



HAL
open science

Programme PIREN-Seine - Phase 6 Axe 4: “ Ecologie & Ecotoxicologie ” Les déterminants de la qualité écologique du milieu aquatique

Alain Geffard, Evelyne Tales, Céline Le Pichon, Aurélia Mathieu, Amandine Zahm, Deborah Slawson, Marie-Bernadette Albert, Mathieu Girondin, Mathieu Roy, Romain Chevalier, et al.

► To cite this version:

Alain Geffard, Evelyne Tales, Céline Le Pichon, Aurélia Mathieu, Amandine Zahm, et al.. Programme PIREN-Seine - Phase 6 Axe 4: “ Ecologie & Ecotoxicologie ” Les déterminants de la qualité écologique du milieu aquatique. [Rapport de recherche] irstea. 2015, pp.172. hal-02602455

HAL Id: hal-02602455

<https://hal.inrae.fr/hal-02602455>

Submitted on 16 May 2020

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.



Programme PIREN-Seine
Rapport de synthèse 2011-2015
Volume 4

“Ecologie et Ecotoxicologie”

Direction et secrétariat :
UMR CNRS 7619 Metis
Université P&M Curie
Tour 56, 3e étage, boîte 105
4, place Jussieu
75252 Paris cedex 05



Programme PIREN-Seine

Rapport de synthèse phase 6 (2011-2015)

Axe 4

“Ecologie et écotoxicologie:

Les déterminants de la qualité écologique du milieu aquatique”

Sommaire général

« Ecologie et Ecotoxicologie » : Introduction et éléments de contexte.....	3
Influence des aménagements sur les peuplements de poissons.....	5
Approche intégrée pour l'évaluation de la qualité de l'axe Seine.....	57
Annexes.....	157

« Ecologie et Ecotoxicologie » : Introduction et éléments de contexte¹

Alain Geffard¹ et Evelyne Talès²

¹ UMR-I 02 INERIS-URCA-ULH Stress Environnementaux et Biosurveillance des milieux aquatiques (SEBIO), Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

² UR Hydrosystèmes et bioprocédés (HBAN), Equipe Hydroécologie fluviale, Irstea, Antony, France

* *alain.geffard@univ-reims.fr*

Les organismes vivants dans le milieu aquatique sont soumis à de multiples pressions combinées : chimique, hydro-morphologique, thermique, trophique (matière organique, eutrophisation...), qui impactent, et éventuellement perturbent leur fonctionnement. La santé des individus qui composent la biocénose peut aussi être altérée par ces différentes pressions. S'il est possible de faire des relations causales entre une pression et une réponse biologique, l'enjeu aujourd'hui est de pouvoir prédire les conséquences sur les différentes composantes de la biocénose de l'ensemble des pressions qui interagissent. L'observation des organismes vivants, à différents niveaux d'organisation (la cellule, l'organe, l'organisme, la population, ou la communauté) est proposée depuis plusieurs années pour renseigner sur l'état de santé des organismes, des communautés (bio-indication de type DCE), sur l'état écologique global du milieu, ou sur l'impact des contaminants chimiques (biomarqueurs en écotoxicologie).

Au cours de la phase 6 PIREN-Seine, nous avons étudié à la fois comment les observations faites sur la biocénose peuvent nous renseigner sur les impacts des différentes pressions, y compris la pression chimique (domaine de l'écotoxicologie), mais aussi comment la multiplicité de ces pressions (caractéristique d'un bassin versant très anthropisé comme l'est celui de la Seine), ou les modifications de ces pressions, impactent le vivant.

Ces recherches résolument pluridisciplinaires se sont articulées autour de 3 grandes actions :

- La première a porté sur l'évolution des communautés vivantes, particulièrement les peuplements de poissons, en réponse aux modifications du cours d'eau : elle permet de donner des informations sur l'impact de la restauration à venir et sur l'analyse rétrospective des modifications passées.
- La seconde se focalise plus particulièrement sur l'évaluation de la pression chimique et son impact sur les organismes du milieu. Cette action a considéré la complexité du milieu par l'étude de trois sites ateliers (Marnay, Bougival et Triel) durant trois campagnes de prélèvement. Suite à une caractérisation physico-chimique du milieu, le potentiel écotoxique a été évalué par des approches *in situ* et en conditions contrôlées à partir de réponses mesurées du niveau moléculaire à la communauté.
- Enfin une troisième action a eu pour objectif d'appliquer un panel d'outils sur un grand nombre de sites (20) couvrant le bassin versant de la Seine, pendant trois années, pour comparer les bioindicateurs classiquement utilisés et différents biomarqueurs. Il s'agissait de proposer une approche intégrée de l'état écologique des cours d'eau du bassin de la Seine. Ce travail a fait l'objet d'un projet, BioMarqu'Indic, intégralement soutenu par l'agence de l'eau Seine Normandie (pilote par l'Irstea Antony). Ainsi les résultats seront présentés en 2016 dans le rapport final du projet et ne sont pas intégrés au présent rapport de la phase 6.

¹ En bibliographie, cet article sera cité de la façon suivante :
Geffard A., Talès E., (2016) – Introduction et éléments de contexte. Dans « Ecologie et écotoxicologie », PIREN-Seine, Rapport de synthèse 2011 – 2015.

Le présent document synthétise l'ensemble des travaux réalisés dans le cadre de l'axe 4 « Ecologie et Ecotoxicologie – Les déterminants de la qualité écologique du milieu aquatique » de cette phase 6. Il est ainsi organisé en deux grands chapitres intitulés « *Influence des aménagements sur les peuplements de poissons* » et « *Approche intégrée pour l'évaluation de la qualité de l'axe Seine* », correspondant respectivement aux principaux résultats et enseignements issus des études menées autour des première et deuxième actions présentées ci-dessus.

Influence des aménagements sur les peuplements de poissons²

Evelyne Talès*, Céline Le Pichon, Aurélia Mathieu, Amandine Zahm, Deborah Slawson,
Marie-Bernadette Albert, Mathieu Girondin, Mathieu Roy, Romain Chevalier, Sarah
Beslagic, Olivier Delaigue, et Jérôme Belliard

UR Hydrosystèmes et bioprocédés (HBAN), Equipe Hydroécologie fluviale, Irstea,
Antony, France
*evelyne.tales@irstea.fr

Sommaire

1	Introduction	5
2	Analyse rétrospective de l'évolution des peuplements de poissons dans les cours d'eau du bassin de la Seine depuis le 18e siècle.....	6
3	Vers la restauration efficace des cours d'eau : évaluer les conséquences écologiques des opérations de restauration.....	22
4	Conclusion générale et perspectives	52
5	Références bibliographiques	53

1 Introduction

L'influence des aménagements des cours d'eau sur les peuplements de poissons est abordée par deux voies. Tout d'abord elle est étudiée dans une perspective historique, de manière à évaluer comment cette influence à évoluer sur le long terme, et quelles conséquences écologiques elle a entraînées. L'état écologique actuel est le fruit de cette évolution. Par ailleurs, contrairement aux situations passées où les aménagements des cours d'eau étaient essentiellement conçus pour répondre aux développements des activités humaines (maîtrise des crues et des étiages, adaptation des voies d'eau à la navigation, exploitation de l'énergie hydraulique par exemple), de nouveaux types d'aménagements sont à l'œuvre actuellement, en lien avec les nouvelles orientations en matière de politique de l'eau (Directive cadre européenne sur l'eau notamment). Ces aménagements consistent donc dorénavant à intervenir sur les cours d'eau pour restaurer leur état écologique. Initialement conçus dans ce but, leur efficacité n'est cependant pas toujours avérée. Les conséquences écologiques d'opérations de restauration en cours, visant à rétablir leur continuité (effacement de seuils et petits barrages), sont étudiées dans cet objectif d'évaluation de leur efficacité.

² En bibliographie, cet article sera cité de la façon suivante :
Talès E. et al., (2016) – Influence des aménagements sur les peuplements de poissons. Dans « Ecologie et ecotoxicologie », PIREN-Seine, Rapport de synthèse 2011 – 2015.

2 Analyse rétrospective de l'évolution des peuplements de poissons dans les cours d'eau du bassin de la Seine depuis le 18^e siècle

Dans ce travail, l'état écologique des cours d'eau est abordé par l'examen des peuplements de poissons. Il peut être défini à un moment donné, mais il est en tout cas conditionné par des événements et des processus passés. En étudiant l'évolution des peuplements de poissons à deux échelles de temps, sur le long terme depuis la fin du 18^e siècle et sur le moyen terme depuis les années 1970, il est possible de reconstituer la trajectoire d'évolution passée de l'état écologique. La connaissance de cette évolution à long terme vise un double objectif : (i) mieux anticiper les futurs possibles des cours d'eau dans les prochaines décennies en comprenant mieux les processus en jeu et leur vitesse de mise en œuvre et, (ii) contribuer au débat sur la notion de situations de référence à la base des logiques actuelles d'évaluation et de gestion des cours d'eau.

2.1 Evolution à long terme des peuplements de poissons³

L'objectif du présent travail est de rendre compte des mécanismes d'évolutions de la distribution des espèces piscicoles sur le temps long en interaction avec les différentes actions anthropiques sur le cours d'eau⁴.

Le contexte géographique dans lequel s'inscrit ce travail est celui du bassin de la Seine. Espace largement anthropisé et ce depuis de nombreux siècles, le bassin de la Seine se prête à une telle étude. Par ailleurs, de nombreuses recherches écologiques sur les poissons sont réalisées actuellement. Il a donc semblé évident, étant donné le manque de données se rapportant aux poissons sur le temps long (notamment dans les cours d'eau et contrairement aux étangs qui font déjà l'objet d'études), qu'un travail croisant deux types d'approches, historique et écologique, avait ici sa place.

Quant au choix de l'échelle temporelle, nous nous sommes limités aux deux derniers siècles. D'abord parce que les sources écrites plus anciennes sont à la fois plus rares, plus difficiles d'accès et plus complexes à analyser; il est évident, par exemple, que plus on remonte dans le temps, plus la dénomination des espèces, avant l'adoption d'une nomenclature scientifique standardisée, est floue et sujette à interprétation. Ensuite, étant donné le nombre important de documents à traiter et le temps imparti pour ce travail, il a fallu se limiter à un intervalle chronologique précis. Ainsi avons-nous choisi de ne prendre en compte que les données postérieures à la révolution française. Historiquement, on se place dans la période contemporaine qui couvre les 19^e et 20^e siècles.

³ Des éléments plus détaillés portant sur l'évolution des peuplements de poissons de la Seine sont notamment disponibles dans les documents suivants :

Beslagic, S., Belliard, J., and Petit, C. (2013a). Apport des données historiques dans la compréhension de l'évolution des peuplements piscicoles : le bassin de la Seine au cours des deux derniers siècles. *Revue du Nord - Hors Série Collection "Art et Archéologie"*, 19, 31-39.

Beslagic, S., Marinval, M.-C., and Belliard, J. (2013b). CHIPS: A database of historic fish distribution in the Seine River basin (France). *Cybium*, 37(1-2), 75-93.

Beslagic, S. (2013). Histoire des interactions entre les sociétés humaines et le milieu aquatique durant l'Anthropocène : évolutions des peuplements piscicoles dans le bassin de la Seine. *Thèse de doctorat*, p. 335. Université Paris 1 Panthéon-Sorbonne, Paris.

⁴ Au-delà du Programme PIREN-Seine ce travail a également bénéficié d'un soutien financier de l'ONEMA, notamment pour tout ce qui concerne la phase de recueil de données.

2.1.1 Méthodes et analyses

Les sources

Ce travail se base essentiellement sur la collecte de données issues des sources écrites. Ce sont, ainsi, des milliers de documents qui ont été consultés au sein des Archives nationales et départementales ainsi que dans diverses bibliothèques. Sur ces sources potentielles, 282 ont pu être exploitées (il est à noter que beaucoup d'archives recèlent des données sur les cours d'eau en général mais celles qui livrent des informations sur les espèces de poissons présentes dans un cours d'eau sont généralement éparées et beaucoup moins nombreuses). Parmi ces 282 sources, une moitié est composée de documents imprimés, l'autre moitié de sources manuscrites dont une importante proportion de documents administratifs (e.g. rapports).

Plus précisément, ces sources manuscrites ont été versées par les ministères de l'Agriculture et des Travaux publics. Ce sont des documents d'enquête ministériels, produits par des institutions de l'État tels que les Ponts et Chaussées et les Eaux et Forêts, deux grands corps techniques en charge de l'aménagement du territoire pour la période qui nous intéresse.

En tenant compte de la nature de ces sources, de leur provenance et du contexte dans lequel elles ont été produites, nous avons pu estimer que près de 90 % des données recueillies sont fiables et 9 % semblent en partie certaines. La part des renseignements qui apparaissent comme douteux semble être minime : il s'agit bien souvent de simples témoignages qui n'ont pu être vérifiés et recoupés.

Les données recueillies ont permis l'élaboration d'une base de données historiques, la base de données CHIPS (Catalogue Historique des Poissons de la Seine ; Beslagic *et al.*, 2013b) qui recense les observations (présence ou absence) d'espèces piscicoles entre la fin du 18^e siècle et le début du 20^e siècle. Ces informations sont accompagnées de renseignements sur l'introduction ou la disparition de certaines espèces, les dates et lieux de fraye, les dates de remontées et de descentes des migrateurs, ainsi que les limites amont des remontées. Des données supplémentaires concernant l'abondance des espèces sont également parfois disponibles.

La majeure partie des informations ont été relevées dans les cours d'eau (80 %), le reste étant réparti entre les canaux et les plans d'eaux (étangs, lacs)

Les cours d'eau les mieux documentés sont d'abord la Seine, qui comptabilise 25 % des références, puis les affluents directs : l'Yonne, la Marne, l'Oise, ainsi que d'autres cours d'eau de la Bourgogne et de la Haute-Normandie — régions assez bien documentées du point de vue historique.

La plupart des espèces identifiées sont assez communes dans le bassin de la Seine (**Figure 2.1**). Ce sont également des espèces préférentiellement capturées par les pêcheurs pour la consommation. En termes de nombre d'observations, la truite est l'espèce la plus citée, suivie du saumon atlantique, de la perche, du brochet et de l'anguille. Ces poissons, très prisés des pêcheurs, ont fait également l'objet d'une attention particulière au cours des siècles passés de la part des institutions en charge de la protection du poisson (enquêtes sur la disparition de certaines espèces, tentatives de repeuplement, etc.). Viennent ensuite des espèces telles que le chevaine, le goujon, la brème commune et la tanche. Les cyprinidés, notamment les différentes sortes de carpes qui n'ont pu être différenciées, représentent également un nombre important d'observations.

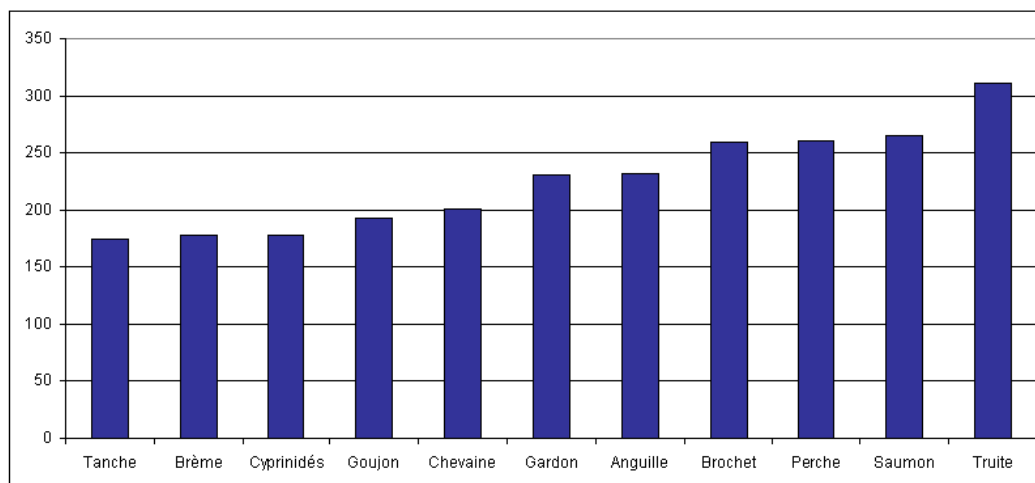


Figure 2.1 : Principales espèces piscicoles mentionnées dans les sources historiques (nombre total d'observations pour chaque espèce)

Sélection de secteurs de cours d'eau

Afin de rendre compte de la trajectoire temporelle des peuplements, nous avons sélectionné des secteurs de cours d'eau sur lesquels la présence de poissons pouvait être décrite en considérant des intervalles de temps de 10 ans, à la fois pour la période « historique » (avant 1950) mais également pour la période actuelle (après 1990).

Les données anciennes étant relativement hétérogènes et/ou incomplètes, nous avons sélectionné des cours d'eau pour lesquels des données relativement précises et exhaustives existent. Par ailleurs, pour certaines grandes rivières, compte tenu de l'hétérogénéité spatiale potentielle des peuplements piscicoles, nous avons été amenés à distinguer plusieurs secteurs de cours d'eau.

Nous avons identifié les secteurs de cours d'eau pour lesquels étaient disponibles à la fois, un certain nombre d'observations de poissons, mais également des précisions quant à leur localisation géographique, c'est-à-dire le nom du département ou le nom de la localité où le poisson a été observé. Dans un second temps, nous avons vérifié si la composition des peuplements pouvait être décrite précisément et avons complété ces données par des éléments plus récents recensés dans les enquêtes et les inventaires d'espèces réalisés par la Société centrale d'Aquiculture et de Pêche, réalisés à la fin des années 1960. Nous avons vérifié que ces données n'étaient pas biaisées (non prise en compte systématique de certaines espèces) et avons notamment rejeté celles axées uniquement sur les espèces commerciales ou halieutiques. Enfin, pour certains secteurs nous avons eu recours aux données des cartes piscicoles anciennes, datées des années 1960-1980.

Nous avons ensuite vérifié si des données de présence actuelles existaient pour les secteurs retenus afin de pouvoir effectuer un exercice de comparaison entre les périodes anciennes et la période actuelle. Ces données sont issues des opérations de pêche électrique menées par l'Office national de l'eau et des milieux aquatiques (ONEMA). Pour la période actuelle, nous disposons de 3795 opérations de pêche, effectuées entre juin 1981 et mai 2010, et réparties sur 1384 stations de pêches sur le bassin de la Seine.

Au final, 31 secteurs de cours d'eau, situés dans des contextes géographiques différents, ont été retenus. Ils couvrent une large partie du bassin de la Seine, depuis les zones relativement rurales, situées en amont (en Bourgogne principalement) jusqu'à l'estuaire (Haute-Normandie) en passant par des zones plus urbanisées et densément peuplées (Ile-de-France ; **Figure 2.2**). Une description des assemblages de poissons existent sur chacun de ces secteurs pour au moins une période ancienne et une période récente. Par ailleurs, certaines données (historiques ou actuelles) peuvent couvrir différentes périodes.

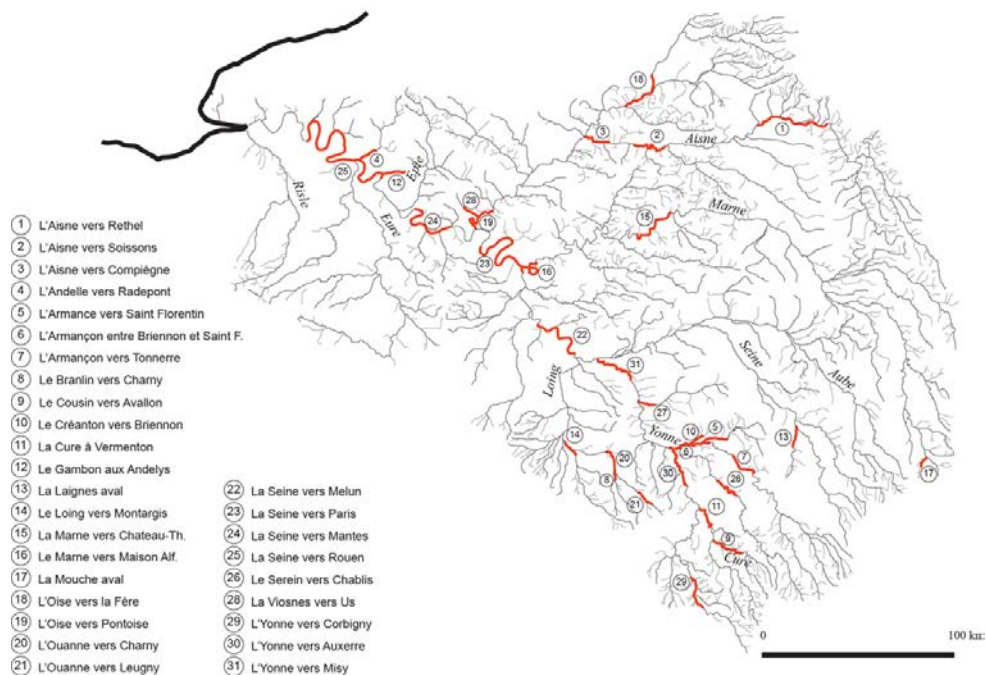


Figure 2.2 : Les différents secteurs de cours d'eau du bassin de la Seine retenus pour l'analyse

En fonction des données disponibles, nous avons découpé les grandes rivières en plusieurs secteurs (c'est notamment le cas de la Seine, de l'Yonne, de l'Aisne), tandis que les plus petits cours d'eau ne comptent qu'un seul secteur. Le découpage a été effectué en fonction des caractéristiques écologiques et hydro-morphologiques (pente, vitesse du courant, présence d'une confluence, etc.) des secteurs considérés.

Analyse statistique de trajectoires temporelles

Nous avons ensuite procédé à une analyse factorielle des correspondances (AFC) afin de définir un cadre d'analyse permettant d'interpréter les trajectoires temporelles des peuplements de poissons sur les différents secteurs considérés. Pour construire ce cadre d'analyse, nous avons utilisé l'ensemble des relevés spécifiques des opérations de pêches actuelles disponibles sur le bassin de la Seine, soit 1384 relevés répartis sur l'ensemble du bassin. Cette AFC résume la manière dont s'organisent les peuplements sur le bassin, selon un gradient d'association d'espèces conforme aux schémas théoriques de la zonation de Huet (Huet, 1949) avec la succession classique des zones à truite, ombre, barbeau, et brème.

Pour chacun de nos secteurs d'étude, en projetant les différents relevés temporels dans cette analyse (projection en « individus supplémentaires »), on va donc pouvoir reconstituer une «trajectoire» fonction de la manière dont les peuplements piscicoles se sont modifiés au cours du temps.

2.1.2 Principaux résultats

Cas des migrateurs sur l'ensemble du bassin

Pour certaines espèces de migrateurs, nous avons réalisé des cartes illustrant l'évolution de leur aire de répartition dans le bassin de la Seine. Les deux espèces illustrées ici sont le saumon atlantique et la grande alose (**Figure 2.3**) mais des tendances temporelles comparables pourraient être obtenues pour d'autres espèces comme par exemple l'aloise finte ou la lamproie marine.

Grâce à ces données, nous pouvons mettre en évidence les principaux axes migratoires actifs du saumon atlantique et de l'aloise au cours du 19^e siècle ; les cours d'eau où leur présence était plus sporadique ainsi qu'un certain nombre de zones de repeuplement déjà mises en place au 19^e siècle.

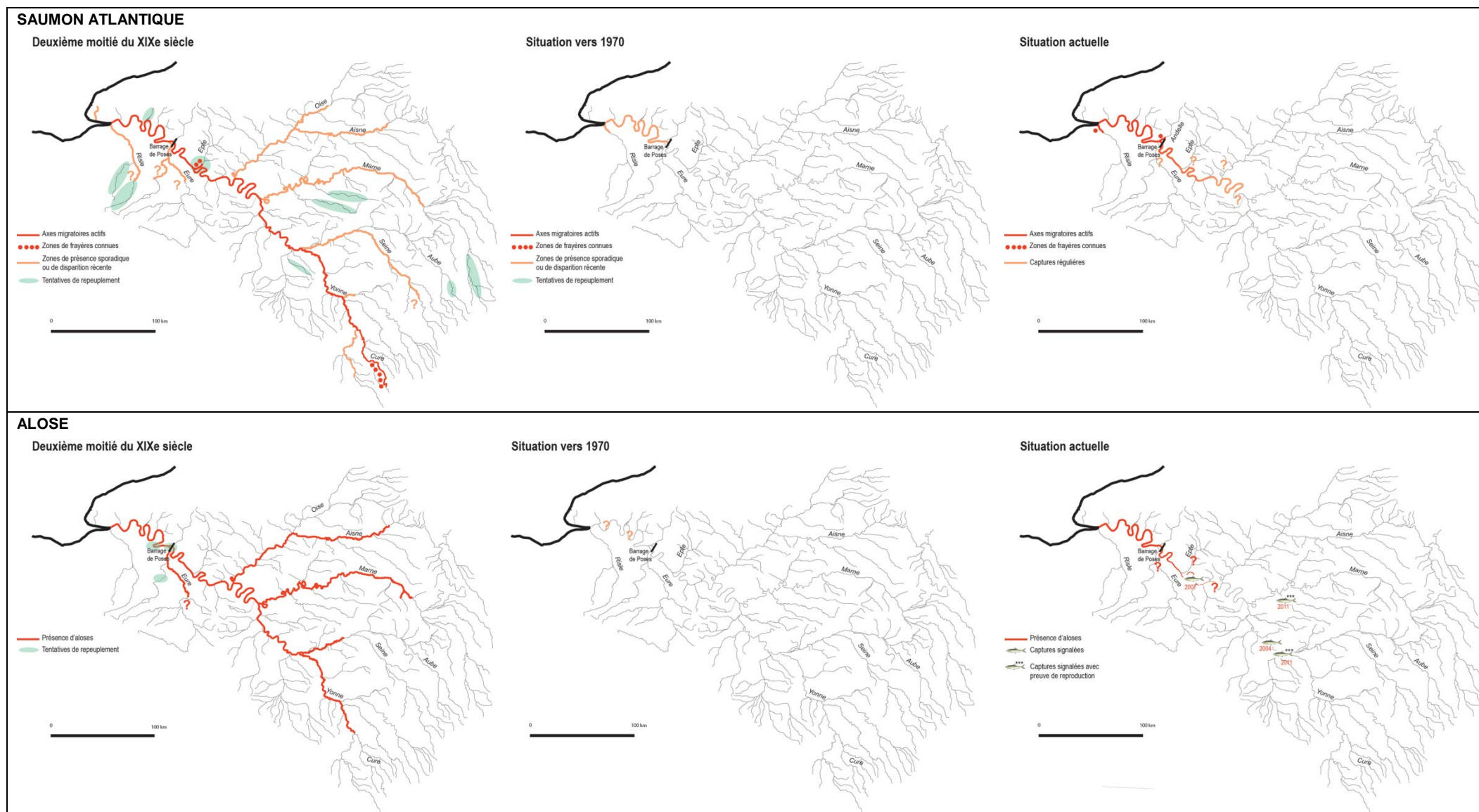


Figure 2.3 : Évolutions des répartitions du saumon atlantique et de l'aloise dans le bassin de la Seine depuis le 19e siècle

Pouvoir suivre sur le temps long et à différents pas de temps la distribution des espèces dans le bassin de la Seine permet d'avoir une image plus précise des phénomènes ayant eu une action sur la répartition des poissons. Par exemple, dans le cas des migrateurs et en particulier du saumon, la construction des barrages en zone aval de la Seine a été l'un des facteurs majeurs dans le phénomène de raréfaction jusqu'à sa disparition complète au milieu des années 1950. Le barrage de Poses mis en service en 1885, est à l'origine de cette chute de la représentation des espèces migratrices dans les cours d'eau. Dans la première décennie du 20^e siècle, on ne capture plus que quelques dizaines de kilogrammes de saumons dans la Seine alors que ce chiffre s'élève à 57 tonnes pour le bassin de la Loire (Euzenat *et al.*, 1992). Ne pouvant plus accéder aux zones de frayères situées en amont du bassin, l'espèce disparaît. Plus tard, dans les années 1970, d'importantes crises anoxiques ont lieu à l'aval de la station d'épuration d'Achères qui sont responsables de la disparition des migrateurs au cours de cette période (Rochard *et al.*, 2007). Aujourd'hui, le saumon semble de nouveau remonter la Seine, au moins jusqu'en aval de Paris. Des captures sont régulièrement réalisées : en 2008, par exemple, 159 saumons ont franchi la passe à poissons du barrage de Poses. Concernant l'aloise, elle semble avoir déserté le bassin de la Seine au cours de la première moitié du 20^e siècle. On ne relève alors plus sa présence dans les cours d'eau qu'elle fréquentait encore à la fin du 19^e siècle, comme l'Oise, l'Aisne, la Marne, l'Aube ou encore l'Yonne. Aujourd'hui, la situation semble avoir quelque peu évolué puisque l'aloise recolonise, bien que timidement, le bassin de la Seine. Elle est présente dans la Seine, depuis l'estuaire jusqu'en aval du barrage de Poses. Par ailleurs, des captures sont signalées dans le grand Morin et plus en amont dans la Seine, ainsi que des preuves de reproduction ; signe que cette espèce pourrait peut-être recoloniser le bassin de façon "durable" (Belliard *et al.*, 2009).

Trajectoires temporelles du peuplement de poissons de quatre secteurs de la Seine

A partir du cadre d'interprétation constitué par les plans de l'AFC réalisée sur les données actuelles concernant les peuplements de poissons sur 1384 stations du bassin de la Seine, quelques exemples de trajectoires temporelles sur certains secteurs du bassin de la Seine vont être présentés par projection des données concernant les secteurs sélectionnés.

Les deux premiers graphiques représentent l'évolution des peuplements de poissons sur la Seine vers Paris et Rouen (**Figure 2.4**). Au niveau de Paris, plusieurs décennies d'observation ont été prises en compte depuis 1870 jusqu'à 2010. Par rapport à la fin du 19^e siècle, les peuplements actuels de poissons aux alentours de la capitale sont représentés par une plus large proportion d'espèces limnophiles, situées à gauche du plan. Cependant au milieu du 20^e siècle, les peuplements semblent avoir connu une évolution singulière marquée par un caractère paraissant moins limnophile. Cette situation correspond en fait à une diminution de la richesse en espèces dans ce secteur, observée durant les périodes où les niveaux de pollution étaient les plus intenses (Talès *et al.*, 2015). Durant ces périodes (et notamment vers les années 1950), les dernières espèces qui subsistent sur ce secteur (notamment gardon, perche et chevaine) sont des espèces très tolérantes aux pollutions et qui sont par ailleurs positionnées en situation intermédiaire sur le gradient de rhéophilie/limnophilie. Les espèces limnophiles moins tolérantes ont alors disparu ou se sont considérablement réduites. Il est remarquable de constater que le secteur de la Seine aval qui a connu globalement le même type d'évolution des conditions environnementales, montre des trajectoires d'évolution des peuplements très similaires.

D'autres exemples que nous avons choisi de montrer concernent la partie plus amont du bassin. Le premier montre la trajectoire des peuplements sur une petite rivière en contexte rural : il s'agit du Créanton, un petit affluent de l'Armançon d'une longueur de 18 km et qui se jette dans ce dernier à Brienon-sur-Armançon (**Figure 2.5**). Sur le Créanton, on constate un déplacement des peuplements depuis la zone à barbeau pour la période ancienne (1890-1900) vers des peuplements plus typiques de la zone à truite pour la période actuelle. L'évolution de la trajectoire temporelle est ici tout à fait originale. Elle diffère de la tendance générale visible en aval du bassin de la Seine, qui est celle de l'augmentation de la représentation des espèces d'eaux calmes.

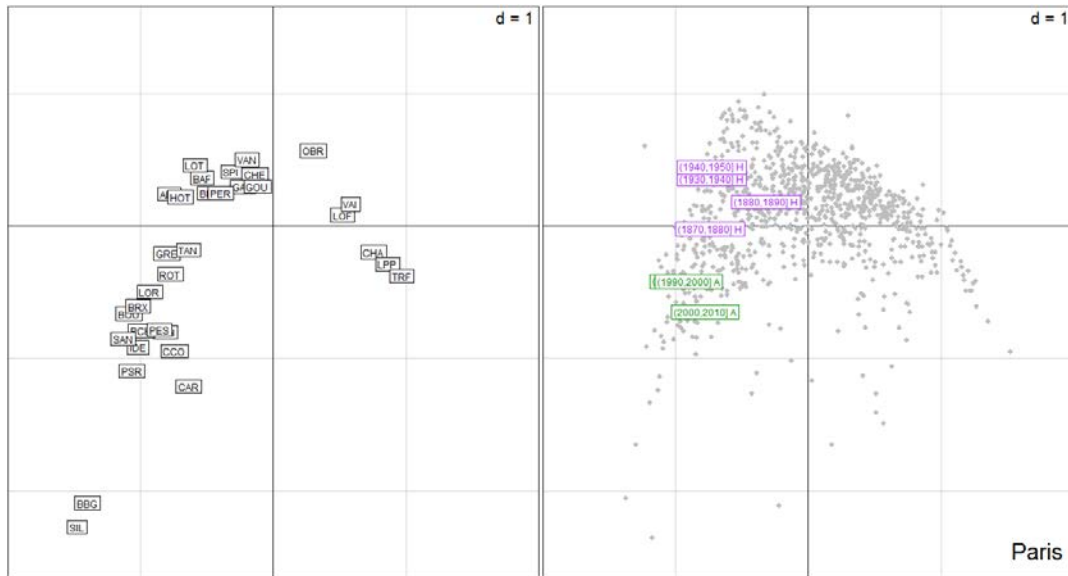
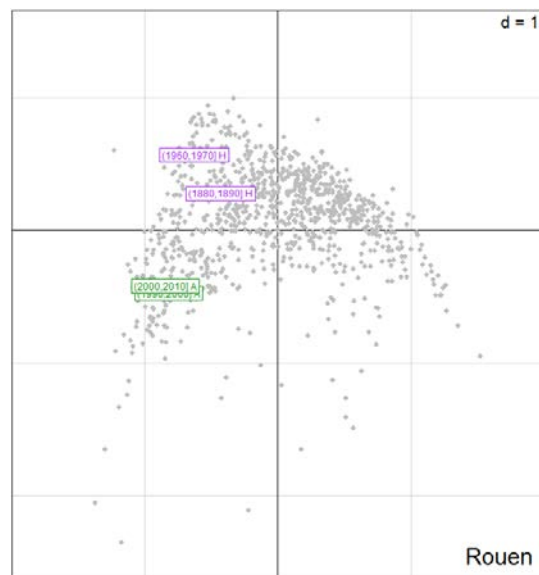


Figure 2.4 : Reconstitution de la trajectoire d'évolution des peuplements sur la Seine, vers Paris et Rouen (en violet : les décennies historiques ; en vert : les décennies actuelles)



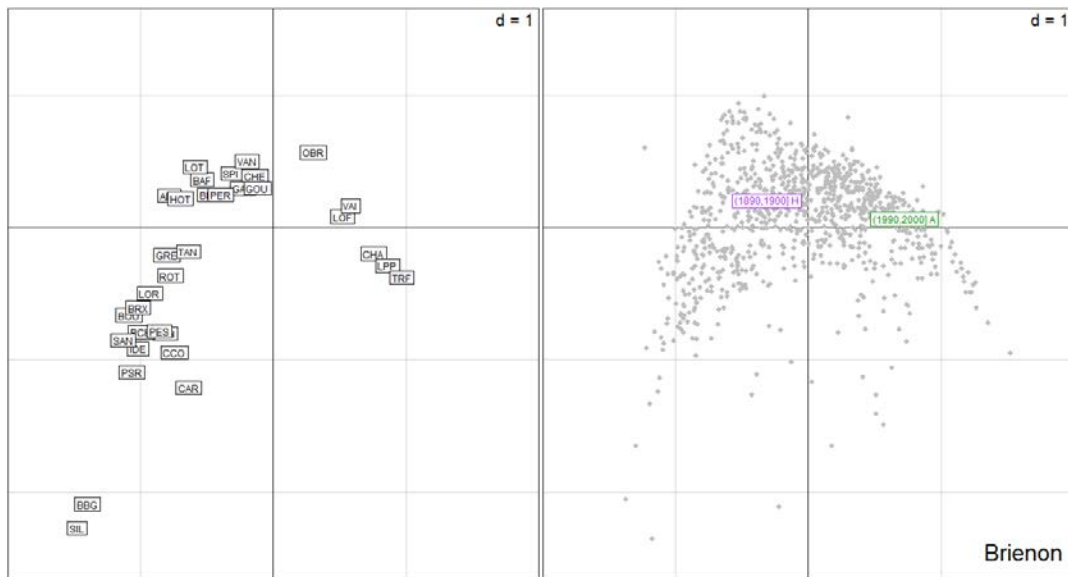


Figure 2.5 : Reconstitution de la trajectoire d'évolution des peuplements sur le Créanton, vers Briennon-sur-Armançon (en violet : la décennie historique ; en vert : la décennie actuelle)

Le second concerne la Viosne, petit bassin du nord-ouest de l'Île de France qui a connu une profonde mutation au cours des six dernières décennies. Vers les années 1940-1950, la Viosne est un bassin essentiellement rural, les peuplements piscicoles qu'elle abrite sont typiques des zones apicales et constitués de truites et de petites espèces d'accompagnement. Quelques décennies plus tard, la zone urbaine parisienne s'est pleinement étendue à ce bassin. Dans le même temps les communautés de poissons ont connu une transformation majeure marquée par une réduction drastique des populations de salmonidés et l'implantation massive d'espèces d'eaux calmes (**Figure 2.6**) sans doute favorisées par l'aménagement physique de la rivière et la dégradation de la qualité d'eau.

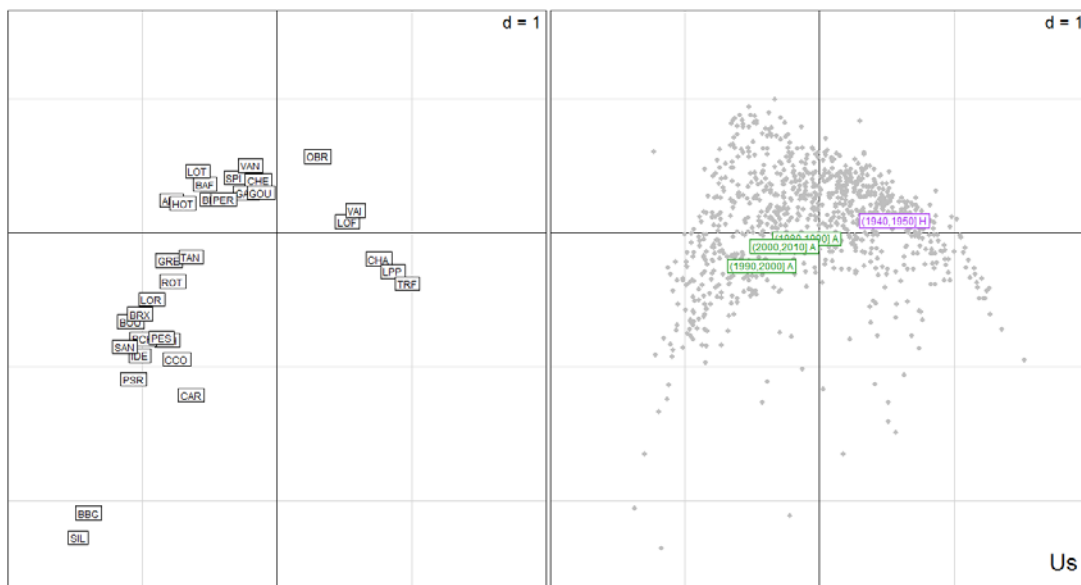


Figure 2.6 : Reconstitution de la trajectoire d'évolution des peuplements sur la Viosne à Us (en violet : la décennie historique ; en vert : la décennie actuelle)

Enfin, sur l'Armançon, au niveau des villes de Briennon-sur-Armançon et de Saint-Florentin, les peuplements de poissons ne semblent pas avoir fortement évolué entre la fin du 19^e siècle et la période actuelle et sont plutôt caractérisés par une majorité d'espèces de type limnophile (**Figure 2.7**).

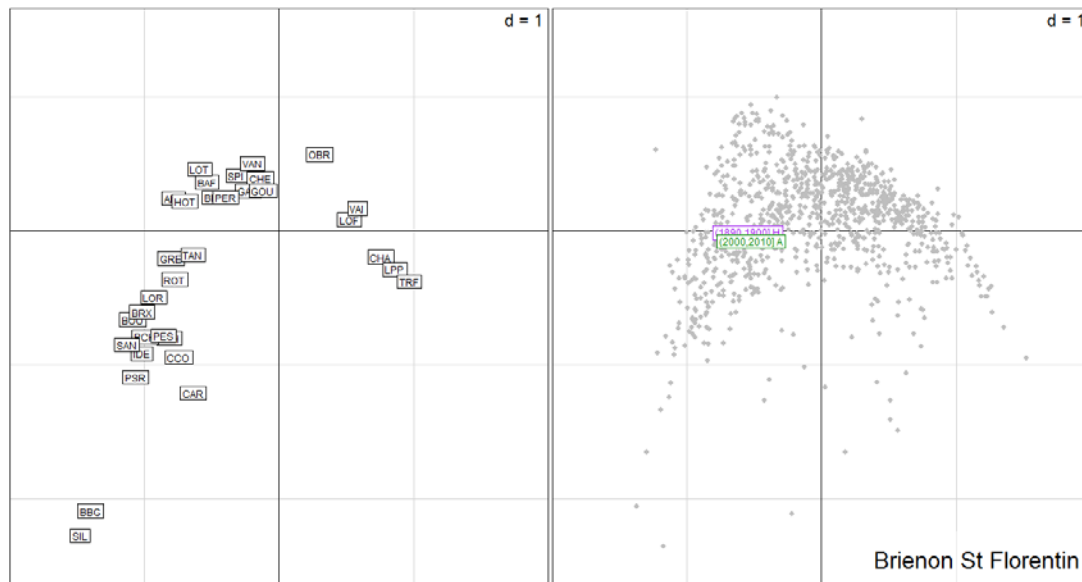


Figure 2.7 : Reconstitution de la trajectoire d'évolution des peuplements sur l'Armançon, vers Briennon-sur-Armançon et Saint-Florentin (en violet : la décennie historique ; en vert : la décennie actuelle)

Ces exemples montrent que divers cas de figures peuvent être rencontrés sur le bassin de la Seine, à savoir une augmentation des espèces d'eaux calmes sur les secteurs de grande rivière et des évolutions plus contrastées sur les petits cours d'eau selon les régions du bassin considérées. Il s'agit maintenant de comprendre les raisons de ces modifications.

2.1.3 Discussion

Sur la Seine, les résultats de l'analyse menée sur les deux secteurs de Paris et de Rouen montrent des situations assez similaires au niveau de ces agglomérations. La très nette tendance à l'augmentation de la représentation des espèces limnophiles sur ces deux secteurs est probablement à mettre en relation avec la dégradation de la qualité de l'eau du fleuve dans son parcours à l'aval de Paris.

Il est ainsi intéressant de constater un déplacement original des peuplements de poissons durant la première moitié du 20^e siècle vers des espèces dites tolérantes. Les eaux de la Seine ont en effet été marquées durant les années 1950-1970 par des épisodes de pollution ayant entraîné des conditions anaérobies sur une centaine de kilomètres à l'aval de Paris (Boët *et al.*, 1999). Au cours de cette période, seules quelques espèces supportant de faibles taux d'oxygène dans l'eau, telles que la perche, le gardon, la brème ou le chevaine, étaient encore présentes dans la rivière.

Si les peuplements de la Seine, dans sa partie aval, ont toujours été marqués par la domination d'espèces de type limnophile, on remarque toutefois une accentuation de cette représentation depuis au moins les vingt dernières années. Le déplacement que l'on constate pour les périodes récentes est probablement à mettre en relation, au moins en partie, avec l'augmentation des espèces introduites. Si certaines de ces espèces ont été introduites au 20^e siècle (Beslagic *et al.*, 2013b), la plupart ne se sont massivement implantées sur le bassin que dans la seconde moitié du 20^e siècle. Dans la mesure où il s'agit plutôt d'espèces d'eaux calmes (e.g. le

silure, la perche-soleil, le black-bass, etc.), elles viennent gonfler la représentation des limnophiles sur ces secteurs.

Toutefois, certaines rivières présentent des schémas d'évolution différents. Ainsi, la situation des peuplements ne semble guère avoir évolué sur l'Armançon (un affluent de l'Yonne) entre la fin du 19^e siècle et aujourd'hui, puisque pour chacune des décennies d'observation (1890-1900 et 2000-2010), les peuplements se situent en positions très voisines. Si les peuplements paraissent avoir été stables pendant tout ce temps, c'est sans doute dû au fait que cette rivière a été aménagée très tôt, non seulement pour la navigation mais également pour le flottage du bois. La navigation sur la rivière de l'Armançon est attestée très anciennement. Déjà au 12^e siècle, elle était naviguée sur sa partie aval, de Briennon-sur-Armançon à la confluence avec l'Yonne. Puis la navigation s'est étendue et jusqu'au 16^e siècle, l'Armançon était navigué jusqu'à Tonnerre, soit plus d'une trentaine de kilomètres en amont de Briennon-sur-Armançon (Quantin, 1888). Plus tard, l'activité de flottage du bois est apparue. Celle-ci était pratiquée sur l'Armançon depuis au moins le 18^e siècle, soit bien avant les plus anciennes données d'observation qui ont été utilisées dans cette analyse. Selon Ravinet (1824), le flottage du bois sur l'Armançon n'était pratiqué que depuis son entrée dans le département de l'Yonne. Des pertuis destinés à l'activité de flottage étaient présents sur la rivière ; un au niveau de Briennon-sur-Armançon et le second au niveau de Cheny. Les aménagements sur cette rivière sont donc relativement anciens et ont probablement impacté très tôt la faune piscicole. C'est sans doute la raison pour laquelle aucun changement significatif n'est perceptible sur ce secteur et que le résultat de notre analyse montre une situation stable depuis la fin du 19^e siècle jusqu'à aujourd'hui.

