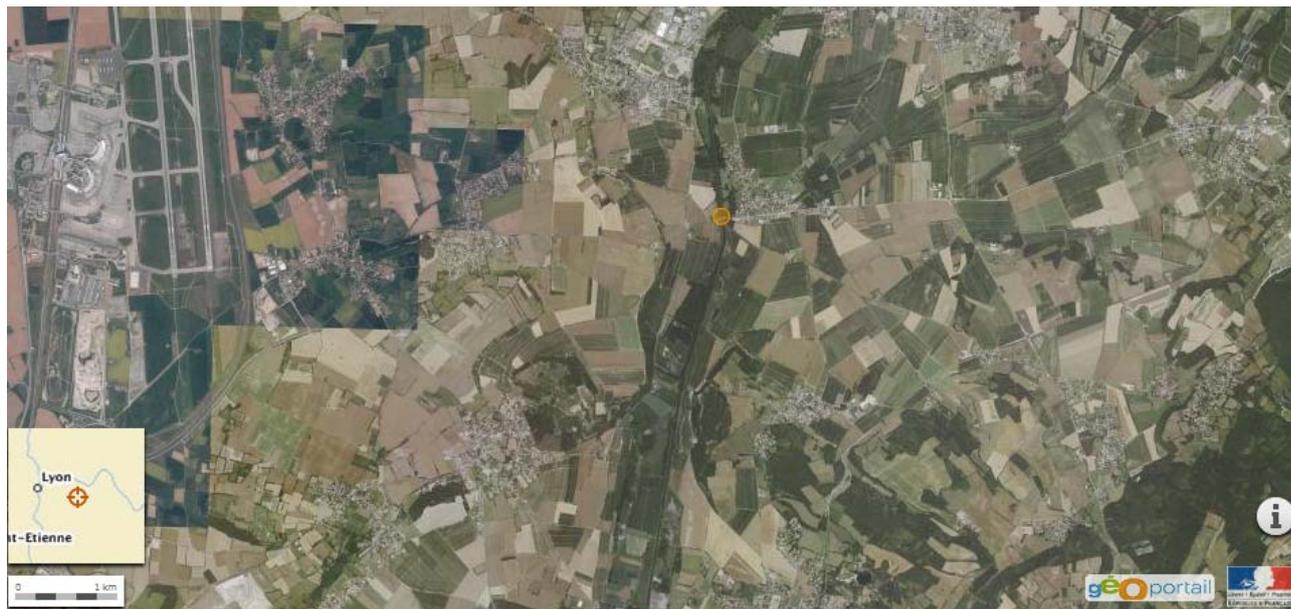
Altitude : 204 m

X Lambert 93 : 867923

Y Lambert 93 : 6515427

Latitude : 45° 42' 52.54" N

Longitude : 5° 09' 35.19" E



Pêche, prélèvement d'invertébrés et encagement au même endroit.

► VAT : Viriat (01)

Cours d'eau : la Reyssouze

Station : 06046000 – RCS (RCO)