Il serait possible que des données d'observation de poissons antérieures à ces aménagements puissent nous offrir une image différente du peuplement ancien sur cette rivière.

Pour terminer, la situation sur le Créanton semble différer complètement de ce que l'on a pu constater sur la Seine ou la Viosne. Depuis la fin du 19^e siècle, il semblerait en effet que l'on assiste à la réduction des espèces d'eaux calmes tout en conservant un cortège important d'espèces apicales (typiquement rhéophiles) sur ce cours d'eau. Le Créanton est une petite rivière d'une vingtaine de kilomètres qui était autrefois classée comme rivière navigable. Au 19^e siècle, ce cours d'eau était notamment emprunté pour le flottage du bois, à bûches perdues, sur une longueur de 9 km entre Turny et Briennon-sur-Armançon (Ravinet, 1824). À l'heure actuelle, le flottage du bois a cessé. Il est possible que l'arrêt de ces activités ait eu un impact sur les espèces de poissons et que cela ait pu modifier l'attractivité du secteur pour certaines espèces d'eaux calmes.

Par ailleurs, il semblerait que la qualité de l'eau se soit nettement améliorée ces dernières années sur certains secteurs situés à l'amont du bassin de la Seine, en particulier en contexte rural confortant ainsi certaines espèces rhéophiles souvent exigeantes en matière de qualité d'eau. La diminution des populations humaines sur ces secteurs, ainsi que le changement de pratiques agricoles (les activités de culture ont succédé à l'élevage) ont permis de réduire certains types de pollution (notamment le phosphore et l'azote), dans les rivières (Passy *et al.*, 2013), tout comme l'amélioration des procédés de traitement des eaux usées qui a permis une diminution de la pollution d'origine organique dans les petits cours d'eau de cette partie du bassin (Billen *et al.*, 2007). D'une manière générale, des améliorations sont aujourd'hui perceptibles en zone amont du bassin sur certains petits cours d'eau, en lien probablement avec une déprise démographique dans ces régions qui accompagne également une déprise agricole.

2.2 Evolution contemporaine des peuplements de poissons dans la Seine

L'axe Seine étudié, long de près de 400 km, est compris entre Marnay sur Seine à l'amont (Aube) et Caudebec, à l'aval (Seine Maritime ; **Figure 2.8**). La période d'études s'étend entre 1975 et 2008. Ce secteur est relativement homogène concernant ses caractéristiques géomorphologiques car il est aménagé pour la navigation quasiment dans son intégralité, cet aménagement étant antérieur à la période étudiée. Excepté trois stations, les plus en amont, l'ensemble des stations est donc altéré du fait de cet aménagement.

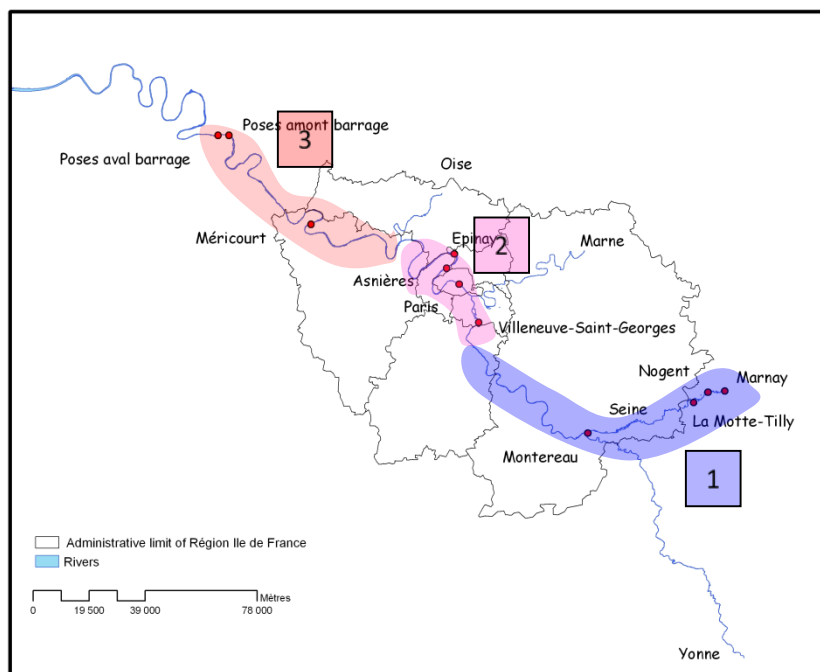


Figure 2.8 : Localisation des principales stations sur l'axe Seine et des trois secteurs d'étude

En revanche, il existe un gradient de dégradation de la qualité physico-chimique en liaison avec la présence de l'agglomération parisienne. C'est pourquoi trois secteurs correspondant à ce gradient seront particulièrement considérés dans l'analyse (**Figure 2.8**). Cette situation a toutefois évolué au cours de la période étudiée. Dans les années 1970, l'agglomération parisienne compte 10 millions d'habitants, dont les rejets d'eaux usées ne sont que partiellement traités à la station d'épuration d'Achères (Seine aval), ce qui entraîne la désoxygénation de la Seine notamment à l'aval de Paris. Au cours de la période étudiée, la collecte et le traitement des eaux usées ont beaucoup progressé, améliorant ainsi la teneur en oxygène de la Seine (Billen *et al.*, 2009). De nouvelles stations d'épuration ont été mises en service, notamment Seine amont en 1987 (sur la Seine en amont de la confluence avec la Marne) et Seine centre en 1998, contribuant naturellement à cette amélioration. Toutefois, des surverses des égouts se rejetant dans la Seine persistent, notamment en aval proche de Paris, et peuvent par moment continuer à altérer l'oxygénation de la Seine (Even *et al.*, 2007).

2.2.1 Méthodes et analyses

Les données utilisées sont issues de bases de données d'échantillonnage des peuplements de poissons réalisés par le Cemagref et l'Onema, entre 1975 et 2008. Au total, le peuplement de poissons a été échantillonné dans 57 stations, lors de 494 opérations de pêche (une opération de pêche correspond à une station pêchée à une date donnée). La méthode d'échantillonnage utilisée, la pêche électrique en bateau, est identique pour toutes les stations. Dans ce type de grand cours d'eau, en général, seules les berges sont prospectées depuis le bateau.

Pour quantifier l'évolution temporelle des peuplements de poissons dans ce secteur de la Seine, la richesse spécifique et la composition en espèces sont observées, ainsi qu'un bioindicateur récemment développé à l'échelle européenne, l'indice poisson européen EFI+ (EFI+ Consortium, 2009). C'est un indice multimétrique qui a été développé pour répondre aux objectifs d'évaluation de la qualité des cours d'eau de la directive cadre européenne. Comme tous les indices compatibles avec la DCE, sa valeur mesure un écart entre la situation observée et la situation de référence établie par modélisation. Il varie potentiellement de 0 à

1. Il inclut la détermination de 2 métriques liées à la préférence d'habitat de reproduction des espèces: le nombre d'espèces rhéophiles et la densité d'espèces lithophiles.

Le calcul d'EFI+ se fait automatiquement grâce à une application logicielle accessible sur la page web du projet (<http://efi-plus.boku.ac.at/software>).

2.2.2 Principaux résultats

Un total de 114 749 individus représentant 45 espèces a été capturé pour l'ensemble des 57 stations jalonnant le secteur d'étude au cours de la période étudiée 1975-2008 (**Tableau 2.1**).

La richesse spécifique est très variable selon les opérations de pêche. Comprise entre 1 et 22 espèces par opération de pêche, elle est en moyenne de 10 espèces. Il en est de même pour les valeurs de EFI+ qui varient de 0,17 à 1 avec une moyenne de 0,57 par opération de pêche.

Evolution longitudinale des peuplements de poissons

A effort de pêche équivalent, on constate une diminution de la richesse spécifique de l'amont vers l'aval de la Seine, indiquant une dégradation du peuplement de poissons. Cette diminution est significative entre les secteurs. De manière analogue, les valeurs de EFI+ ont tendance à décliner de l'amont vers l'aval (**Figure 2.9**), confirmant ce gradient de dégradation.

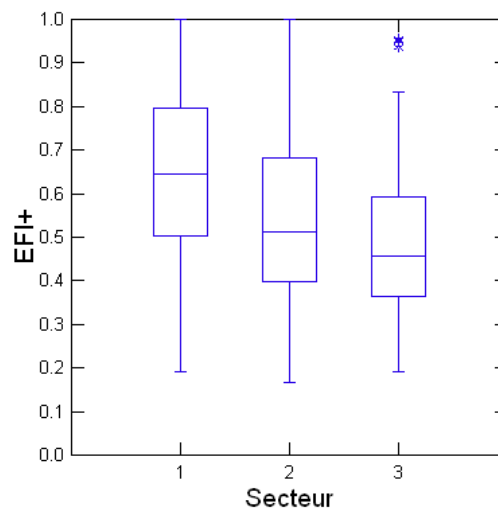


Figure 2.9 : Evolution longitudinale des valeurs de EFI+ dans les trois secteurs : 1 amont (n = 184), 2 Paris (n = 181) et 3 aval (n = 94)

Tableau 2.1 : Occurrence et effectifs des espèces capturées sur l'axe Seine entre 1975 et 2008

Famille	Nom scientifique	Nom commun	Occurrence	Effectifs
Espèces d'eau douce				
Cyprinidae	<i>Abramis brama</i>	Brème	282	1978
	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	Spirin	36	291
	<i>Alburnus alburnus</i>	Ablette	354	19638
	<i>Barbus barbus</i>	Barbeau	123	590
	<i>Blicca bjoerkna</i>	Brème bordelière	188	1787
	<i>Carassius carassius</i>	Carassin	23	80
	<i>Chondrostoma nasus</i>	Hotu	164	1195
	<i>Cyprinus carpio carpio</i>	Carpe	133	297
	<i>Gobio gobio</i>	Goujon	294	4265
	<i>Leucaspis delineatus</i>	Able	2	2
	<i>Leuciscus idus</i>	Ide	3	5
	<i>Leuciscus leuciscus</i>	Vandoise	139	972
	<i>Phoxinus phoxinus</i>	Vairon	15	892
	<i>Pseudorasbora parva</i>	Pseudorasbora	2	4
	<i>Rhodeus amarus</i>	Bouvière	104	1566
	<i>Rutilus rutilus</i>	Gardon	479	50087
	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Rotengle	318	2325
	<i>Squalius cephalus</i>	Chevesne	412	8062
<i>Tinca tinca</i>	Tanche	169	618	
Esocidae	<i>Esox lucius</i>	Brochet	218	1686
Cobitidae	<i>Cobitis taenia</i>	Loche de rivière	43	89
Balitoridae	<i>Barbatula barbatula</i>	Loche franche	58	776
Siluridae	<i>Silurus glanis</i>	Silure	26	81
Ictaluridae	<i>Ameiurus melas</i>	Poisson chat	71	1245
Gadidae	<i>Lota lota</i>	Lote	59	231
	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Epinoche	29	290
	<i>Pungitius pungitius</i>	Epinochette	3	10
Percidae	<i>Gymnocephalus cernua</i>	Grémille	81	329
	<i>Perca fluviatilis</i>	Perche	421	6266
	<i>Sander lucioperca</i>	Sandre	123	507
Centrarchidae	<i>Lepomis gibbosus</i>	Perche soleil	156	1079
	<i>Micropterus salmoides</i>	Black bass	6	10
Cottidae	<i>Cottus gobio</i>	Chabot	59	700
Petromyzonidae	<i>Lampetra planeri</i>	Lamproie de Planer	10	41
Salmonidae	<i>Salmo trutta fario</i>	Truite fario	20	122
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Truite arc-en-ciel	6	6
	<i>Thymallus thymallus</i>	Ombre	1	2
Espèces diadromes				
Petromyzonidae	<i>Lampetra fluviatilis</i>	Lamproie fluviatile	1	1
Salmonidae	<i>Salmo trutta trutta</i>	Truite de mer	1	1
Anguillidae	<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille	421	6867
Pleuronectidae	<i>Platichthys flesus</i>	Flet	18	134
Mugilidae	<i>Chelon labrosus</i>	Mulets	2	4
	<i>Liza ramada</i>		5	250
Moronidae	<i>Dicentrarchus labrax</i> *	Bar	2	2
Gobiidae	<i>Pomatoschistus minutus</i> *	Gobie	4	61

(*) espèces exclusivement estuariennes

Evolution temporelle des peuplements de poissons

Le gradient longitudinal précédemment observé implique donc d'étudier l'évolution temporelle des peuplements de poissons en tenant compte des trois secteurs identifiés.

La richesse spécifique a tendance à augmenter sur les trois secteurs (**Figure 2.10**), mais l'augmentation la plus marquante est observée pour le secteur 1, amont.

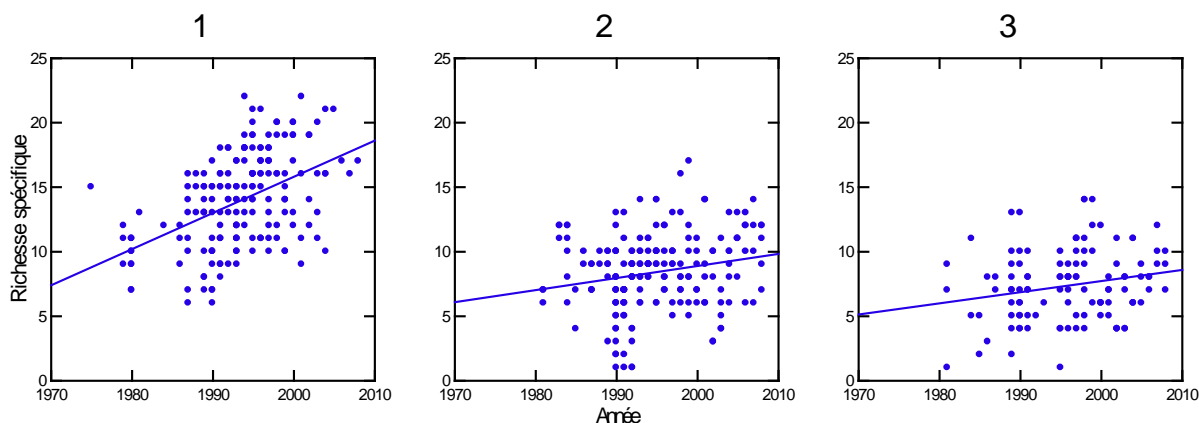


Figure 2.10 : Evolution de la richesse spécifique au cours du temps dans les trois secteurs. Les droites figurent les tendances

Aux trois secteurs, la richesse spécifique est corrélée positivement et significativement avec le temps. Dans le secteur 3, cette relation a été réexaminée en écartant les espèces strictement estuariennes présentes uniquement dans les stations les plus aval: la tendance demeure à l'augmentation, mais la relation positive n'est alors que marginalement significative ($p = 0,052$).

A l'origine de cette augmentation de richesse, il y a plusieurs espèces qui voient leur occurrence s'accroître au cours de la période étudiée, diversement selon le secteur considéré. La perche soleil par exemple est plus courante à partir des années 1990 sur le secteur 1 amont, et plutôt à partir de 1995 sur les secteurs 2 et 3. L'occurrence du silure augmente à partir des années 2000, sauf sur le secteur 3 dans lequel l'espèce n'est jamais capturée au cours de la période étudiée.

Dans le secteur amont, plusieurs espèces ont tendance à être plus courantes sur la fin de la période étudiée, expliquant ainsi la progression notée de la richesse spécifique, particulièrement sur ce secteur. L'occurrence de l'anguille augmente très rapidement juste avant 1990, année à partir de laquelle elle est systématiquement recensée dans chaque pêche. Trois autres espèces, le spirin, le chabot et la bouvière, voient leur occurrence augmenter plus progressivement sur la décennie 1990-2000.

Ce sont d'autres espèces qui progressent dans les secteurs 2 et 3 aval comme par exemple le barbeau, dont l'occurrence a tendance à augmenter à partir de 1996. Pour autant, la situation de cette espèce n'est pas stabilisée car en dépit de cette progression, elle n'est pas du tout observée dans les pêches certaines années.

En revanche, les tendances d'évolution des valeurs de EFI+ sont contrastées selon le secteur considéré. Dans les secteurs 1 et 2, ces valeurs semblent diminuer dans un premier temps puis se stabiliser à partir des années 1990, sans que cette tendance soit significative, ce qui est cohérent avec la dispersion de ces valeurs (**Figure 2.11**). En revanche, pour le secteur 3, les valeurs de EFI+ augmentent significativement au cours de la période étudiée, indiquant une amélioration des peuplements de poissons qui reste toutefois d'ampleur relativement modeste.

Ces tendances peuvent être interprétées au regard des deux métriques composant l'indice. Dans le secteur 1, les deux métriques semblent diminuer au cours du temps sans que cette tendance ne soit significative. Dans le secteur 2, tandis que la métrique "richesse en espèces rhéophiles" augmente, la métrique "densité des

espèces lithophiles" diminue. Les 2 tendances sont significatives mais s'opposent. Dans le secteur 3 enfin, les deux métriques augmentent significativement au cours du temps.

Les tendances d'évolution des valeurs de EFI+ et des deux métriques qui le composent indiquent donc qu'il n'y a pas d'évolution du peuplement de poissons au cours de la période étudiée dans le secteur 1. Dans le secteur 3, à l'inverse, son amélioration est notable. Dans le secteur 2, l'agglomération parisienne, si des changements semblent avoir eu lieu dans la composition des peuplements de poissons, conformément à ce qu'indiquent les variations des deux métriques, les valeurs de l'indice global ne permettent pas de caractériser ces changements.

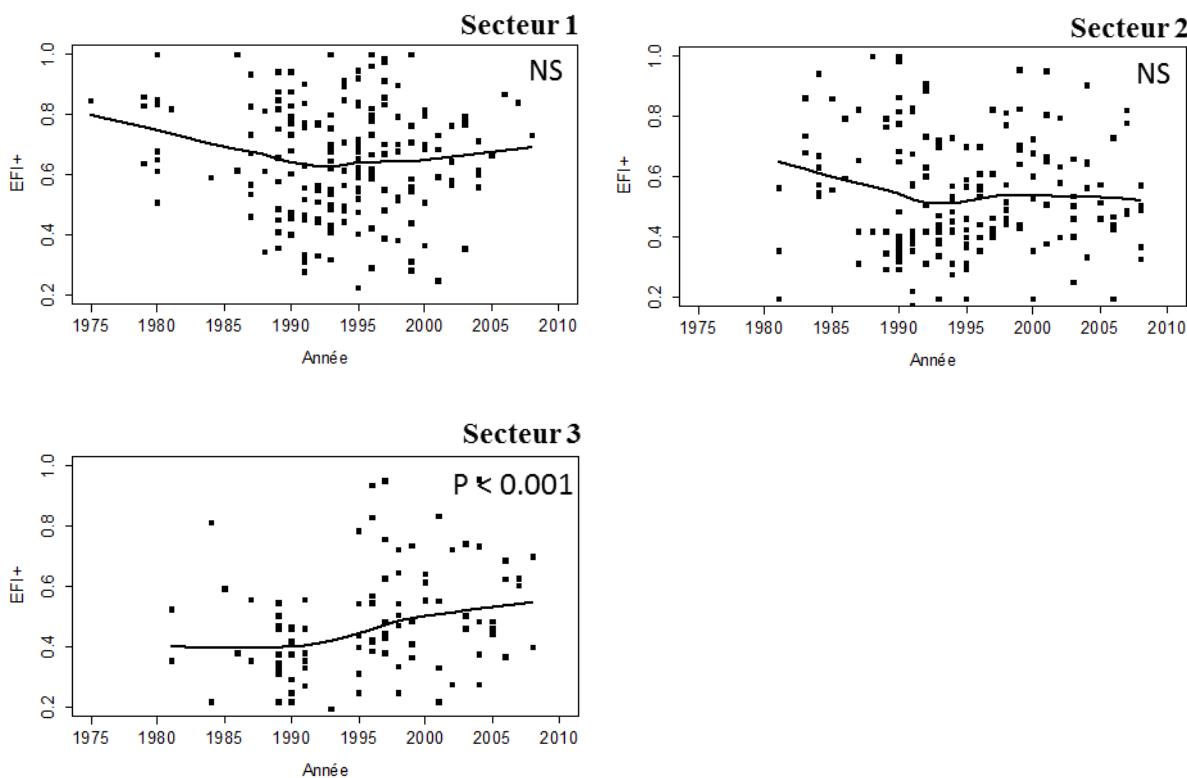


Figure 2.11 : Evolution des valeurs de EFI+ au cours du temps (1975-2008) dans les trois secteurs

2.3 Conclusion

Le recours aux données historiques nous a permis de reconstituer des évolutions des peuplements de poissons sur le temps long. L'intérêt est de pouvoir mettre en évidence certains changements intervenus et de constater leur ancienneté. En effet, contrairement à ce qui est souvent présumé, les transformations de la faune piscicole ont, semble-t-il, une origine parfois très ancienne. Qu'il s'agisse de la qualité de l'eau ou de la dégradation des conditions de vie (transformations de l'habitat, difficulté d'accès aux frayères, etc.), les activités humaines sont responsables de nombreux bouleversements au sein de la faune piscicole du bassin de la Seine depuis au moins les cent cinquante dernières années. D'où l'intérêt d'avoir recours à ce type de données afin de saisir au mieux l'incidence à long terme des aménagements anthropiques sur les rivières et des futures opérations de restaurations actuellement envisagées.

Aux deux échelles de temps appréhendées, des tendances d'évolution sont désormais dégagées. Sur le temps long par exemple, la répartition de certaines espèces migratrices dans les cours d'eau du bassin semble être actuellement dans une phase d'expansion après avoir connu une réduction drastique. De manière analogue, depuis les années 1990, les peuplements de poissons de l'aval de l'agglomération parisienne en particulier

s'améliorent. Ces tendances à une certaine « récupération » récente (mais d'ampleur encore limitée) faisant suite à une dégradation majeure restent toutefois essentiellement circonscrites à la Seine en aval de Paris et ne constitue en aucun cas un schéma transposable à l'ensemble du bassin.

Dans les parties plus apicales du bassin, les évolutions constatées témoignent de situations extrêmement variables. La trajectoire de la Viosne, marquée par une dégradation notable de ses peuplements au cours des six dernières décennies, est conforme aux idées reçues qui conçoivent une dégradation continue de la situation des cours d'eau du bassin de la Seine et une érosion de leur biodiversité. La situation du Créanton, qui montre au contraire des signes d'amélioration (progression de la part des espèces rhéophiles et oxyphiles) est plus inattendue. Ces différences majeures dans les trajectoires des peuplements coïncident avec des contextes anthropiques opposés : dégradation incontestable sur la Viosne en phase d'urbanisation généralisée, des signaux d'amélioration sur le bassin du Créanton qui, sur le plus long terme, connaît une diminution continue de sa population humaine. Reste que les moteurs précis de l'évolution à long terme des peuplements sont encore largement à préciser.

Ces évolutions changeantes au cours du temps posent le problème de la validité du choix de l'état de référence, corollaire de l'état écologique dans la DCE et des cibles visées en matière de restauration. Une vision « naïve », largement véhiculée par le texte de la DCE et les documents techniques associés, considère en effet que les données historiques du 19^e siècle constituent des bases pertinentes pour fonder les évaluations des objectifs de gestions actuels. Cette position repose sur l'hypothèse que, au 19^e siècle, l'industrie reste encore peu développée, l'agriculture peu intensive, et que leurs impacts sur les cours d'eau et leurs biocénoses sont par conséquent réduits. De ces premiers résultats, il peut être déduit qu'un tel raisonnement atteint rapidement ses limites et que, selon la période de référence choisie, les peuplements de poissons diffèrent et de fait, l'état écologique qu'ils contribuent à qualifier aussi. Finalement, caractériser les trajectoires et les différents stades d'évolution des peuplements à l'aide de données historiques permet d'avantage de situer dans un contexte plus large un état donné à un instant t et contribue à envisager de manière plus réaliste comment les peuplements piscicoles sont susceptibles d'évoluer à l'avenir.

3 Vers la restauration efficace des cours d'eau : évaluer les conséquences écologiques des opérations de restauration

En cherchant à maîtriser les débits, les phénomènes d'érosion et de crue, à faciliter le transport par voie navigable ou simplement pour occuper l'espace, l'Homme a profondément modifié la morphologie des cours d'eau et par conséquent leur fonctionnalité. Avec l'adoption de la Directive cadre sur l'eau (DCE) en 2000, l'Europe s'est fixé des objectifs de préservation et de restauration de l'état écologique des masses d'eau. Or, il apparaît que pour 50 % des masses d'eau de surface française, la canalisation des cours d'eau et les obstacles à l'écoulement constituent un « risque de Non Atteinte du Bon Etat ».

Afin de répondre aux problèmes de fragmentation des cours d'eau, la LEMA de 2006 (Loi sur l'Eau et les Milieux Aquatiques) impose un classement avant le 1^{er} janvier 2014 des ouvrages hydrauliques suivant leur impact sur la continuité. Le Grenelle de l'environnement de 2007 a permis la mise en place d'un outil d'aménagement du territoire, baptisé "Trame Verte et Bleue" (TVB). Ce dernier vise à reconstituer un réseau écologique cohérent, à l'échelle du territoire national, afin de permettre aux espèces animales et végétales d'assurer leur survie.

Actuellement de nombreux plans de restauration de la continuité écologique des cours d'eau se mettent en place. Les acteurs locaux commencent à engager des études pour gérer, aménager ou effacer ces obstacles. Pourtant, l'efficacité de ces actions reste peu documentée, faute de suivis avant/après restauration (Feld *et al.*, 2011). Le rétablissement de la continuité écologique, défini en milieu aquatique par la circulation des espèces et le bon déroulement du transport des sédiments, nécessite la mise en place d'un suivi avant et après restauration afin d'évaluer l'impact des opérations sur l'écosystème.

C'est dans ce contexte que le Parc Naturel Régional de la Haute Vallée de Chevreuse (PNRHVC) mène un vaste projet de restauration de la continuité écologique de ses rivières. Un protocole de suivi de ces restaurations a été établi, qui comprend l'étude des compartiments hydromorphologique, hydraulique et biologique.

Concernant les volets hydromorphologique et hydraulique, il s'agit d'étudier l'évolution des caractéristiques hydromorphologiques suite à la restauration de seuils : restauration de la pente, diversification des faciès d'écoulement, rétablissement de la dynamique fluviale du cours d'eau par une reprise du transport solide, évolution des régimes hydrauliques. Enfin, le volet biologique comprend un inventaire des peuplements de macroinvertébrés benthiques et de poissons. Ces derniers font l'objet d'une attention particulière : notamment, un suivi par télémétrie de la population de truites a été réalisé pour évaluer l'effet des discontinuités sur leur comportement de migration et donc leur distribution spatiale dans les cours d'eau. Grâce à ce suivi avant/après restauration, ce projet devrait permettre de qualifier la trajectoire que prendra l'écosystème suite aux travaux de restauration.

3.1 Choix des seuils à restaurer

Les cours d'eau situés dans le Parc Naturel Régional de la Haute Vallée de Chevreuse sont tous en tête de bassin versant. La détermination des ouvrages à restaurer en priorité s'est faite en fonction d'une espèce patrimoniale caractéristique de ces cours d'eau en tête de bassin versant à savoir la Truite de rivière (*Salmo trutta fario*). La truite constitue un indicateur de la qualité des cours d'eau, compte tenu de ses exigences en matière de teneur en oxygène et de sa sensibilité vis-à-vis de nombreux facteurs physiques et chimiques (température, turbidité, polluants divers...). De plus, pendant la reproduction, cette espèce migre vers l'amont pour frayer dans des zones qui répondent à des critères bien spécifiques : graviers grossiers non colmatés, courant vif, eau de bonne qualité et bien oxygénée etc. Dans un cas de suppression d'obstacle, cette espèce constitue donc un bon indicateur de restauration de la continuité écologique.

Sur le territoire du PNR HVC, deux cours d'eau prioritaires pour l'espèce cible choisie, l'Aulne et la Mérantaise, appartenant au bassin versant Orge-Yvette (**Figure 2.12**), ont été identifiés à partir de résultats d'inventaires piscicoles, de frayères et d'obstacles. Les limites amont de remontée des truites ont ainsi été localisées.

Sur l'Aulne, affluent de la Rémarde, en amont du moulin de Béchereau, aucune truite et frayère n'ont été recensées alors qu'elles sont bien présentes à l'aval. Malgré le faible nombre de truites pêchées sur la partie aval du moulin de Béchereau (8 en 2010), ce secteur semble être un lieu de fraie important (31 frayères recensées en 2009), attestant ainsi de la présence de géniteurs.

Sur la Mérantaise, affluent de l'Yvette, entre le moulin des Vassaux et le moulin d'Ors, 13 truites ont été pêchées en 2010 et 9 frayères recensées en 2008 et en 2009. Malgré le grand linéaire prospecté à l'amont du moulin d'Ors, aucune truite et frayère n'ont été recensées. Cet obstacle marque donc la limite amont de remontée de la truite sur ce cours d'eau.

Drainant un bassin versant d'une superficie de l'ordre de 60 km², l'Aulne est un cours d'eau de rang 3, selon la classification de Strahler, qui prend sa source à Auffargis sur le plateau de Saint Benoît. Il alimente ensuite la Rémarde qui rejoint l'Orge, affluent de la Seine. Le bassin versant de la Mérantaise s'étend sur 31 km². Ce cours d'eau de rang 1 selon Strahler, rejoint l'Yvette, puis l'Orge.

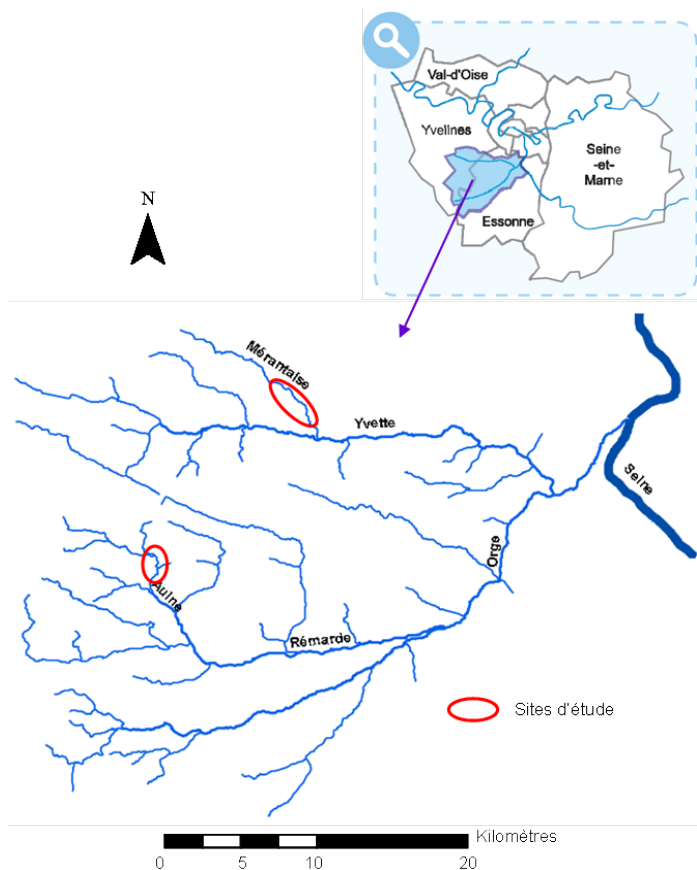


Figure 2.1 : Localisation des cours d'eau dans le bassin Orge-Yvette

Sur l'Aulne, 8 ouvrages ont été recensés au total, dont 7 sont qualifiés d'infranchissables par la faune piscicole. C'est le cas du moulin de Béchereau, qui comporte dans son bief une chute d'eau de 2,30 mètres de hauteur (**Figure 2.13**). Aujourd'hui, le moulin de Béchereau est transformé en maison d'habitation et n'est plus fonctionnel.



Figure 2.2 : Chute sur le bief du moulin de Béchereau

La Mérantaise est une rivière jalonnée par de nombreux ouvrages hydrauliques du fait de son anthropisation forte et ancienne. Ces aménagements sont des moulins pour la plupart, accompagnés d'infrastructures diverses comme des systèmes de vannes ou des chutes (seuil).

Sont dénombrés actuellement sur 4,5 km de linéaire, 12 ouvrages hydrauliques entre Les Vassaux et Mérançy, dont 8 sont jugés infranchissables ou partiellement franchissables par les espèces de poissons. Le seuil d'Ors, d'une hauteur de chute de 1,30 m, se trouve dans l'axe de l'ancien bras de décharge du moulin, aujourd'hui cours principal de la rivière (**Figure 2.14**). Ce seuil est infranchissable et constitue la limite de colonisation amont de la truite de rivière.

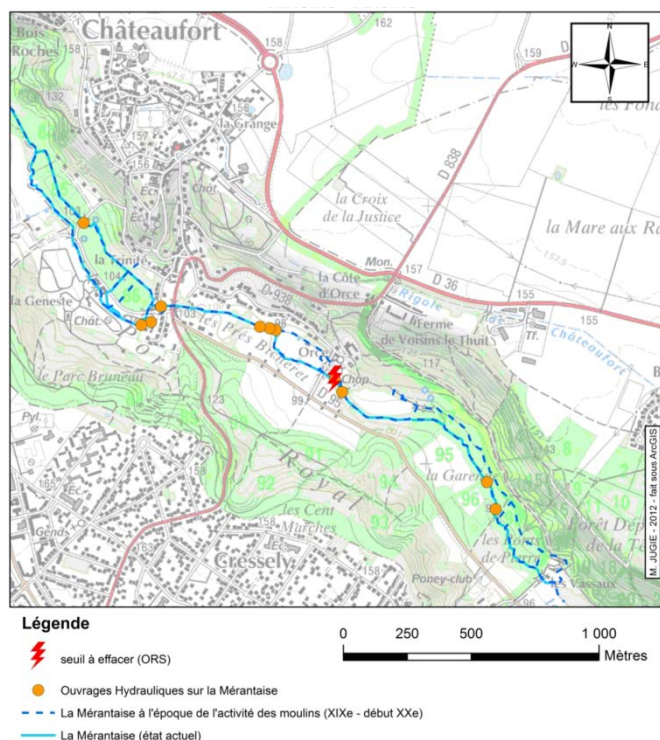


Figure 2.3 : Evolution des tracés de la Mérantaise depuis le 19^e siècle

3.2 Etat des lieux initial : suivi avant restauration des compartiments hydromorphologique et écologique des cours d'eau

3.2.1 Caractéristiques hydromorphologiques et dynamiques des cours d'eau aux abords des deux seuils

D'un point de vue hydromorphologique, deux questions apparaissent lors de la réflexion sur les enjeux d'un projet d'effacement de seuil : quel est le rôle de ce seuil et quels en sont les impacts actuels ? Pour identifier les altérations physiques et biologiques causés par un ouvrage hydraulique, il est préconisé de réaliser un suivi hydromorphologique par une approche stationnelle en amont et aval du seuil, permettant de mettre en évidence une éventuelle modification de la géométrie du lit suite à l'effacement de l'ouvrage. L'objectif de la restauration étant la continuité écologique, l'échelle de réponse attendue du milieu est assez large. Le suivi est ainsi complété par un profil longitudinal du fond du lit sur une longueur permettant de mettre en évidence une éventuelle modification de l'équilibre dynamique du lit (stockage dans la retenue, incision à l'aval, etc.). Les seuils ayant un effet net d'homogénéisation des faciès en amont, le suivi sera complété par une cartographie des faciès hydro-géomorphologiques sur l'ensemble du tronçon étudié. La mesure en continu de

la hauteur d'eau et de la température fournit des variables complémentaires pour la compréhension de la dynamique du cours d'eau et des réponses biologiques.

A l'échelle stationnelle, un protocole de mesures de type CarHyce (Gob *et al.*, 2014) est appliqué pour dresser l'état d'altération de l'hydromorphologie locale. Ces mesures vont permettre par la suite d'analyser aussi la dynamique des cours d'eau, en termes de granulométrie, de faciès et de régime de débit.

L'ensemble de ces mesures est synthétisé sous forme de fiche par station (*Annexe 1* ; page 157), comportant trois volets :

- **Les caractéristiques générales du site.** La pente du fond correspond à la pente moyenne du fond du cours d'eau calculée suite au levé topographique, elle est visible sur le graphique du profil en long. Le D50 concerne la granulométrie, il correspond au diamètre en dessous duquel se trouve 50% de l'échantillon prélevé. Quelques valeurs caractéristiques à plein bord calculées à partir des données topographiques mesurées sur le site sont également présentées.
- **Le profil en long et la morphologie de la station.** Les abréviations utilisées sont identiques à celles de la carte. On peut notamment y voir le profil du fond du cours d'eau (courbe « Z fond »), ainsi que la ligne de plein bord « moyenne » (Linéaire PB) qui correspond à la droite de régression sur les points « bord de berge » les plus bas. Un profil en travers figure sur chaque fiche à titre d'exemple.
- **La carte effectuée avec les données topographiques** relevées sur le terrain ainsi que des photos du site étudié.

Les données de débit ont été obtenues grâce aux capteurs de mesures en continu de la hauteur d'eau installés sur les deux cours d'eau (chroniques du 27 février 2012 au 09 juin 2013 soit une période d'environ 15 mois) ainsi qu'aux jaugeages réalisés sur le terrain. Des courbes de tarage ont été établies permettant d'obtenir des chroniques de débit à partir de celles des hauteurs d'eau.

A partir de ces mesures, il est possible d'estimer le potentiel dynamique des cours d'eau sur les stations amont et aval des seuils étudiés (*Tableau 2.2*).

Globalement, le débit critique Q_c susceptible de mobiliser les sédiments en place est inférieur, voire largement inférieur au débit de plein bord. Dans ce cas, la période de retour du Q_c est relativement faible. L'existence de débits potentiellement morphogènes à même de mobiliser régulièrement la charge sédimentaire du lit tend à montrer que ces cours d'eau ont la capacité d'adapter leur morphologie sur ces stations. Seule la station aval du seuil d'Ors peut ne pas avoir la capacité de s'adapter en érodant la charge du lit parce que le débit qui peut mobiliser cette charge est rarement atteint. Dans ce cas, des ajustements prendront place plutôt dans l'axe latéral.

Tableau 2.1 : Analyses de la compétence des débits calculés à mobiliser la charge du lit

Cours d'eau	Station	Débit à plein bord (Q_{pb}) calculé	Taille critique des sédiments mobilisables à Q_{pb}	D84	Débit Q_c de mobilisation des sédiments D84
		m^3/s	mm	mm	m^3/s (% par rapport au Q_{pb})
Aulne	Béchereau amont	1	12 gravier moyen	0,22 sable fin	Tous les débits (0 %)
Aulne	Béchereau aval	2	42 gravier très grossier	20 gravier grossier	≈ 0,4 (20 %)
Mérantaise	Ors amont	4	33 gravier très grossier	19 gravier grossier	≈ 0,5 (12.5 %)
Mérantaise	Ors aval	3,5	37 gravier très grossier	29 gravier très grossier	≈ 3,1 (89 %)

Les chroniques de débit obtenues permettent de constater que le débit à plein bord (QPB) a été atteint à plusieurs reprises sur l'Aulne sur la période de l'étude (en décembre 2012, février et juin 2013); contrairement à la Mérantaise pour laquelle aucune des deux valeurs de Q_{PB} (amont et aval) n'est atteinte (**Figure 2.15**).

Des profils en long étendus ont été réalisés : 3 700 m de linéaire sur l'Aulne, et 2 100 m sur la Mérantaise. Ils permettent de caractériser d'autres obstacles présents sur le cours d'eau (par exemple, sur l'Aulne, le seuil de la Galetterie, chute de 0,83 m, à l'aval du seuil de Béchereau), d'indiquer les limites des zones de retenue générées par ces obstacles, et les changements de pente indiquant d'éventuelles zones d'incision ou de dépôts.

Enfin, les faciès d'écoulement ont été cartographiés en 2012 sur les secteurs de cours d'eau suivis par ailleurs alors qu'un inventaire complet avait été réalisé par le PNR en 2011. Ils sont le reflet à long terme des contraintes exercées par la géologie, la morphologie terrestre, la couverture végétale et le climat. La diversité des faciès est mise à profit par la flore et la faune aquatique qui y rencontrent les différents habitats nécessaires à l'accomplissement de leurs cycles vitaux. La typologie utilisée est celle mise en place par Malavoi et Souchon en 2002.

Cet état des lieux actuel permettra d'évaluer l'évolution dynamique des cours d'eau après intervention par analyse des modifications des faciès observés.

Les cartes des faciès inventoriés par IRSTEA sur les secteurs suivis ont par ailleurs été utilisées pour réaliser une analyse de l'hétérogénéité locale des habitats piscicoles à l'aide d'une méthode d'analyse cartographique en fenêtre glissante, implémentée à l'aide du logiciel Chloe 2012 (Baudry *et al.*, 2005).

Un exemple de cette analyse pour la Mérantaise (**Figure 2.16**) révèle les secteurs où la diversité locale des faciès est forte (valeurs élevées d'hétérogénéité) et ceux qui sont homogènes.

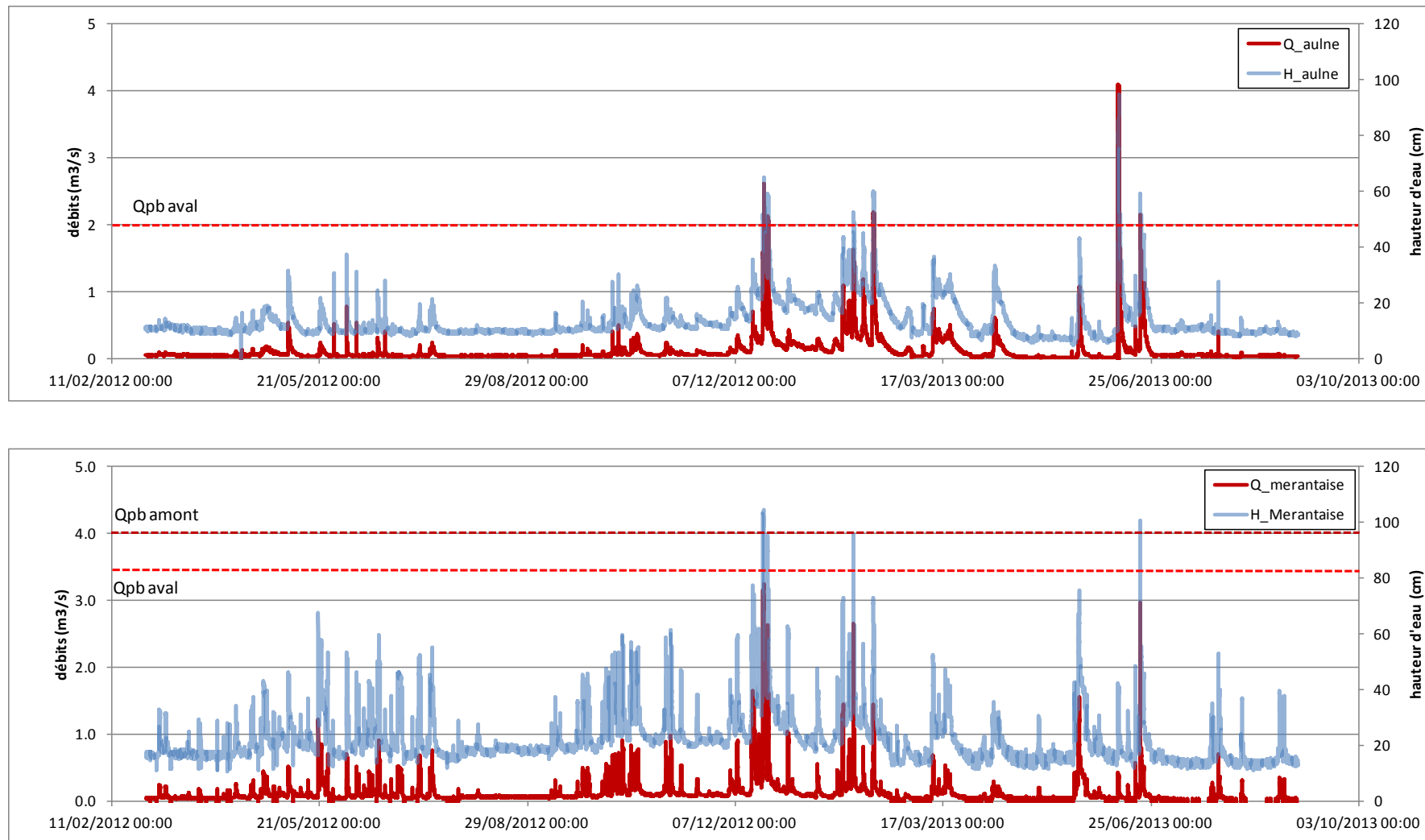


Figure 2.4 : Variation des hauteurs d'eau et des débits sur l'Aulne (pont de Béchereau) et la Mérantaise (passerelle du pré Bicheret)

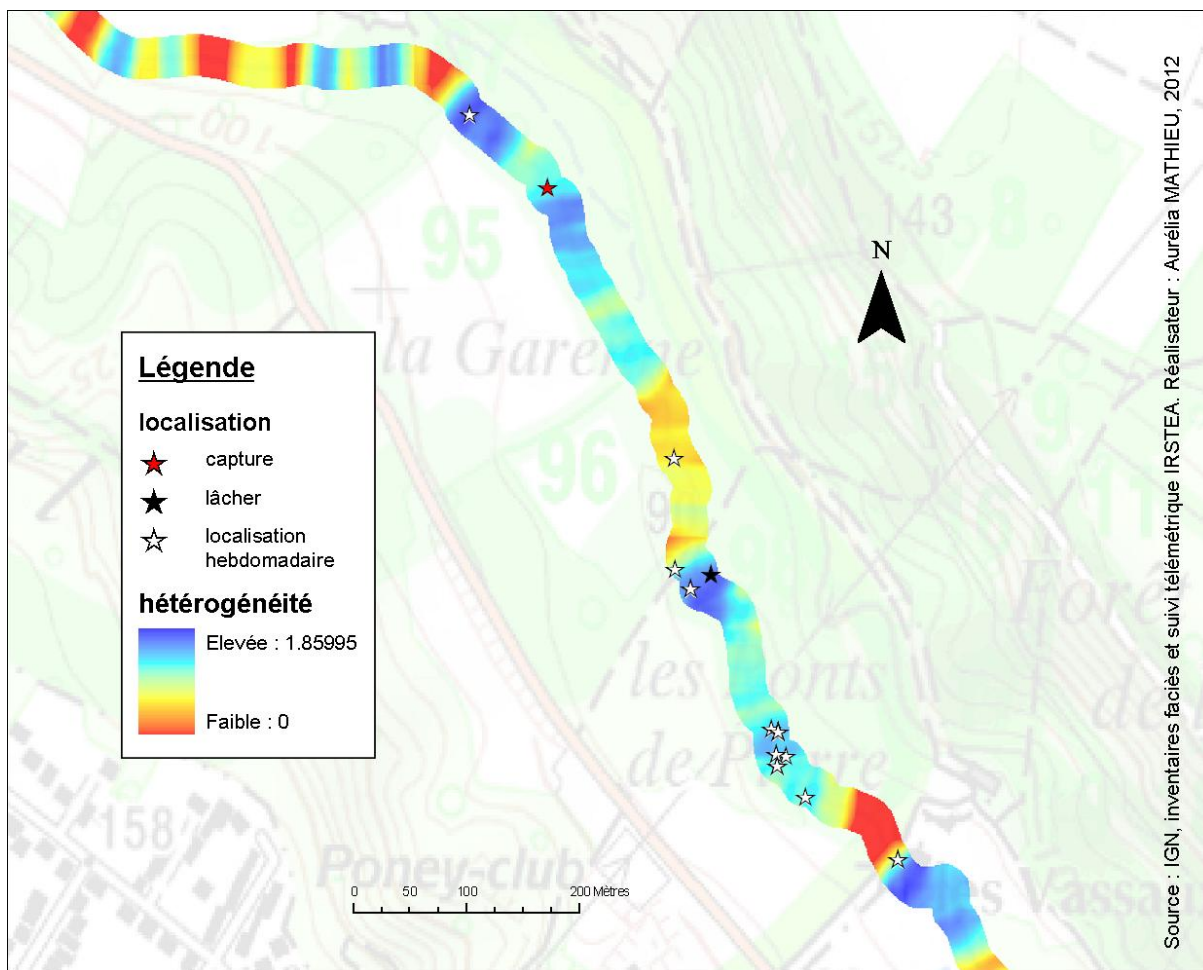


Figure 2.5 : Carte d'hétérogénéité de l'habitat sur un secteur de la Mérantaise (logiciel Chloé 2012) et localisation d'une truite suivie individuellement du 3 avril au 31 août. (Pour des questions de visualisation, le cours d'eau a été grossi 8 fois)

3.2.2 Etat initial des peuplements de macroinvertébrés benthiques

Les macro-invertébrés benthiques sur l'Aulne et la Mérantaise ont été échantillonnés selon le protocole mis en place pour le réseau de contrôle et de surveillance (RCS) (Norme XP T 90-333 ; AFNOR, 2009). Les 4 stations, définies pour réaliser les mesures hydromorphologiques, sont utilisées comme stations de prélèvement des invertébrés. Deux campagnes de prélèvement ont eu lieu, les 6-7 juin 2011 et 4-5 juin 2013.