Altitude : 210 m

X Lambert 93 : 949463

Y Lambert 93 : 869134

Latitude : 46° 14' 58.58" N

Longitude : 5° 11' 46.18" E

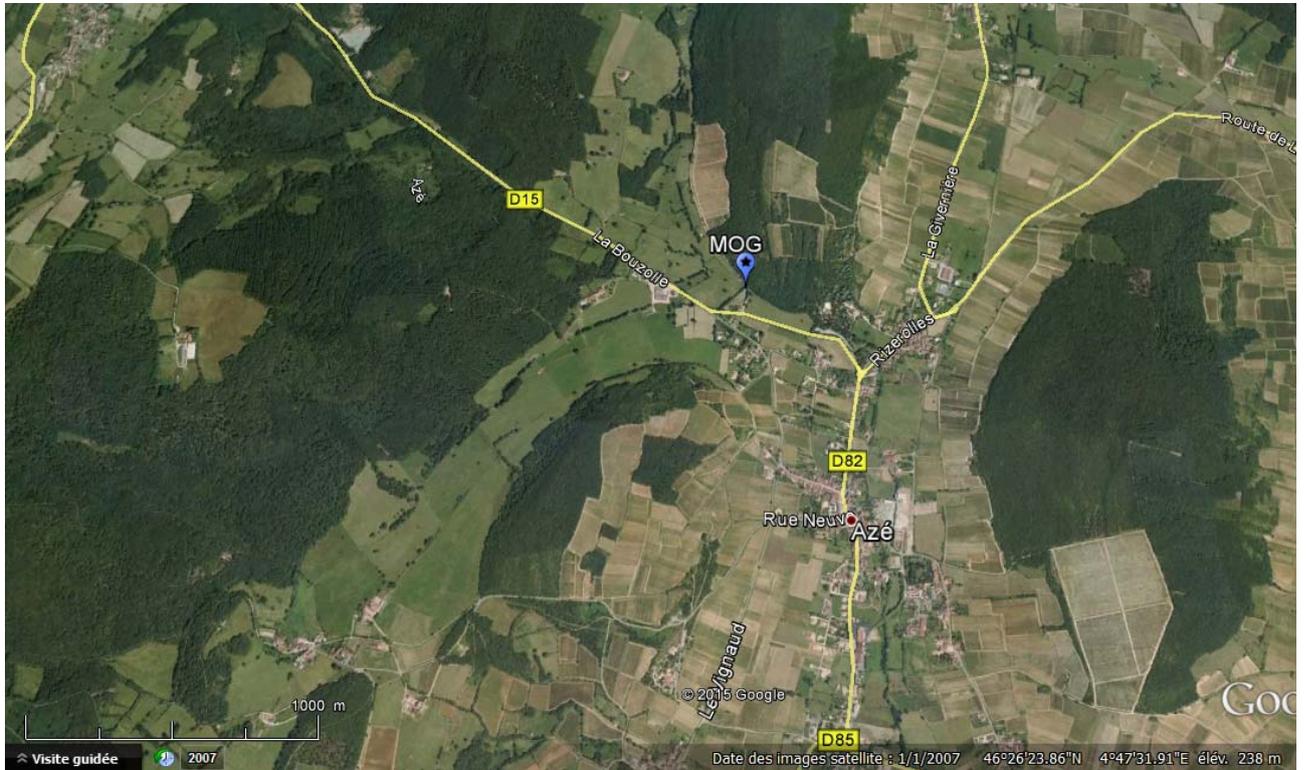


L'encagement et le prélèvement d'invertébrés ont été réalisés au site RCS, indiqué par le point jaune-orangé en bas de la photo ; le site de pêche est indiqué par le point de même couleur en haut de la photo, distant d'environ 1.20 km.

9.2 Site d'approvisionnement en gammares

46°26'28.52"N
4°45'20.56"E

Altitude : 238 m



Ruisseau de La Mouge à Azé (71)

9.3 Récapitulatif des échantillons d'invertébrés et de poissons et des résultats d'analyses

Fourni sous forme de fichiers numériques :

- I. Liste des échantillons (2013-2014), données biométriques, résultats des analyses (rapports isotopiques, PFOS, HBCDD) : [PFOS-HBCDD Summary-5sites final](#)
- II. Liste des échantillons (2015), données biométriques, résultats des analyses (rapports isotopiques, PBDE) : [PBDE Summary-5sites corrige](#)
- III. Niveaux trophiques estimés (2013-2015), sur la base du fractionnement moyen (3.4 ‰) et du taux de fractionnement moyen spécifique de chaque site : [Summary-TL](#)

9.4 Températures de l'eau pendant l'exposition des organismes encagés (°C)

2013

Date	Jour	BER	LVP
Juin-juil.		12:00 - 11:00	
25-26	J1	16.5*	14.4*
26-27	J2	16.7	14.3
27-28	J3	16.8	14.0
28-29	J4	16.2	13.6
29-30	J5	17.8	13.7
30-01	J6	18.9	15.0
01-	J7	19.3**	15.5
Sept.-oct.	Jour	12:00 - 11:00	
30-01	J1	18.2	15.1
01-02	J2	18.7	14.8
02-03	J3	18.4	15.3
03-04	J4	18.1	15.6
05-06	J5	18.2	15.3
06-07	J6	18.4	15.3
07-08	J7	17.6***	14.5

(*) début à 15:00 ; (**) 12:00-16:00 ; (***) 12:00-10:00

BER : îlot de l'île du Beurre (Condrieu) ; LVP : canal Catelan à La Verpillière

2014

Date	Jour	ADB	LUY	TIJ
juin		12:00 - 11:00		
3-4	J1	17.85	17.27	16.09
4-5	J2	15.80	16.89	14.55
5-6	J3	18.22	17.03	15.58
6-7	J4	19.49	17.57	16.25
7-8	J5	20.48	17.06	18.26
8-9	J6	21.66	17.97	18.48
9-10	J7	22.52	18.25	18.85
octobre	Jour	12:00 - 11:00		
8-9	J1	17.69	21.98	16.01
9-10	J2	17.70	22.21	16.66
10-11	J3	15.77	22.19	15.98
11-12	J4	15.66	20.71	15.42
12-13	J5	15.68	20.64	15.00
13-14	J6	15.19	20.22	14.82
14-15	J7	14.95	20.48	14.68