Globalement, les notes calculées indiquent une qualité biologique des deux cours d'eau moyenne à bonne. Seule la note de 9 sur l'Aulne amont en 2013 indique une situation plus dégradée (**Tableau 2.3**).

Sur la Mérantaise, le groupe indicateur est le même à l'amont et à l'aval du seuil, et également lors des deux années. Il s'agit du groupe indicateur n°7 dont le niveau de sensibilité à la pollution est élevé.

Sur l'Aulne, les groupes indicateurs varient du n°6 à 3, ce qui explique en partie la plus grande variabilité des notes d'indices (de 9 à 15 pour les deux stations et les deux années). Le gradient observé est inverse par rapport à la situation de la Mérantaise puisque la station aval du seuil est de meilleure qualité que celle de l'amont.

Tableau 2.2 : Résultats des calculs d'indice IBG-DCE sur les 4 stations étudiées

Groupe indicateur	2011				2013			
	Aulne		Mérantaise		Aulne		Mérantaise	
	Amont	Aval	Amont	Aval	Amont	Aval	Amont	Aval
Psycho.	4	6	7	7	3	6	7	7
Nombre de taxons	30	35	31	26	22	26	23	20
Nombre de taxons >2 individus	20	29	22	24	17	19	15	15
% EPT	0,6	7,0	24,8	7,5	6,1	14,4	25,8	11,3
% Chironomidae	25,4	59,2	15,0	31,0	12,9	9,2	26,0	36,6
% Oligochètes	56,0	14,0	6,5	4,0	39,7	21,6	14,0	4,2
Note IBG-DCE	12	15	15	14	9	13	13	12
	Moyen	Bon	Bon	Bon	Médiocre	Moyen	Moyen	Moyen

Abréviations : Psycho., Psychomidae ; Ephe., Ephemerae ; Gloss., Glossosomatidae ; Hydro., Hydropsychidae.

Les notes sont généralement meilleures en 2011, en raison notamment de la variété taxonomique qui est plus importante qu'en 2013 à toutes les stations. L'année 2013 a été singulière d'un point de vue hydrologique car les niveaux d'eau ont été importants durant tout le printemps. L'analyse des données de débit a d'ailleurs démontré que le débit à pleins bords a été dépassé à plusieurs reprises sur l'Aulne. Il est possible que cette situation ait entraîné une réduction du nombre de taxons présents sur les sites en 2013.

Ce constat est cohérent avec la qualité de l'eau connue sur l'Aulne. L'Aulne à la Galetterie présente d'une manière générale des eaux en « bon » à « très bon » état physico-chimique. Elles se dégradent en « moyen » voire « mauvais » état dès que les précipitations augmentent significativement la charge en MES et véhiculent des intrants agricoles qui accroissent la concentration en ammonium. Le bassin versant, à la fois urbain et agricole est propice à ce genre de phénomène.

Globalement, les deux cours d'eau sont de qualité biologique comparable du point de vue des peuplements de macroinvertébrés benthiques. La situation de la Mérantaise semble toutefois moins sujette aux variations interannuelles puisque la composition qualitative et quantitative des peuplements de macroinvertébrés est plus stable.

3.2.3 Etat initial du peuplement de poissons

Echantillonnage des poissons par pêche électrique

Le protocole de pêche électrique est réalisé de façon à pouvoir détecter les effets des discontinuités dans les cours d'eau sur la distribution spatiale des espèces de poissons. Il a été adapté du protocole d'échantillonnage

des poissons par pêche électrique réalisé sur les petits cours d'eau de tête de bassin (ordre 1-3, largeur 2-5m) pour répondre à cette problématique de l'étude de l'influence des discontinuités. Ainsi, un échantillonnage ponctuel d'abondance (EPA) a été préféré à une prospection classique sur station. Cette méthode, réalisée à l'aide du matériel portable de pêche électrique « Martin pêcheur », permet de prospecter des linéaires plus importants (plusieurs kilomètres) et surtout difficilement accessibles.

Nous avons choisi de réaliser dans ce type de cours d'eau, un point de pêche EPA tous les 20 m le long du continuum fluvial, chaque point de pêche étant disposé de façon aléatoire transversalement au cours d'eau (rive droite, rive gauche, chenal). Cette distance est choisie pour éviter d'influencer les points de pêches entre eux. Ainsi, des segments de 600 m, représentant 30 EPA ont été répartis en amont et aval des deux seuils étudiés (**Figure 2.17**). Les pêches ont été réalisées les 30 et 31 août 2011 et les 26 et 27 août 2013.



Figure 2.6 : Localisation des stations amont et aval du moulin de Béchereau (en jaune) et position des échantillonnages par pêche électrique selon la méthode des EPA (points orange)

Les poissons capturés sont identifiés et mesurés individuellement in situ, puis remis à l'eau. Chaque point de pêche est localisé au GPS (+/-5 m). Parmi les espèces caractéristiques des têtes de bassin, on retrouve la présence des truites sur les deux cours d'eau (**Tableau 2.4**). Cependant l'abondance est plus élevée sur l'aval du seuil d'Ors que sur l'aval du seuil de Béchereau, et l'espèce est effectivement absente en amont, confirmant de précédentes prospections.

Tableau 2.3 : Effectifs capturés par cours d'eau et par année (en grisé les espèces typiques de ces cours d'eau)

	Moulin de Béchereau				Moulin d'Ors			
	Aval		Amont		Aval		Amont	
	2011	2013	2011	2013	2011	2013	2011	2013
Truite fario	1	1			13	10		
Chabot	7	19	12	13				
Loche franche	6	2	18	10	42	3	20	9
Gardon	5	2			1			
Perche commune	10	1	10					
Rotengle			7					
Perche soleil					3	1		
Épinochette			2		13		10	4
Épinoche					13	1	7	22
Anguille					1			
Brochet	1	1						
Goujon					1			
Nombre d'espèce	6	6	5	2	8	4	3	4

Deux espèces d'accompagnement de la truite, la loche franche et le chabot, sont bien implantées sur l'Aulne alors que le chabot est absent de la Mérantaise. Sur l'Aulne, l'implantation des espèces d'eaux calmes comme la perche, le gardon, le rotengle est favorisé par les aménagements qui entraînent le ralentissement des écoulements et l'augmentation des habitats profonds. Sur la Mérantaise, ce sont plutôt la perche-soleil, l'épinoche et l'épinochette qui sont abondantes, peuplant généralement des secteurs de cours d'eau ayant fait l'objet de recalibrage, où la végétation aquatique se développe.

Dans le cas de ces petits bassins versants, l'anthropisation et la présence d'aménagement entraînent donc une augmentation du nombre d'espèces et une modification de la composition des peuplements, avec généralement une augmentation des espèces d'eaux calmes, en lien avec le ralentissement des écoulements.

La répartition spatiale des truites fario est présentée (*Figures 2.18 et 2.19*). Les individus capturés en 2011 sur la Mérantaise sont principalement des jeunes de l'année (0+), mesurant fin août environ 100 mm.

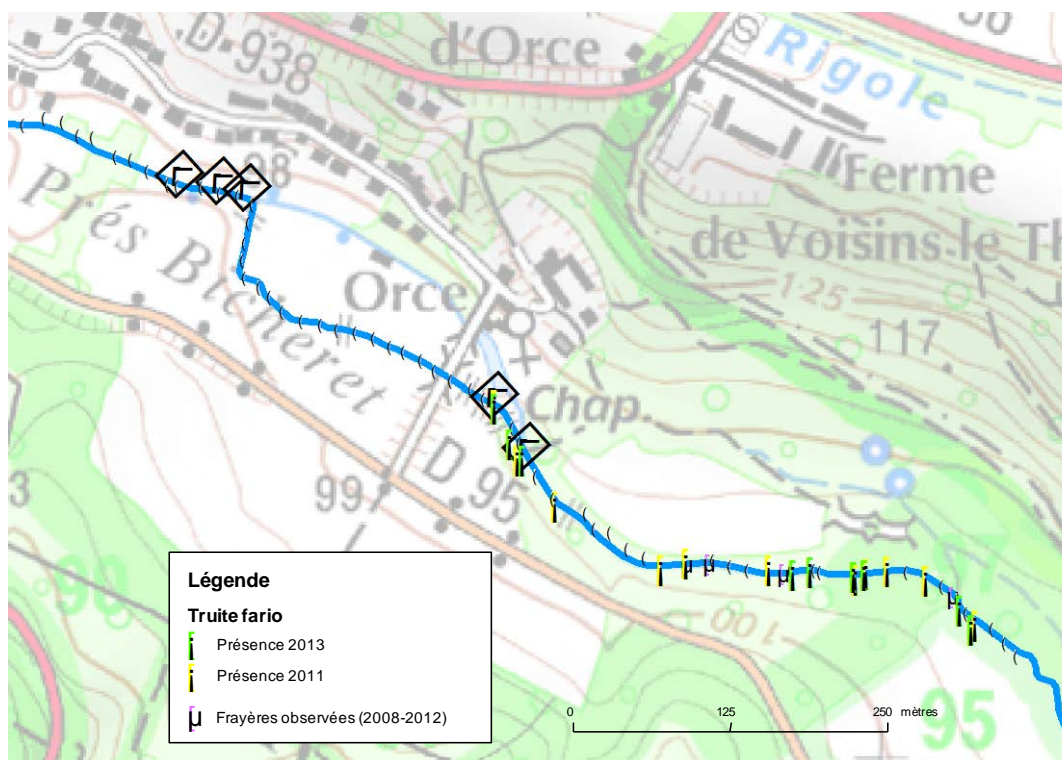


Figure 2.7 : Distribution spatiale des truites capturées par pêche électrique en août 2011 et 2013 sur la Mérantaise ; 600 m en amont et en aval du seuil du moulin d’Ors

Une partie des individus sont situés sous la chute du seuil d’Ors ainsi qu’à l’aval de la chute générée par un collecteur d’eaux usées (**Figure 2.18**). Le secteur échantillonné inclut des frayères observées lors de recensements antérieurs. Ce n’est pas le cas pour l’Aulne, où les frayères sont situées plus en aval que les échantillonnages (**Figure 2.19**).

Des échantillonnages spécifiques de juvéniles de truite (0+ et 1+) par pêche électrique ont été mis en œuvre les 17 et 18 octobre 2013. Le protocole utilisé est celui de Prévost et Baglinière (1993). Ce protocole a également été utilisé auparavant, en juillet 2011, par le PNR HVC, sur des secteurs proches.

Sur la Mérantaise, la présence des juvéniles est principalement concentrée sur un secteur de 450 m, entre l’aval d’Ors et l’amont des Ponts de pierre, secteur dans lequel de nombreuses mouilles assez profondes sont présentes. Ce ne sont quasiment que des jeunes de l’année, 0+ (taille entre 60 et 70 mm).

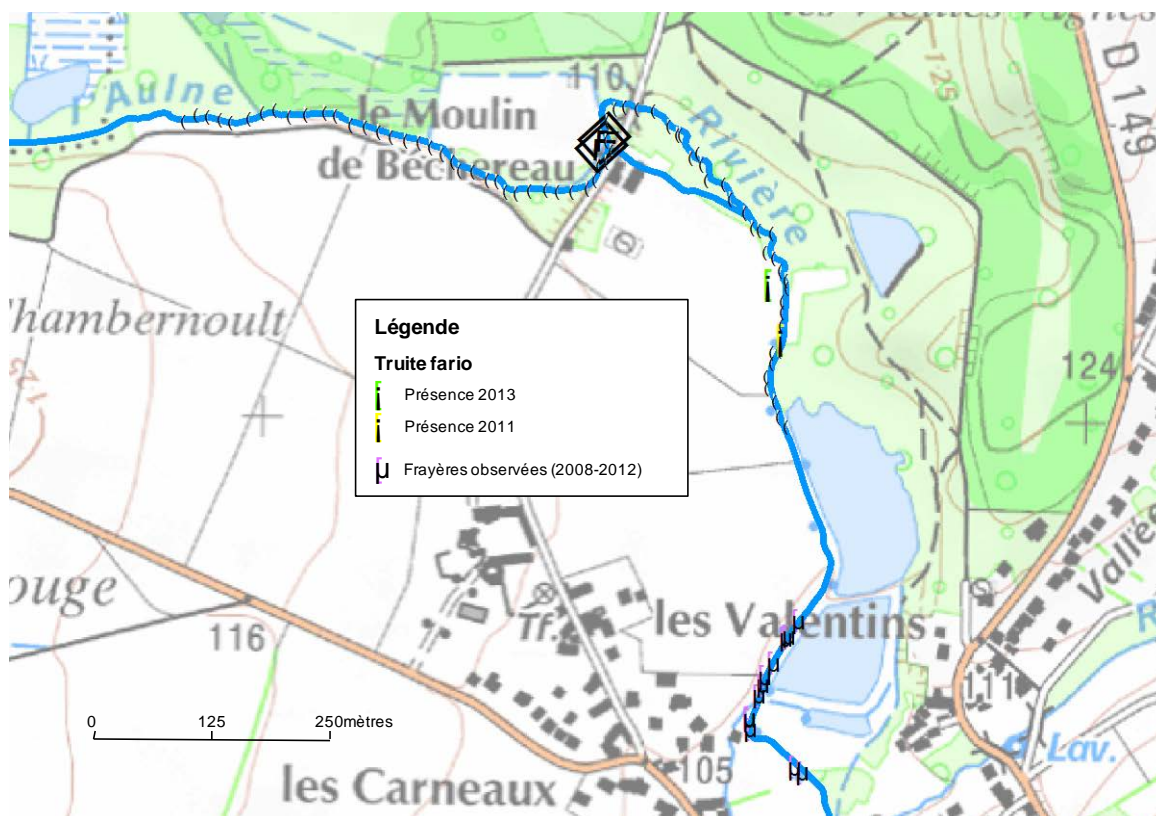


Figure 2.8 : Distribution spatiale des truites capturées par pêche électrique en août 2011 et 2013 sur l’Aulne ; 600 m en amont et en aval du seuil du moulin de Béchereau

Sur l’Aulne, un seul jeune de l’année, 0+, a été observé en amont de la Galetterie ; les autres individus étant des 1+ (taille entre 100 et 180 mm). Sur les radiers à l’aval de la Galetterie, aucun 0+ n’a été observé en 2013 ; alors qu’une vingtaine d’individus 0+ avaient été échantillonnés en 2011. Cette absence, quasi-totale, de jeunes de l’année sur ce secteur de l’Aulne est probablement en partie liée à l’hydrologie de l’hiver 2012. Plusieurs crues dépassant le débit de plein bord ont été observées fin décembre et fin janvier. Ces crues peuvent aussi avoir été dommageables lors de l’émergence des alevins (fin janvier-février).

Inventaire des frayères à truite de 2008 à 2012

Le recensement hivernal des frayères creusées par les géniteurs de truite fario est proposé comme un paramètre permettant d’évaluer leur présence et leur activité sur les cours d’eau étudiés. Le suivi de leur nombre et de leur localisation peut être préconisé comme indicateur des actions entreprises sur les cours d’eau, notamment lors des projets de restauration.

La ponte s’effectue sur un substrat de petits galets ou de graviers, présentant des interstices pour l’oxygénation des œufs, avec des hauteurs d’eau de 15 à 50 cm et des vitesses de 40 et 80 cm/s. En général, on trouve les frayères en « tête » de radier (amont du radier et aval d’une mouille). La durée totale d’incubation et du développement embryonnaire dans la frayère est variable, de 3 à 4 mois après la ponte.

Ainsi, chaque année, un inventaire des localisations des frayères fonctionnelles de truite est réalisé par le PNR Haute Vallée de Chevreuse. La prospection des cours d’eau est faite à pied, en longeant la berge. Chaque frayère (nid creusé correspondant à la dépose des œufs) est géolocalisée.

Ces frayères attestent de l'activité de reproduction des truites matures présentes dans le secteur. La maturité est observée pour des individus à partir de 2 à 3 ans. Compte tenu du linéaire prospecté, on observe en moyenne sur les 4 années 3,4 frayères/km sur la Mérantaise et 4,9 frayères/km sur l'Aulne, valeurs classiquement observées dans ce type de cours d'eau.

Il est important de préciser que l'inventaire sous-estime très certainement le nombre de frayères. En effet, les inventaires ont lieu en octobre-novembre (sauf 2011 où l'inventaire s'est fait fin janvier 2012) alors que la reproduction peut s'étaler jusqu'à fin janvier.

Conclusions

L'état initial relatif aux peuplements de poissons, et à la situation de la truite en particulier confirme que cette espèce est en mesure de se développer dans ces cours d'eau : les inventaires et mesures effectuées témoignent de la présence de populations se reproduisant (présence de frayères et de jeunes issus de la reproduction d'individus matures). Néanmoins, ce développement est limité dans chaque cours d'eau par la présence de seuils infranchissables. Les interventions consistant à supprimer l'effet de ces seuils peuvent donc potentiellement permettre aux espèces de poissons de reconquérir les secteurs de cours d'eau actuellement cloisonnés, voire plus largement l'ensemble d'un bassin versant.

3.3 Etude des déplacements de truite avant restauration

3.3.1 Matériel et méthodes

Les déplacements des truites sont suivis dans cette étude par télémétrie : des individus adultes sont capturés et équipés d'émetteurs. Ces émetteurs envoient une onde de fréquence connue et unique pour chaque individu. Des récepteurs de marque ATS (Advanced Telemetry System) installés en poste fixe au bord des cours d'eau ou portatifs en utilisation manuelle, permettent de capter ces ondes et ainsi de localiser avec précision le poisson (**Figure 2.20**). Ainsi, il est possible de retracer durant l'étude, les déplacements en temps réel de chaque individu suivi sur le linéaire étudié.

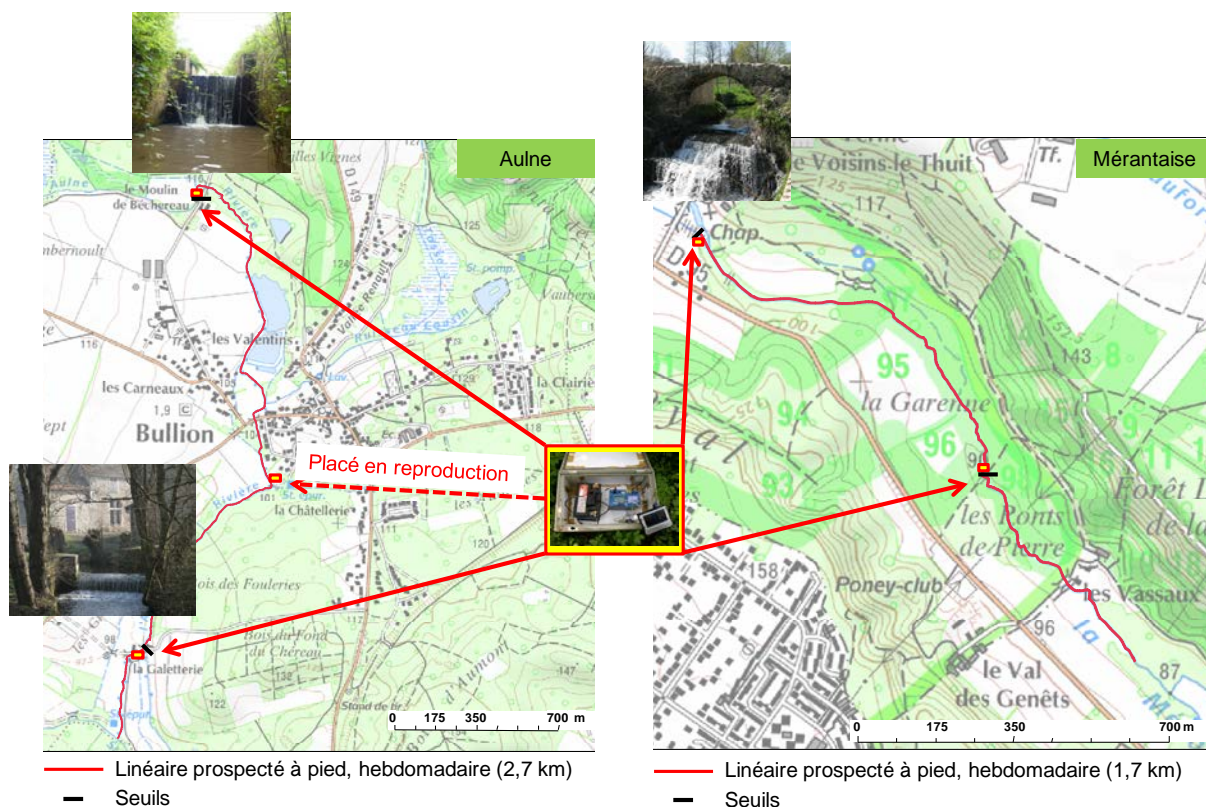


Figure 2.9 : Position des récepteurs fixes et linéaire prospecté en utilisation manuelle

La capture des individus en vue de leur marquage se fait par pêche électrique. Les coordonnées GPS du lieu de capture des poissons sont notées, de même que celles du lieu de lâcher après équipement d'émetteur. Tant que l'animal est endormi pour l'introduction de l'émetteur dans la cavité péritonéale, il est pesé et mesuré. Un échantillon de nageoire et quelques écailles sont récoltés afin de réaliser ultérieurement des analyses génétiques et de déterminer l'âge de l'individu.

Sur l'Aulne, les sessions de marquage ont eu lieu le 13 mars et le 3 avril 2012, 16 truites ont été marquées. Sur la Mérantaise les marquages ont eu lieu le 16 mars et le 5 avril 2012, 23 truites ont été marquées.

Sur la Mérantaise, 4 truites ont été retrouvées mortes le lendemain du marquage et 4 n'ont plus été localisées par la suite. Sur l'Aulne, seule une truite n'a pas été retrouvée.

Les déplacements de chaque individu sont ensuite analysés en utilisant les données des récepteurs, enregistrées de manière automatique sur les postes fixes, et à fréquence hebdomadaire sur les récepteurs portatifs.

L'objectif ici est d'utiliser ces deux sources de données pour tracer la trajectoire effectuée par le poisson lors de la période de suivi. Le logiciel Anaqualand 2.0 (Le Pichon *et al.*, 2006) permet de calculer des distances hydrographiques, c'est-à-dire la distance entre deux points en suivant le réseau hydrographique (et non une distance euclidienne qui n'a aucun sens biologique dans cette étude).

La **Figure 2.21** illustre les mouvements effectués par un poisson depuis le jour et le lieu de lâcher. Sur le graphe de trajectoire, les valeurs positives symbolisent des mouvements vers l'amont du lieu de lâcher et celles négatives, des mouvements effectués à l'aval du lieu de lâcher.

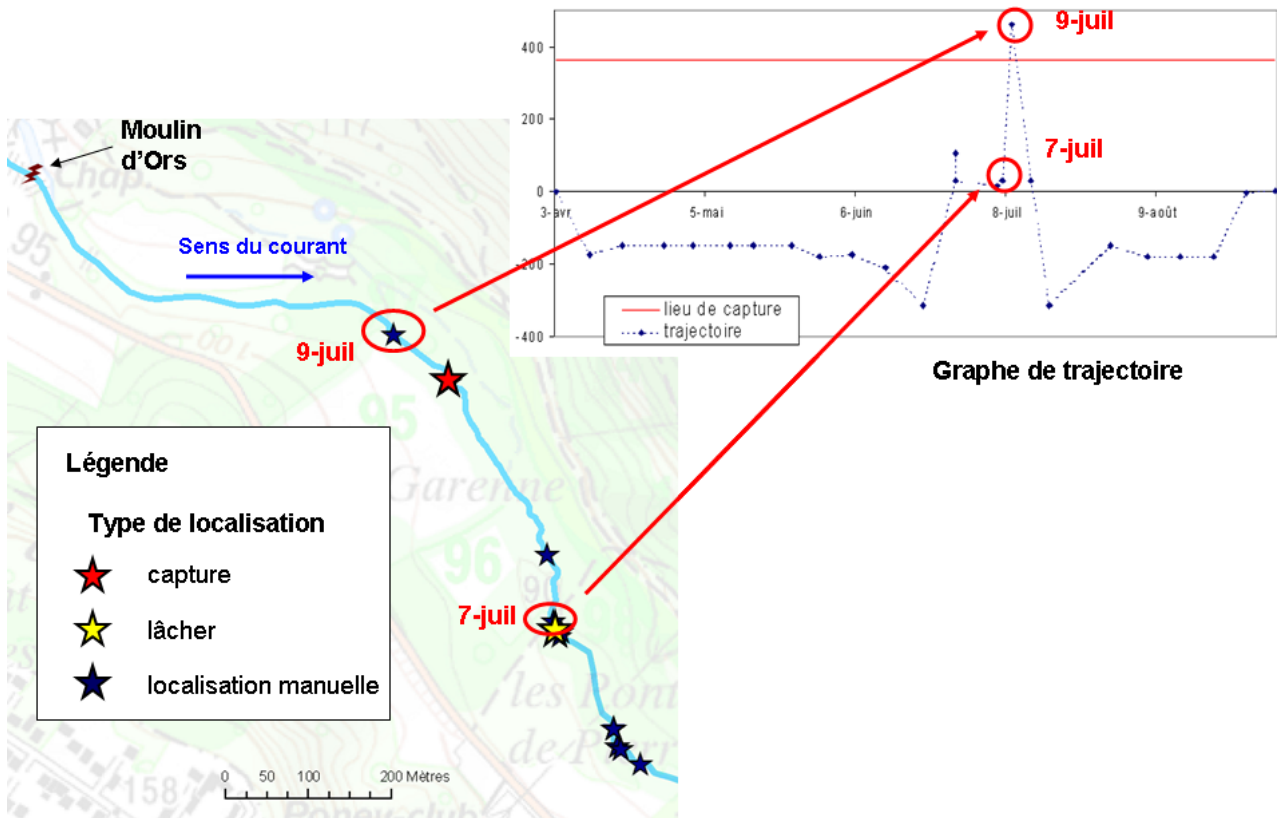


Figure 2.10 : Localisation spatiale hebdomadaire d'un poisson et graphe de trajectoire correspondant

3.3.2 Résultats du suivi des déplacements de truite

Caractéristiques générales des individus échantillonnés pour cette étude

Au regard du peu d'individu prélevés, il n'est pas possible de déterminer d'éventuelles différences entre les individus de l'Aulne et de la Mérantaise. Toutefois, une différence significative est observée sur le poids, les truites de l'Aulne semblant les plus grosses (Approximative Wilcoxon Mann-Whitney Rank Sum Test : p -value = 0,0238), différence peut être due tout simplement au hasard d'échantillonnage.

La détermination de l'âge par lecture d'écaïlle des truites étudiées, fait apparaître une forte croissance de l'ensemble des individus. La croissance des truites dépend de la nature géologique du bassin versant, du régime thermique du cours d'eau (l'optimum de croissance est situé entre 7 et 19 °C selon les populations), de la disponibilité en nourriture et du sexe du poisson. De telles croissances sont généralement observées sur des cours d'eau calcaire, assez tamponnés thermiquement. Le substrat est ici constitué principalement des sables de Fontainebleau, mais le régime thermique est sans doute très favorable avec une saison de croissance assez longue. Il est aussi probable qu'une légère charge en matière organique, lié aux rejets anthropiques, soit aussi favorable à la croissance. Pour 10 individus, il a été possible d'identifier les marques de reproduction, parmi lesquels 8 montrent une reproduction dès l'âge de 2 ans.

L'étude des déplacements faisant intervenir une notion de comportement des individus, il était important de connaître les caractéristiques génétiques des truites étudiées et de mettre en évidence des éventuels croisements avec des souches issues de pisciculture. L'Aulne et la Mérantaise semblent ne pas avoir connues de repeuplement récent mais l'existence de nombreux étangs et quelques pêcheurs pourraient expliquer la présence de truites domestiques dans ces cours d'eau.

L'analyse s'est faite sur les microsatellites au niveau de 12 marqueurs. Les microsatellites sont des séquences d'ADN nucléaire, composées de motifs répétés en tandem de 1 à 6 nucléotides (Tóth *et al.*, 2000). Ces microsatellites sont très abondants dans le génome et présentent un haut niveau de variabilité en raison d'un taux de mutation élevé. Ils permettent ainsi d'analyser de façon très fine la diversité intra et inter populations (Tautz, 1989), de détecter et résoudre des problèmes écologiques liés à la fragmentation d'habitat et les flux de gènes (Rodriguez *et al.*, 2000) et de façon plus générale de retracer l'histoire récente des populations.

Cette analyse a été effectuée par le laboratoire Génindexe sur 23 truites de la Mérantaise, 16 de l'Aulne et 6 truites issues de piscicultures, servant de témoin. L'analyse consiste ensuite à comparer les génotypes des truites témoins à celles des cours d'eau du Parc. L'interprétation des résultats, réalisée par M. Berrebi, Directeur de recherche au CNRS, passe par une analyse d'assignation (logiciel STRUCTURE) qui évalue la probabilité de chaque individu d'appartenir à une entité génétique distincte.

Cette analyse (**Figure 2.22**) montre clairement 3 entités génétiques différentes : les truites issues de la Mérantaise (en vert) diffèrent de celles de l'Aulne (en rouge) qui toutes diffèrent de celles issues de pisciculture (en bleu). Certaines truites du PNR portent cependant des marques d'hybridation avec des truites domestiques (marques bleues). Ainsi les individus 11 et 17 possèdent environ 25 % de gènes domestiques et les truites 2 et 22, près de 10%.

Ainsi, l'Aulne et la Mérantaise ont probablement été peuplées par la même lignée de truite après le dernier réchauffement glaciaire (-15 000 ans). L'absence de migration d'individus a ensuite engendré une dérive génétique neutre. Sur les deux cours d'eau, l'introggression par des souches domestiques reste négligeable. Les comportements observés peuvent donc être considérés comme des comportements "sauvages". Cependant, une attention particulière sera portée aux déplacements des individus introgressés.

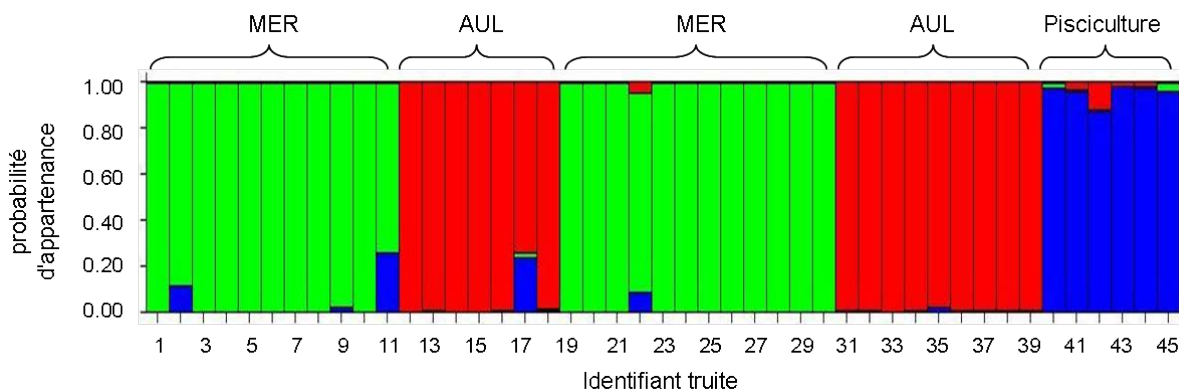


Figure 2.11 : Résultats de l'analyse d'assignation. Abréviations : MER, Mérantaise ; AUL, Aulne

Types de comportements observés

Les analyses qui suivent portent finalement sur 25 individus, 12 sur l'Aulne et 13 sur la Mérantaise, une fois éliminés les individus perdus sur la durée de l'étude, ou très peu mobiles (déplacements <20 m).

Comportement post marquage

Afin d'étudier les déplacements et comportements liés au marquage, une période dite "post marquage" (ou PM) a été déterminée pour chaque poisson. Elle correspond au temps entre le jour du lâcher et le jour où le poisson effectue un mouvement supérieur à 20 m. Bien qu'un mouvement de 20 m n'illustre pas forcément une fin systématique d'influence du marquage, il montre néanmoins que l'individu est rétabli des suites de l'opération chirurgicale et est capable de se déplacer.

En moyenne, les comportements semblent être influencés par le marquage pendant 7,79 jours (SD = 10,92 ; min = 0,11 ; médiane = 5,19 ; max = 43,76). Durant cette période les individus parcourent en moyenne 111,57 m (SD = 94,15 ; min = 29,18 ; médiane = 111,70 ; max = 352,75). Ces déplacements sont effectués uniquement vers l'amont par 17 poissons, uniquement vers l'aval par 7 poissons et un seul montre des déplacements amont et aval. Aucune différence de distance post marquage n'est observée entre les deux cours d'eau ($p = 0,2641$).

Comportements généraux

Parmi les 25 individus suivis, on peut constater trois comportements distincts, hors période de reproduction (**Figure 2.23**) :

- les truites qui regagnent leur lieu de capture (= phénomène de homing) et s'y sédentarisent : 11 individus
- les truites qui ne regagnent pas leur lieu de capture mais se sédentarisent sur un site : 8 individus
- les truites qui ne regagnent pas leur lieu de capture et adoptent une tactique d'exploration (plusieurs mouvements supérieurs à 50 mètres) : 6 individus.

Le phénomène de homing est potentiellement observé ici car les truites marquées ont été relâchées sur le lieu de marquage et non sur le lieu de capture. Sur les 25 truites étudiées, 11 ont montré un retour sur leur lieu de capture, témoignant d'une forme de fidélité à ce lieu.

En moyenne le temps de retour au lieu de capture est de 19,12 jours (SD = 22,33 ; min = 3,86 ; médiane = 6,78 ; max = 62,96) ; 54,5 % des individus rejoignent leur lieu de capture en moins d'une semaine. Pendant cette période les poissons effectuent en moyenne 412,95 mètres (SD = 248,79 ; min = 38,09 ; médiane = 428,92 ; max = 986,73).

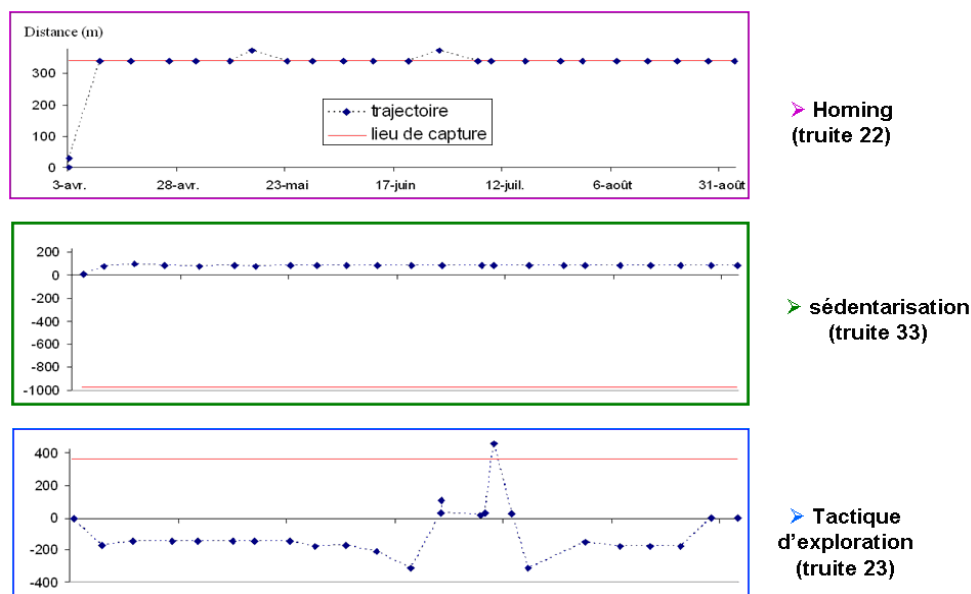


Figure 2.12 : Types de comportements observés chez l'ensemble des truites suivies par télémétrie radio

Certains temps de retour vers le lieu de capture peuvent s'expliquer par les conditions du milieu. Par exemple l'individu 16 est resté bloqué par un embâcle pendant presque un mois avant de continuer sa montaison pour

retourner précisément à son lieu de capture. En revanche, ces temps et distances ne semblent pas dépendre de la taille des individus.

Sur l'ensemble des poissons étudiés dans cette étude, le homing est plus probable en direction de l'amont.

Le comportement de sédentarisation semble associé à l'existence de gîtes préférés. Un gîte est considéré comme préférés lorsque l'individu est localisé au même endroit par au moins 3 localisations manuelles hebdomadaires. La plupart des individus ont entre 1 et 2 gîtes préférés dans lesquels ils vont se sédentariser successivement. Seulement 3 truites semblent posséder de 3 à 5 gîtes. Parmi les 9 truites ayant pu être suivies après la période de reproduction, 7 d'entre elles retrouvent leurs gîtes préférés après la reproduction, les deux autres s'installant sur un nouveau gîte après la période de reproduction.

Comportements par rapport aux obstacles présents sur le secteur

Durant cette étude, il a été possible d'observer les comportements de quelques individus face aux obstacles d'origine anthropique (seuil) et naturelle (embâcle).

L'individu 18 a été capturé sur l'Aulne, 300 m en aval du seuil de Béchereau et relâché en amont du seuil de la Galetterie (**Figure 2.24**). Il effectue une dévalaison mi-mai sous la chute de la Galetterie, puis franchit ce seuil à la faveur d'une montée des eaux. Il s'est écoulé 15h entre le moment où cet individu se trouve à l'aval du seuil et le moment où il le franchit. Les enregistrements du récepteur fixe indiquent que l'individu se serait présenté à 4 reprises devant l'obstacle avant de le franchir. Il semble se sédentariser ensuite sur son lieu de capture, jusqu'en octobre.

Puis, cet individu effectue une exploration plus amont, est détecté sous le seuil de Béchereau, infranchissable. Il redescend alors sur son lieu de capture.

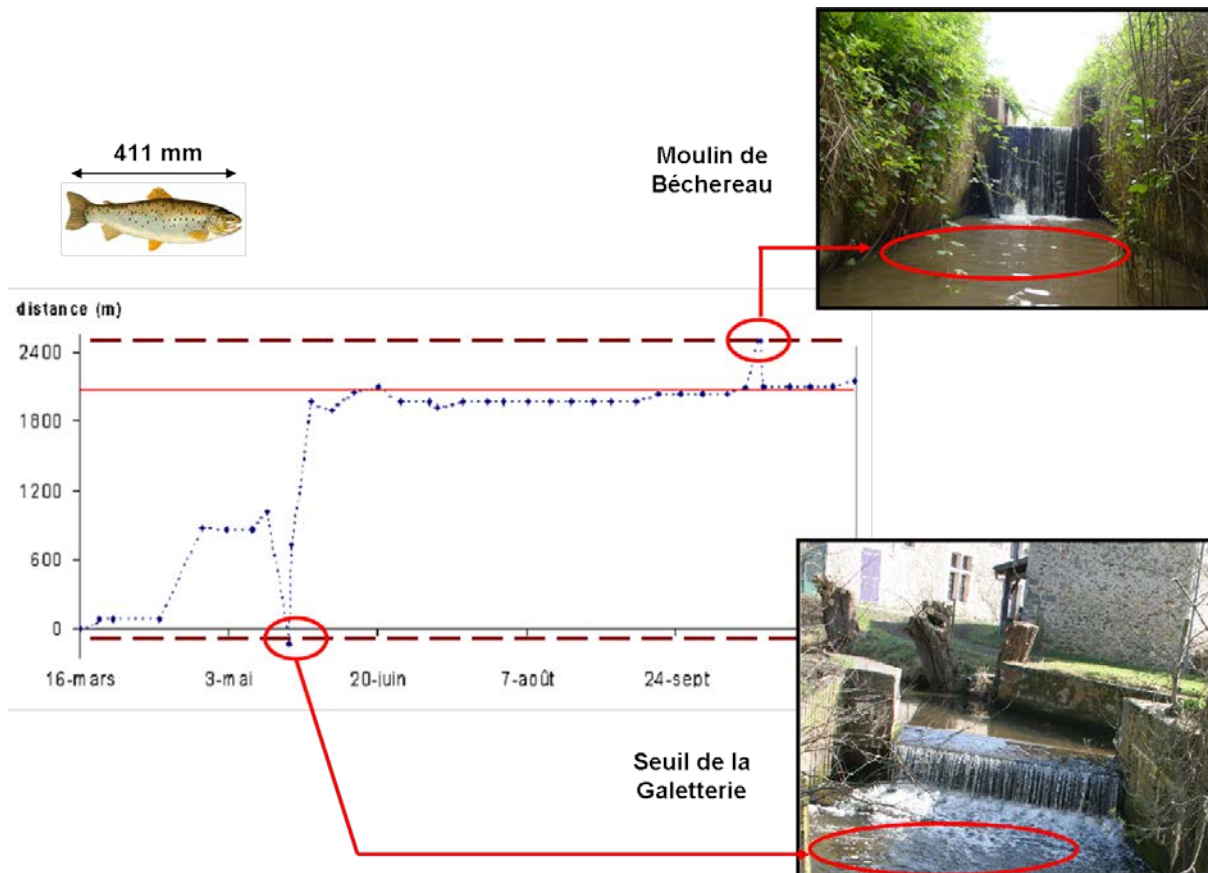
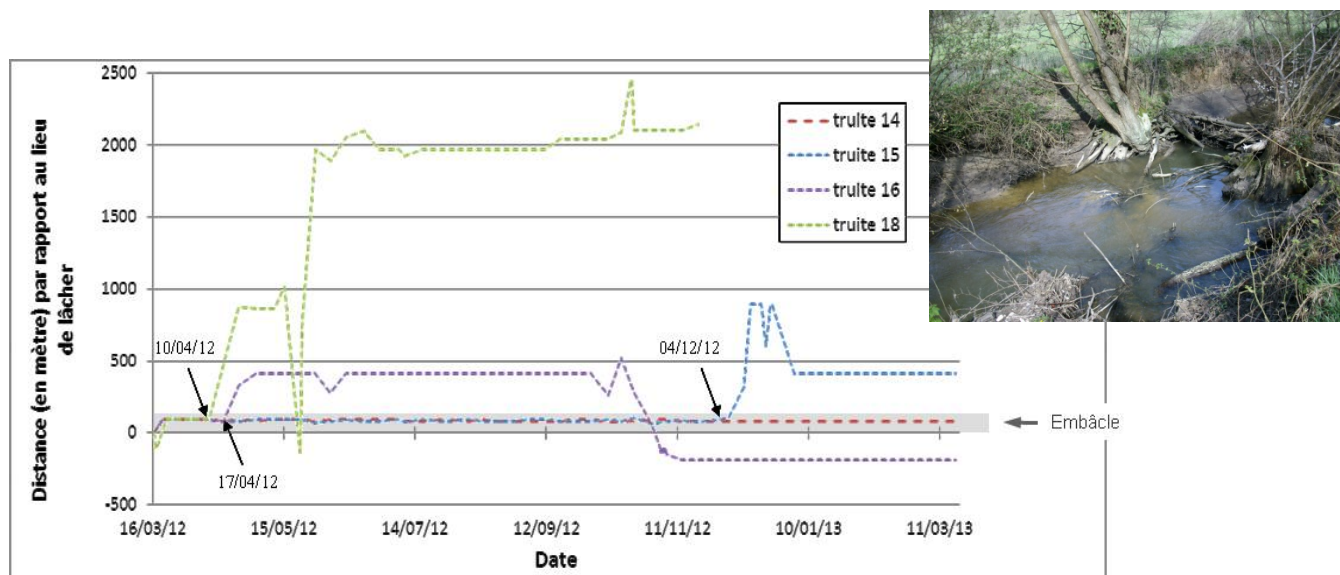


Figure 2.13 : Graphe de trajectoire de la truite 18 (lieu de capture en rouge, position des seuils en pointillés marron)

Sur ce même secteur, nous avons pu aussi étudier le comportement de certains individus face à une large zone d'embâcle pouvant constituer un obstacle, située 100 m en amont du lieu de lâcher. Suite au lâcher post marquage, 4 individus se sont retrouvés à l'aval de cet embâcle (*Figure 2.25*).