(ADB : Andrézieux-Bouthéon, Furan ; TIJ : Tignieu-Jamezieu, Bourbre ; LUY : Aix-en-Provence, Luynes)

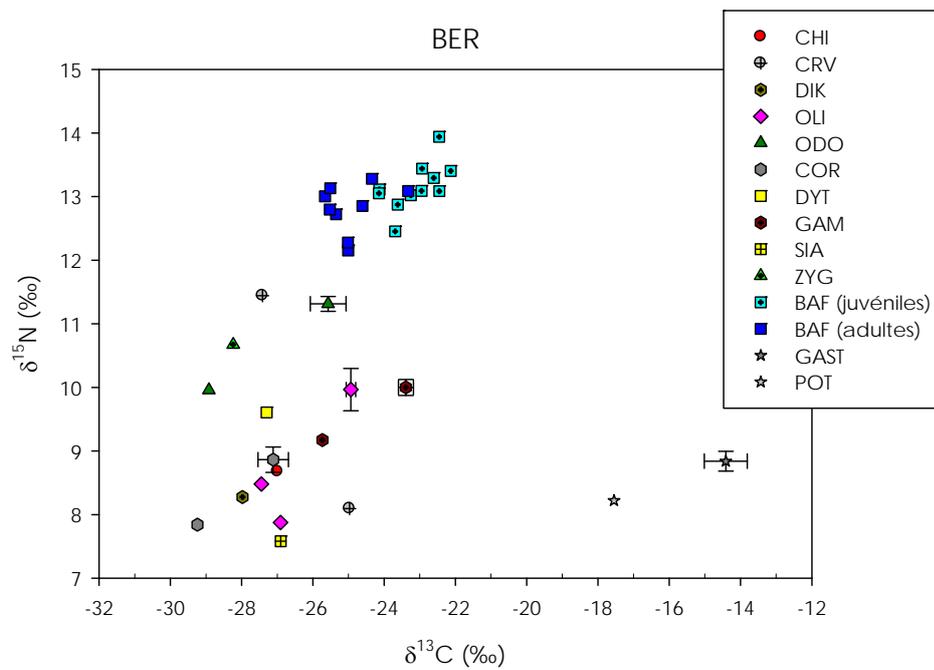
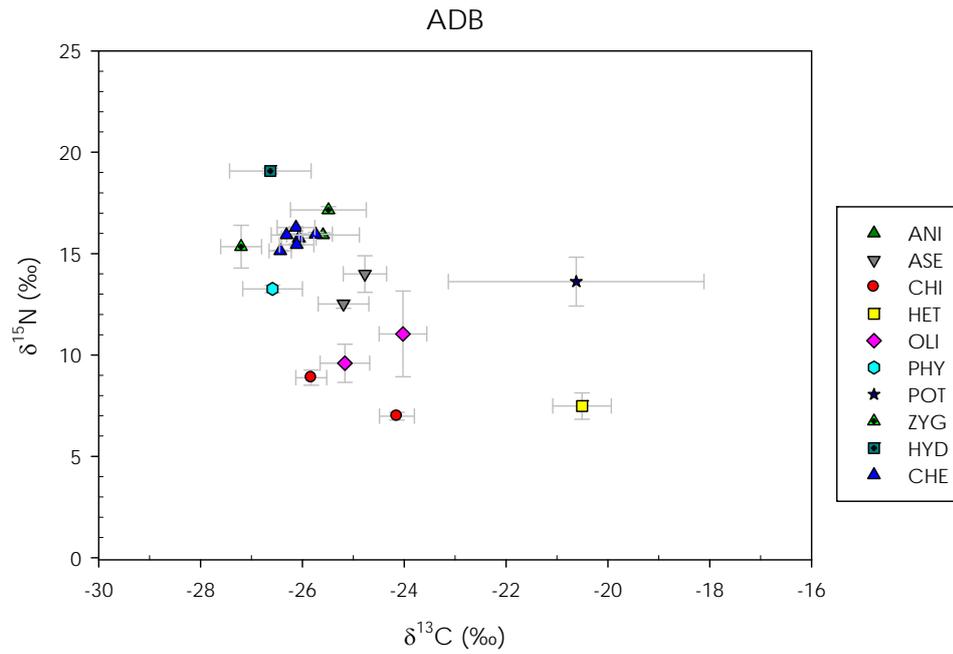
2015

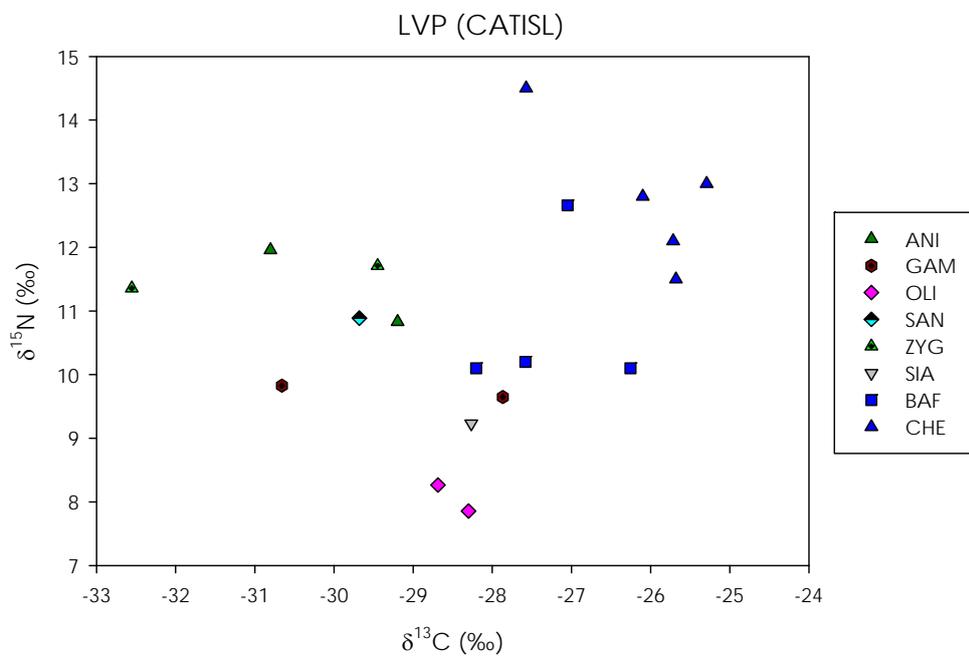
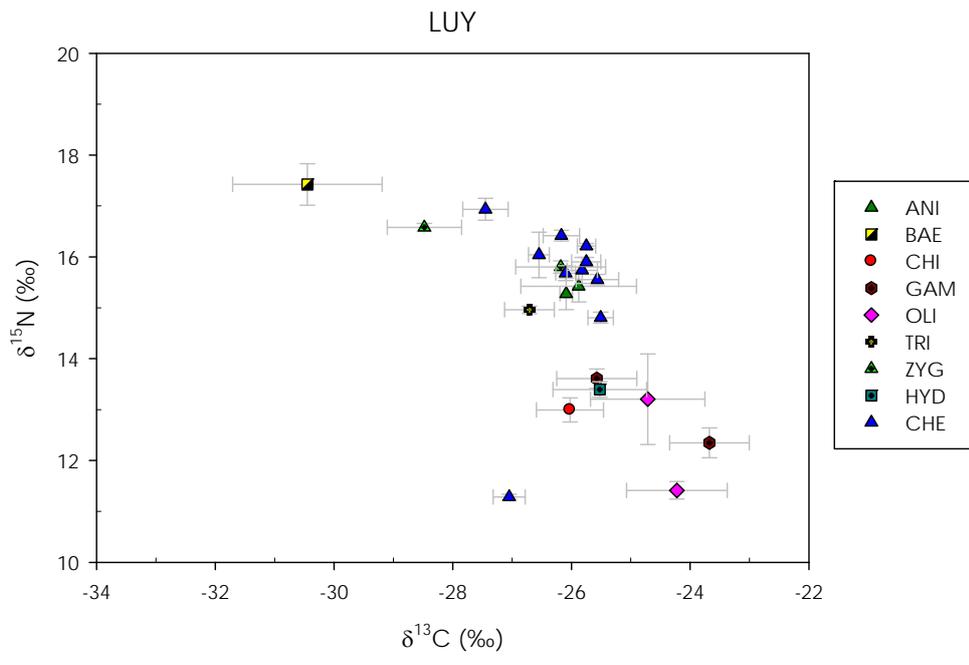
Jour	BOL	FLO	MRG	TIJ	VAT
	12:00 - 11:00				
J1	18.20	14.37	19.71	17.77	19.64
J2	17.79	14.97	20.20	18.03	21.09
J3	17.17	15.61	20.90	18.36	21.84
J4	16.49	16.45	21.40	19.12	23.00
J5	15.55	17.18	21.92	19.60	23.80
J6	15.71	17.56	21.89	19.10	23.77
J7	17.19	17.32	20.20	17.92	