**Figure 2.14 : Graphe de trajectoire des truites 14, 15, 16 et 18 et position de l'embâcle.
Photo de la zone d'embâcle et mouille en aval**

Les individus 16 (taille : 350 mm) et 18 (taille : 411 mm), après avoir passé environ 1 mois sous la zone d'embâcle, l'ont franchie entre le 10 avril et le 24 avril. Durant cette période, le niveau d'eau maximal a été de 18,6 cm (le niveau d'eau médian sur ce cours d'eau et pendant la durée d'étude étant de 11,3 cm). L'individu 15 (400 mm) quant à lui, est resté presque 9 mois à l'aval de cette zone avant de la franchir entre le 4 et le 11 décembre (niveau d'eau maximal durant cette période : 25,8 cm). On peut penser qu'il s'agit là d'une migration de reproduction pour rejoindre des sites de fraie en amont. Enfin, l'individu 14 (342 mm), capturé sous l'embâcle, est revenu sur son lieu de capture suite au marquage et ne semble plus avoir bougé sur la durée du suivi.

Ces observations illustrent la variabilité comportementale individuelle en réponse à la présence d'obstacles. En effet, pour un même scénario et des mêmes conditions environnementales, les comportements de franchissement d'embâcle sont très différents.

Périodes d'activité journalière

A côté de la caractérisation des déplacements saisonniers, cette étude a aussi permis d'appréhender quantitativement le rythme d'activité journalière des truites en analysant les enregistrements du récepteur fixe des Ponts de Pierre qui, situé sur le linéaire de la Mérantaise, a enregistré uniquement des passages rapides de truites. Au total, 10 individus ont pu être pris en compte dans cette analyse. Les rythmes d'activité ont été observés en période de reproduction et hors période de reproduction.

La période de reproduction a été fixée du 20 septembre 2012 au 23 février 2013 selon différents critères :

- Date de fraie : le début de la fraie a été estimé aux alentours du 8 novembre 2012 et de nouvelles frayères ont été aperçues jusqu'au 23 janvier 2013,
- Température : à partir du 20 septembre, la température de l'eau commence à descendre en dessous de 10 °C,
- Etude des trajectoires : certaines truites au comportement sédentaire hors période de reproduction semblent débuter des déplacements dès fin septembre-début octobre. Il peut s'agir là de recherche de zone de fraie ou bien de confection du nid en vue de la reproduction.

Il est donc essentiel que ces déplacements soient compris dans la période de reproduction déterminée.

La période d'activité des truites se situe classiquement plutôt la nuit que ce soit au moment de la reproduction, ou en dehors (**Figure 2.26**). Cependant, l'amplitude horaire d'activité est plus importante en période de reproduction. A cette période, l'activité migratrice est élevée de 17h à 6h du matin alors que hors période de reproduction elle s'opère principalement entre 23h et 3h du matin. De façon générale, on remarque une activité migratrice nettement plus importante pendant la période de reproduction. Entre 16h et 22h, l'activité en période de reproduction est au moins 3 fois supérieure à celle enregistrée hors période de reproduction.

Par ailleurs, les déplacements effectués semblent plus importants en période de reproduction, là encore avec une variabilité individuelle avérée.

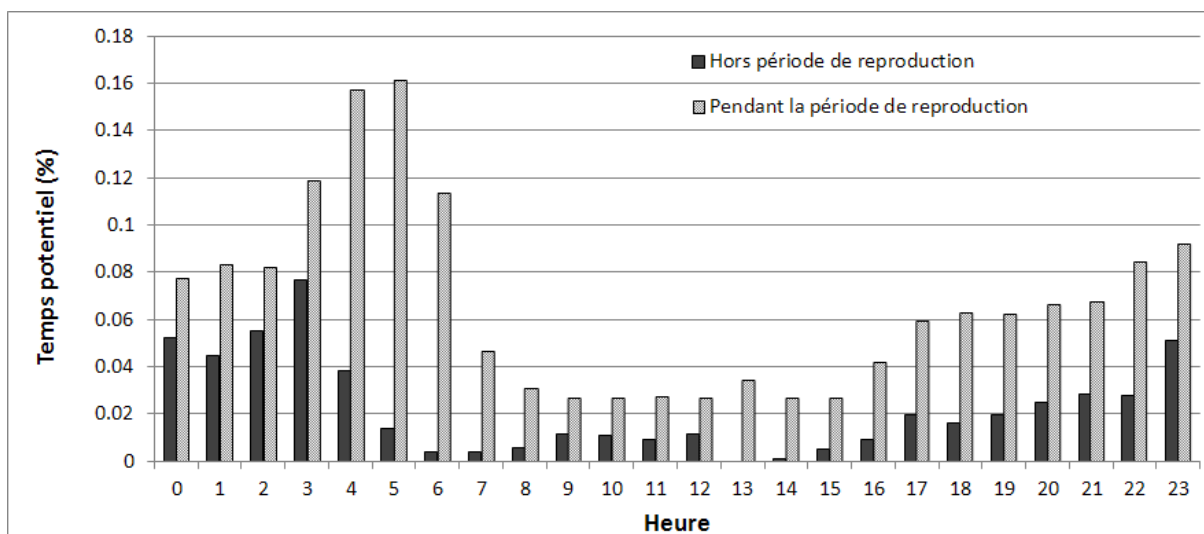


Figure 2.15 : Temps potentiel d'enregistrement de passage (ratio durée de passage sur durée totale de fonctionnement du récepteur) de tous les poissons par le récepteur fixe des Ponts de Pierre en fonction de l'heure et de la période

Relations entre mouvements et variables environnementales

L'analyse des trajectoires individuelles a indiqué que certains individus se sont déplacés à la faveur de variations du niveau d'eau, en lien probablement avec l'approche de la saison de reproduction, qui correspond aussi à des variations de température de l'eau. Ainsi, sur l'Aulne, différentes phases de mouvement des 12 individus suivis ont pu être observées, en correspondance avec ces variations.

Des mouvements importants sont observés en phase 1, 2, 4 et 6 (**Figure 2.27**). A l'inverse les distances parcourues sont faibles en phase 3 et 5.

En phase 1 (et une partie de la phase 2), les mouvements observés sont très probablement liés au marquage (retour vers le lieu de capture, recherche d'un nouveau gîte...).

Les phases 2 et 4 montrent de nombreux déplacements et de grandes distances parcourues (>100 m). Ces phases correspondent à des périodes où le niveau d'eau augmente et dépasse plusieurs fois 20 cm. Les températures sont ascendantes en phase 2 et descendantes en phase 4. Il est probable que la phase 4 illustre le déclenchement des mouvements de recherche de site de fraie avant la reproduction.

La phase 3 correspond à la période estivale avec de faibles niveaux d'eau et des températures élevées. Les mouvements des poissons sont plus rares et de faibles distances. La phase 5 correspond à la pleine période de reproduction, la première frayère ayant été aperçue le 8 novembre 2012 à l'aval de la Galetterie sur l'Aulne. Pourtant peu de grands déplacements sont observés. On remarque qu'à cette période très peu de pics de niveau d'eau ont lieu et que la baisse des températures marque un arrêt entre 7 et 10 °C.

La phase 6 expose de nombreux déplacements de très grande amplitude. Le début de cette phase est marqué par une reprise de la baisse des températures, qui sont alors nettement au-dessous de 10 °C et par de nombreux épisodes d'élévation du niveau d'eau. Durant cette phase, le niveau maximal de l'eau sur ce cours d'eau atteint 65,1 cm. La phase 6 correspond certainement aux déplacements effectués pendant et après la reproduction.

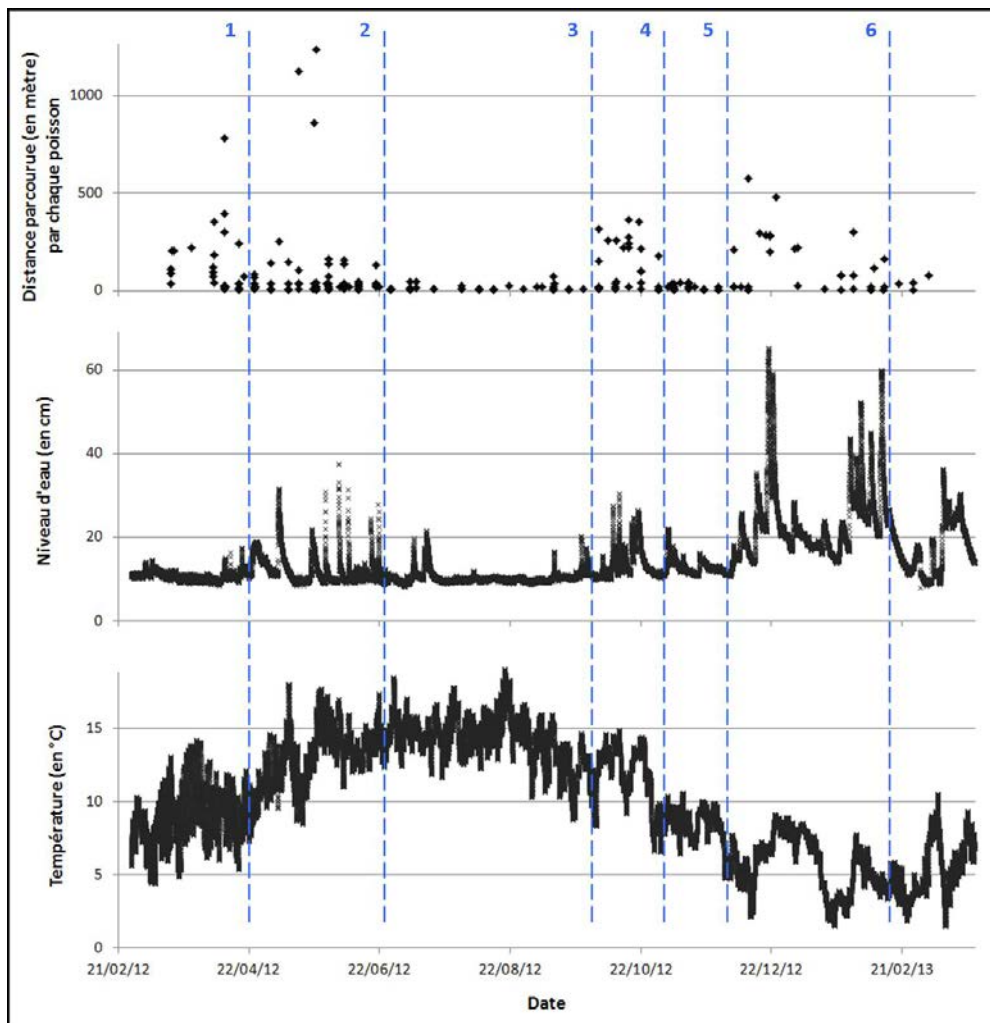


Figure 2.16 : Distance parcourue par tous les poissons sur l'Aulne en fonction des niveaux d'eau et de la température aux mêmes dates

3.4 Modélisation des effets du rétablissement de la continuité écologique sur les populations de truite de la Mérantaise

Les travaux de restauration de la continuité écologique sur les cours d'eau étudiés n'ayant pas encore démarré, un exercice de simulation d'effacement des ouvrages impactant la circulation des poissons sur la Mérantaise a été réalisé, afin d'évaluer l'effet potentiel de cette intervention. La fragmentation des milieux influence les communautés vivantes de plusieurs manières. A l'échelle individuelle, la présence des habitats nécessaires à l'accomplissement du cycle de vie d'un poisson ainsi que leur accessibilité est un prérequis pour sa survie. A l'échelle des populations, la connectivité contraint les échanges d'individus qui sont garants de la viabilité d'une population à long terme. L'exercice de simulation proposé tient compte de ces deux approches en modélisant 1) la connectivité des composantes du paysage subaquatique de la truite et 2) la viabilité des populations de truites.

3.4.1 Modélisation des probabilités de recolonisation des frayères à truite potentielles suite à la restauration de la continuité écologique de la Mérantaise

Démarche

A l'échelle des axes entiers de cours d'eau, souvent fragmentés par de nombreux ouvrages, la sélection des ouvrages prioritaires à l'aménagement pour rétablir la continuité doit se baser à la fois sur leur franchissabilité mais aussi sur leur effet cumulatif. Or, peu de méthodes opérationnelles de quantification de l'accessibilité des habitats nécessaires au cycle de vie des poissons sont disponibles pour établir un diagnostic fonctionnel préalable aux actions de restauration. Tenir compte des effets cumulatifs des ouvrages interconnectés est jugé essentiel pour hiérarchiser les contraintes environnementales et socio-économiques lors des décisions de restauration (Kemp et O'Hanley, 2010).

Le logiciel Anaqualand 2.0, développé depuis 2002, permet d'évaluer la connectivité dans les cours d'eau par le calcul de distances orientées (Le Pichon *et al.*, 2006). Il nécessite des données géolocalisées des différents types d'habitats utilisés par les espèces de poissons pour accomplir leur cycle de vie ainsi que des données relatives à leur capacité de déplacement. Il fournit en fin d'analyse une probabilité qu'un poisson d'une taille donnée atteigne un habitat cible ou l'habitat le plus proche, tenant compte de la difficulté du parcours (Le Pichon *et al.*, 2007). Les résultats finaux peuvent être représentés sous forme de cartes importables dans un Système d'Information Géographique.

Dans cet exercice de simulation, il s'agit d'évaluer la connectivité des habitats de la truite, une fois rétablie la continuité du cours d'eau, notamment comment l'accessibilité aux zones de frayères peut être améliorée. Les zones de frayères potentielles ont été identifiées par une prospection continue du linéaire de la Mérantaise, que le technicien rivière du PNR HVC réalise depuis 2008 à chaque période de reproduction. Elles ont donc pu être cartographiées dans le SIG (**Figure 2.28**).

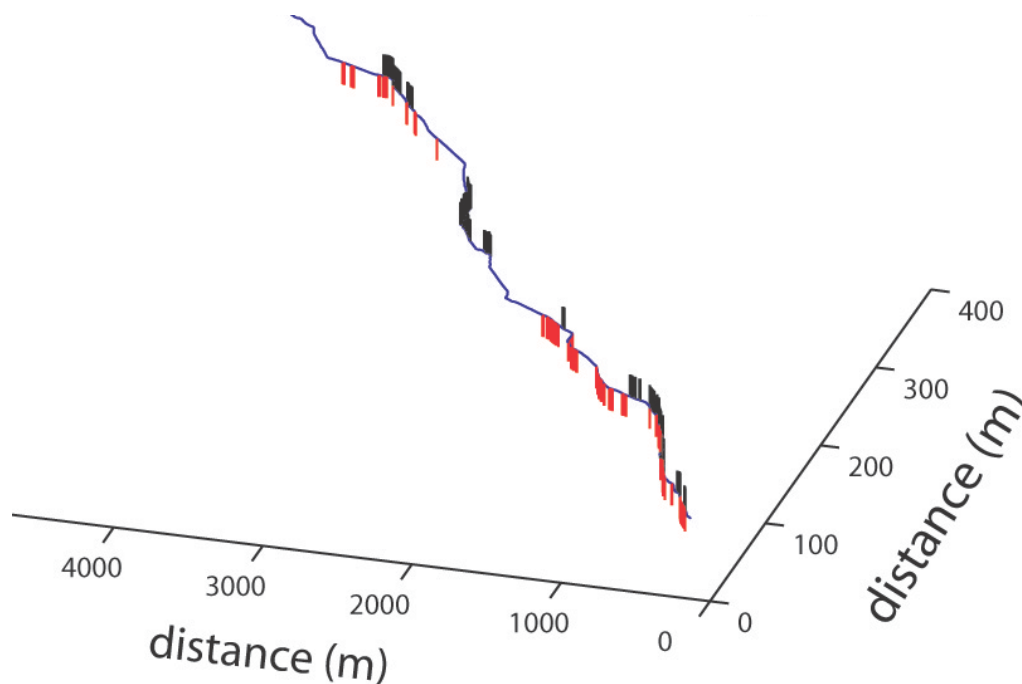


Figure 2.17 : Distribution longitudinale des frayères potentielles (noir) et des habitats journaliers (rouge) le long de la Mérantaise

Les habitats journaliers ont été définis comme les habitats favorables à la truite en dehors de la période de reproduction. La probabilité de présence modélisée des truites y dépasse 0,4 sur une échelle de 0 à 1. La probabilité de présence a été modélisée en croisant les données de localisation des truites par radio-télémetrie obtenues en dehors de la période de reproduction et des variables décrivant la proximité à des habitats clés, soit la distance à la mouille la plus proche (dM), au radier le plus proche (dR) et à l’abri le plus proche (dA).

Dans un premier temps, le logiciel Anaqualand 2.0 a été utilisé pour générer les cartes de ces trois distances. Ces variables ont été utilisées car elles se sont révélées être de bons descripteurs de la présence des truites dans une précédente étude réalisée dans des cours d’eau de tête de bassin en Île-de-France (Le Pichon *et al.*, 2013). La probabilité de présence des truites plus élevée dans les mouilles situées à proximité des radiers (de l’ordre d’une dizaine de mètres) s’explique par l’avantage de ces habitats de combiner la fonction de refuge et d’abri des mouilles et celle d’alimentation des radiers (Ovidio, 1999 ; Ovidio *et al.*, 2002).

Les cartes de résistance au déplacement des truites ont été construites en tenant compte des faciès hydromorphologiques (5 types), des obstacles (12) et des abris (présence/absence). Ces variables ont été considérées comme pertinentes car elles peuvent jouer un rôle pour faciliter ou restreindre la mobilité des truites et rendre compte des coûts énergétiques de nage et du risque de prédation.

Treize cartes de catégories de résistance ont été générées pour représenter les scénarios d’effacement successifs des 12 obstacles (effacement de l’obstacle 1, puis des obstacles 1 et 2, puis des obstacles 1 à 3, etc.) et le scénario sans effacement. Le principe sur lequel repose ces scénarios est celui d’une restauration progressive partant de l’aval vers l’amont, pour décrocher les têtes de bassin. Les paramètres de modélisation ne seront pas détaillés ici.

Principaux résultats et discussion

Afin de comparer les divers scénarios, un indicateur de connectivité a été calculé, représentant la somme des surfaces de chaque pixel (0,25 m²) de frayères/habitat journalier pondéré par sa probabilité d’accès.

La représentation longitudinale de chaque frayère à truite avec sa probabilité moyenne d'être atteinte depuis l'aval selon les scénarios d'effacement des seuils successifs permet d'évaluer leurs effets (**Figure 2.29**).

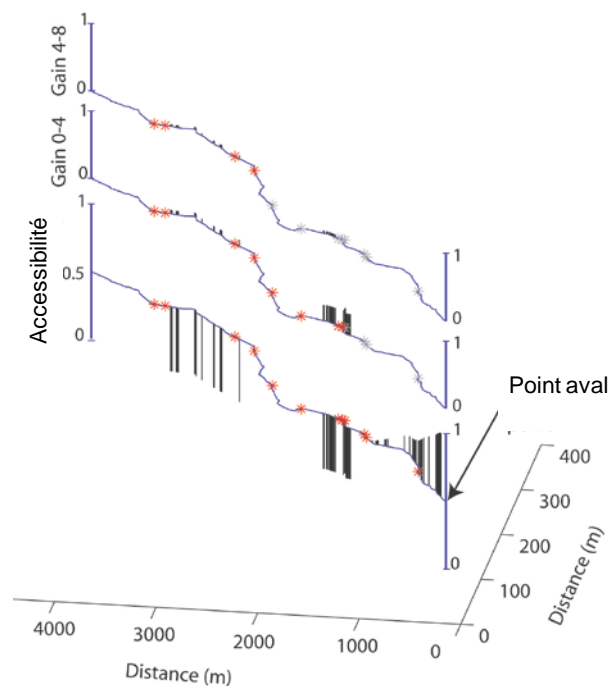


Figure 2.18 : Représentation longitudinale des frayères de la Mérantaise et de leurs valeurs d'accessibilité depuis l'aval dans le scénario actuel (en bas) et gain d'accessibilité obtenu avec l'effacement des 4 premiers obstacles (milieu), puis des 4 obstacles suivants (haut). Les astérisques indiquent la position des obstacles, en rouge : obstacle présent, en gris : obstacle effacé

La courbe du bas représente la situation actuelle : l'accessibilité décroît pour les frayères jusqu'à Ors ; en amont toutes les frayères ont une accessibilité nulle. Avec l'effacement des 4 premiers obstacles (courbe du milieu), on observe un gain d'accessibilité pour le groupe de frayères situées juste en amont du seuil d'Ors. On remarquera des accessibilités non nulles pour les frayères situées en amont des obstacles 5 et 6, qui ne sont pas infranchissables. Un très léger gain est observé pour les frayères en amont de l'obstacle 10, qui n'est pas amélioré lors de la suppression des obstacles 5 à 8 (courbe du haut).

Cette analyse a permis d'identifier les seuils les plus pertinents à effacer compte tenu de la position des frayères dans le linéaire. Ainsi, l'aménagement prévu du seuil d'Ors est celui qui offre un bénéfice maximal à l'accessibilité des frayères dans le secteur amont.

Dans l'optique d'évaluer si les truites peuvent facilement compléter l'ensemble de leur cycle de vie selon les différents scénarios d'aménagement, la connectivité des frayères à partir des habitats journaliers a été modélisée (**Figure 2.30**). On observe que les frayères potentielles de la Mérantaise sont globalement bien connectées aux habitats journaliers (accessibilité > 0,5), sauf en amont du seuil d'Ors (accessibilité = 0). Lorsque ce seuil est effacé, l'accessibilité à ce groupe de frayères est améliorée.

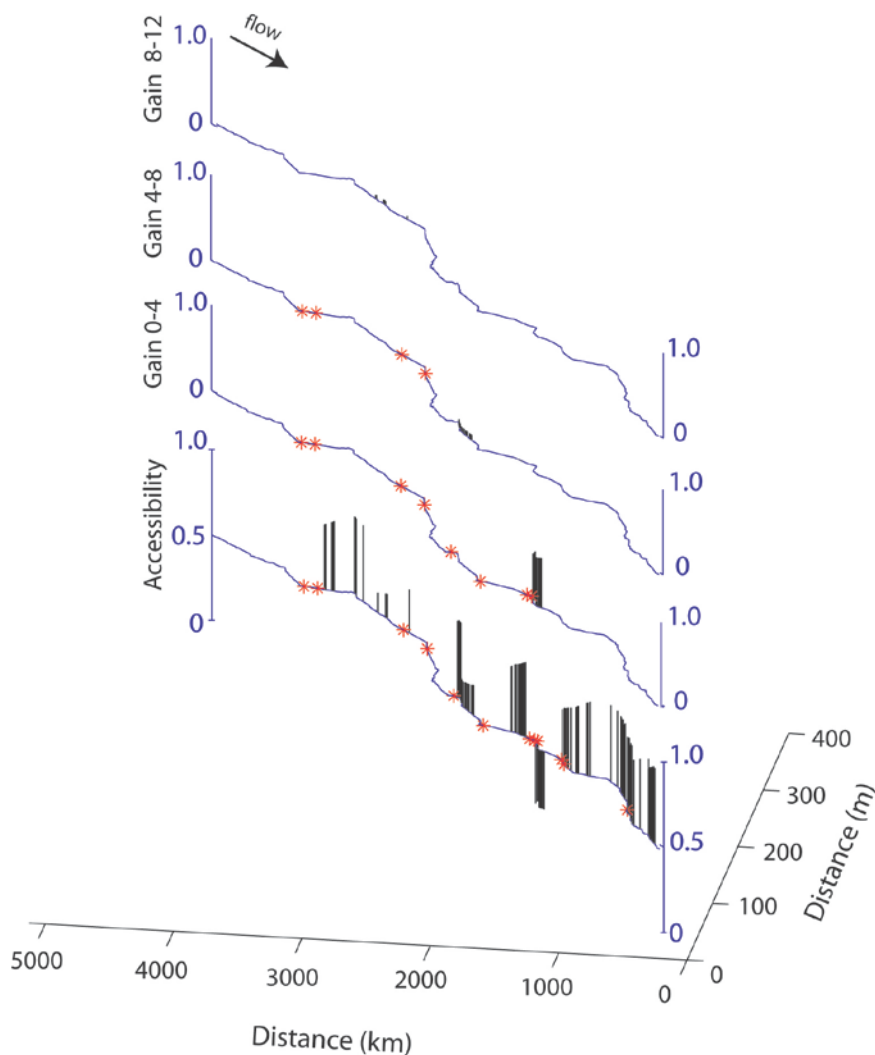


Figure 2.19 : Valeurs d'accessibilité des frayères depuis un habitat journalier dans le scénario actuel (bas) et gain d'accessibilité obtenu avec l'effacement des quatre premiers obstacles (milieu), puis des quatre obstacles suivants et des quatre derniers (haut). Les astérisques indiquent la position des obstacles en rouge

La méthode utilisée ici se révèle pertinente pour quantifier l'accessibilité des habitats nécessaires au cycle de vie des truites selon divers scénarios de rétablissement de la continuité écologique. Les résultats disponibles permettent d'établir un diagnostic fonctionnel préalable aux actions de restauration et fournissent une évaluation de l'effet cumulatif des obstacles. En termes de bilan sur le segment étudié de la Mérantaise, on constate que potentiellement les frayères sont assez bien connectées aux habitats journaliers et que l'effacement du seuil d'Ors permet de reconnecter tous ces habitats à l'aval du secteur qui est actuellement le seul occupé par des populations de truites.

Sur la base de cet exercice de simulation, l'identification du seuil d'Ors comme ouvrage impactant la continuité de la Mérantaise est avérée. Ce seuil étant infranchissable, son effacement permet non seulement de rendre accessibles aux truites de l'aval des zones de frayère actuellement isolées, mais aussi d'élargir la distribution de cette espèce du fait de la connexion de ces frayères avec d'autres habitats vitaux. Cet effacement devrait donc permettre à la truite de reconquérir l'intégralité du cours d'eau.

3.4.2 Modélisation de la viabilité des populations de truites sur la Mérantaise

Des populations isolées de truite fario sont présentes sur certains secteurs du bassin, notamment sur l'Yvette amont et sur l'un de ses affluents, la Mérantaise. En utilisant une analyse de viabilité de population (PVA ; Akçakaya et Sjögren-Gulve, 2000) on a cherché à évaluer les bénéfices de travaux de restauration de la continuité écologique de ces cours d'eau sur la viabilité des populations de truites fario. Plusieurs scénarios ont été modélisés à l'aide du logiciel VORTEX (Lacy *et al.*, 2005), paramétrés à l'aide des connaissances sur les truites fario issues de la littérature. Des données de pêche électriques obtenues sur la Mérantaise, complétées par des données couvrant l'ensemble du bassin Seine Normandie, ont été utilisées pour définir des densités de truites et estimer les tailles actuelles de populations et les capacités de charge (taille maximum de population acceptable par le milieu ; **Tableau 2.5**).

Tableau 2.4 : Tailles de populations utilisées pour la modélisation de viabilité de la metapopulation sur la Mérantaise

N° Section	Longueur (m)	Largeur (m)	TPI	TCC
1	777,5	2,5	194,375	291,5625
2	848,1	2,5	212,025	318,0375
3	795,0	2,5	0	298,125
4	1175,8	2,5	0	440,925
5	1371,1	2,5	0	514,1625

Abréviations : TPI, taille de population initiale ; TCC, taille de population à capacité de charge

Scénarios testés

Un premier scénario correspond au suivi de la situation actuelle si aucune restauration n'est réalisée. On modélise l'évolution des populations de truites fario, plus ou moins isolées entre elles par les ouvrages hydrauliques, sur 100 ans. Afin d'étudier tout particulièrement l'impact de la fragmentation des populations, on répète la simulation en faisant varier les couples de valeurs de migration amont/aval entre deux populations. Un deuxième scénario vise à suivre la recolonisation amont des cours d'eau après effacement ou aménagement des obstacles. Enfin, un troisième scénario, correspondant à la réintroduction de truites fario (translocation) dans les zones en amont de la limite actuelle de remontée des truites, et ce dans le cas où l'on n'aménage pas les obstacles.

Principaux résultats

Avec le scénario 1, on constate que, sur 100 ans, la taille des deux populations diminue à mesure que les pourcentages de migration (fonction de la capacité de franchissement de l'obstacle) entre les deux populations baissent. Plusieurs valeurs des taux de migration sont testées correspondant aux différentes courbes (amont/aval, c'est-à-dire individus montants et descendants ; **Figure 2.31**).

La diminution de la taille des populations plus significative apparaît pour un taux de migration de 2 % aval/ 1 % amont. Ces exemples peuvent illustrer quelques cas d'obstacles présents sur la Mérantaise, certains

restants franchissables par les individus de plus grande taille. En revanche, le seuil d’Ors étant infranchissable, la truite n’est pas occurrente en amont, on est dans le cas 0 % aval/ 0 % amont. Compte tenu des tailles actuelles de populations, des populations de part et d’autre de ce seuil s’éteindraient à terme.

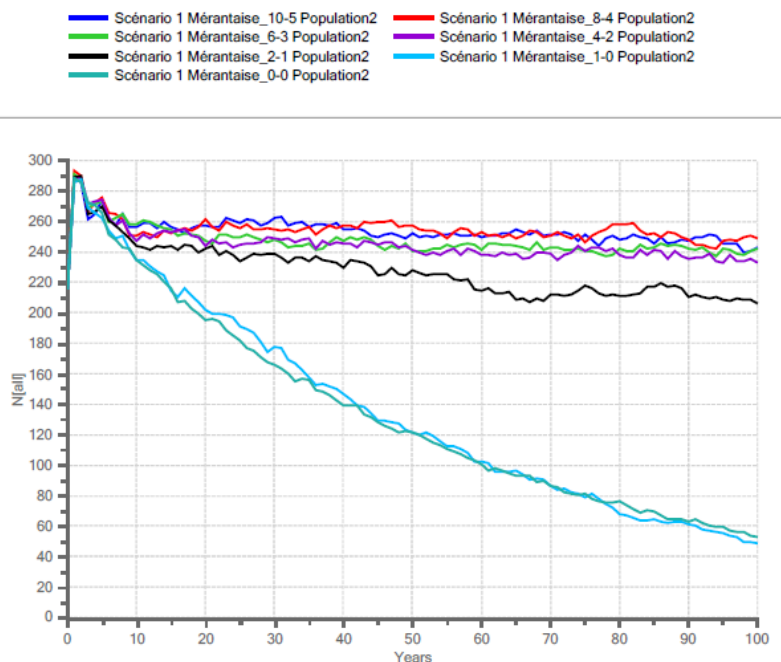


Figure 2.20 : Exemple d'évolution temporelle de la taille de la population en amont d'un obstacle (cas d'un effectif initial équivalent aux effectifs observés en aval) en fonction des valeurs de migration liées à la franchissabilité de cet obstacle

Le même exercice a été mené en simulant l'aménagement des obstacles de la Mérantaise (scénario 2) par modification progressive des taux de migration, les déplacements de truites étant facilités (**Figure 2.32**).

Plus la franchissabilité de l'obstacle de l'aval vers l'amont (montaison) est importante, plus les individus vont pouvoir coloniser l'amont du cours d'eau. La diminution de la taille de la métapopulation est nette lorsque les individus ne peuvent que très difficilement remonter le cours d'eau et franchir les obstacles.

Un troisième scénario a été modélisé, correspondant au cas où une réintroduction de truites fario dans les zones en amont sur la Mérantaise est privilégiée à un effacement des obstacles actuels. Le modèle simule la réintroduction de 25 truites fario dans chacun des trois secteurs en amont de l'aire de répartition actuelle de la truite sur le cours d'eau (secteurs 3, 4 et 5 dépourvus de truites). L'évolution en fonction du temps du nombre d'individus des différentes populations de la Mérantaise, indique que la viabilité des populations sur les secteurs en amont n'est pas assurée. En effet, la taille des populations tend à diminuer au cours du temps. Il y a une diminution progressive au cours du temps des effectifs des populations réintroduites. Cela se confirme si l'on observe la probabilité de survie de ces populations, qui est d'autant plus faible plus la population est située vers l'amont (**Figure 2.33**). Les populations de truites fario 1 et 2 ont une probabilité de survie bien supérieure (respectivement 95 % et 88 %) à celle des populations 3, 4 et 5 où des réintroductions ont été effectuées (respectivement 70 %, 45 % et 18 %) Ce scénario met en évidence le fait que la réintroduction de truites fario est une option qui n'assure pas un maintien durable des populations. Dans un tel cas de figure, il serait nécessaire de répéter l'opération de réintroduction à intervalles de temps réguliers.

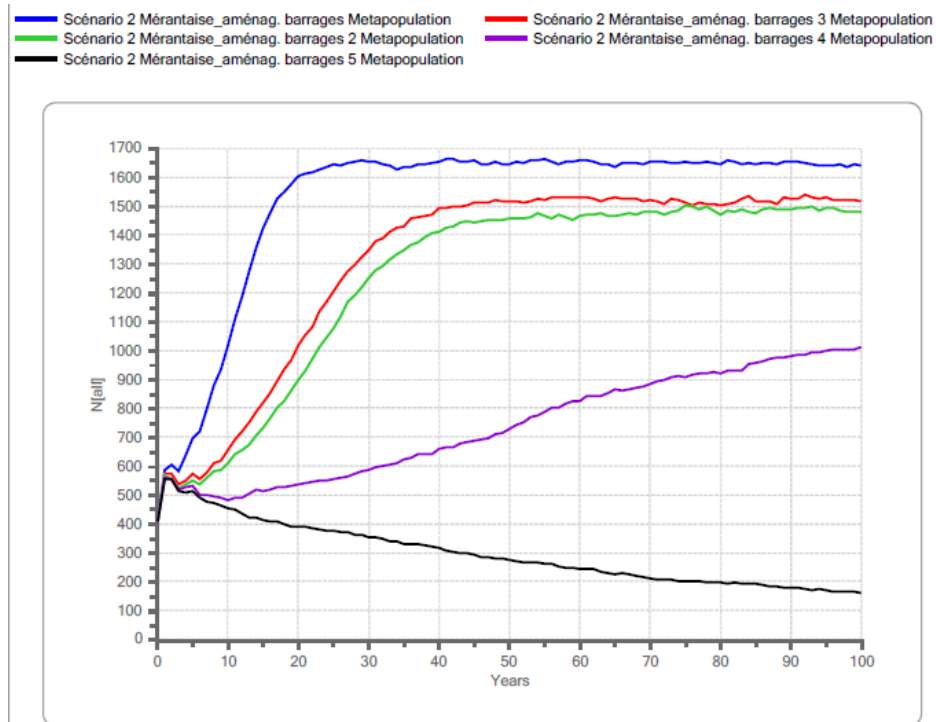


Figure 2.21 : Evolution de la taille de la métapopulation de truites fario sur la Mérantaise en fonction du degré d'aménagement des obstacles. En noir, pas d'aménagement des obstacles (situation actuelle) migration aval 0,5 % / migration amont 0 % ; en violet, aménagement tel que migration aval 1 % / migration amont 0,5 % ; en vert, aménagement tel que migration aval 2,5 % / amont 1,25 % ; en rouge, : aménagement tel que migration aval 5 % / amont 2,5 % ; en bleu, aménagement tel que migration aval 10 % / amont 5 %

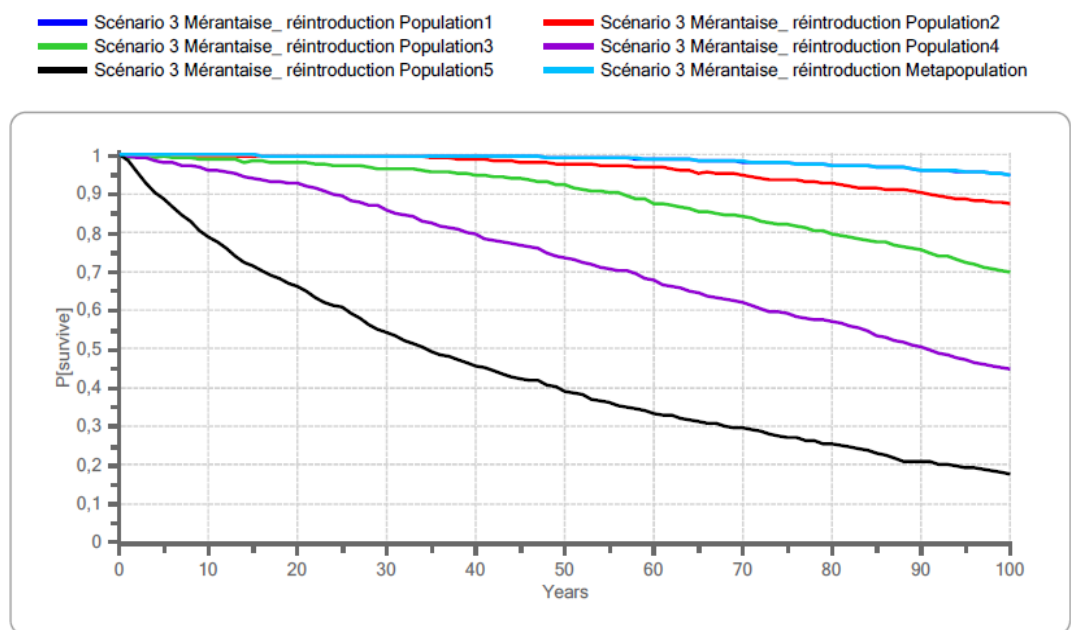


Figure 2.22 : Probabilité de survie des populations après réintroduction en fonction du temps

Discussion

Cette application d'analyse de viabilité aux populations de truites fario sur le bassin versant de la Mérantaise a permis de mettre en avant l'impact de l'isolement des populations par de nombreux obstacles transversaux. La fragmentation des cours d'eau peut être clairement préjudiciable au maintien de la métapopulation, la dynamique de dispersion des individus entre les populations étant déterminante pour leur persistance.

La modélisation sous VORTEX de la dynamique des populations de truite fario et des différents scénarios de gestion de réhabilitation de la continuité écologique des cours d'eau a mis en évidence les bénéfices d'un aménagement, voire d'une suppression des obstacles pour les populations. Les sorties du modèle pour les différents scénarios ont montré que le maintien des populations est fortement dépendant des possibilités de migration entre les populations.

Les obstacles transversaux sur le lit du cours d'eau limitent la taille des populations et les dynamiques de dispersion et de migration des individus entre les zones d'habitat et les zones de frayère. Plus la fragmentation de l'habitat est importante et les populations isolées entre elles, plus la taille de ces populations diminue. Les populations sont alors plus vulnérables aux menaces de catastrophes (pollution, événements majeurs : étiage sévère, inondation, ...).

D'après les résultats du modèle, sur la base de la situation actuelle, le maintien des populations pour les 100 prochaines années est fort probable. Cependant, les populations sont de taille relativement réduites et sont isolées, une tendance à la diminution des effectifs des populations ressort sur le long terme, ce qui ne fait pas de la situation actuelle une situation favorable à la viabilité des populations de truite.

Les différents scénarios modélisés sous VORTEX ont permis d'estimer l'efficacité des choix de gestion sur la viabilité des populations de truite fario. Tout d'abord, l'aménagement des obstacles actuels par abaissement de la hauteur de seuil ou leur suppression semblent être des options préférables à la réintroduction de truites fario dans les zones qui ne lui sont plus accessibles (en amont), les résultats du modèle de réintroduction de truites ne permettant pas un maintien des populations dans les zones en amont.

3.5 Conclusion

Le suivi, avant travaux, des deux projets de restauration de la continuité écologique sur l'Aulne et la Mérantaise comprend un état initial hydromorphologique et biologique réalisé sur les années 2011-2013. Les protocoles de mesures hydromorphologiques, autour de deux approches complémentaires : une approche stationnelle et une approche longitudinale ont permis de caractériser l'état hydromorphologique des deux cours d'eau à des échelles différentes.

Les protocoles d'évaluation biologique se sont avérés très complémentaires pour comprendre la dynamique de présence de la truite, notamment l'inventaire des frayères, le suivi des mouvements d'individus matures et l'échantillonnage en fin de saison des jeunes de l'année.

L'analyse complémentaire des faciès, du profil en long et des distributions spatiales des individus et leurs mouvements met en évidence les secteurs les plus favorables à l'espèce : (i) habitat des jeunes de l'année, (ii) distribution spatiale des frayères et (iii) gîtes de croissance des adultes. L'analyse des mouvements par télémétrie permet de préciser l'ampleur de la migration de reproduction mais aussi le comportement face aux obstacles naturels, de type embâcle, ou artificiels comme les deux seuils étudiés.

La multidisciplinarité des approches souligne nettement l'influence de la morphologie et de l'hydrologie sur le compartiment biologique : les distributions des adultes de truites, la réussite du recrutement de l'année et la composition des peuplements d'invertébrés.

A l'issue de cet état initial, il apparaît que les cours d'eau choisis pour les opérations de restauration présentent un bon potentiel. Leur qualité écologique et hydromorphologique n'est pas très dégradée, si ce n'est localement par la présence des ouvrages. Leur dynamique potentielle semble intacte, ce qui suggère qu'une intervention permettant de supprimer les principaux obstacles à l'écoulement entraînerait des processus autonome de restauration des cours d'eau. Seule la portion aval de la Mérantaise semble trop dégradée pour pouvoir générer de manière autonome ce type de dynamique. Les populations de truite présentes devraient ainsi pouvoir reconquérir ces cours d'eau une fois rétablie la continuité.

Les simulations réalisées à partir des scénarios d'aménagement ou d'effacement des ouvrages fragmentant ces cours d'eau semblent indiquer par ailleurs que les seuils choisis sont les plus impactant. Ces résultats sont encourageants pour poursuivre la démarche engagée vers la restauration de la continuité écologique de ces deux cours d'eau.

4 Conclusion générale et perspectives

Ce travail a porté sur l'évolution dans le temps de l'état écologique des cours d'eau du Bassin de la Seine. D'une part, l'analyse de l'évolution à long terme des biocénoses en place, notamment des peuplements de poissons, a permis de dresser l'évolution passée et d'autre part, l'étude d'opérations de restauration en cours peut révéler comment agir pour faire évoluer l'état écologique à l'avenir.

L'analyse des peuplements de poissons des cours d'eau du bassin de la Seine depuis le 18^e siècle indique que globalement, ils ont évolué avec *i*) une réduction des espèces les plus exigeantes en matière d'habitat et de qualité d'eau (espèces migratrices ou certaines espèces rhéophiles par exemple et, *ii*) l'installation progressive de nouvelles espèces. Elle a dégagé des trajectoires d'évolution différentes selon les cours d'eau considérés. Il faut préciser tout d'abord que des pressions anthropiques se sont exercées très tôt sur les cours d'eau et les biocénoses qu'ils hébergent. Les évolutions différentes constatées peuvent être nuancées selon le type de cours d'eau.

Dans les grands axes du bassin, telle la Seine aval, la situation s'améliore lentement après une détérioration de grande ampleur qui semble avoir connu son paroxysme dans les années 1950-1970. Notamment, la faune migratrice, après avoir en grande partie disparue, semble reconquérir, bien qu'encore timidement, les grandes voies de circulation. Dans les petits cours d'eau du bassin en revanche la situation est plus variable, certains étant en voie de dégradation alors que d'autres s'améliorent simultanément. Ces trajectoires temporelles contrastées semblent être le résultat du contexte local, un compromis entre la taille du cours d'eau et l'évolution de la densité de population sur le bassin versant. Ce constat peut être lié au fait que différentes pressions subies par les milieux d'eaux courantes, s'exercent sans doute différemment selon le contexte territorial. Cette analyse historique permet aussi de resituer le contexte actuel dans une perspective plus large : alors que l'état actuel de l'axe Seine, par exemple, continue de présenter un gradient longitudinal de dégradation, nos résultats indiquent pourtant que ce secteur est sur une trajectoire d'amélioration de sa qualité appréhendée par les peuplements de poissons.

A l'issue de ce travail, il apparaît que l'état écologique des cours d'eau a évolué différemment et est de qualité variable selon les zones géographiques considérées. En conséquence, pour l'améliorer ou le préserver selon le contexte, les pratiques de gestion, notamment les mesures de restauration, devront être adaptées.

Cette problématique de la restauration a été abordée via l'étude d'opérations en cours, concernant plus particulièrement la restauration de la continuité écologique dans des petits cours d'eau situés dans le territoire du Parc Naturel Régional de la Haute Vallée de Chevreuse.

L'évolution du peuplement de poissons de ces petits cours d'eau est conforme à celle précédemment décrite, à savoir un peuplement de zone apicale enrichi par des espèces tolérantes du point de vue de leurs exigences écologiques, en raison des aménagements passés. Il s'agissait de suivre scientifiquement ces opérations de

manière à évaluer leurs conséquences écologiques et leur efficacité. Les travaux n'ayant pas encore eu lieu à ce jour, les conclusions ne sont que partielles.