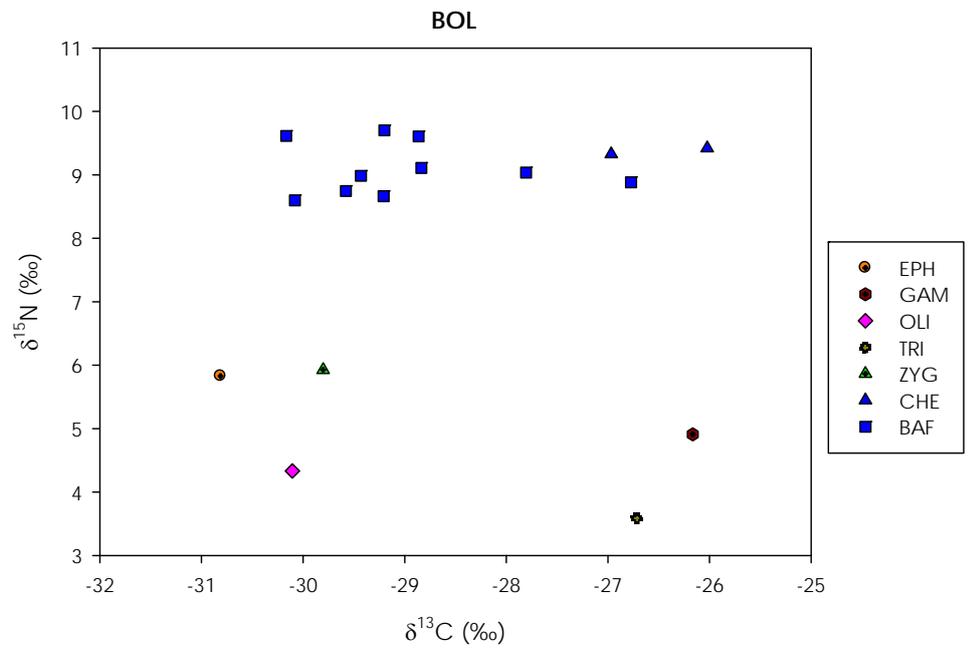
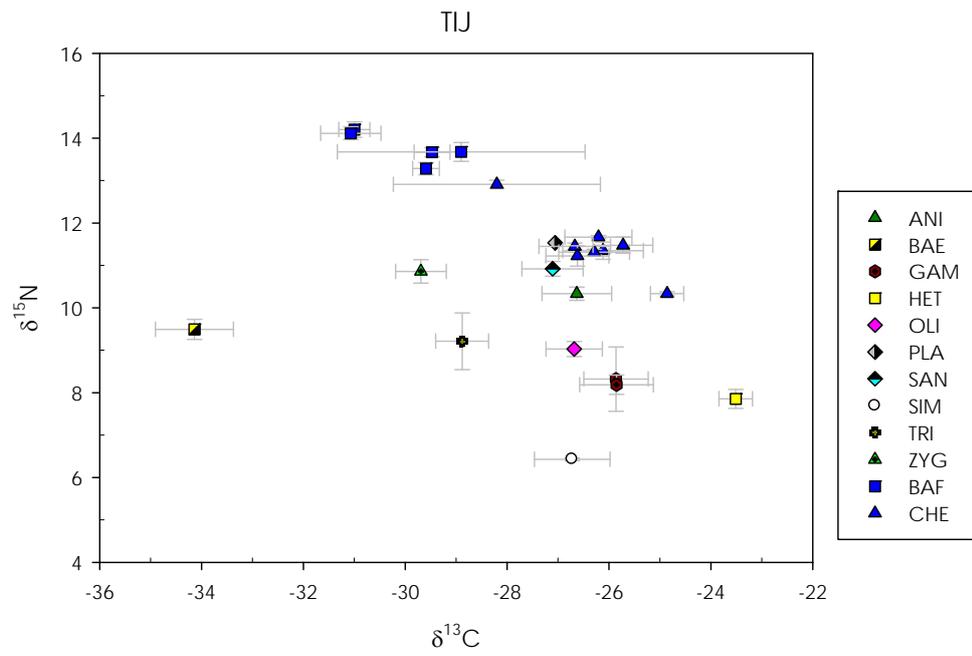
(BOL : le Bourget du Lac, Laysse ; FLO : Fleurey sur Ouche, Ouche ; MRG : St Maurice de Gourdans, Ain ; TIJ : Tignieu-Jamezieu, Bourbre ; VAT : Viriat, Reysouze)

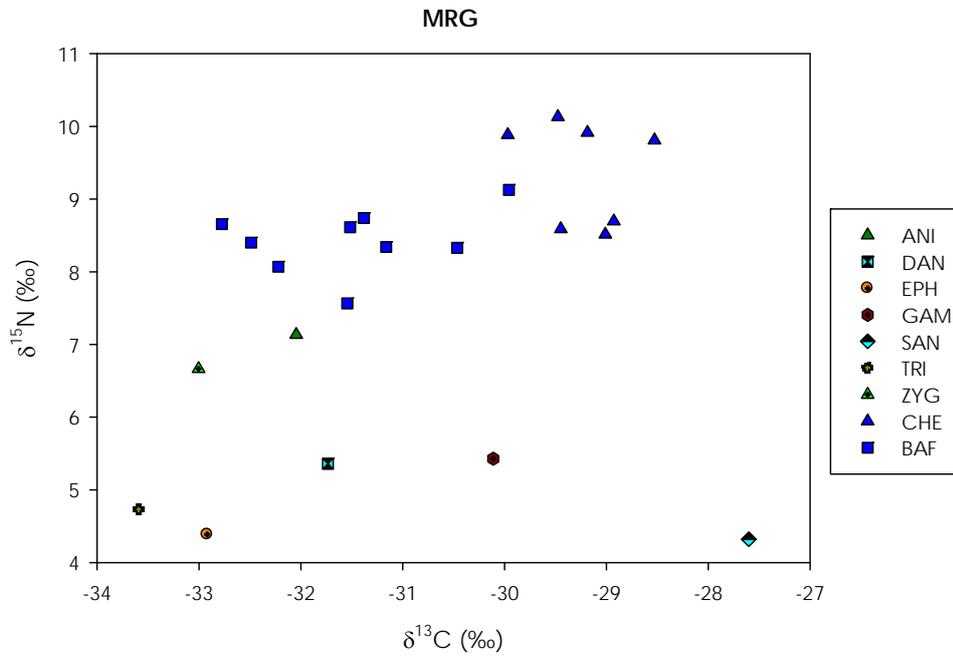
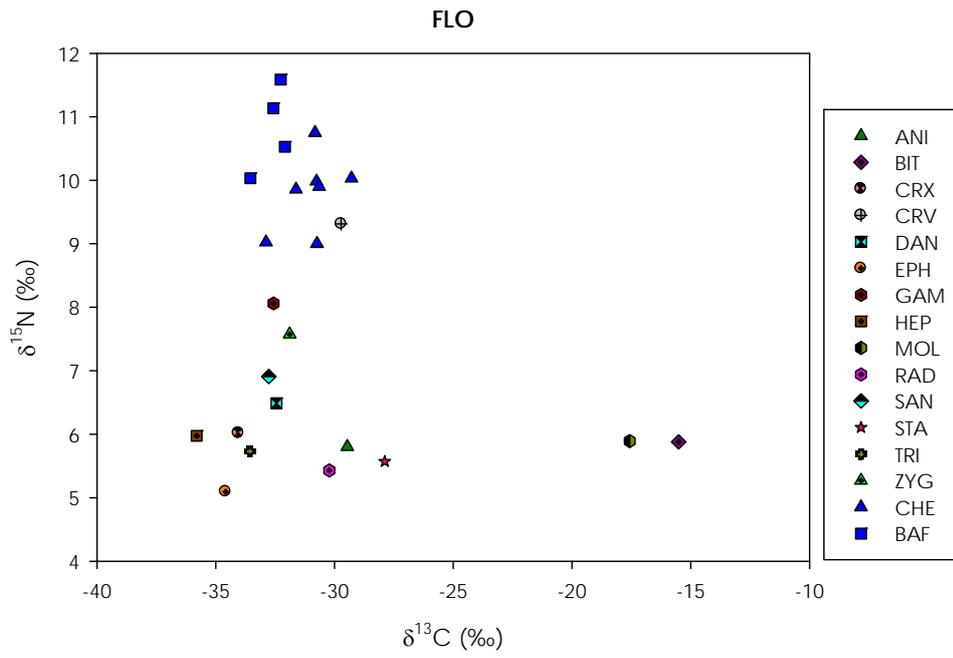
Pour des raisons logistiques (tournées organisées par paires de sites), les dates d'exposition aux différents sites en 2015 sont décalées (cf. § 3.1)