Cette étude a permis d'avancer sur la connaissance des comportements de déplacements des poissons, de la truite en particulier, espèce emblématique des têtes de bassin versant, aux abords d'obstacles et plus globalement dans des secteurs de cours d'eau fragmentés. Il est ainsi avéré que les truites, notamment au moment de la reproduction, période à laquelle elles sont particulièrement mobiles et en recherche d'habitats spécifiques, sont limitées voire bloquées dans leurs déplacements par les obstacles jalonnant les cours d'eau. Des simulations par modélisation de l'effacement ou de l'aménagement des ouvrages en travers dans ces cours d'eau indiquent un bénéfice pour les poissons en termes d'accès à des habitats auparavant isolés. Plus largement, ce décloisonnement potentiel serait le garant de la viabilité des populations de truites à long terme sur ces cours d'eau. Le suivi mis en œuvre sera poursuivi après la réalisation des travaux pour juger de l'efficacité réelle de cette intervention, en comparaison avec les résultats des modélisations menées.

Ce travail pose plus largement la question de la définition de l'état écologique à atteindre, et de la voie à emprunter pour ce faire. L'efficacité des mesures de restauration dépend de la validité du diagnostic de l'état écologique et de la définition précise des objectifs à atteindre qui s'ensuit. La mise en perspective historique peut contribuer à cette démarche en fournissant un cadre d'évolution temporelle de l'état écologique.

Il est vraisemblable aussi que la connaissance actuelle de l'état écologique des cours d'eau soit le reflet d'une période antérieure, les altérations actuelles étant sans doute difficilement mesurables avec les outils dont les gestionnaires disposent. Des approches plus fonctionnelles sont à développer, prenant en compte un ensemble plus large de gammes de pressions.

5 Références bibliographiques

AFNOR. (2009). Qualité écologique des milieux aquatiques - Qualité de l'eau - Prélèvement des macro-invertébrés aquatiques en rivières peu profondes. *Association française de normalisation*, XP T90-333.

Akçakaya, H.R., and Sjögren-Gulve, P. (2000). Population viability analyses in conservation planning: An overview. *Ecological Bulletins*, 48, 9-21.

Baudry, J., Boussard, H., and Schermann, N. (2005). Chloe 3.0: Freeware of multi-scales analyses on ASCII raster files. INRA, (ed.), *SAD-Armorique*, Rennes. URL: <https://www6.rennes.inra.fr/sad/Outils-Produits/Outils-informatiques/Chloe>.

Belliard, J., Marchal, J., Ditché, J.M., Talès, E., Sabatié, R., and Baglinière, J.-L. (2009). Return of adult anadromous allis shad (*Alosa alosa* L.) in the river seine, France: A sign of river recovery? *River Research and Applications*, 25(6), 788-794. DOI: 10.1002/rra.1221.

Beslagic, S. (2013). Histoire des interactions entre les sociétés humaines et le milieu aquatique durant l'Anthropocène : évolutions des peuplements piscicoles dans le bassin de la Seine. *Thèse de doctorat*, p. 335. Université Paris 1 Panthéon-Sorbonne, Paris.

Beslagic, S., Belliard, J., and Petit, C. (2013a). Apport des données historiques dans la compréhension de l'évolution des peuplements piscicoles : le bassin de la Seine au cours des deux derniers siècles. *Revue du Nord - Hors Série Collection "Art et Archéologie"*, 19, 31-39.

Beslagic, S., Marinval, M.-C., and Belliard, J. (2013b). CHIPS: A database of historic fish distribution in the Seine River basin (France). *Cybium*, 37(1-2), 75-93.

Billen, G., Garnier, J., Némery, J., Sebilo, M., Sferratore, A., Barles, S., Benoit, P., and Benoit, M. (2007). A long-term view of nutrient transfers through the Seine river continuum. *Science of the Total Environment*, 375(1-3), 80-97. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.12.005.

- Billen, G., Silvestre, M., Barles, S., Mouchel, J.-M., Garnier, J., Curie, F., and Boët, P. (2009). Le bassin de la Seine - Découvrir les fonctions et les services rendus par le système Seine. *Fascicule PIREN-Seine*, AESN, p. 52. URL: http://www.sisyphe.upmc.fr/piren/?q=webfm_send/816.
- Boët, P., Belliard, J., Berrebi-dit-Thomas, R., and Talès, E. (1999). Multiple human impacts by the City of Paris on fish communities in the Seine river basin, France. *Hydrobiologia*, 410, 59-68. DOI: 10.1023/a:1003747528595.
- EPI+ Consortium. (2009). Manual for the application of the new European Fish Index – EFI+. A fish-based method to assess the ecological status of European running waters in support of the Water Framework Directive. J. Solana, D. Garcia de Jalon, D. Pont *et al.*, (eds.), p. 45. URL: <http://efi-plus.boku.ac.at/software/doc/EFI+Manual.pdf>.
- Euzenat, G., Pénil, C., and Allardi, J. (1992). Migr'en Seine – Stratégie pour le retour du saumon en Seine. SIAAP et CSP, (eds.), p. 38.
- Even, S., Mouchel, J.-M., Servais, P., Flipo, N., Poulin, M., Blanc, S., Chabanel, M., and Paffoni, C. (2007). Modelling the impacts of combined sewer overflows on the river Seine water quality. *Science of the Total Environment*, 375(1-3), 140-151. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.12.007.
- Feld, C.K., Birk, S., Bradley, D.C., Hering, D., Kail, J., Marzin, A., Melcher, A., Nemitz, D., Pedersen, M.L., Pletterbauer, F., Pont, D., Verdonschot, P.F.M., and Friberg, N. (2011). From natural to degraded rivers and back again. A test of restoration ecology theory and practice. *Advances in Ecological Research*, 44, 119-209. DOI: 10.1016/b978-0-12-374794-5.00003-1.
- Gob, F., Bilodeau, C., Thommeret, N., Belliard, J., Albert, M.-B., Tamisier, V., Baudoin, J.-M., and Kreutzenberger, K. (2014). Un outil de caractérisation hydromorphologique des cours d'eau pour l'application de la DCE en France (CARHYCE). *Géomorphologie : Relief, Processus, Environnement*, 1/2014, 57-72. DOI: 10.4000/geomorphologie.10497.
- Huet, M. (1949). Aperçu des relations entre la pente et les populations piscicoles des eaux courantes. *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie*, 11(3-4), 332-351. DOI: 10.1007/bf02503356.
- Kemp, P.S., and O'Hanley, J.R. (2010). Procedures for evaluating and prioritising the removal of fish passage barriers: A synthesis. *Fisheries Management and Ecology*, 17(4), 297-322. DOI: 10.1111/j.1365-2400.2010.00751.x.
- Lacy, R.C., Bordat, M., and Pollak, J.P. (2005). VORTEX: A Stochastic Simulation of the Extinction Process. Version 9.50. *Chicago Zoological Society*, Brookfield, IL.
- Le Pichon, C., Gorges, G., Faure, T., and Boussard, H. (2006). Anaqualand 2.0: freeware of distances calculations with frictions on a corridor. Cemagref et INRA, (eds.), *Cemagref*, Antony (France). URL: <https://www6.rennes.inra.fr/sad/Outils-Produits/Outils-informatiques/Anaqualand>.
- Le Pichon, C., Gorges, G., Baudry, J., Boussard, H., Goreaud, F., Faure, T., and Boët, P. (2007). Méthodes et outils d'analyse spatiale des habitats des poissons en contexte fluvial anthropisé. *Revue EAT normal – Ingénieries*, 50, 21-33. URL: <http://www.set-revue.fr/sites/default/files/archives/2007/DG2007-PUB00023149.pdf>.
- Le Pichon, C., Talès, E., Clément, F., Leclerc, N., Gorges, G., and Zahm, A. (2013). Effet des discontinuités physiques sur la distribution spatiale des poissons en tête de bassin : cas de l'Orgeval. In: *L'observation long terme en environnement : exemple du bassin versant de l'Orgeval*. Editions Quae, Versailles (France), pp. 199-212.
- Malavoi, J.R., and Souchon, Y. (2002). Description standardisée des principaux faciès d'écoulement observables en rivière : clé de détermination qualitative et mesures physiques | [Standardized description of streams and rivers channel geomorphic units: Qualitative description key and physical measurements].

BFPP - *Bulletin Francais de la Peche et de la Protection des Milieux Aquatiques*(365-366), 357-372. DOI: 10.1051/kmae:2002040.

Ovidio, M. (1999). Cycle annuel d'activité de la truite commune (*Salmo trutta* L.) adulte : Étude par radiopistage dans un cours d'eau de l'Ardenne Belge | [Annual activity cycle of adult brown trout (*Salmo trutta* L.) : A radio-telemetry study in a small stream of the Belgian Ardenne]. *BFPP - Bulletin Francais de la Peche et de la Protection des Milieux Aquatiques*, 72(352), 1-18. DOI: 10.1051/kmae:1999017.

Ovidio, M., Baras, E., Goffaux, D., Giroux, F., and Philippart, J.C. (2002). Seasonal variations of activity pattern of brown trout (*Salmo trutta*) in a small stream, as determined by radio-telemetry. *Hydrobiologia*, 470, 195-202. DOI: 10.1023/a:1015625500918.

Passy, P., Gypens, N., Billen, G., Garnier, J., Thieu, V., Rousseau, V., Callens, J., Parent, J.Y., and Lancelot, C. (2013). A model reconstruction of riverine nutrient fluxes and eutrophication in the Belgian Coastal Zone since 1984. *Journal of Marine Systems*, 128, 106-122. DOI: 10.1016/j.jmarsys.2013.05.005.

Prévoist, E., and Baglinière, J.L. (1993). Présentation et premiers éléments de mise au point d'une méthode simple d'évaluation en eau courante, du recrutement en juvéniles de saumon atlantique (*Salmo salar*) de l'année. In: *Les recherches françaises en évaluation quantitative et modélisation des ressources et des systèmes halieutiques : actes du colloque*, D. Gascuel, J. L. Durand, et Alain Fonteneau (eds.), *ORSTOM*, Paris, 1995, pp. 39-48.

Quantin, M. (1888). Recherches historiques sur la rivière d'Armançon, le flottage des bois des comtes de Tonnerre au XVIe siècle. *Impr. de G. Rouillé*, Auxerre (France). p. 23.

Ravinet, T. (1824). Dictionnaire hydrographique de la France. Suivi de la collection complète des tarifs des droits de navigation. Tome 1^{er}, *Bachelier*, Paris (France). p. 360.

Rochard, E., Croze, O., Béguyer, M., Gazeau, C., Lassalle, G., Marchal, J., Ombredane, D., Baglinière, J.L., Menvielle, E., and Pellegrini, P. (2007). Identification éco-anthropologique d'espèces migratrices, emblématiques de la reconquête d'un milieu fortement anthropisé, la Seine. *Rapport final pour le Programme Seine-Aval, Thème 2 : Halieutique, habitats et restauration des fonctionnalités biologiques*. Etude Cemagref n° 114, Cemagref EPBX - Rennes Agrocampus et Muséum d'histoire Naturelles (eds.), GIP Seine-Aval, p. 144. URL: http://seine-aval.crihan.fr/web/attached_file/componentId/kmelia63/attachmentId/17070/lang/fr/name/Rochard_II-2005-05_rapport-2006_P.pdf.pdf.

Rodriguez, H., Geistlinger, J., Berlyn, G., Kahl, G., and Weising, K. (2000). Characterization of novel microsatellite loci isolated from the tropical dioecious tree *Simarouba amara*. *Molecular Ecology*, 9(4), 498-500. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2000.00871-7.x.

Talès, E., Belliard, J., Beslagic, S., Stefani, F., Tartari, G., and Wolter, C. (2015). Réponse des peuplements de poissons à l'urbanisation et aux altérations anthropiques à long terme des fleuves. In: *Comment les métropoles ont sacrifié leurs rivières : Berlin, Bruxelles, Milan et Paris (1850-2010)*. L. Lestel et C. Carré (eds.), *Editions Quae. A paraître*.

Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 17(16), 6463-6471. DOI: 10.1093/nar/17.16.6463.

Tóth, G., Gáspári, Z., and Jurka, J. (2000). Microsatellites in different eukaryotic genomes: Surveys and analysis. *Genome Research*, 10(7), 967-981. DOI: 10.1101/gr.10.7.967.

Approche intégrée pour l'évaluation de la qualité de l'axe Seine⁵

Iris Barjhoux¹, Pierre Anschutz², Adriana Anzil³, Armelle Autret^{4,5}, Sophie Ayrault⁶,
Thierry Berthe⁵, Maya Bimbot⁷, Louise Bordier⁶, Hélène Budzinski², Jérôme Cachot²,
Laetitia Charron¹, Arnaud Chaumot⁹, Christelle Clérandeau², Giovanni Corzani-Euzebe²,
Odile Dedourge-Geffard¹, Juliette Faburé^{4,8}, Lise Fechner^{4,8}, Adeline François⁹, Olivier
Geffard⁹, Isabelle George³, Viviane Huteau⁷, Ali Jaffal¹, Pierre Labadie², Laure Landi²,
Jérémy D. Lebrun⁴, Yves Levi⁷, Gabriel Munoz², Patrice Noury⁹, Lucie Oziol⁷, Laurent
Peluhet², Fabienne Petit⁵, Dominique Poirier², Hervé Quéau⁹, Pierre Servais³,
Emmanuelle Uher⁴, Nastassia Urien⁴, Alain Geffard^{1*}

¹ UMR-I 02 INERIS-URCA-ULH Stress Environnementaux et Biosurveillance des milieux aquatiques (SEBIO), Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

² UMR 5805 Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux (EPOC), Université de Bordeaux, Talence, France

³ Laboratoire Ecologie des Systèmes Aquatiques (ESA), Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique

⁴ UR Hydrosystèmes et bioprocédés (HBAN), Equipe Ecotoxicologie, Irstea, Antony, France

⁵ UMR CNRS 6143 Morphodynamique Continentale et Côtière (M2C), Université de Rouen/Caen, Mont Saint Aignan, France

⁶ UMR 8212 CNRS CEA UVSQ Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement (LSCE) / Institut Pierre Simon Laplace (IPSL), Gif-sur-Yvette, France

⁷ Laboratoire Santé Publique - Environnement (LSPE), UMR 8079 - Ecologie Systématique Evolution, Université Paris-Sud 11, Châtenay-Malabry, France

⁸ Département sciences et ingénierie agronomiques, forestières, de l'eau et de l'environnement (SIAFEE), AgroParisTech-ENGREF, Paris, France

⁹ UR Milieux Aquatiques, Ecologie et Pollutions (MAEP), Laboratoire d'écotoxicologie, Irstea, Villeurbanne, France

*alain.geffard@univ-reims.fr

⁵ En bibliographie, cet article sera cité de la façon suivante :

Barjhoux I. et al., (2016) – Approche intégrée pour l'évaluation de la qualité de l'axe Seine. Dans « Ecologie et écotoxicologie », PIREN-Seine, Rapport de synthèse 2011 – 2015.

Sommaire

1	Introduction	58
2	Présentation générale des sites et stratégie d'étude.....	58
3	Physico-chimie générale et micropolluants dans le compartiment abiotique (colonne d'eau et sédiment)	61
4	Métriologie de la contamination à l'aide du biote	93
5	Réponses biologiques face à la contamination de l'axe Seine.....	103
6	Conclusion générale et perspectives	147
7	Références bibliographiques	149

1 Introduction

De la même façon que les organismes aquatiques intègrent les conditions auxquelles ils sont soumis au cours de leur cycle de vie, nous avons voulu aborder la qualité de l'eau dans une démarche intégrative couplant les paramètres physico-chimiques des compartiments abiotiques (eau et sédiment) et biotiques, ainsi que les réponses biologiques associées. Une telle démarche demande le déploiement de moyens d'échantillonnage et d'analyses importants, et un véritable effort de cohérence entre les acteurs. Pour atteindre le but fixé, trois sites caractéristiques du bassin de la Seine (Marnay, Bougival, Triel) déjà exploités lors de la Phase 5 (l'« axe Seine ») ont été sélectionnés pour leur représentativité de la variabilité spatiale des pressions sur le milieu. La variabilité temporelle a été abordée en utilisant une stratégie de campagnes saisonnières. Cette stratégie est présentée dans le chapitre 3.1 suivant.

2 Présentation générale des sites et stratégie d'étude

Le Bassin de Seine est un environnement soumis à une forte pression anthropique pouvant résulter en un enrichissement important en nutriments, matières organiques, micropolluants métalliques et organiques variés. Les sources de ces apports exogènes sont extrêmement variées à l'échelle du bassin : effluents urbains, industriels, agricoles, lessivage des sols, retombées atmosphériques etc... Il en résulte une contamination complexe des systèmes aquatiques exerçant une pression diffuse, multiple et chronique sur les organismes vivants dans ces milieux et dont les effets sont difficilement évaluable.

Dans ce contexte, les travaux réalisés dans le cadre de l'axe 4 de la phase 6 du PIREN-Seine ont visé au développement et à l'application d'une combinaison d'approches associant mesures chimiques (ponctuelles et échantillonneurs passifs), biomarqueurs, biotests et réponses au niveau de communautés (biofilm et microbienne) afin de caractériser finement le risque chimique et écotoxicologique. En effet, ces différents types d'outils, bien que développés séparément, sont amenés, à terme, à converger pour être utilisés à des fins communes et permettre une vue d'ensemble de la qualité des milieux d'eaux courantes. Durant cette phase, la variabilité saisonnière de ces réponses a également été prise en considération.

2.1 La zone d'étude : l'axe Seine « Marnay – Bougival – Triel »

Les trois sites choisis pour cette étude ont déjà fait l'objet de suivis dans le cadre du programme PIREN Seine. Ils sont situés le long du gradient de contamination urbaine de l'agglomération parisienne, de l'amont (site de Marnay, à environ 200 km de Paris) à l'aval (Bougival et Triel) de Paris sur la Seine ; le site de Bougival se situe immédiatement après Paris et donc au centre de l'agglomération parisienne, et le site de Triel est à l'aval du rejet de la station Seine-Aval et de la confluence de la Seine avec l'Oise (**Figure 3.1**). Des niveaux de contamination contrastés ont déjà été observés sur ces stations, tant pour les éléments traces métalliques (Priadi *et al.*, 2011) que pour différentes familles de micropolluants organiques tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB), les éthers de biphényles polybromés (PBDE) ou les phtalates (Teil *et al.*, 2013 ; 2014).

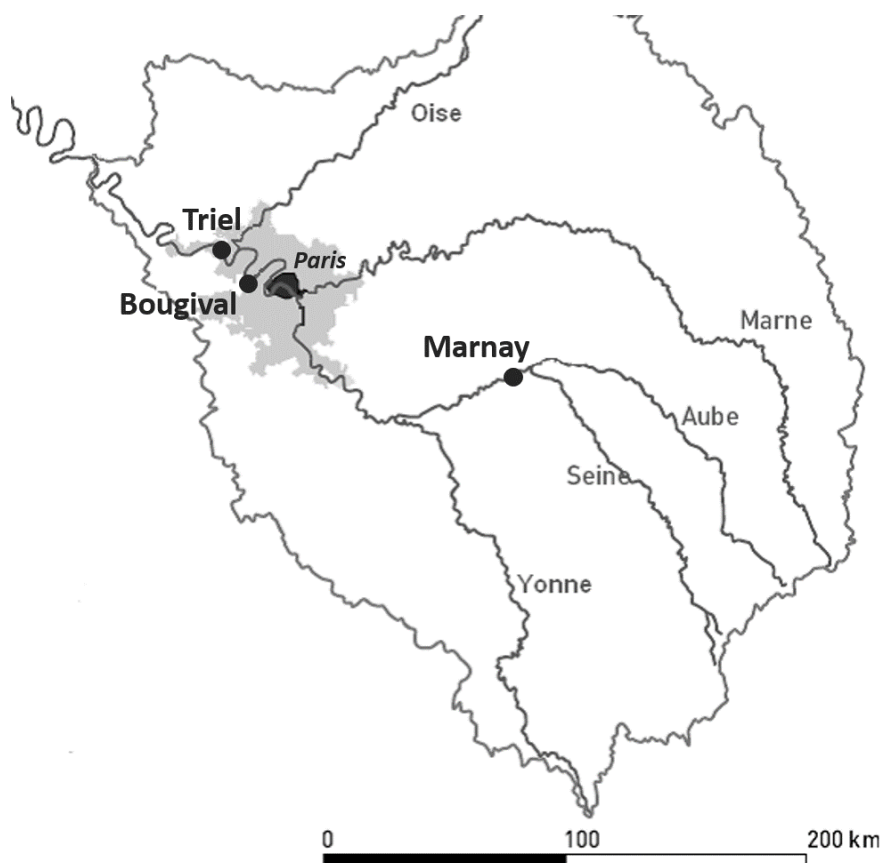


Figure 3.1 : Localisation des sites d'étude (d'après Labadie *et al.*, 2013)

2.2 Campagnes de prélèvements et stratégie d'échantillonnage globale

Lors de la phase 6, quatre campagnes d'une durée d'environ un mois chacune ont été organisées à des saisons différentes :

- 1^{ère} campagne « C1 » : *Automne 2011* – Du 30/08 au 27/09/2011
- 2^{ème} campagne « C2 » : *Printemps 2012* – Du 02/03 au 03/04/2012
- 3^{ème} campagne « C3 » : *Été 2012* – Du 01/06 au 03/07/2012
- 4^{ème} campagne « C4 » : *Hiver 2012* – Du 13/11 au 18/12/2012

Au cours de chaque campagne et pour chaque site, un large panel d’analyses a été étudié sur différentes matrices. La **Figure 3.2** récapitule, par matrice, l’ensemble des analyses entreprises au cours de cette étude.

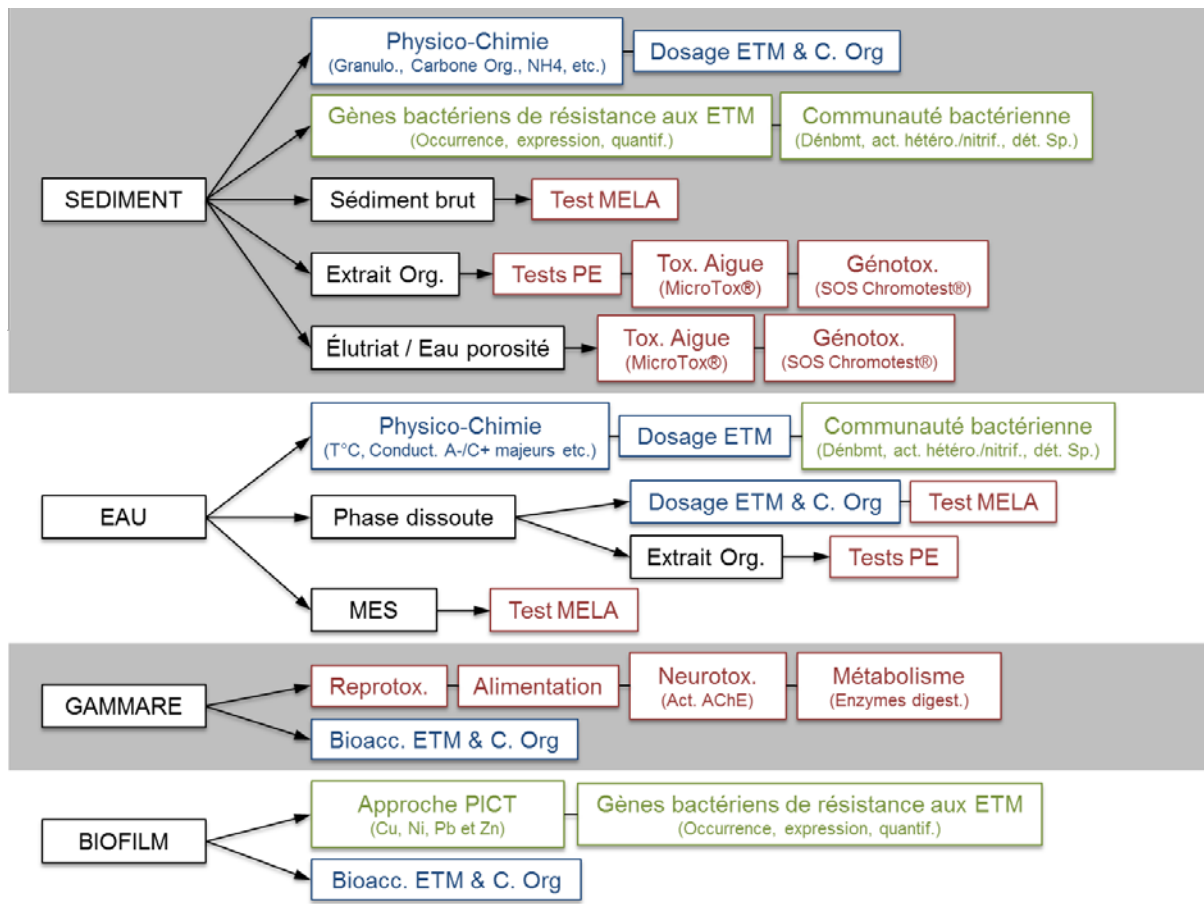


Figure 3.2 : Récapitulatif des analyses entreprises dans le cadre des campagnes de prélèvement 2011-2012 sur l’axe Seine « Marnay – Bougival – Triel ». Voir dans le texte pour plus de détails

Des prélèvements ponctuels d’eau ont été effectués (3 [campagne C2] à 4 [autres campagnes] prélèvements répartis le long de chaque campagne et pour chaque site) afin de déterminer les concentrations en éléments traces métalliques (ETM) totaux et dissous ainsi que les principaux paramètres physico-chimiques (pH, conductivité, anions/cations majeurs etc.). La présence de micropolluants organiques (C. Org) a également été suivie dans la fraction dissoute de la colonne d’eau à raison de 2 à 4 prélèvements par campagne.

Un prélèvement composite de sédiment lors de chaque campagne a également été réalisé afin de caractériser le niveau de contamination organique et métallique de ce compartiment au niveau des trois sites d’étude.

Certaines réponses biologiques après exposition *in situ* ont été évaluées chez le gammare (biomarqueurs enzymatiques, reproduction et alimentation) et le biofilm périphtyque (test de tolérance aux ETM par l’approche PICT). Ces observations ont été complétées par des mesures de bioaccumulation en ETM et en micropolluants organiques dans les organismes. Par ailleurs, la densité et la diversité bactérienne ont été analysées dans la colonne d’eau et dans le sédiment (sur un échantillon par site et par campagne). La présence et l’expression de gènes de résistance aux ETM ont également été étudiées au sein des communautés bactériennes du biofilm et du sédiment (sur un échantillon par site et par campagne).

L'évaluation de la qualité du milieu a été enrichie par l'application de tests de toxicité en laboratoire comprenant une série de tests *in vitro* de perturbation endocrinienne (PE ; sur extraits organiques issus de la colonne d'eau et du sédiment), des tests embryo-larvaire poisson sur le médaka japonais (test MELA ; par sédiment-contact, sur les matières en suspension (MES), ainsi que sur la fraction brute et la fraction dissoute de la colonne d'eau), et des tests normalisés de toxicité aigüe (test Microtox®) et de génotoxicité (SOS Chromotest®) entrepris sur les éluviats, l'eau de porosité et les extraits organiques des sédiments (un prélèvement par site et par campagne).

Les détails concernant techniques analytiques et l'échantillonnage sont présentés dans chaque sous-partie.

2.3 Organisation, compilation et analyse des données collectées

L'ensemble des données générées au cours des différentes campagnes pour les trois sites d'étude a été rassemblé au sein de bases de données exhaustives organisées comme suit :

- Base de données ABIOTIQUE.xlsx : le fichier réunit l'ensemble de données physico-chimiques et les teneurs en contaminants organiques et métalliques acquises sur le compartiment abiotique (*i.e.* eau et sédiment), campagne par campagne. Lorsque les données sont disponibles, les mesures obtenues pour chaque prélèvement ponctuel sont mentionnées et une valeur moyenne par site et par campagne est indiquée pour chaque paramètre.
- Base de données BIOTIQUE.xlsx : le fichier regroupe toutes les données acquises sur le biota, que ce soit chez les organismes exposés *in situ* (communautés bactériennes, gammares et biofilms) ou en laboratoire (médaka, bactéries, tests *in vitro*). Les valeurs mentionnées dans la base de données sont les moyennes issues de répliquats expérimentaux. Le détail des données acquises pour chaque test est accessible dans un fichier propre à chaque laboratoire en charge des analyses (par ex. : DONNEES BIO Irstea Lyon.xlsx).

La suite du travail de synthèse a consisté en une analyse de l'ensemble du jeu de données ainsi constitué. Les données ont été examinées, dans un premier temps, par « groupe » de paramètres (par ex. : contamination en ETM du milieu, données gammares, données biofilms etc.) afin d'étudier dans chaque cas la variabilité saisonnière et inter-sites de chaque paramètre ou groupe de paramètres. En fonction de ces premières analyses, les données ont pu être croisées, selon la pertinence et de l'intérêt de la démarche, dans le but de mettre en évidence de possibles liens entre les différents paramètres (par ex. contamination du milieu *versus* réponses toxiques etc.). Par ailleurs, des analyses statistiques spécifiques ont pu être mises en œuvre sur certains marqueurs pour lequel un traitement particulier est requis (par ex., calculs d'EC50, d'indice d'abondance bactérienne etc.).

3 Physico-chimie générale et micropolluants dans le compartiment abiotique (colonne d'eau et sédiment)

3.1 Paramètres physico-chimiques globaux

3.1.1 Dans la colonne d'eau

Contact particulier : L. Fechner (lise.fechner@irstea.fr)

Ce premier volet analytique s'inscrit dans la démarche de caractérisation de la qualité physico-chimique globale du milieu. En effet, le bassin de Seine est caractérisé par une dominance de roches de nature sédimentaires, engendrant des eaux naturellement riches en certains éléments constitutifs du fond géochimique local (par ex. Ca²⁺, Mg²⁺, HCO₃⁻ etc.). De plus, les activités anthropiques concentrées dans

cette zone d'étude, incluant d'importants rejets urbains, peuvent également être à l'origine d'un enrichissement élevé des eaux en éléments tels que Na⁺, Cl⁻ et K⁺ (Meybeck *et al.*, 1998). En outre, il est maintenant largement admis que les caractéristiques physico-chimiques du milieu font partie des facteurs gouvernant étroitement la spéciation de nombreux contaminants, et donc leur biodisponibilité. Dans cette partie, nous nous sommes donc intéressés aux paramètres physico-chimiques globaux des masses d'eau, incluant des mesures des principales formes ioniques présentes, des teneurs en matières organiques, des concentrations en MES et d'autres paramètres généraux de type pH, conductivité etc.

Matériel et méthodes

Lors de chaque campagne saisonnière, des prélèvements ponctuels d'eau (3 à 4 prélèvements par campagne) ont été réalisés pour déterminer les paramètres chimiques majeurs (anions/cations majeurs, carbone organique dissous (COD), matière en suspension (MES), etc.). Parallèlement, la température (T °C), le pH et la conductivité (Cond.) ont été mesurés *in situ* à chaque visite de site.

Les abréviations utilisées dans le présent document pour ces paramètres sont définies en *Annexe 2* (page 165).

Principaux résultats et discussion

Une synthèse des mesures des différents paramètres physico-chimiques de la colonne d'eau est proposée dans le **Tableau 3.1**.

Globalement, les gammes de variations de ces paramètres sont similaires à ce qui a été observé au cours des campagnes précédentes de 2008-2009 (Priadi *et al.*, 2010), et sont caractéristiques du bassin de la Seine, tel qu'il a été décrit dans les phases précédentes du programme (Meybeck *et al.*, 1998) ; avec une dominance de roches sédimentaires donnant une valeur en Ca²⁺ relativement élevée par rapport à d'autres bassins en France, auquel s'ajoutent des apports urbains tout au long de l'axe Seine.

L'analyse factorielle de l'ensemble de ces paramètres a mis en évidence un effet « Site » très important pour certaines variables comme SO₄(2-), Na⁺, K⁺ et Cl⁻, avec des pourcentages de variabilité expliquée par ce facteur compris entre 71 % et 82 % (valeurs de η^2 selon les résultats d'une ANOVA 2 facteurs avec interaction ; données non détaillées ici). De plus, lorsque l'effet « Site » est significatif, celui-ci va toujours dans le sens du gradient amont-aval de la Seine c'est-à-dire, avec des valeurs moyennes de plus en plus élevées de Marnay à Bougival et Triel. Ces éléments proviennent de l'apport anthropique, et urbain en particulier, issu des rejets de station d'épuration par exemple. Ils croissent donc suivant le gradient amont-aval de la Seine.

En revanche, certains paramètres tels que Ca²⁺, CHLA, HCO₃⁻, T°C et CID voient, quant à eux, leur variance très majoritairement expliquée par le facteur « Campagne » à hauteur de 78 % à 93 %. Il n'y a cependant pas de profil type associé à cet effet saisonnier lorsque celui-ci est significatif. Ces observations sont cohérentes avec ce que nous savons par ailleurs : HCO₃⁻ et le CID sont théoriquement fortement corrélés (CID = teneur en carbone inorganique exprimée en mg C/L), il est donc logique de les retrouver ensemble. Les concentrations en Ca²⁺ et carbone inorganique varient peu, mais peuvent néanmoins fluctuer du fait de l'apport par les pluies, lié à la saison ainsi que la température. La ChLA, en sa qualité de nutriment, évolue aussi en fonction des saisons et de la température.

Tableau 3.1 : Synthèse des mesures des paramètres physico-chimiques dans la colonne d'eau sur les quatre campagnes d'échantillonnage de 2011-2012

	Unité	MARNAY					BOUGIVAL					TRIEL				
		N	Moy ± ET	Min	Max	CV (%)	N	Moy ± ET	Min	Max	CV (%)	N	Moy ± ET	Min	Max	CV (%)
Na+	mg/L	14	8,37 ± 1,64	4,93	10,94	19,6	14	15,3 ± 2,92	9,24	18,8	19,1	14	19,0 ± 3,71	10,9	23,8	19,6
K+	mg/L	14	1,84 ± 0,46	0,87	2,73	25,2	14	4,08 ± 0,93	2,80	5,64	22,9	14	5,12 ± 1,21	3,04	7,42	23,7
Mg2+	mg/L	14	3,55 ± 1,07	1,20	4,77	30,1	14	6,15 ± 1,99	1,69	8,26	32,4	14	7,15 ± 2,34	2,36	9,67	32,7
Ca2+	mg/L	14	110 ± 28,2	62,6	143	25,5	14	118 ± 20,9	85,4	146	17,8	14	121 ± 19,5	92	152	16,1
Cl-	mg/L	14	15,7 ± 2,63	11,8	20,3	16,7	14	24,9 ± 4,51	15,8	30,6	18,1	14	30,4 ± 5,15	20,4	38,7	17,0
NH4+	mg/L	11	0,06 ± 0,05	0,00	0,17	88,0	11	0,09 ± 0,08	0,00	0,30	88,3	11	0,41 ± 0,43	0,00	1,41	104
NO2-	mg/L	10	0,02 ± 0,03	0,00	0,07	139	10	0,07 ± 0,06	0,00	0,13	90,4	10	0,34 ± 0,28	0,00	0,87	82,6
NO3-	mg/L	15	18,7 ± 5,71	9,9	26,7	30,6	15	20,8 ± 3,38	15,1	25,5	16,2	15	23,1 ± 3,24	17,9	29,1	14,0
PO4(2-)	mg/L	11	0,16 ± 0,08	0,07	0,34	52,2	11	0,26 ± 0,09	0,14	0,47	34,9	11	0,36 ± 0,12	0,15	0,64	32,7
SO4(2-)	mg/L	14	18,3 ± 2,29	15,0	22,9	12,6	14	34,6 ± 5,85	23,7	43,8	16,9	14	41,4 ± 6,89	27,9	52,0	16,7
COD	mg C/L	10	2,61 ± 1,23	1,71	5,94	47,2	11	3,56 ± 0,98	2,64	6,30	27,5	10	4,11 ± 1,08	3,32	7,04	26,2
CID	mg C/L	11	52,4 ± 9,91	27,5	60,5	18,9	11	51,3 ± 8,92	34,4	61,3	17,4	10	54,7 ± 7,04	46,1	62,2	12,9
MES	mg/L	9	18,6 ± 14,2	7,75	49,6	76,4	9	24,4 ± 14,0	8,41	48,2	57,3	9	14,0 ± 10,1	4,00	38,9	71,6
COP	mg C/L	11	0,81 ± 0,31	0,46	1,46	38,3	11	1,60 ± 0,75	0,65	3,30	47,1	11	1,23 ± 0,56	0,81	2,81	45,9
NOP	mg N/L	11	0,23 ± 0,12	0,11	0,55	52,9	11	0,31 ± 0,12	0,19	0,54	40,1	11	0,36 ± 0,21	0,15	0,83	57,4
T°C	°C	12	13,1 ± 5,28	5,00	19,0	40,3	13	15,3 ± 6,27	6,30	21,6	41,0	13	15,1 ± 6,30	6,20	21,3	41,7
pH	S.U.	11	7,85 ± 0,36	7,15	8,20	4,59	13	7,65 ± 0,47	6,39	8,10	6,12	13	7,67 ± 0,25	7,10	8,01	3,25
Cond.	µS/cm	9	477 ± 80,1	357	542	16,8	9	540 ± 27,3	503	586	5,05	9	580 ± 37,7	530	632	6,51
O2 diss.	mg/L	1	9,80 ± -	9,80	9,80	-	1	7,80 ± -	7,80	7,80	-	1	7,90 ± -	7,90	7,90	-
HCO3-	mg/L	13	256 ± 53,5	140	308	20,9	13	257 ± 43,2	175	312	16,8	12	272 ± 35,9	227	316	13,2
CHLA	µg/L	10	1,15 ± 1,01	0,18	3,25	87,9	10	3,02 ± 4,27	0,03	14,3	141	10	2,84 ± 4,71	0,21	15,6	166
Si	mg/L	1	0,45 ± -	0,45	0,45	-	1	1,83 ± -	1,83	1,83	-	1	1,88 ± -	1,88	1,88	-

N, nombre de mesures, Moy, moyenne ; ET, écart-type ; Min, valeur minimum ; Max, valeur maximum ; CV, coefficient de variation ; S.U., sans unité. Pour les autres abréviations, voir Annexe 2 (page 165)

L'analyse des corrélations de ce jeu de variables a permis d'identifier deux groupes indépendants de variables colinéaires (corrélations positives) :

- Na+, K+, Mg2+, Cl-, NH4, PO4(2-), SO4(2-) (coefficient de Pearson r compris entre 0,597 et 0,988 ; $p < 0,05$) et dans une moindre mesure NOP (r compris entre 0,417 et 0,828 ; p compris entre 0,177 et 0,001) – **Groupe 1**,
- CID, HCO3-, Ca2+ (r compris entre 0,678 et 0,948 ; $p < 0,05$) et, dans une moindre mesure, COD (r compris entre 0,509 et 0,833 ; p compris entre 0,091 et 0,001) – **Groupe 2**.

Ces deux groupes de variables se trouvent être également les principales variables explicatives impliquées respectivement dans la construction des 1^{ère} (46,5 % de variabilité expliquée) et 2^{ème} (23,2 %) composantes principales (**Figure 3.3**), lors de l'ACP effectuée sur les paramètres physico-chimiques de la colonne d'eau.

La 3^{ème} composante principale (PC) explique seulement 13,1 % de la variabilité totale et est essentiellement construite autour des paramètres T°C (sens <0) et COP, NOP ainsi que, dans une moindre mesure, le pH et NO3- (sens >0 ; **Figure 3.4**).

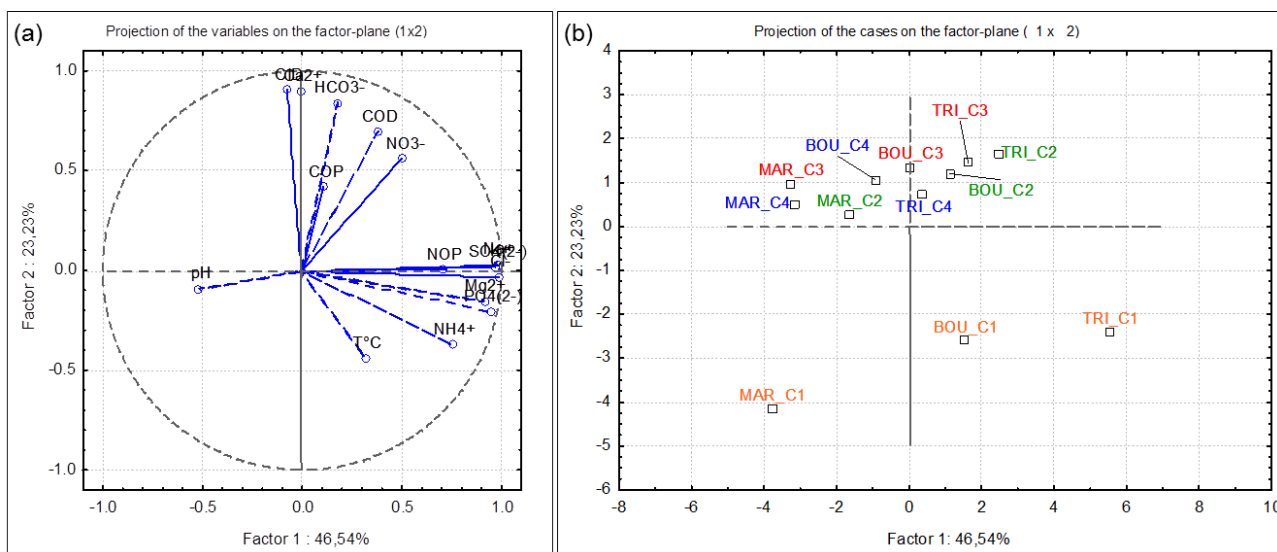


Figure 3.1 : Projections des variables (a) et des observations (b) sur les deux premières composantes (PC1xPC2) issues de l'ACP effectuée sur les données physico-chimiques de la colonne d'eau le long de l'axe Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel) pour les quatre campagnes de prélèvement (Automne 2011 en orange ; Printemps 2012 en vert ; Eté 2012 en rouge ; Hiver 2012 en bleu)

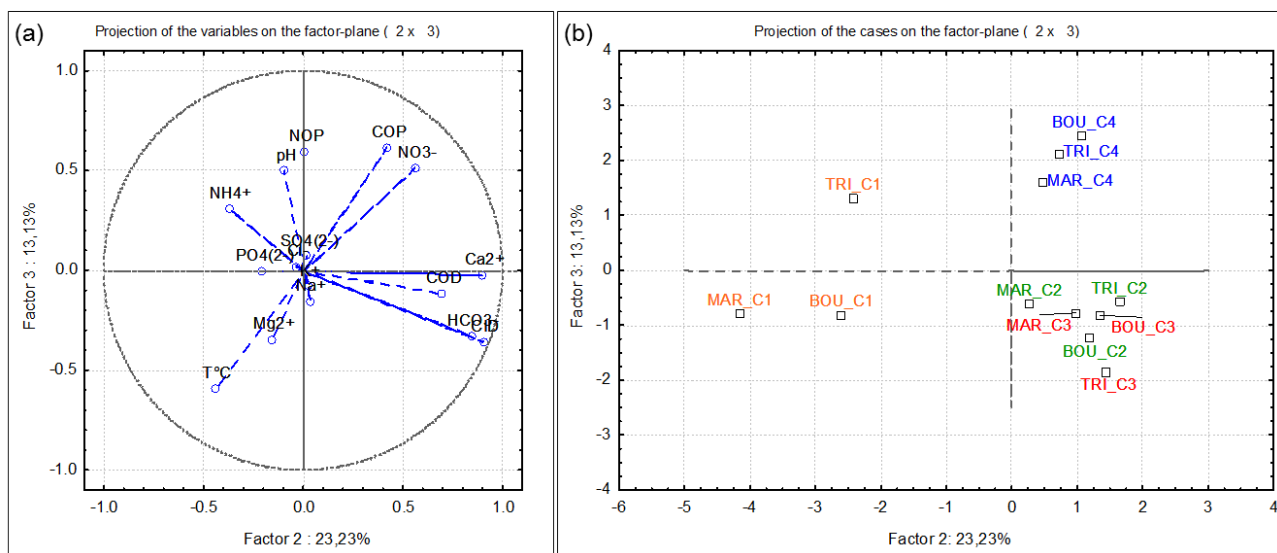


Figure 3.2 : Projections des variables (a) et des observations (b) sur les 2^{ème} et 3^{ème} composantes (PC2xPC3) issues de l'ACP effectuée sur les données physico-chimiques de la colonne d'eau le long de l'axe Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel) pour les quatre campagnes de prélèvement (Automne 2011 en orange ; Printemps 2012 en vert ; Eté 2012 en rouge ; Hiver 2012 en bleu)

Il ressort donc de cette analyse que la principale source de variabilité des paramètres physico-chimiques de la colonne d'eau est expliquée par un **gradient amont-aval** (PC1 ; environ **47 %**) caractérisé par :

- Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Cl⁻, SO₄(2⁻), PO₄(2⁻), NOP et NH₄⁺ comme principales variables impliquées (**Groupe 1**)
- Des valeurs pour ces paramètres de plus en plus élevés en suivant l'ordre Marnay < Bougival ≤ Triel

De plus, la **variabilité saisonnière** représente environ **36 %** de la variabilité totale (PC2 + PC3) et est caractérisée par :

- CID, HCO₃⁻, NO₃⁻ et Ca²⁺ comme principales variables explicatives (par ordre décroissant d'importance), principalement du **Groupe 2**.
- Une distinction des campagnes telle que C1 (selon l'axe PC2) ≠ C4 (selon l'axe PC3) ≠ C2/C3

La campagne Automne 2011 (C1) se distingue donc globalement par de faibles teneurs en CID, Ca²⁺, HCO₃⁻ (Groupe 2) et, dans une moindre mesure, en COD et NO₃⁻ (selon l'axe PC2). La campagne Hiver 2012 (C4) est quant à elle marquée par de fortes valeurs en COP, NOP et, dans une moindre mesure, en NO₃⁻ et pH ainsi que par de faibles T°C (selon l'axe PC3).

Conclusion

La variabilité des paramètres physico-chimiques au sein de la colonne d'eau est majoritairement imputable à la présence d'un gradient amont (Marnay)-aval (Bougival et Triel) principalement gouverné par les teneurs en Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Cl⁻, SO₄(2⁻), PO₄(2⁻), NOP et NH₄⁺, dues aux apports urbains de l'agglomération parisienne.

Il existe des fluctuations saisonnières néanmoins notables pour certaines autres variables tels que CID, HCO₃⁻, NO₃⁻ et Ca²⁺ qui permettent de distinguer clairement les campagnes d'Automne 2011 et d'Hiver 2012 de par leurs valeurs pour certains de ces paramètres physico-chimiques saison-dépendants.

3.1.2 Dans les sédiments

Contact particulier : J. Cachot (j.cachot@epoc.u-bordeaux1.fr)

Comme pour la colonne d'eau, les analyses présentées ici ont pour but de préciser certaines caractéristiques physico-chimiques globales des matrices sédimentaires étudiées, dont certaines, comme le taux de carbone organique et la granulométrie (notamment la teneur en particules fines < 65 µm) sont souvent considérées comme des facteurs de contrôle de l'adsorption de micropolluants organiques et métalliques.

Matériel et méthodes

Carbone organique particulaire

Le dosage du carbone organique particulaire (COP) a été réalisé sur un LECOS CS200. Le principe du dosage est basé sur la mesure du CO₂ produit par absorption dans l'infrarouge. Les carbonates sont digérés avec quelques gouttes d'HCl concentré, puis le sédiment est séché une nuit à l'étuve. 100 mg de sédiment sec sont brûlés à 1 500 °C puis à 350 °C dans un four à catalyse sous un courant d'oxygène pur. Les gaz produits vont passer dans un piège à chlore qui permet d'absorber l'HCl résiduel et dans un piège à eau composé Mg(ClO₄)₂ pour assécher le gaz. Le CO₂ ainsi purifié va être ensuite dosé dans l'infra-rouge.

Dosage de l'ammonium

Le dosage a été réalisé par la méthode au bleu d'indophénol. En milieu légèrement basique ($8 < \text{pH} < 11,5$) et en présence d'acide dichlorocyanurique, l'ammonium dissous forme de la chloramine. La chloramine en présence de phénol et d'un excès d'acide dichlorocyanurique produit de l'indophénol de couleur bleue. La réaction est accélérée par l'ajout de nitroprussiate (7h à 8h à 20°C). L'indophénol est dosé par spectrophotométrie à 630 nm.

Granulométrie

L'analyse granulométrique a été réalisée par diffraction laser en utilisant un diffractomètre Malvern.

Principaux résultats et discussion

Les principaux paramètres physico-chimiques des sédiments collectés en Seine au cours des trois campagnes de 2011 et 2012 sont présentés dans le **Tableau 3.2**.

Les sédiments sont pour la plupart vaseux (plus de 75 % des particules de diamètre $< 65 \mu\text{m}$) à vaso-sableux avec une teneur modérée en carbone organique particulaire et un contenu en ammonium également moyen voire élevé (Bougival décembre 2012). Une exception notable concerne le sédiment de Triel de décembre 2012 qui est beaucoup plus grossier et plus pauvre en matière organique et en ammonium (**Tableau 3.2**). Les analyses multivariées (ACP) effectuées sur ces paramètres n'ont pas mis en évidence de gradient inter-sites ni de variation saisonnière particulière au sein du jeu de données (données non présentées).

Tableau 3.2 : Récapitulatif de la caractérisation physico-chimique des sédiments prélevés en Seine

	D(v,0.10) (μm)	D(v,0.50) (μm)	D(v,0.90) (μm)	Fraction $< 65 \mu\text{m}$ (%)	COP (%)	N-NH ₄ ⁺ (μM) ^b
Marnay Sept. 2011	2,12	12,73	76,58	87,93	2,34	105,1 ± 14,99
Bougival Sept. 2011	2,94	15,43	68,33	89,38	5,16	188,7 ± 51,48
Triel Sept. 2011	3,48	29,58	252,0	68,03	7,18	75,21 ± 14,34
Marnay Juil. 2012	2,39	18,71	194,6	77,57	2,67	171,6 ± 34,17
Bougival Juil. 2012	3,43	22,04	69,5	88,87	4,74	80,98 ± 3,65
Triel Juil. 2012	3,00	21,32	141,0	77,22	4,57	117,1 ± 26,68
Marnay Déc. 2012	2,18	13,66	86,26	85,69	4,21	84,62 ± 12,36
Bougival Déc. 2012	2,26	12,17	75,92	87,96	7,95	238,9 ± 15,36
Triel Déc 2012	3,08 ^a	18,95 ^a	92,87 ^a	85,07 ^a	1,47	19,87 ± 23,03

COP, carbone organique particulaire ; D(v,0.XX), diamètre de particule correspondant au centile XX% de la distribution granulométrique ; N-NH₄⁺, azote ammoniacal (ammonium).

^a L'échantillon de sédiment de Triel de Déc. 2012 étant très grossier, il a dû être tamisé à 630 μm en prétraitement de l'analyse granulométrique.

^b Moyenne et écart-type (N = 3) des mesures effectuées sur les sédiments utilisés pour le test MELA.

3.2 Contamination organique et métallique de la colonne d'eau

3.2.1 Micropolluants organiques

Contact particulier : P. Labadie (pierre.labadie@u-bordeaux.fr)

Il s'agissait ici d'étudier la contamination de la colonne d'eau (phase dissoute) par quatre familles de micropolluants organiques (composés pharmaceutiques, pesticides, alkylphénols et composés fluoroalkylés). Plus précisément, l'objectif était (i) de caractériser l'existence éventuelle d'un gradient amont/aval lié à l'occupation de sols et à la pression exercée sur l'hydrosystème et (ii) d'étudier les variations temporelles des niveaux de contamination en lien avec les conditions hydrologiques.

Matériel et méthodes

55 composés pharmaceutiques et 56 pesticides ont été recherchés dans la phase dissoute de l'eau de Seine (filtration 0,7 µm) ; la liste complète des analytes est donnée en *Annexe 2*. Ces composés sont extraits par extraction solide-liquide (SPE) puis analysés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Par ailleurs, trois composés appartenant à la famille des alkylphénols (4-ter-butylphénol, 4-ter-octylphénol et 4-nonylphénol) ont également été analysés par microextraction sur phase solide associée à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (SPME-GC-MS).

Concernant les composés perfluoroalkylés (PFAS), les échantillons de phase dissoute ont été extraits par SPE sur cartouche polymérique greffée avec des groupements échangeurs d'anions faibles (Phenomenex Strata X-AW). Les extraits obtenus sont reconcentrés puis analysés par LC-MS/MS (adapté de Labadie et Chevreuil, 2011). Vingt composés ont été dosés et sont listés en *Annexe 2*.

Les abréviations et les nomenclatures complètes des différents composés organiques étudiés sont présentées en *Annexe 2* (page 165).

Principaux résultats et discussion

Pesticides

La concentration totale en pesticides présente un fort gradient amont/aval (**Figure 3.5**) ; elle est ainsi significativement plus importante à Triel qu'au niveau des deux sites amont ($p < 0,05$).

Sur chaque site, on observe une forte variabilité temporelle (**Figure 3.5**), qui pourrait résulter de la saisonnalité des usages des différents pesticides étudiés mais également des variations des conditions hydrologiques ; une corrélation positive est ainsi observée entre la concentration totale en pesticides et le débit fluvial, illustrant l'importance des sources diffuses et des processus associés (ex : lessivage et ruissellement). L'ordre de grandeur du flux annuel total de pesticides (somme 56 composés) à Triel est d'environ 3 tonnes/an (sur la base de la médiane du flux journalier déterminé à partir des quatre campagnes réalisées en 2011/2012) ; ce flux augmente d'un facteur 25 environ entre Marnay et Triel.

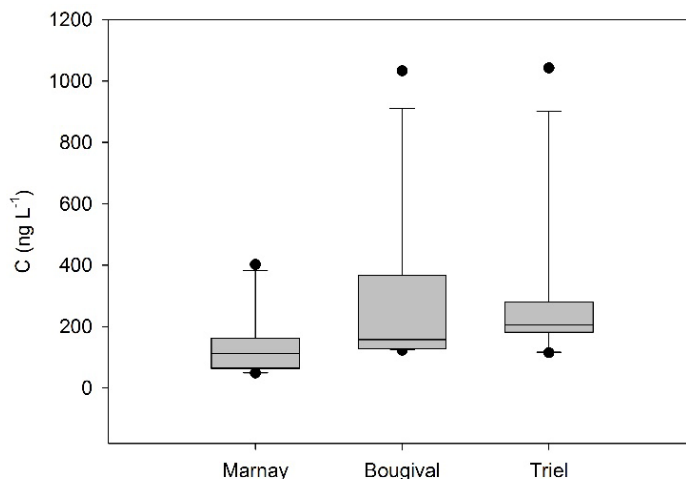


Figure 3.3 : Variations spatio-temporelles des niveaux de pesticides (somme de 56 composés dosés) dans la phase dissoute le long de l'axe Seine Marnay-Bougival-Triel au cours des quatre campagnes de prélèvements de 2011-2012 (box : 1^{er} et 3^{ème} quartiles, coupé par la médiane. Barres d'erreur : 90^{ème}/10^{ème} centiles. Points : « outliers » i.e. valeurs dites « aberrantes »)

On notera que les concentrations maximales sont observées pour le chlortoluron et l'isoproturon, deux herbicides employés notamment pour le désherbage des céréales (application automnale). Les concentrations médianes les plus élevées sont néanmoins observées pour le diuron et deux produits de dégradation de l'atrazine (déséthylatrazine et 2-hydroxyatrazine), souvent présents à des niveaux supérieurs à ceux du composé parent. A titre d'exemple, le profil moléculaire observé sur le site de Triel est présenté sur la **Figure 3.6**. Enfin, on notera qu'une analyse en composantes principales a permis de mettre en évidence l'existence de cinq groupes de composés présentant une dynamique spatio-temporelle propre, pas nécessairement similaire à celle de l'ensemble des autres composés de la famille.

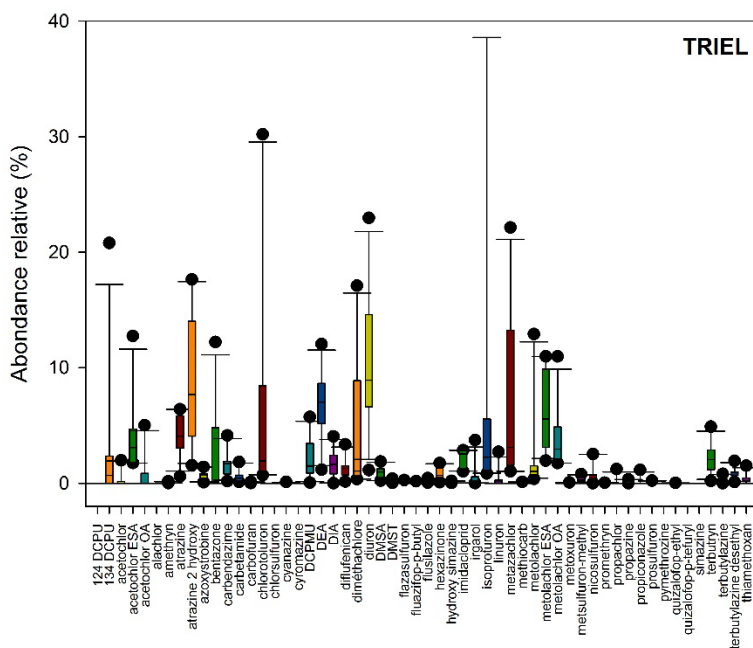


Figure 3.4 : Profil moléculaire (abondance relative, en %) des pesticides dans la phase dissoute de l'eau de Seine – exemple du site de Triel (box : 1^{er} et 3^{ème} quartiles, coupé par la médiane. Barres d'erreur : 90^{ème}/10^{ème} centiles. Points : « outliers » i.e. valeurs dites « aberrantes »)

Composés pharmaceutiques

La concentration totale en médicaments (somme des 55 composés dosés) présente elle aussi un fort gradient amont/aval (**Figure 3.7**) ; elle est ainsi significativement plus faible à Marnay qu’au niveau des deux sites aval ($p < 0,05$). On observe une forte variabilité temporelle des niveaux totaux de médicaments, qui pourrait résulter de la saisonnalité des usages mais également des variations des conditions hydrologiques ; aucune corrélation n’est observée entre la concentration totale en composés pharmaceutiques et le débit fluvial, illustrant la complexité des apports et de ces composés au système Seine. L’ordre de grandeur du flux total de composés pharmaceutiques (somme des 55 composés dosés) à Triel est d’environ 12 tonnes/an (sur la base de la médiane du flux journalier déterminé à partir des quatre campagnes réalisées en 2011/2012) ; ce flux augmente d’un facteur 20 environ entre Marnay et Triel.

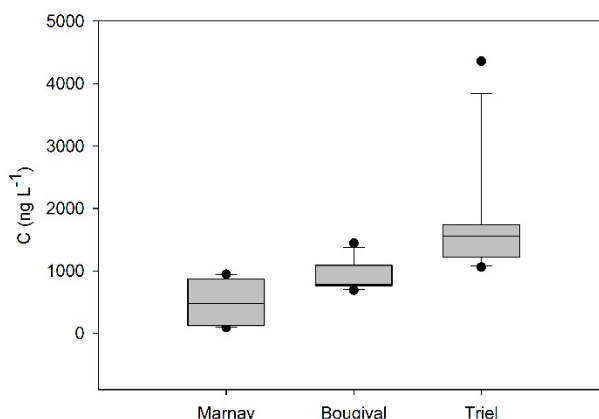


Figure 3.5 : Variations spatio-temporelles des niveaux des médicaments (somme des 55 composés analysés) dans la phase dissoute le long de l’Axe Seine Marnay-Bougival-Triel au cours des quatre campagnes de prélèvements de 2011-2012 (box : 1^{er} et 3^{ème} quartiles, coupé par la médiane. Barres d’erreur : 90^{ème}/10^{ème} centiles. Points : « outliers » i.e. valeurs dites « aberrantes »)

Hormis l’acide salicylique et la caféine qui sont largement majoritaires, les principaux composés détectés dans la Seine sont des molécules issues de la dégradation de composés parents ou des composés relativement stables : théophylline, aténolol, sotalol, hydroxy ibuprofène, oxazepam, cétirizine et carbamazépine, tous présents à des niveaux de l’ordre de plusieurs dizaines de ng L^{-1} (**Figure 3.8**)

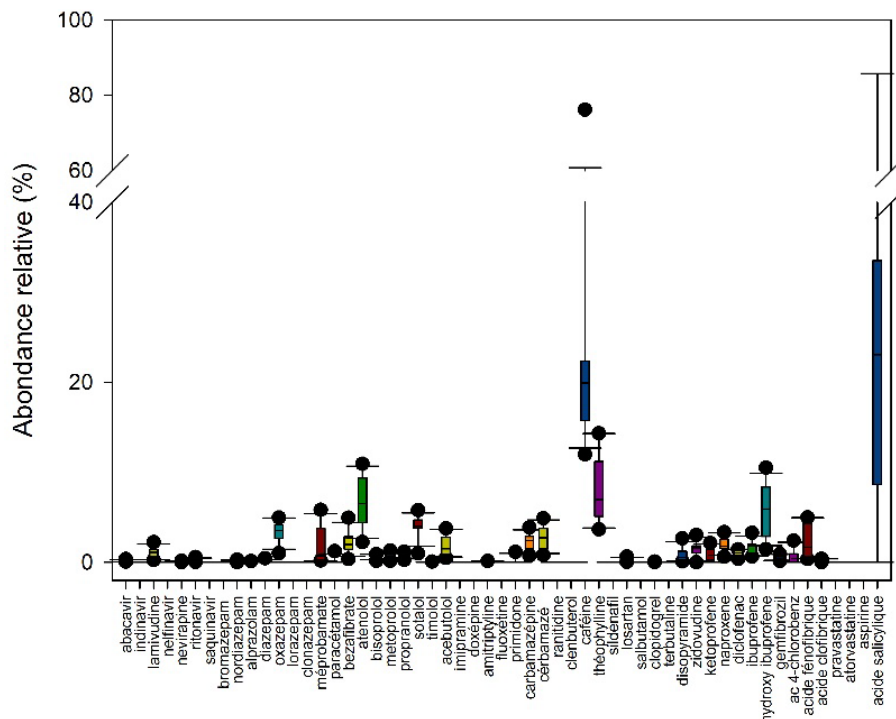


Figure 3.6 : Profil moléculaire des composés pharmaceutiques dans la phase dissoute de l'eau de Seine – exemple du site de Triel (box :1^{er} et 3^{ème} quartiles, coupé par la médiane. Barres d'erreur : 90^{ème}/10^{ème} centiles. Points : « outliers » i.e. valeurs dites « aberrantes »)

Alkylphénols (AKP)

Parmi les trois alkylphénols recherchés, seul le 4-nonylphénol (4-NP) a été pu être quantifié ; dans tous les échantillons, les niveaux du 4-ter-Butylphénol et du 4-ter-Octylphénol se sont avérés être systématiquement inférieurs aux limites de quantification (15 et 10 ng L⁻¹, respectivement). Les niveaux de 4-NP observés dans cette étude (**Figure 3.9**) sont du même ordre de grandeur que ceux déterminés en 2011 par Cladière *et al.* (2013) sur le même transect ; ces concentrations s'avèrent systématiquement inférieures à la norme de qualité environnementale (NQE) fixée par la Directive Cadre Européenne sur l'Eau pour ce composé (300 ng L⁻¹). L'ordre de grandeur du flux total de 4-NP à Triel est d'environ 300 kg/an (sur la base de la médiane du flux journalier déterminé à partir des quatre campagnes réalisées en 2011-2012) ; ce flux augmente d'un facteur 5 environ entre Marnay et Triel.

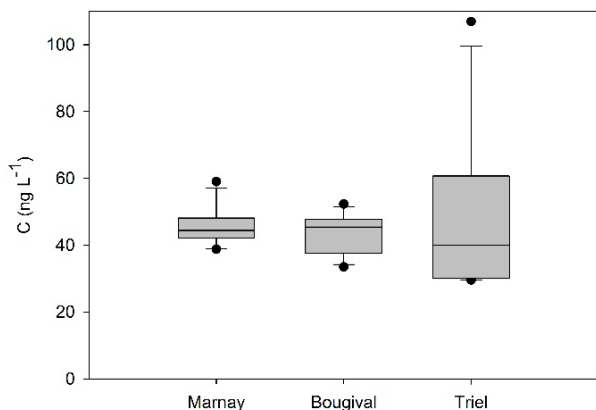


Figure 3.7 : Variations spatio-temporelles des niveaux de 4-NP dans la phase dissoute le long de l'Axe Seine Marnay-Bougival-Triel au cours des quatre campagnes de prélèvements de 2011-2012 (box :1^{er} et 3^{ème} quartiles, coupé par la médiane. Barres d'erreur : 90^{ème}/10^{ème} centiles. Points : « outliers » i.e. valeurs dites « aberrantes »)

Comme observé précédemment par Cladière *et al.* (2013), aucune différence significative n'est observée entre les trois sites d'étude (**Figure 3.9**), ce qui suggère que les sources urbaines directes ne sont pas prépondérantes pour le 4-NP ($p > 0,05$). Les apports de ce composé résultent probablement de sources diffuses et de la dégradation de précurseurs (ex : nonylphénol polyéthoxylates) non pris en compte dans cette étude. On notera qu'aucune corrélation significative n'est observée entre le débit fluvial et la concentration en 4-NP, illustrant la complexité des apports et de ce composé au système Seine.

Composés perfluoroalkylés (PFAS)

Les résultats obtenus mettent en évidence l'ubiquité des PFAS sur le tronçon fluvial étudié ; dans la colonne d'eau, les niveaux totaux de PFAS varient de 2 à 90 ng/L. On observe ainsi un gradient très marqué de l'amont à l'aval (**Figure 3.10**), associé à l'augmentation de la pression anthropique sur l'écosystème fluvial et déjà documenté pour d'autres familles de contaminants organiques (Teil *et al.*, 2014). Les niveaux observés à Triel sont en moyenne dix fois plus élevés que ceux observés à Marnay, des niveaux intermédiaires étant observés à Bougival (**Figure 3.10**).

Conformément aux observations antérieures réalisées sur la Seine à Paris (Labadie et Chevreuril, 2011), le PFOS (isomères linéaire + ramifiés), le PFHxS et le PFOA sont les composés majoritaires à Marnay et Bougival (**Figure 3.11**), en bon accord avec les résultats obtenus au niveau national (Munoz *et al.*, 2015).

On notera toutefois la forte augmentation de l'abondance relative du 6:2-FTS à Triel (significativement plus élevée qu'à Bougival et Marnay, $p < 0,05$) (**Figure 3.11**). Ce sulfonate est employé depuis quelques années comme alternative au PFOS mais peut également résulter de la dégradation de composés plus complexes, à base de fluorotélomères, employés dans les mousses anti-incendie ou les emballages alimentaires (Buck *et al.*, 2011). Les niveaux élevés de 6:2-FTS observés à Triel, en moyenne 9 fois supérieurs à ceux observés à Bougival, pourraient également résulter de l'influence d'une source industrielle située dans le bassin de l'Oise. Il est probable que l'existence d'une ou plusieurs sources urbaines et/ou industrielles contribuent également à l'augmentation significative de l'abondance relative du 6:2-FTS entre Marnay et Bougival.

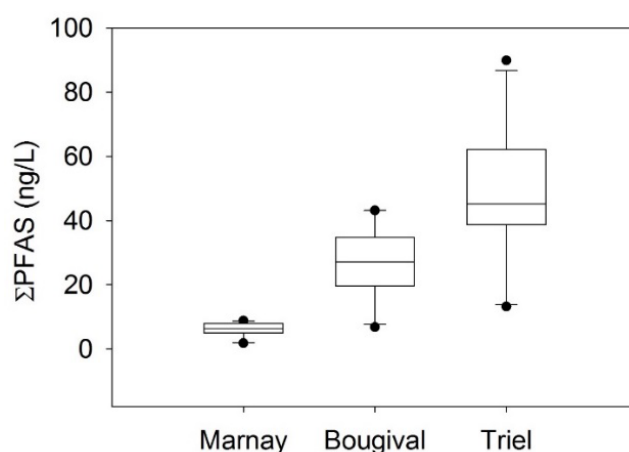


Figure 3.8 : Variations spatio-temporelles des niveaux de PFAS dans la Seine sur les quatre campagnes de prélèvements de 2011-2012 (box : 1^{er} et 3^{ème} quartiles, coupé par la médiane. Barres d'erreur : 90^{ème}/10^{ème} centiles. Points : « outliers » i.e. valeurs dites « aberrantes »)

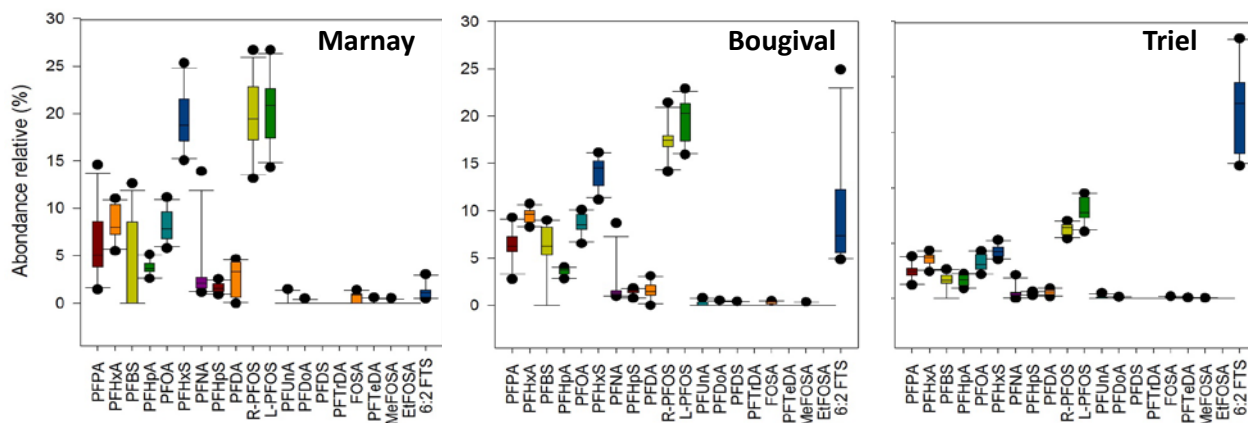


Figure 3.9 : Profil moléculaire des PFAS dans la phase dissoute de l'eau de Seine au cours des quatre campagnes de 2011-2012 (box :1^{er} et 3^{ème} quartiles, coupé par la médiane. Barres d'erreur : 90^{ème}/10^{ème} centiles. Points : « outliers » i.e. valeurs dites « aberrantes ») Au vu des résultats précédemment acquis sur le site de Paris Austerlitz, nous nous sommes intéressés aux relations existant entre débit fluvial et concentrations des PFAS. Des situations hydrologiques contrastées ont été observées lors des quatre campagnes, durant lesquelles le débit a varié entre 28 et 101 m³ s⁻¹ à Marnay, entre 102 et 419 m³ s⁻¹ à Bougival et entre 131 et 528 m³ s⁻¹ à Triel. Les échantillons ont ainsi été prélevés en conditions de basses eaux et de hautes eaux.

A Marnay, aucune corrélation significative n'est observée entre la concentration totale en PFAS et le débit fluvial; ceci suggère que cette station est sous l'influence prépondérante de sources diffuses (ex : apports atmosphériques). Inversement, une forte corrélation négative est observée entre la concentration totale en PFAS et le débit fluvial (test de Spearman, $\rho < 0,001$) pour les deux sites urbains, Bougival et Triel. Une observation similaire peut être faite entre les niveaux des principaux PFAS et le débit (**Figure 3.12**).

Ces résultats sont donc concordants avec ceux acquis en 2011 à Paris centre et suggèrent que les sources ponctuelles de PFAS sont prédominantes au sein et à l'aval de l'agglomération parisienne. Sur les deux stations aval, les fluctuations du débit expliquent ainsi plus de 80 % de la variabilité de la concentration des PFAS sur les sites aval.

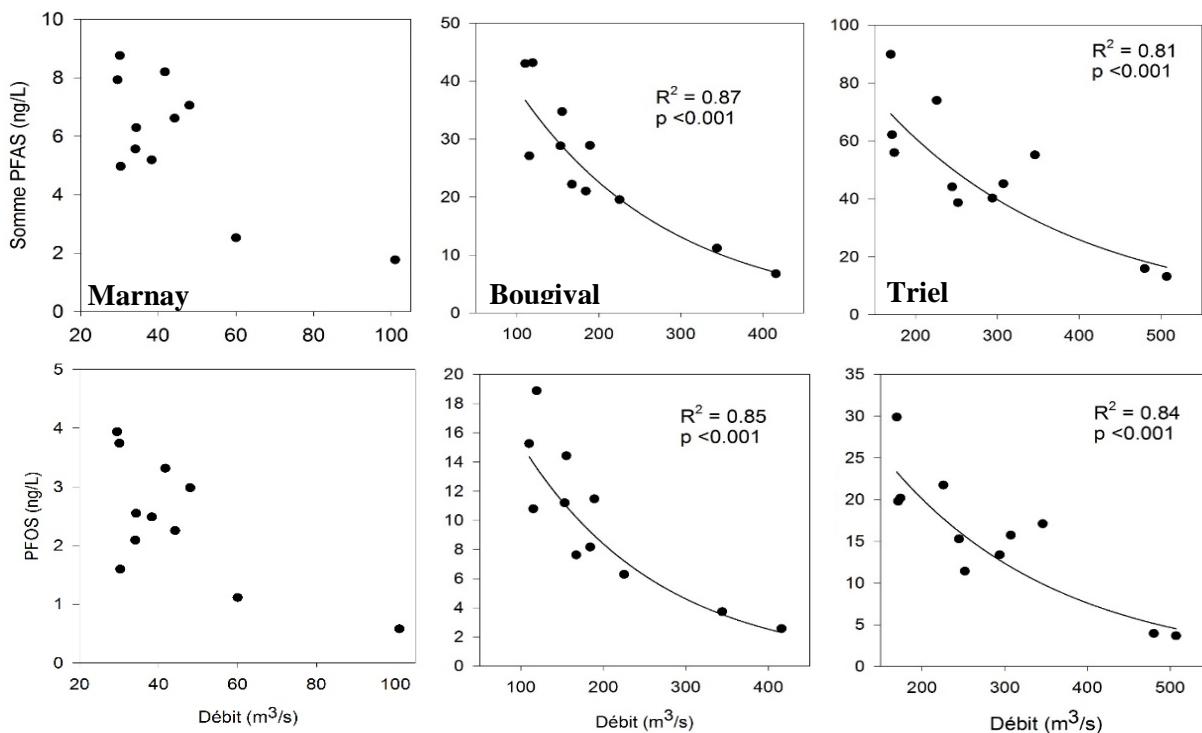


Figure 3.10 : Relations entre la concentration totale en PFAS dissous (haut) et le débit fluvial et entre la concentration en PFOS dissous et le débit fluvial (bas)

Il apparaît en outre que la contribution de l’agglomération parisienne au flux de PFAS est considérable, puisque celui-ci augmente d’un facteur x80 environ entre Marnay et Triel. Sur la base du flux médian journalier, l’ordre de grandeur du flux annuel de PFAS est respectivement estimé à 10, 200 et 800 kg an⁻¹ à Marnay, Bougival et Triel.

Les concentrations en micropolluants organiques relevées au cours des 4 campagnes de prélèvements entre 2011 et 2012 pour les trois sites de l’axe Seine sont systématiquement en dessous des NQE correspondantes (lorsque celles-ci sont disponibles *i.e.* pour les AKP et certains pesticides comme l’alachlore, l’atrazine, le diuron, l’isoproturon, la simazine, le chlortoluron et le linuron) indiquant que la pression en contaminants organiques dans la colonne d’eau est relativement faible.

3.2.2 Eléments traces métalliques

Contact particulier : L. Fechner (lise.fechner@irstea.fr)

Les éléments traces métalliques (ETM) constituent des contaminants historiques du bassin, et des milieux urbains d’une manière générale. A l’échelle du bassin, les sources de contamination par les métaux sont multiples : effluents urbains et industriels, érosion des toitures parisiennes, retombées atmosphériques, amendement de déchets ou de fertilisants sur les sols... Afin de replacer les concentrations en éléments inorganiques du bassin de la Seine dans un contexte plus global, les travaux présentés dans cette partie ont reposés sur l’appréhension de la variabilité spatiale et temporelle des teneurs en ETM dans différentes fractions (totale, dissoute totale et dissoute labile) et la mise en regard de la répartition des ETM au sein de ces fractions avec les paramètres physico-chimiques globaux de la colonne d’eau (précédemment détaillés dans la partie 3.2.1.1). L’étude ne s’est pas focalisée sur quelques métaux emblématiques, mais propose une démarche plus large qui permet, entre autres, de percevoir les caractéristiques minéralogiques des particules circulant en Seine, ou de mettre en évidence l’émérgence de contaminants pas encore suivis.

Matériel et méthodes

La contamination en ETM dans la colonne d'eau a été suivie selon la même stratégie d'échantillonnage que les paramètres physico-chimiques : un prélèvement à chaque visite par site (pose, retrait des échantillonneurs et des organismes), soit 4 prélèvements par campagne (n = 4) et par site (n = 3).

Neuf éléments ont été analysés (Cu, Cd, Ni, Pb, Zn, Co, Mn, Sb et Ag) dans la fraction brute de la colonne d'eau (concentration totale en ETM ; TOT) et dans la fraction dissoute (< 0,45 µm ; DIS).

Par ailleurs, la pose de DGT (Diffusive Gradient in Thin film), durant chaque campagne et sur chaque site, a permis la détermination de concentrations en ETM labiles (LAB) pour 7 éléments : Cu, Cd, Ni, Pb, Zn, Co et Mn. Les DGT ont été déployées en parallèle des organismes (gammare et biofilm) sur une durée allant de 2 semaines à un mois suivant les campagnes.

Toutes les analyses d'échantillons d'eau (15 échantillons au total), de sédiments (9 échantillons) et d'extrait DGT (14 échantillons) ont été réalisées par ICP-MS au LSCE (Priadi *et al.*, 2010).

Principaux résultats et discussion

Concentrations en ETM labiles

Les concentrations en ETM labiles mesurées sur les trois sites de l'Axe Seine au cours des campagnes de 2011-2012 sont rapportées dans la **Figure 3.13**. On observe pour tous les ETM, à l'exception de Pb, un impact significatif de l'agglomération parisienne sur les concentrations labiles en métaux. Ces résultats sont cohérents avec les résultats obtenus sur la Seine lors de campagnes précédentes en 2004 (Tusseau-Vuillemin *et al.*, 2007) et 2008-2009 (Priadi *et al.*, 2010), ainsi que sur le bassin de la Seine en 2008-2009 (Uher *et al.*, 2011).

Il est à noter que la fraction labile ne représente qu'une partie du compartiment dissous, à savoir la fraction ionique du métal à laquelle s'ajoute les métaux complexés aux ligands inorganiques et à certains ligands organiques. Le pourcentage labile (concentration labile moyenne/concentration dissoute moyenne), calculé à partir des données de métaux dissous qui seront présentées dans le paragraphe suivant, donne une idée de la spéciation des métaux en Seine (**Tableau 3.3**).

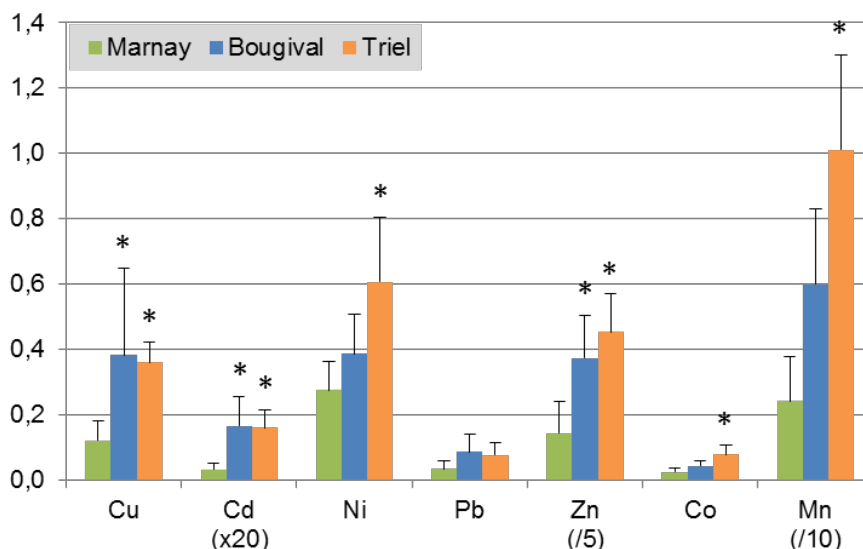


Figure 3.11 : Concentrations en ETM labiles (LAB) mesurées dans la colonne d'eau (en µg/L) le long de l'axe Seine au cours des 4 campagnes de prélèvements entre 2011 et 2012. Les valeurs mentionnées sont des moyennes ± écart-type (N = 7). Le signe * indique une différence significative (p < 0,05) avec le site de Marnay et le signe ** indique une différence significative (p < 0,05) entre les sites de Bougival et Triel (selon les résultats de l'ANOVA factorielle suivie du test post-hoc de Tuckey pour l'effet « Site »)

Tableau 3.3 : Pourcentages en ETM sous forme labile par rapport aux concentrations moyennes en ETM dissous (résultats moyens pour chaque site sur les 4 campagnes de 2001-2012)

	Cd	Co	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
Marnay	15%	13%	20%	95%	13%	78%	34%
Bougival	18%	15%	22%	77%	18%	32%	37%
Triel	21%	18%	22%	63%	20%	39%	34%

Environ 20 % du Cd et du Cu sont sous forme libre ou facilement échangeable, 13 à 18% pour le Co, 13 à 20% pour le Ni et 34 à 37% pour le Zn. Ces valeurs sont également cohérentes avec les précédentes campagnes, en revanche elles sont plus robustes car issues d'une base de données plus importante.

On note également que le pourcentage labile de Pb baisse suivant le gradient, ce qui signifie théoriquement que Pb est plus labile en amont. Cette observation concorde avec le fait que la concentration en matière organique, et donc la complexation des métaux à la matière organique, augmente avec le gradient amont-aval.

Concernant Mn, on considère habituellement qu'il est peu complexé à la matière organique et se trouve majoritairement sous forme libre ou inorganique. Si c'est bien le cas à Marnay, en aval de Paris, en revanche une partie du manganèse dissous n'est pas considérée comme labile. Deux hypothèses peuvent être envisagées : le manganèse dissous est surestimé par l'échantillonnage ponctuel qui ne rend pas compte de la variabilité de cet élément. Il faudrait alors envisager une variabilité cyclique du Mn au cours de la journée. Ou bien le manganèse peut être complexé par des ligands organiques issus de l'activité anthropique.

Les corrélations entre les pourcentages dissous et labiles de chaque ETM et les principaux paramètres physico-chimiques de la colonne d'eau sont présentées dans le **Tableau 3.4**.

Tableau 3.4 : Coefficients de corrélation significatifs (Pearson ; $p < 0,05$, $n = 12$) entre les %dissous (en vert) ou %labiles (en orange) de chaque ETM et les principaux paramètres physico-chimiques de la colonne d'eau

		Na+	K+	Cl-	SO4(2-)	CID	NOP	NH4+	NO3-	pH	HCO3-	Mg2+	PO4(2-)	COD	COP	T°C	Ca2+
Co	%DIS	0,866	0,831	0,797	0,781							0,801	0,779	0,618			
	%LAB												-0,617				
Mn	%DIS	0,841	0,816	0,765	0,708				-0,695			0,926	0,771				0,598
	%LAB											-0,641					-0,797
Pb	%DIS	0,760	0,738	0,711	0,628			0,624	-0,631			0,803	0,770				
	%LAB											-0,664	-0,588				
Zn	%DIS	0,763	0,818	0,833	0,816		0,778	0,713	0,662			0,702	0,777				
	%LAB																
Cu	%DIS					0,701					0,774						
	%LAB														0,790		0,653
Cd	%DIS														-0,652		
	%LAB															-0,733	
Ni	%DIS																
	%LAB													0,827			0,768

L'examen de ces corrélations révèle que certains paramètres physico-chimiques (Na⁺, K⁺, Cl⁻, SO₄(2-), CID, NOP, NH₄⁺, pH et HCO₃⁻) ne sont corrélés qu'avec le %DIS de certains éléments comme Co, Mn, Pb, Zn ou Cu. En revanche, les concentrations en Ca²⁺ ne sont spécifiquement associées qu'aux pourcentages labiles en Cu et Ni. On remarque également que des paramètres tels que Mg²⁺, PO₄(2-), COD et COP sont corrélés à la fois à des pourcentages en ETM dissous et labiles. Plus particulièrement, il est intéressant de noter que le sens des corrélations est opposé, pour un même paramètre physico-chimique et un même ETM, entre le %DIS (corrélation positive) et le %LAB (corrélation négative). Ce phénomène est remarquable pour le Co avec PO₄(2-), le Mn avec Mg²⁺ et la T°C, ainsi que le Pb avec Mg²⁺ et PO₄(2-).

L'analyse factorielle effectuée sur les teneurs en ETM labiles a mis en évidence un effet « Site » significatif relativement important pour l'ensemble des éléments, à l'exception du Pb, avec des pourcentages de variabilité expliquée compris entre 45 % pour le Cu et 67 % pour le Mn (valeurs de η^2 selon les résultats d'une ANOVA 2 facteurs avec interaction ; données non détaillées ici). Ce facteur « Site » illustre clairement un gradient de contamination métallique de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne, puisque lorsqu'il est significatif, il identifie systématiquement Marnay < Bougival ≤ Triel, en termes de niveau de contamination. Ces résultats sont cohérents avec ceux d'études précédentes basées sur ces sites d'étude (Bourgeault *et al.*, 2011 ; Priadi *et al.*, 2011).

En revanche, aucun effet « Campagne » significatif n'a été mis en évidence avec seulement entre 3 % (Ni) et 24 % (Pb) de variabilité totale expliquées par ce facteur. Il n'y a donc pas d'effet saisonnier mis en évidence, en adéquation avec les observations de Priadi *et al.* (2011).

De plus, l'examen des corrélations entre les concentrations en ETM LAB révèle une colinéarité positive significative entre les teneurs en Co, Cu, Cd, Zn et Mn (coefficient de Pearson r compris entre 0,627 et 0,869 ; $p < 0,03$), et, dans une moindre mesure pour les concentrations en Ni et Pb (r compris entre 0,139 et 0,889 ; p compris entre 0,666 et 0,000). La variable Σ ETM_LAB est donc, sans surprise, significativement corrélée positivement avec l'ensemble des teneurs en ETM LAB, à l'exception du Pb.

L'ACP effectuée sur ce groupe de paramètres permet de préciser ces observations en mettant en évidence que plus de 70 % de la variabilité totale est expliquée par la première composante (PC1) qui illustre un

gradient de contamination amont-aval tel que Marnay < Bougival (sauf pour la campagne C4) < Triel et Bougival C4 (*Figure 3.14*).

La seconde source de variabilité (~17 %, PC2) repose sur des différences dans les **profils de contamination**, notamment au niveau des teneurs en Ni_LAB et Pb_LAB. Selon cet aspect, les sites de Triel pour la campagne C1 et de Bougival pour la campagne C4 se distinguent nettement entre eux et des autres sites par des concentrations en Ni_LAB et Pb_LAB respectivement élevées (*Figure 3.14*).

Les autres sites ne semblent pas ne présentent pas de profil de contamination particulier (proches de l'origine de l'axe PC2 dans la projection).

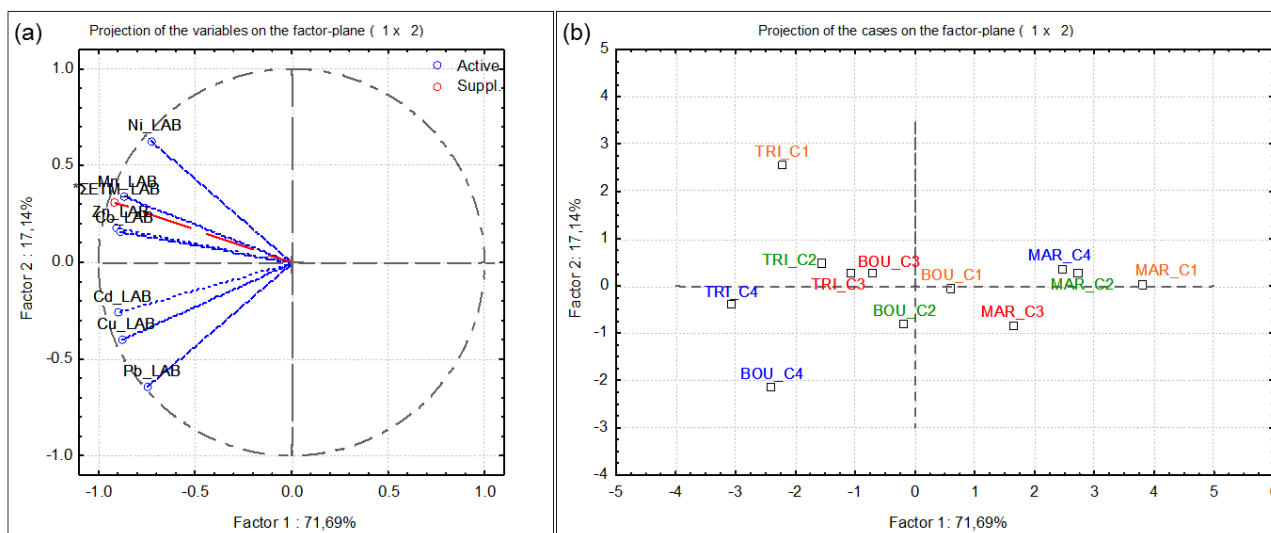


Figure 3.12 : Projections des variables (a ; en rouge, variables illustratives ; en bleu, variables actives) et des observations (b) sur les deux premières composantes (PC1xPC2) issues de l'ACP effectuée sur les concentrations en ETM labiles dans la colonne d'eau le long de l'axe Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel) pour les quatre campagnes de prélèvement (Automne 2011 en orange ; Printemps 2012 en vert ; Été 2012 en rouge ; Hiver 2012 en bleu)

Concentrations en ETM totaux et dissous

Les concentrations en ETM totaux (TOT) et dissous (DIS) mesurés sur les trois sites de l'axe Seine au cours des quatre campagnes de prélèvement 2011-2012 sont respectivement présentées sur les *Figures 3.15* et *3.16*.

Ces données confirment bien l'existence d'un gradient de contamination métallique, déjà observé sur ces sites en 2008-2009, avec des concentrations métalliques significativement plus faibles en amont (Marnay) qu'en aval (Bougival et Triel) de l'agglomération parisienne, que ce soit pour la forme dissoute (à l'exception du Ni pour lequel les concentrations ne diffèrent pas significativement entre Bougival et Marnay ainsi que le Sb et l'Ag pour lequel aucune différence significative n'est mise en évidence) ou la fraction totale. Ces observations sont également cohérentes avec les études antérieures de 2004, (Tusseau-Vuillemin *et al.*, 2007), de 2008-2009 (Priadi *et al.*, 2010) excepté pour Sb, ainsi que sur le bassin de la Seine en 2008-2009 (Uher *et al.*, 2011).