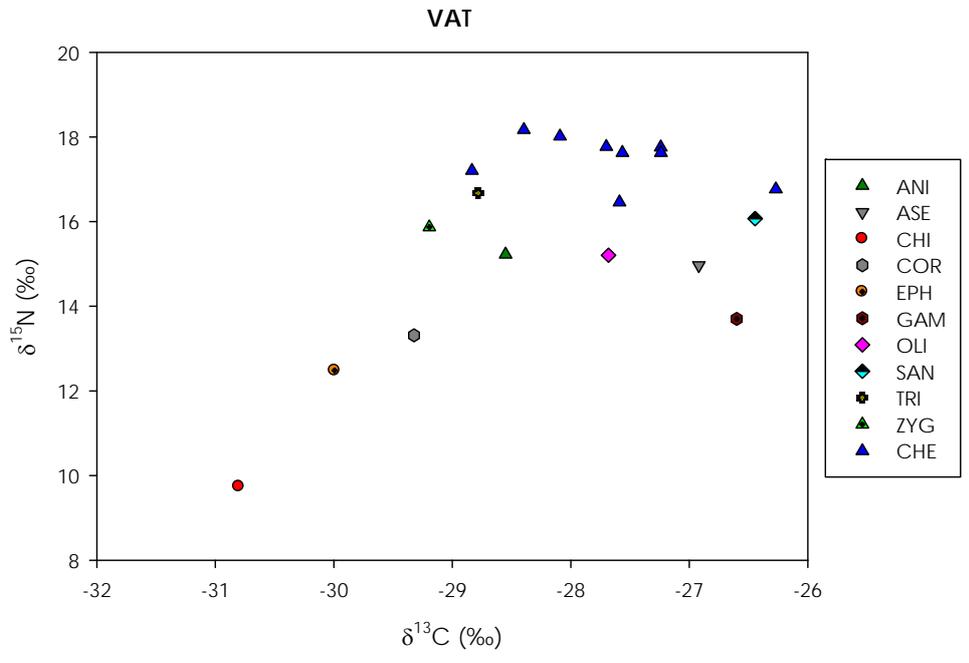
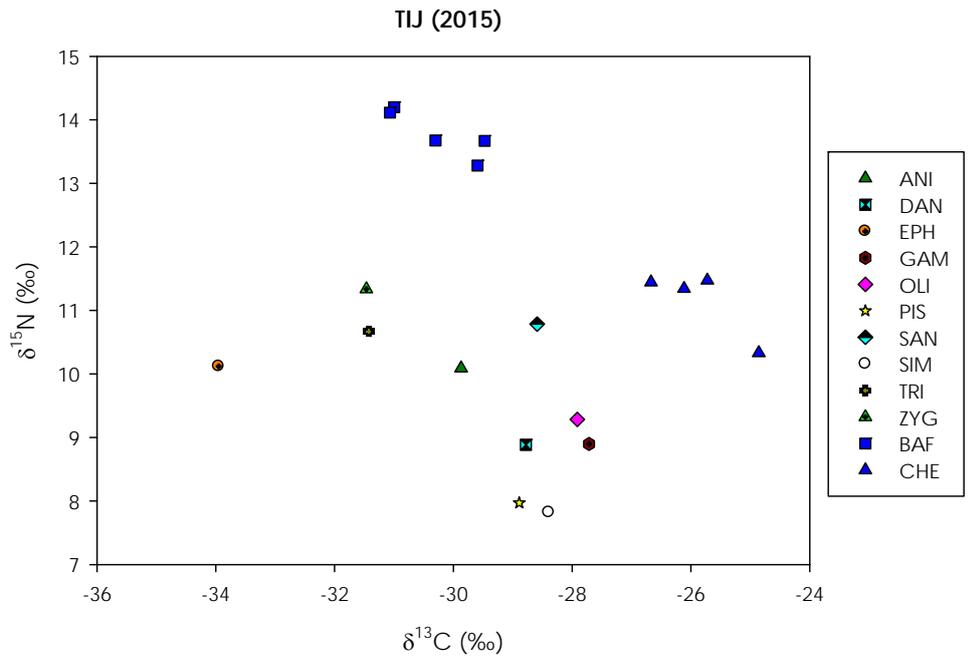
9.5 Dual graphs des mesures d'isotopes