Par ailleurs, si l'on compare les concentrations en ETM dissous avec les NQE de la DCE, on note que les concentrations en Cd, Ni et Pb sont toujours inférieures aux NQE même en aval de Paris. En effet celles-ci sont respectivement de 0,25 (pour des eaux dures avec CaCO₃ >200 mg/L, ce qui est le cas pour la Seine), 4 et 1,2 µg/L selon la directive 2013/39/UE, à comparer à des concentrations en ETM dissous maximales

mesurées de 0,16 µg Cd/L à Bougival (campagne C3), 3,1 µg Ni/L à Triel (campagne C1) et 0,4 µg Pb/L à Triel (campagne C1).

En revanche pour le Cu et le Zn, les concentrations atteignent, en aval de Paris, des niveaux moyens proches des NQE correspondantes (1,4 et 7,8 µg/L, respectivement) à comparer avec des concentrations en ETM dissous maximales de 3,4 µg Cu/L à Triel (campagne C1) et 11,6 µg Zn/L à Triel (campagne C1). Pour le Zn, les dépassements de la NQE sont plutôt sporadiques (2 et 4 dépassements pour 15 mesures ponctuelles au total, respectivement pour Bougival et Triel) et ne concernent que les campagnes C1 et C4. Ces dépassements s'avèrent plus systématiques concernant le Cu (6 et 10 dépassements/15 mesures, respectivement pour Bougival et Triel) puisque observables au moins une fois par campagne sur les sites aval. Les concentrations en Cu et en Zn restent toujours inférieures sur le site de Marnay avec des valeurs maximales respectives de 1,0 µg/L (campagne C4) et 3,5 µg/L (campagne C4).

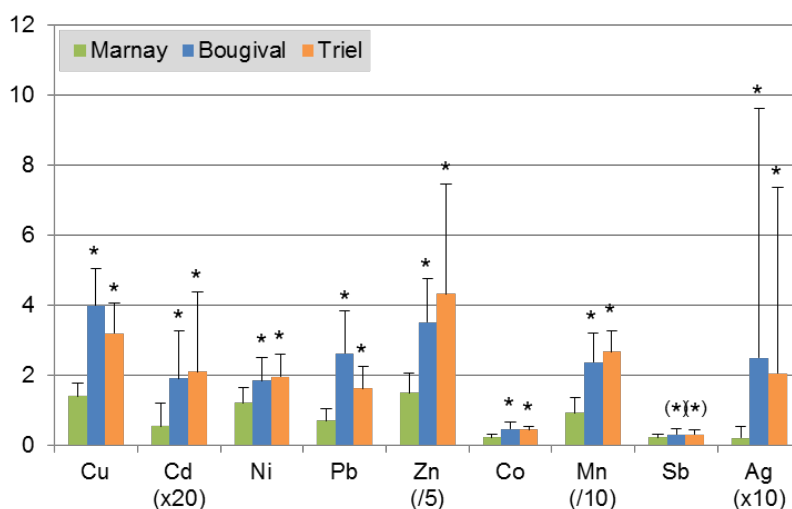


Figure 3.13 : Concentrations en ETM totaux moyennes sur les quatre campagnes en µg/L pour les trois sites de l’Axe Seine. Les barres d’erreur représentent ± l’écart-type. Le symbole * indique une différence significative avec le site de de Marnay pour l’élément considéré (ANOVA de Kruskal-Wallis au risque $\alpha = 5\%$ et test post-hoc de comparaisons multiples au risque $p < 0,05$), (*) indique une p-value $< 0,1$**

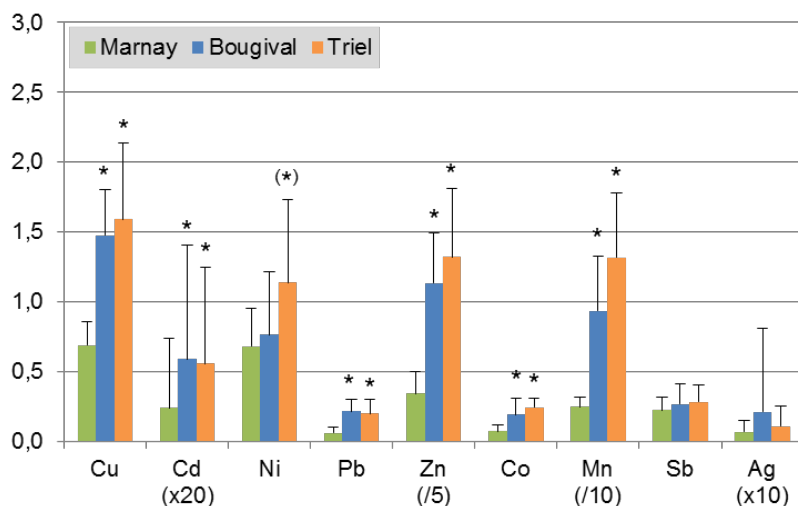


Figure 3.14 : Concentrations en ETM dissous moyennes sur les quatre campagnes en µg/L pour les trois sites de l’Axe Seine. Les barres d’erreur représentent ± l’écart-type. Le symbole * indique une différence significative avec le site de de Marnay pour l’élément considéré (ANOVA de Kruskal-Wallis au risque $\alpha = 5\%$ et test post-hoc de comparaisons multiples au risque $p < 0,05$), (*) indique une p-value = 0,136. Globalement, les concentrations en ETM de la fraction dissoute et totale semblent évoluer similairement, ce que confirme l’examen de la matrice des corrélations entre les deux fractions qui montre une corrélation significative et positive pour chaque ETM entre les formes dissoutes et totales (coefficient de Pearson r compris entre 0,436 pour le Zn et 0,961 pour le Sb ; $p < 0,05$). Ceci est cohérent avec le fait que les MES en Seine sont relativement faibles (14 à 24,4 mg/L sur cette campagne) et varient peu. Le système est donc à l’équilibre sur les périodes observées.

Les fluctuations des concentrations métalliques observées lors des quatre campagnes ne semblent pas de révéler de tendance saisonnière nette. Néanmoins, une analyse multivariée (ACP) a été mise en œuvre afin de préciser les tendances. Etant donné la forte colinéarité entre les concentrations DIS et TOT en ETM, l’analyse a été entreprise sur les concentrations totales et un nouveau jeu de donnée correspondant au pourcentage en ETM sous forme dissoute par rapport à la concentration totale (noté « %DIS »).

Une première étude des coefficients de corrélation entre ces deux jeux de variables a permis de montrer que :

- Les concentrations totales en Cu, Ni, Pb, Co, Mn (coefficient de Pearson r compris entre 0,590 et 0,950 ; $p < 0,05$) et, dans une moindre mesure, Zn et Cd (r compris entre 0,026 et 0,855 ; p compris entre 0,936 et 0,000) forment un ensemble de variables positivement corrélées entre elles – **Groupe 1**
- Les pourcentages en ETM dissous en Ag, Sb, Cu (r compris entre 0,587 et 0,752 ; $p < 0,05$) et, dans une moindre mesure, Cd (r compris entre 0,497 et 0,719 ; p compris entre 0,008 et 0,101) forment un ensemble de variables positivement corrélées entre elles – **Groupe 2**. De telles associations entre ces ETM dits « urbains » dans la fraction dissoute ont également été mises en évidence dans l’Orge, un affluent très urbanisé de la Seine, par Le Pape *et al.* (2012).
- Les variables du Groupe 2 sont partiellement corrélées négativement avec celles du Groupe 1
- Les pourcentages en ETM dissous en Pb, Zn, Co et Mn (r compris entre 0,619 et 0,856 ; $p < 0,05$) forment un ensemble de variables positivement corrélées entre elles – **Groupe 3**. Les variables de ce

groupe ne montrent pas de corrélation significative avec celles des autres groupes (à l'exception de Co_%DIS significativement corrélée positivement à Cd_TOT).

Lors de l'ACP effectuée sur cet ensemble de paramètres, il ressort que la principale source de variabilité (environ 47 % ; **Figure 3.17**) est expliquée par un gradient de contamination représenté par la 1^{ère} composante (PC1) caractérisée par :

- Les paramètres du **Groupe 1** (sens >0) et certains du **Groupe 2** (Sb_%DIS et Ag_%DIS ; sens <0) comme principales variables impliquées *i.e.*, globalement, l'augmentation des concentrations en ETM totaux le long du gradient tend à être associée à une diminution du pourcentage d'ETM dissous pour certains éléments tels que Sb et Ag.
- Des concentrations en ETM totaux de plus en plus élevées en suivant l'ordre Marnay < Bougival / Triel. On a souvent Triel < Bougival mais le classement de ces sites est campagne-dépendant. En effet, le gradient de contamination concerne également les campagnes avec, globalement, C2 < C3 < C4-C1. Des concentrations en ETM plus importantes à Bougival qu'à Triel ont déjà été rapportées lors de précédents travaux (Priadi *et al.*, 2011).

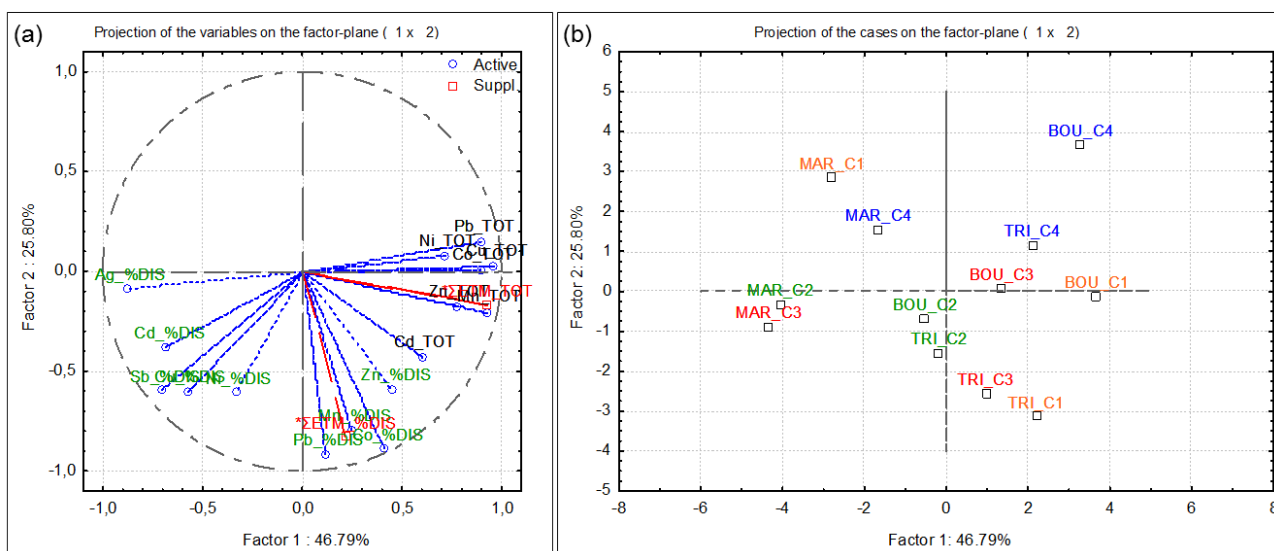


Figure 3.15 : Projections des variables (a ; en rouge, variables illustratives ; en bleu, variables actives) et des observations (b) sur les deux premières composantes (PC1xPC2) issues de l'ACP effectuée sur les concentrations en ETM totaux (TOT, labels noirs) et les pourcentages en ETM dissous (%DIS, labels verts) dans la colonne d'eau le long de l'axe Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel) pour les quatre campagnes de prélèvement (Automne 2011 en orange ; Printemps 2012 en vert ; Été 2012 en rouge ; Hiver 2012 en bleu)

La seconde source de variabilité (environ 38% ; PC2+PC3 ; **Figure 3.18**) repose sur des différences dans les profils de contamination au niveau des pourcentages en ETM dissous principalement mais également des concentrations totales en Cd, Zn et Ni :

- Les pourcentages en ETM dissous (tous les éléments sauf Ag) croissants sont associés au sens <0 de l'axe PC2.

- Les %DIS en Zn (**Groupe 3**), en Cd (**Groupe 2**) et les concentrations totales en Ni croissantes sont associées au sens négatif de l'axe PC3, alors que les concentrations en Cd et Zn TOT expliquent le sens positif de cette composante.
- La campagne C4 et le site de Marnay pour la campagne C1 se distinguent des autres observations par une contamination en ETM présentant les plus faibles pourcentages dissous (PC2 >0). En cela, ils s'opposent particulièrement au site de Triel pour les campagnes C1 et C3.
- Selon les campagnes, les profils de contaminations observés à Triel varient avec, la campagne C3 associée à des niveaux plus élevés en Cd_TOT et Zn_TOT, dont une plus forte proportion est sous forme particulaire (PC3 >0) *versus* Triel C1 et, dans une moindre mesure, Triel C2 associés à de plus faibles teneurs en Cd_TOT et Zn_TOT mais dont un plus fort pourcentage est sous forme dissoute (PC3 <0).

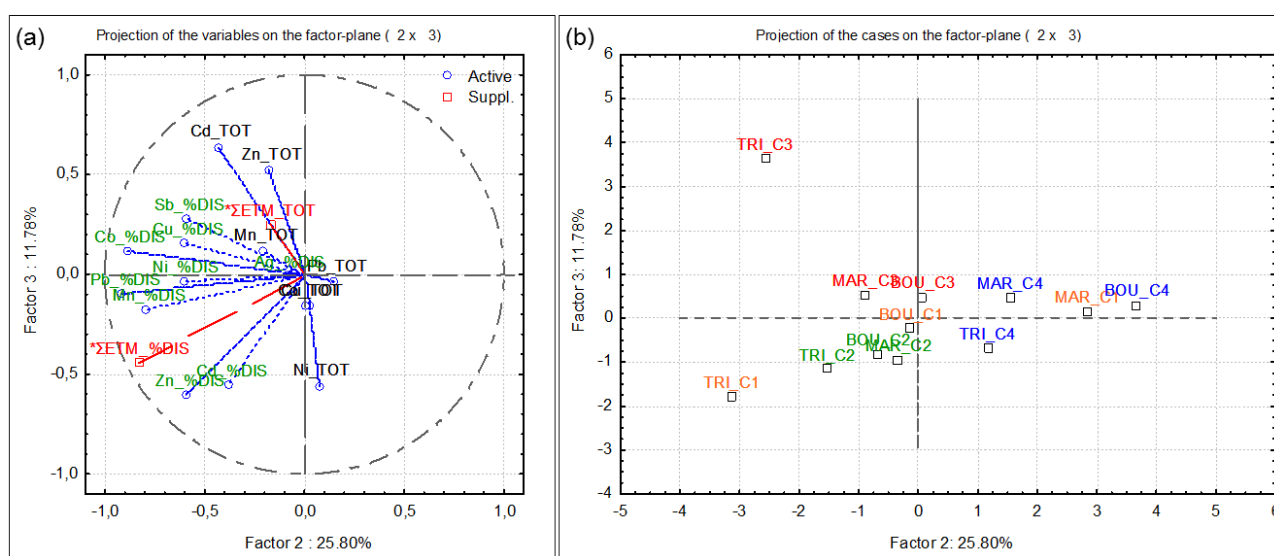


Figure 3.16 : Projections des variables (a ; en rouge, variables illustratives ; en bleu, variables actives) et des observations (b) sur les 2^{ème} et 3^{ème} composantes (PC2xPC3) issues de l'ACP effectuée sur les concentrations en ETM totaux (TOT, labels noirs) et les pourcentages en ETM dissous (%DIS, labels verts) dans la colonne d'eau le long de l'axe Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel) pour les quatre campagnes de prélèvement (Automne 2011 en orange ; Printemps 2012 en vert ; Été 2012 en rouge ; Hiver 2012 en bleu)

On note qu'ici, les effets « gradient » et « profil » de contamination sont intimement liés et les deux facteurs interagissent dans la discrimination des observations.

Les caractéristiques propres aux sites et aux campagnes pour ces deux aspects semblent donc la résultante d'une interaction souvent négative, *i.e.* pour certains ETM, lorsque la concentration totale augmente, la proportion de la forme dissoute tend à diminuer, et inversement.

Enfin, on remarquera que les concentrations moyennes en ETM labiles ne sont significativement ($p < 0,05$) corrélées positivement avec celles mesurées dans la fraction dissoute et totale que pour Cu (valeurs respectives de $r = 0,729$ et $0,681$), Mn ($r = 0,765$ et $0,785$), Ni ($r = 0,754$ et $0,609$) et Zn ($r = 0,813$ et $0,599$).

3.2.3 Conclusion

L'analyse des ETM labiles, dissous et totaux montre clairement un gradient de concentration Marnay < Bougival / Triel, et donc en lien direct avec le gradient de pression anthropique présent dans la zone d'étude. En revanche, il n'y a pas de variation saisonnière clairement identifiable quelle que soit la fraction observée, bien que le gradient de contamination en ETM totaux identifie néanmoins des écarts entre les campagnes, notamment pour les sites aval avec globalement, $C2 < C3 < C4-C1$. La contamination métallique en Seine est donc diffuse et potentiellement relativement homogène au cours de la période étudiée. Le schéma d'échantillonnage ne permet pas de distinguer des variations saisonnières fines mais permet bien de caractériser la pression polluante sur chaque site à chaque campagne.

Les ETM qui déclassent la Seine en aval de Paris en dépassant les NQE établies pour le compartiment dissous sont le Zn et le Cu, néanmoins la quasi-totalité des éléments analysés augmentent de manière significative avec le gradient amont-aval.

Enfin, l'augmentation de la concentration en carbone dissous, révélatrice de la quantité de matière organique dissoute, augmente aussi avec le gradient amont-aval et module la spéciation des métaux dissous, en particulier celle du plomb.

Concernant les micropolluants organiques, le même gradient de contamination amont-aval est mis en évidence pour la très grande majorité des composés étudiés à quelques exceptions notables (alkylphénols et certains pesticides). Ce gradient représente une augmentation du flux d'environ deux ordres de grandeur entre l'amont et l'aval. Néanmoins, la contamination de la colonne d'eau en contaminants organiques apparaît relativement marginale puisque les niveaux mesurés restent inférieurs aux NQE disponibles.

Par ailleurs, une variabilité temporelle de niveaux de contamination de la colonne d'eau a été particulièrement remarquée pour certaines familles de composés comme les pesticides et les résidus médicamenteux, probablement en lien avec la saisonnalité des usages de ces classes de composés et/ou des variations importantes des conditions hydrologiques dans le milieu. Ces observations semblent souligner l'importance des sources diffuses et des processus associés tels que le lessivage des sols et les phénomènes de ruissèlement dans les apports de ce type de composés dans le milieu aquatique.

Des profils de contamination inter-sites différents ont également pu être remarqués pour certaines familles de composés (par ex. les PFAS), suggérant une pluralité des sources pour ces micropolluants au sein du bassin de la Seine. Des études subsidiaires sont nécessaires pour préciser les origines exactes des apports de ces composés dans le milieu.

3.3 Contamination organique et métallique dans les sédiments

3.3.1 Micropolluants organiques

Contact particulier : P. Labadie (pierre.labadie@u-bordeaux.fr)

Il s'agissait ici de contribuer à la caractérisation de la pression chimique associée à la présence des micropolluants organiques persistants dans le sédiment, souvent considéré comme un puits ou une source secondaire de contamination au sein des hydrosystèmes.

Matériel et méthodes

Pour toutes les familles de micropolluants organiques, l'analyse est réalisée sur échantillons lyophilisés, broyés et tamisés à 2 mm. Les PFAS sont extraits par extraction assistée par micro-ondes et les extraits obtenus sont purifiés sur graphite puis analysés par LC-MS/MS en dilution isotopique.

HAP, PCB et OCP ont également été extraits par micro-ondes dans du dichlorométhane. Les extraits obtenus ont été purifiés par chromatographie d'adsorption et la quantification a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (HAP) ou à la détection par capture d'électron (PCB et OCP).

Dix-sept HAP ont été dosés (naphtalène, acénaphthylène, acénaphène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, Benzo(a)anthracène, Chrysène+Triphène, Benzo(b,k)Fluoranthène, Benzo(e)pyrène, Benzo(a)pyrène, Perylène, Indeno(1,2,3)pyrène, Benzo(g,h,i)pérylène et DahA), ainsi que les sept PCB indicateurs (CB-50+28, CB-52, CB-101, CB-118, CB-153, CB-138, CB-180) et treize pesticides organochlorés (HCB, γ -HCH, Heptachlor, Heptachlore époxyde, 2,4'-DDE, cis-chlordane, trans-nonachlor, 4,4'-DDE, 2,4'-DDD, 4,4'-DDD, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT et Mirex).

Principaux résultats et discussion

Contamination en PFAS

Dans les échantillons de sédiment prélevés lors des campagnes C1, C3 et C4 (Automne 2011, été et hiver 2012, respectivement), les niveaux totaux de PFAS varient entre 0,2 et 5 ng/g de poids sec (ps). Ces niveaux sont très variables pour chaque site (écart-type relatif : 30-83 %) et aucune tendance spatiale significative n'est observée dans les sédiments, contrairement à ce qui est observé dans la colonne d'eau.

Le profil moléculaire est largement dominé par l'isomère linéaire du PFOS (36-70% de Σ PFAS) tandis que certains carboxylates à longue chaîne, rarement ou jamais détectés dans la phase dissoute de la colonne d'eau, sont systématiquement quantifiés. Le 6:2-FTS représente 10-35 % de Σ PFAS dans les sédiments prélevés à Triel. Ces profils moléculaires s'expliquent à la fois par les différences de coefficients de partage sédiment/eau (K_d) des différents PFAS analysés (Labadie et Chevreuil, 2011) et par les niveaux observés dans la colonne d'eau.

Le taux de carbone organique et la granulométrie (notamment la teneur en particules fines, $<63 \mu\text{m}$) sont souvent considérés comme des facteurs de contrôle de l'adsorption des micropolluants organiques, notamment des PFAS (Munoz *et al.*, 2015). Les teneurs sédimentaires en PFAS ont donc été normalisées par rapport à ces deux paramètres (**Figure 3.19**), ce qui n'a toutefois pas permis de mettre en évidence de gradient amont/aval.

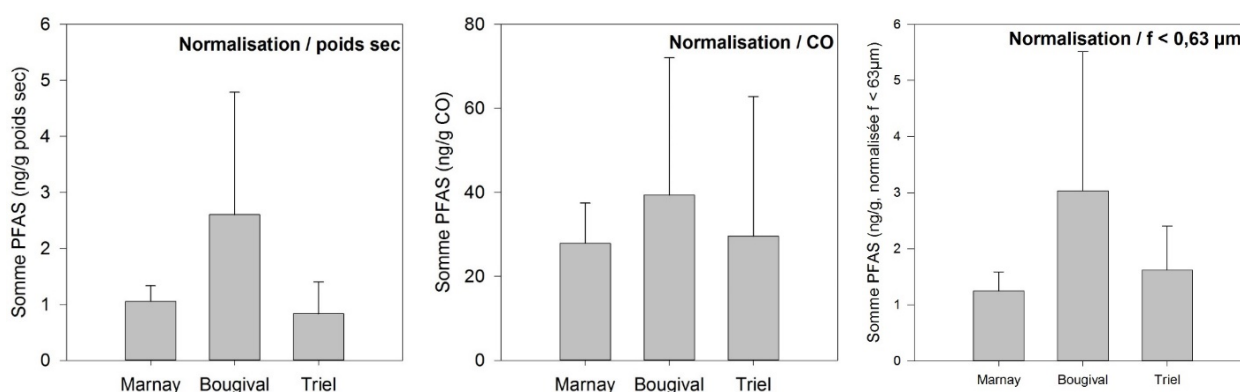


Figure 3.17 : Niveaux de PFAS dans les sédiments de l'axe Seine au cours des trois campagnes de 2011-2012 (Automne 2011, été et hiver 2012). Les valeurs représentées sont les moyennes \pm écart-type (N=3)

Les polluants organiques persistants (POPs) hydrophobes ciblés dans cette étude sont ubiquistes dans le compartiment sédimentaire, à des niveaux très variables selon les familles. Globalement, on observe la tendance suivante : HAP > PCB > OCP > PBDE (*Figure 3.20*). Pour toutes les familles, un gradient amont/aval a pu être mis en évidence, les niveaux observés à Marnay étant largement inférieurs à ceux observés sur les sites aval (ex : facteur 5 à 100 pour les HAP). Comme pour les PFAS, une très forte variabilité inter-échantillon est observée, vraisemblablement en grande partie à cause de l'hétérogénéité des caractéristiques physico-chimiques du sédiment.

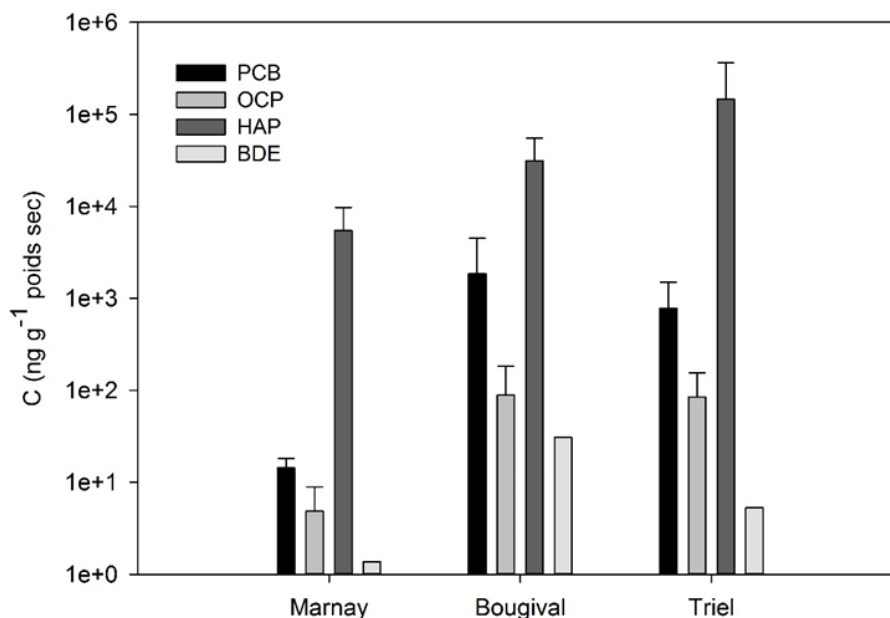


Figure 3.18 : Niveaux de polluants organiques persistants (POPs) hydrophobes dans les sédiments de l'axe Seine au cours des trois campagnes de 2011-2012 (Automne 2011, été et hiver 2012). Les valeurs représentées sont les moyennes ± écart-type (N =3)

3.3.2 Eléments métalliques

Contact particulier : S. Ayrault (Sophie.Ayrault@lsce.ipsl.fr)

Comme pour les micropolluants organiques, le compartiment sédimentaire est souvent considéré à la fois comme un réservoir et une source potentielle de composés métalliques dans les écosystèmes aquatiques. La présence de ses éléments métalliques dans le sédiment peut être liée d'une part, à la nature minéralogique des particules sédimentaires elles-mêmes et, d'autre part, à des apports anthropiques d'origines variées (industrielles, urbaines, agricoles). Au cours des présents travaux, il s'agissait donc de contribuer à la caractérisation de la pression chimique associée à la présence des contaminants inorganiques dans les sédiments de l'axe Seine, au travers de l'analyse de 26 éléments, représentatifs des deux grandes origines potentielles citées ci-dessus. A cet aspect s'ajoute, comme pour la colonne d'eau, un effort pour comprendre la variabilité des phases particulaires porteuses de métaux, la nature de ces phases ayant une relation forte avec les sources émettrices, d'une part, et la stabilité des particules (et donc le possible relargage de métaux vers le compartiment dissous), d'autre part.

Matériel et méthodes

Les échantillons de sédiments lyophilisés et tamisés à 2 mm ont été mis en solution (digestion totale ; Le Pape *et al.*, 2012) avant d'être analysés par ICP-MS.

Principaux résultats et discussion

Les concentrations en métaux mesurés dans les sédiments sur les trois sites de l'axe Seine au cours des trois campagnes de prélèvement 2011-2012 sont présentées sur la **Figure 3.21**.

De façon générale, les concentrations pour l'ensemble des métaux suivent un gradient de contamination, avec des valeurs moyennes significativement plus faibles à l'amont (Marnay) qu'à l'aval de Paris pour Na, Mg, K et Tl (Bougival) ainsi que pour Cr, Ni, Cu, Zn, As, Cd, Sb, Ba et Pb (Triel).

Ce gradient amont-aval n'est cependant pas conservé pour les deux sites aval dans le cas de Al, V et Ti pour lesquels les concentrations à Triel sont en moyennes plus faibles qu'à Marnay. Pour ces deux derniers éléments, la concentration à Triel devient même significativement plus faible qu'à Bougival.

Les écarts entre l'amont et l'aval sont particulièrement marqués pour 7 espèces métalliques Cu, Zn, Ag, Cd, Sb, Pb, Mo dont les concentrations amont-aval varient d'un facteur 10 à 100.

Enfin, on remarquera que le gradient de concentration est inversé pour le Ca dont la concentration moyenne est significativement plus forte en amont de l'agglomération parisienne qu'à Triel, traçant probablement un enrichissement en calcite dans la partie amont du bassin (Priadi *et al.*, 2012).

L'analyse de la matrice de corrélation de Spearman a permis d'identifier 4 groupes de variables colinéaires (corrélations positives sauf mention explicite du contraire) :

- **Groupe 1** : Mn, K, Rb, Cs, Al (r compris entre 0,686 et 0,957 ; $p < 0,05$) et, dans une moindre mesure Na (r compris entre 0,405 et 0,888 ; p compris entre 0,280 et 0,001)
- **Groupe 2** : Mg, Ca (corrélation négative), Tl, P (valeurs absolues de r comprises entre 0,671 et 0,892 ; $p < 0,05$) et, dans une moindre mesure V (r compris entre -0,207 et 0,761 ; p compris entre 0,593 et 0,017)
- **Groupe 3** : Ag, Sb, Ba, Cd (r compris entre 0,685 et 0,988 ; $p < 0,05$) et, dans une moindre mesure As (r compris entre 0,299 et 0,882 ; p compris entre 0,435 et 0,002), dont certains éléments dits « urbains »
- **Groupe 4** : Pb, Co, Cu, Zn, Mo, Cr, Ni (r compris entre 0,693 et 0,991 ; $p < 0,05$) et, dans une moindre mesure, Ti, qui est un traceur de matériel terrigène (corrélation négative) et Fe (valeurs absolues de r comprises entre 0,652 et 0,959 ; p compris entre 0,057 et 0,000).

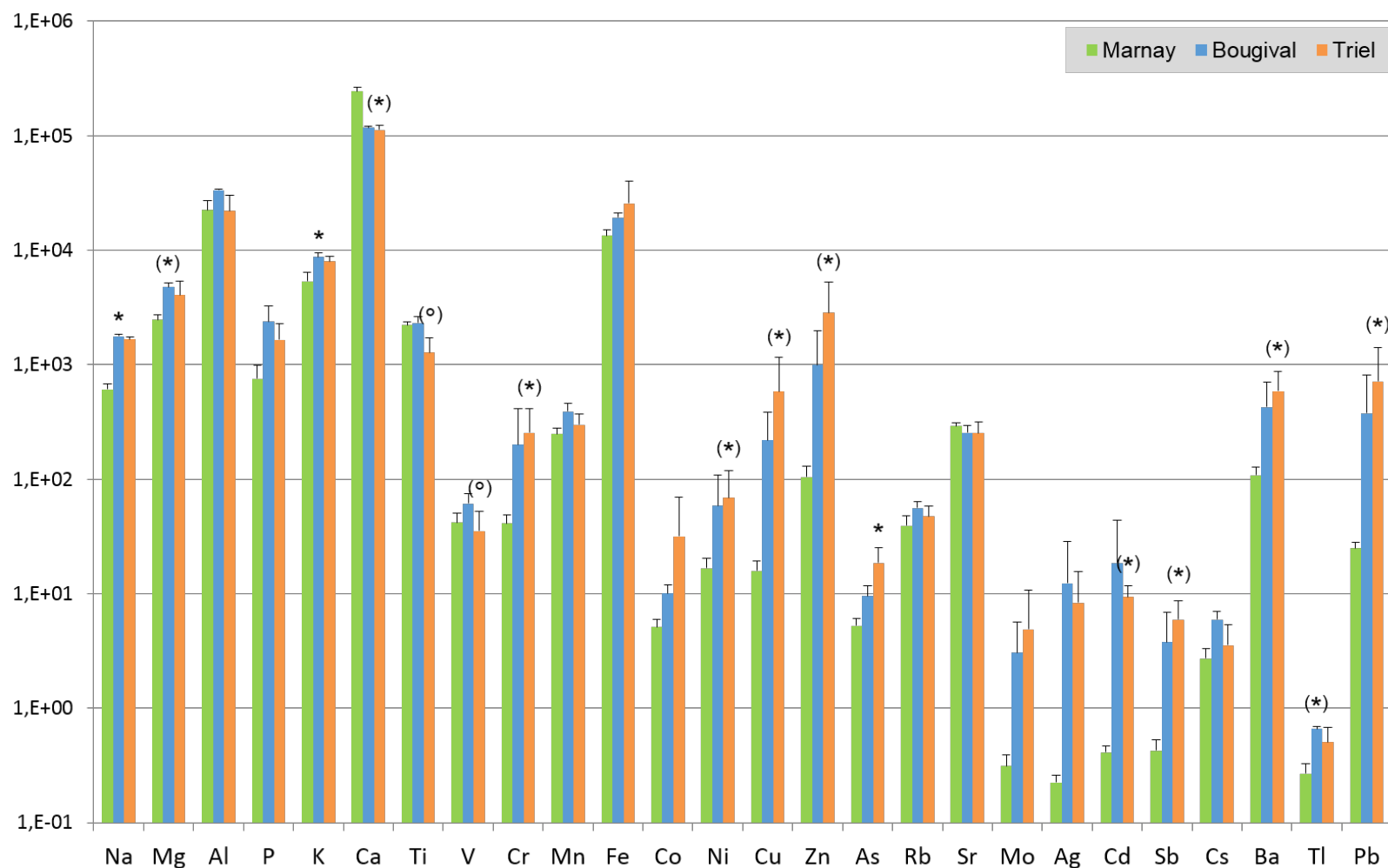


Figure 3.19 : Concentrations en métaux moyennes sur les trois campagnes dans les sédiments en µg/g de poids sec pour les trois sites de l’Axe Seine. Les barres d’erreur représentent ± l’écart-type. Le symbole * indique une différence significative avec le site de de Marnay pour l’élément considéré (ANOVA de Kruskal-Wallis au risque $\alpha = 5\%$ et test post-hoc de comparaisons multiples au risque $p < 0,05$), (*) indique une p-value $< 0,1$. Le signe (°) indique une différence entre les sites de Bougival et Triel ($p < 0,1$)

On remarque également que :

- Les variables du Groupe 2 montrent des corrélations significatives et positives (sauf Ca, corrélations négatives) avec certaines variables du Groupe 1 et du Groupe 3
- Les concentrations en Cd (Groupe 3) sont également corrélées positivement à celles en Cr et Ni (Groupe 4)
- La variable Sr est inversement corrélée aux variables Co et Fe (Groupe 4)

L'ensemble de ces observations semblent indiquer que la composition en ETM de la matrice sédimentaire est à la fois gouvernée par les concentrations en éléments caractéristiques de la matrice minéralogique des particules (Al, Ti, Ca, Mg, Na ...) ainsi que par des apports d'origine anthropique suivant un gradient de contamination amont-aval. Ces observations sont confirmées par l'analyse ACP effectuée sur ce jeu de paramètres et dont les principaux résultats sont synthétisés ci-dessous.

La première source de variabilité (**44 % ; Figure 3.22**) est illustrée par l'axe PC1 qui représente un **gradient de concentration amont-aval** avec :

- Comme principales variables explicatives un mélange de variables issues des **Groupe 1, 2, 3 et 4**. Parmi les variables les plus contributives, on retrouve Ca (sens >0), Na, Cr, Mg, Ni, Ba, Sb, Pb, P, K, Mo et Zn (sens <0)
- Les sites de Marnay (toutes campagnes confondues) associés aux plus fortes concentrations en Ca mais aux plus faibles teneurs pour les autres ETM gouvernant la construction de l'axe PC1
- Les sites de Triel pour la campagne C3 et de Bougival pour les campagnes C1 et C4 associés à des concentrations globales moyennes
- Les sites de Bougival pour la campagne C3 et de Triel pour les campagnes C1 et C4 associés aux plus faibles teneurs en Ca mais aux niveaux de concentration les plus élevés concernant les autres composés gouvernant la construction de l'axe PC1

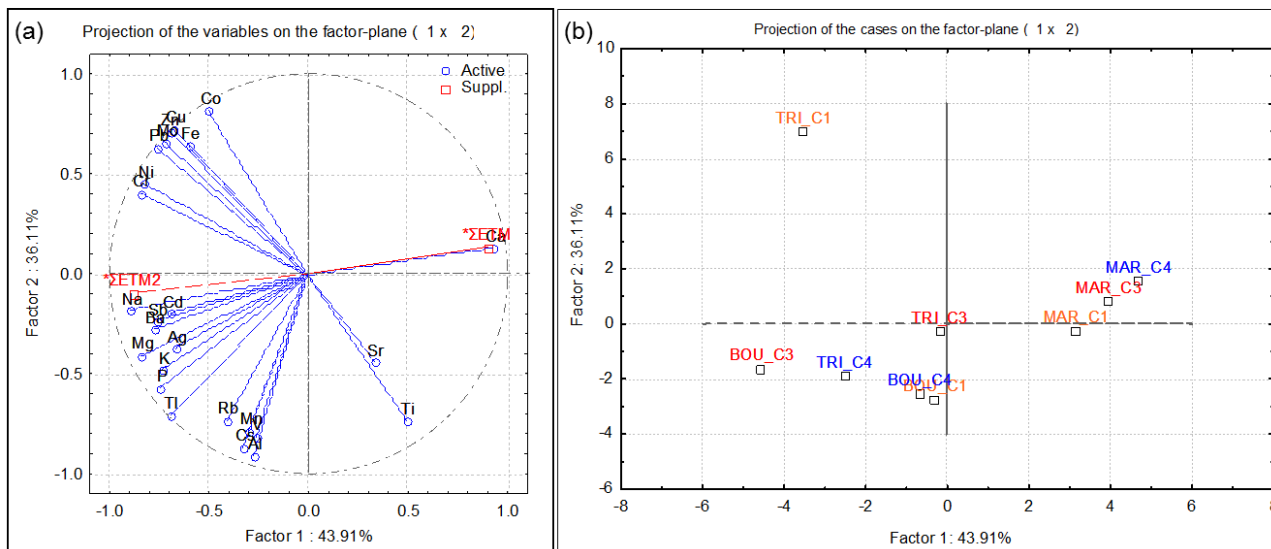


Figure 3.20 : Projections des variables (a ; en rouge, variables illustratives ; en bleu, variables actives) et des observations (b) sur les deux premières composantes (PC1xPC2) issues de l'ACP effectuée sur les concentrations en métaux dans les sédiments le long de l'axe Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel) pour trois campagnes de prélèvement (Automne 2011 en orange ; Été 2012 en rouge ; Hiver 2012 en bleu). La variable ΣETM représente la somme des concentrations des 26 éléments analysés et la variable $\Sigma ETM2$ est cette même somme sans les concentrations en Ca

Les variations dans les **profils de contamination** entre les différents sites sont illustrés ensuite par les axes PC2 et PC3 (**Figures 3.22 et 3.23**) et représentent environ **49 %** de la variabilité totale. Ces axes différencient les sites de la façon suivante :

- Le site de Triel pour la campagne C1 est associé à des concentrations plus marquées en ETM du **Groupe 4** (PC2 >0), dont un traceur de matériel terrigène (Ti).
- A l'inverse, les sites de Bougival, toutes campagnes confondues, et de Triel pour la campagne C4 semblent plutôt associés à de faibles teneurs pour les éléments du Groupe 4 mais plus marquées pour les composés du **Groupe 1 et 2** gouvernant la construction de l'axe PC2 (*i.e.* Al, Cs, V, Mn, Ti, Rb et Tl)
- Les sites de Bougival et Triel pour la campagne C1 sont associés à de fortes teneurs en éléments du **Groupe 1** et faibles teneurs en ETM du **Groupe 3** et en Sr
- A l'inverse, le site de Bougival pour la campagne C3 est associé à de fortes concentrations en Sr et métaux du **Groupe 3** et faibles teneurs en métaux du **Groupe 1**
- Le site Triel pour la Campagne C3, situé à l'origine de l'espace PC1xPC2xPC3, et semble donc associé à la fois à un niveau de contamination moyen mais également à aucun profil de contamination particulier

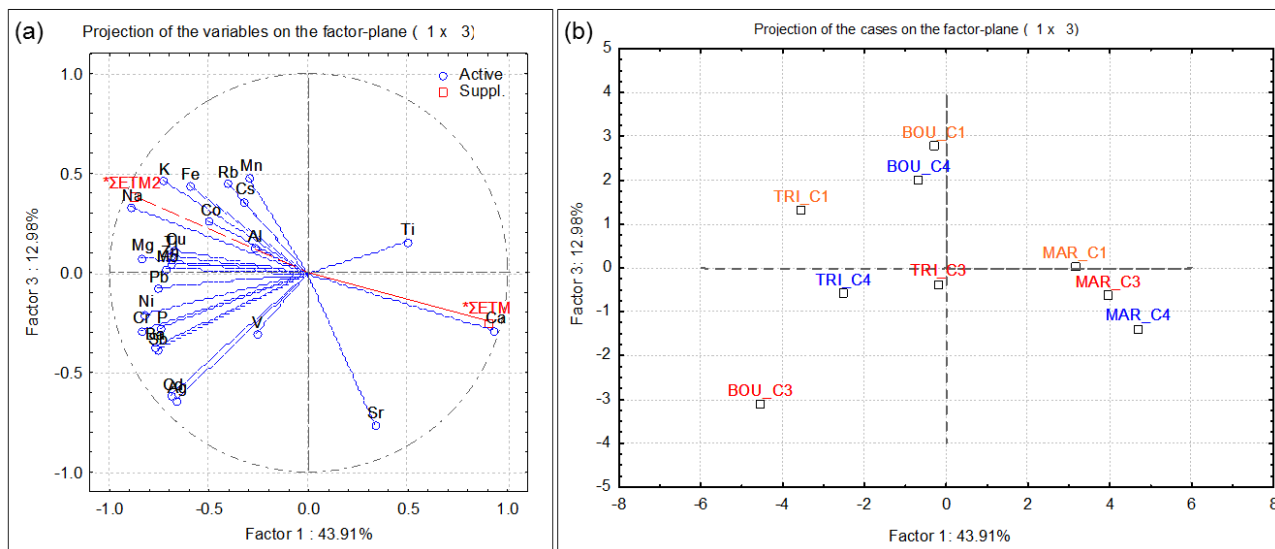


Figure 3.21 : Projections des variables (a ; en rouge, variables illustratives ; en bleu, variables actives) et des observations (b) sur les 1^{ère} et 3^{ème} composantes (PC1xPC3) issues de l'ACP effectuée sur les concentrations en métaux dans les sédiments le long de l'axe Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel) pour trois campagnes de prélèvement (Automne 2011 en orange ; Eté 2012 en rouge ; Hiver 2012 en bleu). La variable ΣETM représente la somme des concentrations des 26 éléments analysés et la variable ΣETM2 est cette même somme sans les concentrations en Ca

Il ressort donc de ces analyses que la contamination en métaux des sédiments est assez complexe avec un double gradient de concentrations (Ca d'un côté et les autres éléments de l'autre) et de multiple profils de contamination en fonction des sites et des périodes d'échantillonnage.

Les principales valeurs seuil environnementales européennes pour 8 ETM d'intérêt ont été synthétisées par Flück *et al.* (2012) et rapportées dans le **Tableau 3.5**. Si l'on compare les concentrations en ETM d'intérêt mesurées dans les sédiments de l'Axe Seine lors des campagnes 2011-2012 à la plus faible valeur seuil établie pour un élément donnée, il ressort que :

- L'As représente un risque pour les sédiments de Triel (toutes campagnes confondues) et de Bougival pour la campagne C3.
- Les concentrations en Cd dépassent la plus faible valeur seuil pour les sédiments des deux sites aval qu'elle que soit la campagne de prélèvement. La plus forte valeur seuil est également dépassée pour l'ensemble de ces sites à l'exception de Bougival pour la campagne C4.
- L'ensemble des sites (toutes campagnes confondues) présente des concentrations en Cr dépassant la plus faible valeur seuil de cet élément. En les comparant à la plus élevée des valeurs seuil, le Cr semble particulièrement problématique pour les sites de Triel (toutes campagnes confondues) et de Bougival (C3).
- Comme pour le Cr, les concentrations en Cu mesurées lors de la présente étude sont toutes au-delà du seuil très faible de 0,80 $\mu\text{g/g}$ de poids sec. En comparant ces données à la plus tolérante des valeurs seuil, ce composé représente un réel risque pour les sites de Triel (toutes campagnes confondues) et de Bougival (C1 et C3). Les mêmes conclusions peuvent être tirées concernant les teneurs en Zn.

- Similairement, les concentrations en Ni dépassent le plus stricte des seuils environnementaux pour tous les sites à l'exception de Marnay (C1). Cependant, en utilisant la plus forte valeur seuil, seuls les sites de Bougival (C3) et Triel (C4) restent fortement problématiques vis-à-vis de cet élément.
- Les teneurs en Pb des deux stations aval (toutes campagnes confondues) sont très largement supérieures à la plus faible des normes environnementales pour cet élément, ce qui reste vrai même en utilisant la valeur seuil la plus élevée (sauf pour Bougival C4)

Il semble donc que la contamination métallique des sédiments de Seine soit toujours extrêmement problématique, notamment pour certains ETM tels que le Cd, le Cr, le Cu, le Pb et le Zn dont les concentrations dépassent, et parfois de très loin, les valeurs seuil environnementales les plus hautes.