9.6 Niveaux trophiques des oligochètes

Modalité (genre)	(1)	(2)	(3)
<i>Haplotaxis gordioides</i>	3		
<i>Pristina+Pristinella</i>	1	2	2
<i>Amphichaeta</i>		3	1
<i>Chaetogaster</i>	1	3	1
<i>Stylaria lacustris</i>		3	3
<i>Dero+Autophorus</i>		2	2
<i>Ophidonais serpentina</i>		1	3
<i>Paranais</i>			3
<i>Nais</i>	2	3	1
<i>Slavina appendiculata</i>		1	2
<i>Vejdoskyella</i>	3	1	
<i>Specaria josinae</i>		2	2
<i>Piguetiella blanci</i>		3	
<i>Uncinaiis uncinata</i>	1	3	1
<i>Ripistes parasita</i>	1	3	1
<i>Branchiura sowerbyi</i>		2	2
other Tubificidae (ASC)	1	2	2
<i>Potamothrix moldaviensis</i> (SSC)		2	3
other Tubificidae (SSC)		2	2
<i>Enchytraeidae</i>	1	1	1
<i>Proappus volkyi</i>		1	
<i>Stylodrilus heringianus</i>	3	1	1
other Lumbriculidae	1	3	2
<i>Dorydrilus</i>		1	
<i>Eiseniella tetraedra</i>	2	1	1
<i>Dendrobaena subrubicunda</i>			1
<i>Sparganophilus tamesis</i>			1
N	12	23	22
<i>Affinité médiane</i>	1	2	2
<i>Affinité moyenne</i>	1.7	2.0	1.7

Source : (Tachet *et al.*, 2010)

9.7 Tableau récapitulatif des TMF issus de cette étude

TMF déterminés selon les 3 approches statistiques pour PFOS (somme des isomères L et R), HBCDD (somme des isomères α , β et γ et par isomère) et PBDE (BDE 47, 99, 100 et Σ PBDE_{DCE}) : [Summary_TMF](#)

9.8 Valorisation

- *Affiches*

Manifestation	Lieu	Année	Titre	Auteurs
ICEI 2013 - 20th International Conference on Environmental Indicators	Trèves (D)	09/2013	Monitoring of priority substances in biota: feedback from past programs and proposals	M. Babut, D. Gonzalez, A. Mathieu, S. Pradelle, O. Perceval
24th SETAC Europe Conference	Bâle (CH)	05/2014	Is perfluorooctane sulfonate (PFOS) biomagnified in riverine food webs? A case study of two French rivers.	M. Babut, P. Labadie, G. Munoz, H. Budzinski, B.J.D. Ferrari, D. Bertin, O. Perceval
Colloque SEFA	Bordeaux (F)	07/2015	Etude de la bioamplification des isomères de l'hexabromocyclododécane (HBCD) dans des poissons et invertébrés d'eau douce Etude de la bioamplification des composés perfluoroalkyles (pfas) chez les organismes aquatiques d'eau douce	M. Lauzent, P. Labadie, M. Babut, H. Budzinski C. Simonnet-Laprade, P. Labadie, M. Babut, H. Budzinski

- *Communications orales*

26th SETAC Europe Conference	Nantes (F)	05/2016	Study of biomagnification of poly- and perfluoroalkyl substances on fresh water food webs Biomagnification study of hexabromocyclododecane isomers in freshwater fish and invertebrates	C Simmonet-Laprade, M. Lauzent, G. Munoz, K. Le Menach, BJD Ferrari, M. Babut H. Budzinski M. Lauzent, P. Labadie, S. Augagneur, K. Le Menach, B.J.D. Ferrari, M. Babut, H. Budzinski
------------------------------	------------	---------	--	--

Irstea

1, rue Pierre Gilles
de Gennes
CS 10030
92761 Antony

01 40 96 61 21

www.irstea.fr

**UMR EPOC, Equipe
LPTC**

Bâtiment A12
351 cours de la Libération
33405 Talence

05 40 00 33 16

<http://www.epoc.u-bordeaux.fr/>

Centre Ecotox

Dübendorf
Oekotoxzentrum
Eawag
BU F 15-19
Überlandstrasse 133
CH-8600 Dübendorf
Lausanne
Centre Ecotox
EPFL ENAC IIE-GE
GR B0 391/392
Station 2
CH-1015 Lausanne

+41 (0) 58 765 55 62

<http://www.centreecotox.ch/>

Onema

Hall C – Le Nadar

5, square Félix Nadar
94300 Vincennes

01 45 14 36 00

www.onema.fr