Tableau 3.5 : Concentration seuil d'effet (TEC) et Concentration d'effet probable (PEC) pour 8 ETM pour les sédiments d'eau douce, développées par MacDonald et al.(2000), premières valeurs européennes QSsed et celles développées en Belgique (Flandres) BF-NQEsed. Les valeurs OSol et CIPR, très souvent utilisées par les cantons pour l'interprétation des données environnementales sont aussi indiquées. D'après Flück et al. (2012)

ETM (µg/g ps)	TEC	PEC	QS _{sed} ¹	BF-NQE _{sed} ²	OSol ³	CIPR ⁴
Arsenic	9,79	33,0	A venir	19,0	–	40,0
Cadmium	0,99	4,98	2,3	1,00	0,8	1,0
Chrome	43,4	111	X	62,0	5,0	–
Cuivre	31,6	149	0,8	20,0	40,0	50,0
Mercure	0,18	1,06	3,6	0,55	0,5	0,5
Nickel	22,7	48,6	A venir	16,0	50,0	50,0
Plomb	35,8	128	53,4	40,0	50,0	100
Zinc	121	459	37,0	147	150	190

¹ Source: <http://www.ineris.fr/substances/fr/page/9> – au 20.01.2012

² Critère écologique et écotoxicologique (selon l'approche Triade)

³ Valeurs indicatives de l'Ordonnance sur les atteintes portées au sol

⁴ Normes de qualité environnementale pour les substances prioritaires du Rhin, exceptées pour le cadmium et le plomb et qui sont des objectifs de gestion.

– Aucune valeur indicative

X Substance(s) non listée(s) comme prioritaire(s)

Enfin, si on compare les valeurs moyennes observées dans les sédiments sur chaque site (**Figure 3.21**) avec les valeurs médianes des concentrations métalliques dans les MES mesurées chaque mois entre octobre 2008 et octobre 2009 (Priadi *et al.*, 2011), on observe que les valeurs de Marnay sont dans la gamme des valeurs basses, tandis que les valeurs observées dans cette étude pour les deux sites aval Bougival et Triel sont plutôt dans la gamme haute.

3.3.3 Conclusion

Les sites échantillonnés en aval de Paris (Bougival et Triel) sont clairement fortement impactés par des polluants anthropiques organiques et inorganiques. Les corrélations entre éléments métalliques, les profils moléculaires et la forte variabilité inter-échantillon mise en évidence à la fois pour les composés métalliques et organiques, témoignent de sources complexes de contamination, avec un mélange de contaminants historiques (HAP, PCB, Pb, ...) et émergents (PFAS, PBDE, Sb, ...).

La détermination des origines de ces apports complexes et de leur variabilité temporelle nécessitent des investigations plus poussées, selon un pas d'échantillonnage plus resserré. Par ailleurs, les fortes variations inter-échantillons en termes de niveaux de contamination peuvent être également liées aux différences marquées dans les caractéristiques physico-chimiques globales des matrices sédimentaires prélevées telles que le pourcentage en fraction fine des particules (< 65 µm) et les teneurs en carbone organique (COP).

Afin de proposer une évaluation globale de la qualité chimique du compartiment sédimentaire et de ses impacts potentiels sur le biote, les concentrations en ETM et en micropolluants organiques mesurées dans les sédiments ont été comparées aux valeurs TEC (*Threshold effect concentration i.e.* concentration en-dessous de laquelle des effets toxiques sont peu probables) et PEC (*Probable effect concentration i.e.* concentration au-dessus de laquelle des effets toxiques sont très fortement probables) disponibles, établies par MacDonald *et al.* (2000) pour les écosystèmes d'eau douce. Les résultats sont synthétisés dans le **Tableau 3.6**.

On retrouve bien le gradient de contamination amont-aval, avec les échantillons de Marnay présentant tous des concentrations mesurées inférieure au seuil TEC ou comprises entre les valeurs TEC et PEC ; à l'inverse, ces seuils sont quasi-systématiquement dépassés pour les deux sites aval, notamment pour les ETM, les HAP et les PCB.

Conformément aux recommandations des auteurs, une évaluation globale de la qualité des sédiments peut être proposée en calculant, pour chaque contaminant, le « rapport PEC » correspondant (qPEC = concentration mesurée / valeur PEC) et en moyennant l'ensemble des qPEC obtenus pour chaque échantillon de sédiment. Une valeur qPEC moyenne supérieure à un seuil de 0,5 qualifie alors un sédiment de « toxique » (MacDonald *et al.*, 2000). En se référant aux valeurs qPEC moyens calculés, on constate que les échantillons de sédiment prélevés sur le site de Marnay ne présentent *a priori* pas de risque toxique notable (qPEC < 0,5 pour tous les échantillonnages). En revanche, tous les échantillons provenant des deux sites aval se situent au niveau du seuil de 0,5 ou au-delà, signalant un risque toxique non-négligeable de l'ensemble des sédiments prélevés, et tout particulièrement ceux de la campagne C1, dont les qPEC moyens sont largement supérieurs à 2.

N.B. : Par la suite, certaines réponses biologiques sont mises en regard avec les concentrations en ETM dans les sédiments pour une sélection de 11 éléments parmi les 26 analysés, également suivis dans la colonne d'eau et les matrices biologiques, comprenant As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Co, Mn, Ag et Sb.

Tableau 3.6 : Comparaison des concentrations en ETM et micropolluants organiques, mesurées dans les sédiments au cours des campagnes de 2011-2012 sur les trois sites de l'axe Seine, aux concentrations TEC et PEC établies par MacDonald et al. (2000). La couleur de chaque case représente une concentration mesurée : <TEC (en vert), comprise entre la TEC et PEC (en jaune), ou >PEC (en rose). Une valeur de qPEC moyen > au seuil de 0,5 est indiquée en rouge (voir le texte pour les détails de calcul)

		MARNAY			BOUGIVAL			TRIEL		
		C1	C3	C4	C1	C3	C4	C1	C3	C4
ETM (µg/g ps)	As	Green	Green	Green	Green	Yellow	Green	Yellow	Yellow	Yellow
	Cd	Green	Green	Green	Pink	Pink	Yellow	Pink	Pink	Pink
	Cr	Green	Green	Yellow	Yellow	Pink	Yellow	Pink	Pink	Pink
	Cu	Green	Green	Green	Pink	Pink	Yellow	Pink	Pink	Pink
	Pb	Green	Green	Green	Pink	Pink	Yellow	Pink	Pink	Pink
	Ni	Green	Green	Green	Yellow	Pink	Yellow	Yellow	Yellow	Pink
	Zn	Green	Green	Green	Pink	Pink	Yellow	Pink	Pink	Pink
HAP (ng/g ps)	Anthracene	Yellow	Green	Green	Yellow	Pink	Yellow	Pink	Pink	Yellow
	Fluorene	Yellow	Green	Green	Yellow	Pink	Yellow	Pink	Pink	Green
	Naphthalene	Green	Green	Green	Yellow	Pink	Green	Yellow	Pink	Green
	Phenanthrene	Yellow	Green	Green	Yellow	Pink	Yellow	Pink	Pink	Yellow
	Benz[a]anthracene	Yellow	Green	Green	Pink	Pink	Yellow	Pink	Pink	Yellow
	Benzo(a)pyrene	Yellow	Green	Green	Pink	Pink	Yellow	Pink	Pink	Yellow
	Chrysene	Yellow	Green	Green	Pink	Pink	Yellow	Pink	Pink	Yellow
	Dibenz[a,h]anthracene	Yellow	Green	Green	Pink	Pink	Yellow	Pink	Pink	Yellow
	Fluoranthene	Yellow	Green	Green	Yellow	Pink	Yellow	Pink	Pink	Yellow
	Pyrene	Yellow	Green	Green	Pink	Pink	Pink	Pink	Pink	Yellow
	ΣHAP	Yellow	Green	Green	Pink	Pink	Yellow	Pink	Pink	Yellow
ΣPCB	Green	Green	Green	Yellow	Pink	Yellow	Yellow	Pink	Yellow	
OCP (ng/g ps)	Chlordane	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
	ΣDDD	Green	Green	Green	Yellow	Pink	Yellow	Yellow	Pink	Green
	ΣDDE	Yellow	Green	Green	Pink	Pink	Yellow	Pink	Pink	Yellow
	ΣDDT	Green	Green	Green	Yellow	Green	Green	Yellow	Green	Green
	ΣDDTs	Yellow	Green	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
	Heptachlore époxide	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
	Lindane	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
qPEC moyen	0,3	0,1	0,1	0,8	2,9	0,5	1,5	9,7	1,9	

4 Métrologie de la contamination à l'aide du biote

4.1 Bioaccumulation chez le gammare

Contacts particuliers : J. D. Lebrun (jeremie.lebrun@irstea.fr) – *Bioaccumulation en éléments traces métalliques*

P. Labadie (pierre.labadie@u-bordeaux.fr) – *Bioaccumulation en micropolluants organiques*

Afin de conforter l'intérêt et la robustesse de l'utilisation des gammares en tant qu'outils de biosurveillance pour évaluer la qualité de l'eau, nous nous sommes proposés au cours de cette phase 6 du PIREN-Seine : (i) d'évaluer l'influence des saisons sur le processus de bioaccumulation ; (ii) de déterminer s'il existait une réactivité différente entre espèces proches de gammares vis-à-vis de la contamination métallique.

4.1.1 Matériel et méthodes

Deux espèces de gammares phylogénétiquement très proches ont été utilisées : *Gammarus pulex* (originaire du bassin de la Seine) et *Gammarus fossarum* (originaire du bassin du Rhône). Ces deux espèces sont issues de populations contrôlées suivies depuis plusieurs années par les équipes d'Ecotoxicologie de l'Irstea d'Antony et de Lyon.

Les gammares ont été calibrés par la taille (~1 cm) et transplantés sur les sites ateliers de l'axe Seine (Marnay, Bougival et Triel) au cours des 4 saisons précédemment décrites (voir parties 3.1.1 et 3.1.2). La transplantation a été réalisée à l'aide de cages et en présence de nourriture (feuilles d'Aulne), selon une méthode standardisée (Besse *et al.*, 2013). Après une semaine d'exposition, les gammares engagés *in situ* sont ramenés au laboratoire. Les organismes sont ensuite minéralisés par pools (N = 3) de 5 individus et analysés par ICP-MS pour déterminer les teneurs en ETM accumulées dans leurs tissus, *i.e.* Ag, Cd, Co, Cu, Mn, Pb et Zn selon la méthode décrite par Lebrun *et al.* (2014 ; 2015).

Dans le cas des POPs hydrophobes, les méthodes mises en œuvre sont similaires à celles employées pour les échantillons de sédiment (voir partie 3.2.3.1.1).

4.1.2 Principaux résultats et discussion

Bioaccumulation en ETM

Dans le cas du Cd, aucune différence de contamination entre les gammares exposés en amont ou en aval de Paris n'a été observée. Cela peut s'expliquer par des niveaux d'expositions trop faibles.

Dans le cas des autres ETM (Ag, Co, Mn, Pb, Cu, Zn), des augmentations significatives des teneurs bioaccumulées ont été observés sur les sites en aval de Paris (Bougival et Triel) par rapport au site de référence en amont de Paris (Marnay), quelle que soit la saison. Il est à noter que les niveaux de contamination des gammares suivent étroitement le gradient de contamination amont-aval observé sur l'axe Seine et que les différences de bioaccumulation sont plus marquées en périodes chaudes (Automne 2011 et Été 2012) qu'en périodes froides (Printemps 2012 et Hiver 2012). Par ailleurs, les profils de contamination des gammares sont identiques pour les deux espèces de gammares, suggérant une généricité de la réponse des gammares en termes de bioaccumulation (illustration avec le cas du Pb sur la **Figure 3.24**).

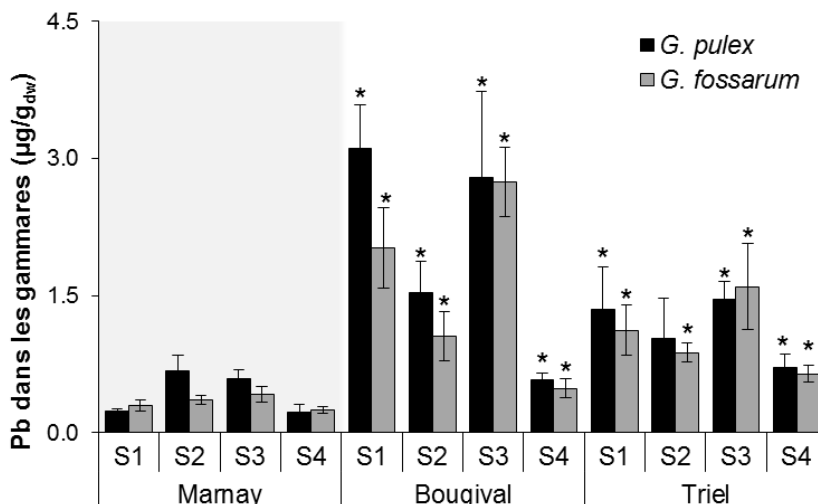


Figure 3.1 : Bioaccumulation du Pb chez *Gammarus pulex* et *Gammarus fossarum* encagés une semaine sur l'axe Seine au cours de différentes saisons (S1, Automne 2011 ; S2, Printemps 2012 ; S3, Été 2012 ; S4, Hiver 2012). Les histogrammes sont les moyennes de 3 pools de 5 gammarus +/- écart-type. Le signe * indique une valeur de $p < 0,05$ selon le test Mann-Whitney par comparaison avec le site de référence Marnay

Les analyses statistiques ont montré que la bioaccumulation de l'Ag, Co, Pb, Cu, Mn et Zn chez les gammarus était significativement corrélée à la contamination de l'eau, et plus particulièrement à la concentration en ETM totaux plutôt qu'à celles en ETM dissous ou labiles (DGT).

Les analyses de covariance ANCOVA ont montré que la contamination du milieu (ETM totaux) est le principal facteur expliquant la variabilité de la bioaccumulation parmi différents facteurs susceptibles d'influencer le processus de bioaccumulation tels que la saison ou le site (**Tableau 3.7**), à l'exception du Cu et du Ni. Ces résultats confirment que les gammarus sont sensibles aux faibles variations temporelles de la contamination des milieux, ce qui est en faveur de leur utilisation en tant qu'indicateurs de pression métallique.

Tableau 3.1 : Effets de la contamination, de la saison et de la localisation du site sur la bioaccumulation des métaux par analyse ANCOVA. Les valeurs significatives sont indiquées par le signe (*) ($p < 0,05$)

		Facteurs explicatifs de la variabilité (%)			
		Niveau d'exposition	Saison	Site	Variabilité résiduelle
Ag	<i>G. pulex</i>	82,3*	11,1	4,5	2,1
	<i>G. fossarum</i>	71,9*	11,5	11,0	5,6
Pb	<i>G. pulex</i>	89,5*	5,0	1,3	4,2
	<i>G. fossarum</i>	81,5*	10,9	0,8	6,8
Co	<i>G. pulex</i>	76,4*	17,3*	3,6	2,7
	<i>G. fossarum</i>	53,8*	24,3*	12,5	9,5
Mn	<i>G. pulex</i>	55,0*	23,4*	8,5	13,2
	<i>G. fossarum</i>	60,4*	20,9	0,5	18,3
Zn	<i>G. pulex</i>	43,4*	38,4*	4,4	13,8
	<i>G. fossarum</i>	45,2*	33,6	4,2	17,0
Cu	<i>G. pulex</i>	35,1*	56,4*	0,5	8,0
	<i>G. fossarum</i>	35,2*	51,4*	0,4	13,1
Ni	<i>G. pulex</i>	7,2	63,8*	14,6	14,5
	<i>G. fossarum</i>	20,9	63,0*	10,5	5,6

Contrairement au Pb et Ag, la saison apparait pour influencer significativement la bioaccumulation des éléments essentiels : Co, Cu, Mn, Ni et Zn (**Tableau 3.7**). Cela peut s'expliquer par le fait que ces éléments sont indispensables aux fonctions biologiques des organismes (fonctions métaboliques, activités enzymatiques, osmorégulation, respiration...), dont les besoins peuvent varier avec les conditions environnementales et climatiques (Lebrun *et al.*, 2015). Par ailleurs, les amphipodes sont connus pour avoir une activité métabolique diminuée pendant les périodes hivernales ce qui peut influencer les mécanismes physiologiques impliqués dans la régulation et la bioaccumulation des éléments essentiels (Fialkowski *et al.*, 2003).

Bioaccumulation en micropolluants organiques

Les quatre familles de micropolluants organiques hydrophobes ciblées (PCB, OCP, HAP et PBDE) ont systématiquement été détectées chez les gammarus exposés *in situ*, ce qui traduit la présence d'une fraction biodisponible dans la colonne d'eau, puisque seule l'exposition via la voie directe (dissoute) est possible dans les conditions d'exposition retenues (**Figure 3.25**). Globalement, pour tous les contaminants, les niveaux les plus faibles sont observés pour le site référence de Marnay. L'amplitude du gradient amont/aval est cependant moins importante que pour le sédiment (facteur 4-5), vraisemblablement en lien avec le gradient observé dans la colonne d'eau (non renseigné).

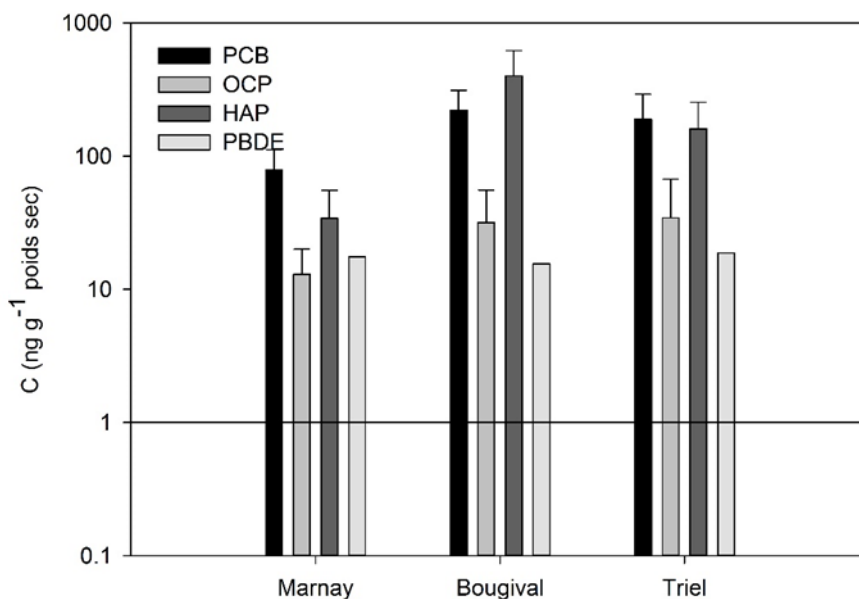


Figure 3.2. Niveaux de POPs hydrophobes chez les gammares engagés dans la Seine (total par famille) au cours des campagnes de 2011-2012. Les valeurs représentées sont les moyennes \pm écart-type (N =3)

Des travaux antérieurs ont permis de définir des valeurs seuils de contamination, au-dessus desquelles une teneur mesurée dans les organismes exposés peut être interprétée comme une contamination significative, c'est-à-dire supérieure au niveau de fond mesuré sur des sites de « référence » dans la région de prélèvement des gammares (Rhône-Alpes) utilisés pour l'engagement (Besse *et al.*, 2013). Un dépassement de la valeur seuil pour un composé indique ainsi un apport de contamination biodisponible pour les gammares au niveau du site étudié.

Pour les deux stations aval, on observe un dépassement quasi-systématique des valeurs seuils, pour l'ensemble des familles étudiées. Dans le cas des PCB et de la plupart des HAP, les niveaux observés dépassent très largement les valeurs seuils. Sur le site de Marnay, la fréquence de dépassement apparaît plus faible qu'à Bougival ou Triel. Néanmoins, les valeurs seuils sont régulièrement dépassées sur ce site, principalement pour les PCB et les OCP (2,4'-DDE et 4,4'-DDE) ; ceci confirme que ce site, pertinent comme référence amont de l'agglomération parisienne, s'avère néanmoins être un site relativement contaminé. Le **Tableau 3.8** illustre cette démarche pour les PCB ; des résultats détaillés pour les autres familles ont fait l'objet d'un rapport antérieur (Labadie *et al.*, 2013).

Tableau 3.2 : Comparaison entre niveaux de PCB chez *Gammarus sp.* et valeurs seuils ; le fond orange indique un dépassement de la valeur seuil

Bioaccumulation en PCB (ng/g poids sec)										
	Valeur seuil	Marnay			Bougival			Triel		
	(ng/g ps)	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
CB 50+28	3,5	5	3	3	22	17	16	17	9	8
CB 52	4,9	12	8	10	41	20	23	30	13	15
CB 101	5,8	11	8	20	47	24	42	36	17	30
CB 118	5,5	9	11	24	39	22	37	27	18	30
CB 153	8,3	14	11	28	54	22	47	53	20	38
CB 138	11,5	11	9	26	50	19	45	50	18	36
CB 180	3,3	2	2	4	12	5	11	13	5	9

On notera enfin que les résultats se sont avérés inexploitable pour les PFAS en raison d'un niveau de contamination initial trop important pour la population de gammars utilisée pour la transplantation.

4.2 Bioaccumulation au sein du biofilm péryphytique

Contacts particuliers : L. Fechner (lise.fechner@irstea.fr) – *Bioaccumulation en ETM*

P. Labadie (pierre.labadie@u-bordeaux.fr) – *Bioaccumulation en micropolluants organiques*

Le transfert de micropolluants d'intérêt vers le compartiment biotique a également été investigué au niveau des communautés avec des mesures de bioaccumulation au sein du biofilm. En effet les biofilms de rivière (ou périphyton) sont des assemblages complexes naturels de communautés de micro-organismes hétérotrophes et autotrophes (algues, bactéries, champignons, etc.) inclus au sein d'une matrice d'exopolysaccharides bactériens et se développant au contact d'une surface immergée (Hodoki, 2005). Plusieurs études ont préalablement démontré que ces biofilms de rivière peuvent accumuler différents contaminants (Schorer et Eisele, 1997), et notamment les métaux (par ex. Morin *et al.*, 2008 ; Tien et Chen, 2013). De plus, étant donné que ces biofilms représentent une source de nourriture pour des organismes aquatiques de niveaux trophiques supérieurs, ils représentent un outil prometteur et pertinent pour l'évaluation de l'importance de la contamination *in situ* (Ancion *et al.*, 2013).

4.2.1 Matériel et méthodes

Les biofilms se sont développés *in situ* sur des membranes plastiques immergées sur les trois sites de la Seine, le long du gradient de pollution urbaine. A chacune des quatre saisons, les biofilms ont été collectés après une période de colonisation d'environ 4 semaines. Après avoir réalisé une digestion acide des échantillons de biofilms, les concentrations en ETM (totaux et non-échangeables ; Cd, Cr, Co, Cu, Mn, Ni, Pb et Zn) bioaccumulés dans les biofilms ont été mesurées en ICP/MS.

Dans le cas des micropolluants organiques, la méthode mise en œuvre est similaire à celle employée pour les échantillons de sédiment).

4.2.2 Principaux résultats et discussion

Bioaccumulation en ETM

L'analyse des mesures réalisées montre que les concentrations en ETM bioaccumulés dans les biofilms reflètent l'augmentation de l'exposition multi-métallique le long du gradient d'urbanisation. Par ailleurs, ces concentrations étaient fortement corrélées avec les teneurs en carbone organique dissous (COD) et particulaire (COP), et avec le niveau de contamination en ETM totaux de la colonne d'eau (**Tableau 3.9**), ce qui rappelle l'influence importante des paramètres environnementaux sur les processus d'absorption des ETM dans les biofilms de rivière. Ainsi, les biofilms naturels de rivière permettent de caractériser la qualité de l'eau en intégrant dans le temps les variations d'une contamination métallique diffuse.

Tableau 3.3 : Coefficients de corrélation entre les concentrations en ETM bioaccumulés dans les biofilms et les concentrations en ETM (totaux, dissous, DGT-labiles) et en carbone organique (dissous et particulaire) dans la colonne d'eau (Test de corrélation de Spearman ; seules les données statistiquement significatives sont indiquées – $p < 0,05$)

	Concentrations en ETM dans la colonne d'eau			Concentration en carbone organique dans la colonne d'eau			
	Total	Dissous	DGT-labile	Dissous	Particulaire		
Concentrations en ETM dans les biofilms	Total	Cd	0,64			0,83	
		Co	0,69	0,69	0,85	0,80	0,62
		Cu	0,79	0,78	0,82		0,80
		Mn	0,78	0,65	0,64	0,73	
		Ni				0,67	0,78
		Pb	0,80				0,85
		Zn	0,81	0,66		0,64	0,82
	Non-échangeable	Cd					0,78
		Co	0,60	0,64	0,86	0,89	
		Cu	0,80	0,75	0,85		0,72
		Mn	0,77	0,74	0,72	0,83	
		Ni				0,76	0,71
		Pb	0,73	0,59		0,64	0,75
		Zn	0,73	0,60		0,70	0,78

Par ailleurs, l'analyse en composantes principales (ACP) des données a permis de distinguer clairement les échantillons collectés en amont de Paris de ceux collectés en aval, la première composante principale était ainsi fortement expliquée par le gradient métallique (**Figure 3.26**). Les échantillons collectés en hiver étaient aussi clairement différents des échantillons collectés aux autres saisons, cette différence est expliquée suivant la seconde composante principale définie par la température et les concentrations en MES de l'eau (**Figure 3.26**).

Cette étude montre que l'exposition chronique *in situ* à des concentrations environnementales en ETM a un impact significatif sur les biofilms de rivière. La bioaccumulation en ETM dans les biofilms est un bon miroir des niveaux d'exposition métallique bien que ces derniers restent globalement faibles en comparaison des normes de qualité environnementale de la Directive Cadre sur l'Eau.

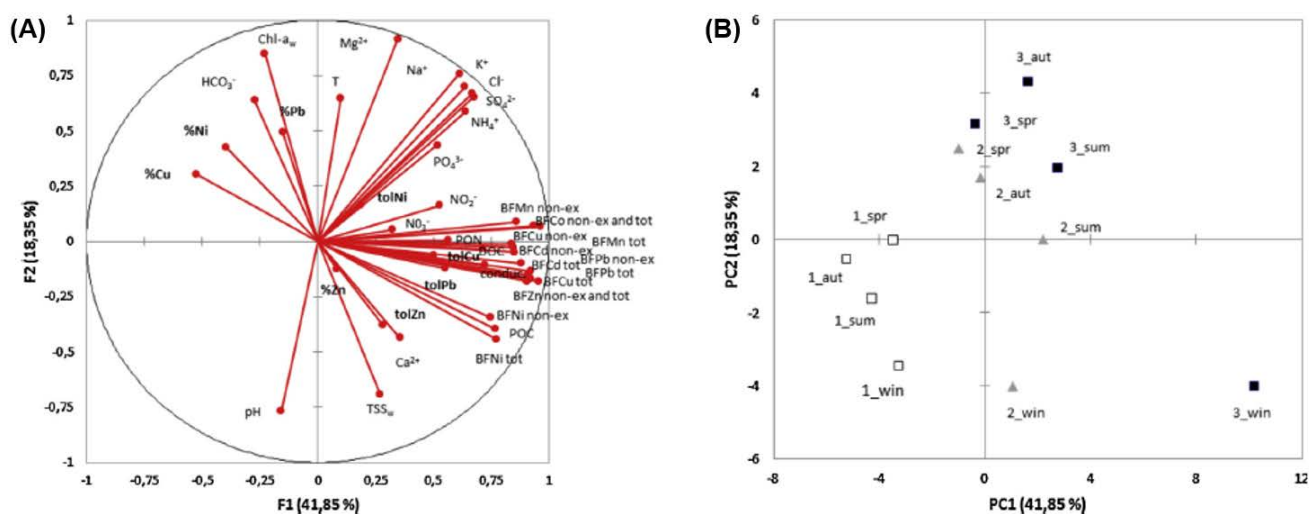


Figure 3.3 : Analyse en composantes principales : (A), carte factorielle - contribution des variables aux deux premiers facteurs ; (B), contribution des individus aux deux premiers facteurs, réalisée à partir des niveaux de tolérance des biofilms, le pourcentage d'inhibition et les niveaux de bioaccumulation en ETM (totaux et non-échangeables) ainsi que les paramètres physico-chimiques de l'eau de la rivière. Dans la figure (A), les paramètres des biofilms sont identifiés par 'tol' pour niveaux de tolérance, suivi par le métal Ni, Pb, Cu ou Zn, et '%' pour le % d'inhibition maximal, suivi par le métal). Les concentrations de métaux bioaccumulés dans les biofilms sont identifiées par 'BF' (pour biofilm) suivi par le métal et 'non-ex' pour concentration non-échangeable ou 'tot' pour concentrations totales. Dans la figure (B), les échantillons sont identifiés par le numéro du site suivi par la saison d'échantillonnage ('aut' pour l'automne 2011, 'spr' pour le printemps 2012, 'sum' pour l'été 2012 et 'win' pour l'hiver 2012). Echantillons des sites 1 (Marnay), 2 (Bougival) et 3 (Triel) sont représentés respectivement par □, ▲ and ■.

Bioaccumulation en micropolluants organiques

Les niveaux de contamination du biofilm périphytique par les PFAS sont compris entre 8 et 25 ng g⁻¹ ps et augmentent de l'amont à l'aval (**Figure 3.27**). L'amplitude du gradient est cependant moindre que pour la colonne d'eau : les niveaux observés à Triel sont significativement supérieurs à ceux observés à Marnay ($p < 0,05$) mais aucune différence significative n'est observée entre les deux sites aval.

Les niveaux totaux déterminés dans le périphyton sont de 5 à 60 fois supérieures à ceux observés dans le sédiment, lorsque les valeurs sont exprimées en ng g^{-1} ps, tandis que ce rapport varie de 5 à 9 sur la base de concentrations normalisées par rapport au taux de carbone organique. Ceci reflète probablement l'adsorption des PFAS sur les microorganismes et la matrice d'exopolymère constitutifs du périphyton mais aussi leur accumulation intracellulaire (Fechner, 2010). Les niveaux observés dans ce modèle biologique situé à la base du réseau trophique fluvial sont donc relativement élevés par rapport au milieu environnant, ce qui est susceptible d'avoir des implications en termes de voies d'exposition de la biocénose et de transfert vers le réseau trophique (ex : consommation de litière colonisée par du biofilm ou consommation directe du biofilm par broutage (mollusques ou poissons).

Le profil moléculaire des PFAS dans le biofilm est largement dominé par l'isomère linéaire du PFOS avec également une contribution des acides carboxyliques à longue chaîne. Ce profil résulte à la fois des niveaux observés dans la colonne d'eau et du potentiel de bioaccumulation de chaque composé au sein de cette famille.

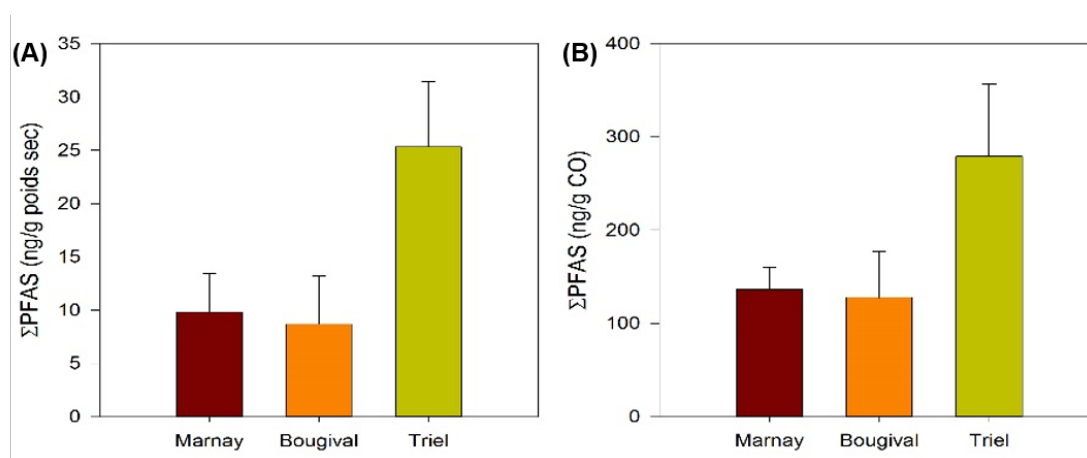


Figure 3.4 : Niveaux totaux de PFAS dans le périphyton collecté sur l'axe fluvial de la Seine, exprimés en ng g^{-1} poids sec (A) et ng g^{-1} carbone organique (B). Les valeurs représentées sont les moyennes \pm écart-type ($N = 4$)

La relation entre les niveaux de contamination de la colonne d'eau et celle du périphyton a été quantifiée grâce au calcul du facteur de bioconcentration (BCF), défini par l'équation suivante :

$$BCF (\text{L/kg}) = \frac{C_{\text{biofilm}} (\text{ng/kg})}{C_{\text{eau}} (\text{ng/L})}$$

où C_{biofilm} est la teneur déterminée dans le biofilm et exprimée en ng kg^{-1} ps et où C_{eau} est la concentration dissoute moyenne exprimée en ng L^{-1} . Les résultats obtenus pour les quatre composés systématiquement détectés à la fois dans la colonne d'eau et dans le biofilm périphytique sont présentés dans le **Tableau 3.10**.

Pour tous les composés, les valeurs de BCF déterminées sur le site de Marnay sont significativement supérieures à celles observées sur les sites de Bougival et de Triel ($p < 0,05$), tandis qu'aucune différence n'est observée entre Bougival et Triel. Le BCF le plus élevé est observé pour le PFOS, tandis que les autres composés présentent des Log BCF inférieurs à 3 (*i.e.* considérés comme peu bioaccumulables d'un point de vue réglementaire).

Tableau 3.4 : Facteurs de bioconcentration déterminés pour le périphyton

Log BCF _{biofilm}	PFOA	PFNA	PFDA	PFHxS	PFUnDA	L-PFOS	6:2 FTSA
Marnay	2,9 ± 0,1	4,0	3,6 ± 0,6	2,0 ± 0,2	–	3,8 ± 0,1	3,6
Bougival	2,3 ± 0,1	3,5 ± 0,4	3,0 ± 0,6	1,4 ± 0,2	–	3,1 ± 0,2	1,5 ± 0,5
Triel	2,3 ± 0,1	3,6 ± 0,6	3,2 ± 0,1	1,6 ± 0,1	3,9	3,2 ± 0,1	1,4 ± 0,2

Une analyse en composantes principales a permis de mettre en évidence la corrélation négative entre BCF et concentration en PFOS dans la phase dissoute (**Figure 3.28**). Cette observation serait cohérente avec le modèle conceptuel développé par Liu *et al.* (2011) décrivant la bioaccumulation des PFAS par un modèle d’adsorption (ou d’interaction PFAS-protéines).

La valeur du BCF semble liée, dans une moindre mesure, au rapport C/N organique du biofilm, suggérant par exemple que la structure de la communauté de microorganismes constitutifs du biofilm (rapport algues/bactéries) puisse constituer un autre déterminant de l’accumulation des PFAS dans le biofilm. Le taux de carbone et d’azote organique semblent négativement corrélés avec le BCF alors que le taux de carbone de carbone organique est un facteur de contrôle de l’accumulation des PFAS dans les sédiments (Munoz *et al.*, 2015).

Ces résultats préliminaires soulignent le potentiel d’accumulation des PFAS dans le biofilm mais mettent également en avant le manque actuel de connaissances sur les mécanismes régissant cette accumulation et la nécessité d’approfondir les processus mis en jeu et leurs facteurs de contrôle.

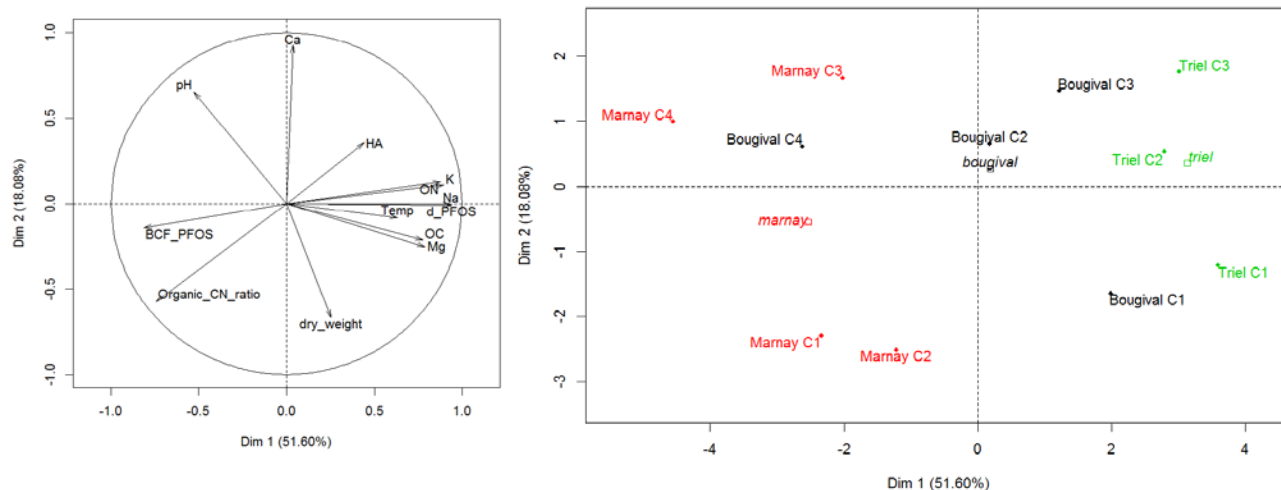


Figure 3.5 : Analyse en composantes principales de l’accumulation du PFOS dans le biofilm périphytique. Abréviations : HA, activité hétérotrophe ; Organic.CN.ratio, rapport C/N organique du biofilm ; OC, teneur en carbone organique du biofilm ; ON, teneur en azote organique du biofilm ; Ca, Ca²⁺ dissous ; Mg, Mg²⁺ dissous ; Na, Na⁺ dissous ; K, K⁺ dissous ; d_PFOS, PFOS dissous ; “C1–4”, campagnes 1 à 4.

Les micropolluants organiques hydrophobes recherchés se sont également avérés ubiquistes dans le biofilm (**Figure 3.29**) à des niveaux très variables (8–6500 ng g⁻¹ ps) reflétant le gradient de contamination amont/aval.

On notera que, contrairement à ce qui est observé pour les composés organochlorés, les niveaux de HAP dans le biofilm sont supérieurs à ceux observés dans les gammares, probablement en raison d'une métabolisation accrue chez ces derniers (Richter et Nagel, 2007).

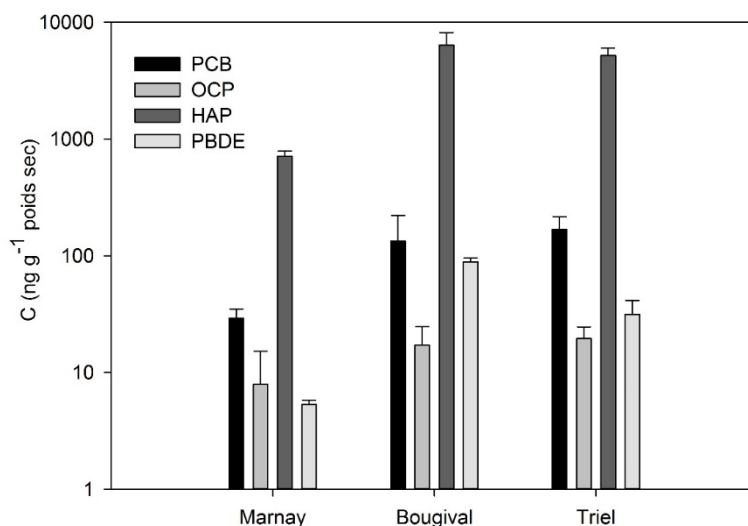


Figure 3.6. Niveaux de POPs hydrophobes dans le biofilm récupéré en Seine (total par famille). Les valeurs représentées sont les moyennes \pm écart-type (N = 4)

4.3 Conclusion

En ce qui concerne les gammares, les profils de contamination en ETM des deux espèces ciblées sont identiques au cours des saisons, et sont étroitement liés au gradient de contamination. Les analyses statistiques indiquent que la bioaccumulation de l'Ag, Co, Pb, Cu, Mn et Zn chez les gammares est significativement corrélée à la contamination de l'eau, et plus particulièrement à la concentration en ETM totaux. Enfin, la saison d'exposition influence significativement la bioaccumulation des éléments essentiels : Co, Cu, Mn, Ni et Zn. Cette série de campagnes conforte donc l'hypothèse que des populations de gammares d'origines géographiques différentes ont la même réactivité pour les métaux et que leur utilisation devrait fournir une mesure fiable de la biodisponibilité des métaux dans les eaux douces. De manière similaire, les niveaux de contamination observés pour les POPs hydrophobes traduisent également le gradient de contamination amont/aval, avec un dépassement quasi-systématique des valeurs de référence établies précédemment (niveaux de fond en région Rhône-Alpes).

Les niveaux de contamination du périphyton du biofilm reflètent également ce gradient et l'utilisation de ce modèle biologique pour l'estimation de la concentration dissoute des micropolluants apparaît également envisageable. Néanmoins, il s'avère encore nécessaire de mieux comprendre les déterminants de l'accumulation des micropolluants dans ce compartiment biologique, bien que certaines pistes aient pu être suggérées, grâce à l'étude de l'accumulation en PFAS, notamment en lien avec les niveaux de contamination dans le compartiment dissous et les caractéristiques intrinsèques du biofilm.

5 Réponses biologiques face à la contamination de l'axe Seine

5.1 Evaluation de la toxicité du milieu à l'aide de bio-essais en conditions contrôlées

Contacts particuliers : L. Oziol (lucie.oziol@u-psud.fr) – *Tests de perturbations endocriniennes*

J. Cachot (j.cachot@epoc.u-bordeaux1.fr) – *Tests MELA, Microtox[®] et SOS Chromotest[®]*

La qualité des milieux aquatiques peut être évaluée via diverses approches : analytique, bioanalytique ou écotoxicologique ; lesquelles peuvent être combinées pour évaluer le lien entre contamination du milieu et son impact toxique. L'approche bio-analytique met en œuvre des bio-essais *in vitro* de mesures d'effets biologiques. L'évaluation de la qualité chimique du milieu est alors basée soit sur des tests de toxicité globale (cytotoxicité, toxicité aiguë, etc.) soit sur des tests de toxicité spécifiques d'un mode d'action (génotoxicité, perturbations endocriniennes, etc.). Dans cette approche, les résultats acquis au cours de la précédente phase du PIREN Seine ont montré la toxicité potentielle de certains compartiments en Seine à l'aval de Paris, mais en se focalisant essentiellement sur le potentiel perturbateur endocrinien de la contamination de la colonne d'eau (Miège *et al.*, 2009 ; Oziol *et al.*, 2009 ; Gaspéri *et al.*, 2010). Ces travaux ont donc été poursuivis au cours de la phase 6 du programme PIREN-Seine en évaluant le potentiel toxique de l'axe Seine en aval (sites de Bougival et Triel) et en amont (site de Marnay) de Paris, en considérant cette fois diverses matrices du compartiment aquatique (colonne d'eau et sédiment), ainsi qu'un large éventail de bio-essais de façon à accroître la gamme de toxiques détectés. Le cas échéant, les données obtenues ont été croisées avec les niveaux de contamination de ces matrices prélevées sur ces mêmes sites.

5.1.1 Toxicité de la colonne d'eau

Le suivi des concentrations en micropolluants organiques et métalliques dans la colonne d'eau de l'axe Seine, au cours des présents travaux, a mis en évidence la présence (i) d'un gradient de contamination amont-aval marqué, et (ii) d'une fraction biodisponible de ces contaminants puisque accumulés au sein d'organismes représentatifs des premiers niveaux du réseau trophique aquatique (gammare et biofilms). Dans cette partie, nous proposons donc une évaluation de la toxicité de la colonne d'eau chez des modèles biologiques exposés en conditions contrôlées en laboratoire. Cette évaluation de la toxicité (ou du potentiel toxique) des échantillons, prélevés sur les 3 stations pilotes de l'axe Seine au cours de 3 campagnes (Sept. 2011, Juil. et Déc. 2012), est articulée autour de deux grands aspects, correspondant à deux types de bio-essais :

- le potentiel perturbateur endocrinien de la fraction organique de la colonne d'eau, évalué à l'aide de tests *in vitro* de mesure de perturbations estrogéniques, androgéniques ou thyroïdiennes sur lignées cellulaires transfectées.
- la toxicité des fractions dissoute et particulaire de la colonne d'eau chez les stades précoces de développement d'un poisson modèle, étudiée par l'application du test embryo-larvaire médaka (MELA).

Matériel et méthodes

Tests in vitro de perturbations endocriniennes

Le potentiel perturbateur endocrinien (PE) de la colonne d'eau a été évalué sur les 3 campagnes "Axe Seine" conduites en septembre 2011, juillet 2012 et décembre 2012. Pour chaque campagne, 1 L d'eau de surface a été prélevé sur les sites de Marnay, Bougival et Triel. Après leur échantillonnage dans des récipients en verre ambré, les eaux ont été rapidement filtrées sur fibre de verre de porosité moyenne 1 µm (Filtres GF/B Whatman, France). Une large gamme de contaminants organiques a été extraite et concentrée à partir de la matrice aqueuse par extraction sur phase solide Oasis HLB 500 mg (Waters, Guyancourt, France). Les

extraits méthanoliques obtenus ont été évaporés sous flux d'azote et concentrés dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), un solvant compatible avec les bio-essais cellulaires. Dans l'extrait final, les polluants organiques se retrouvent ainsi concentrés 10 000 fois (10 000 x) par rapport à leur teneur dans l'échantillon avant extraction (1 x). Des témoins d'extraction en phase solide (blancs) ont été réalisés en parallèle avec 1 L d'eau d'Evian en bouteille de verre suivant la même procédure que précédemment décrite.

Les potentiels perturbateur estrogénique, thyroïdien et androgénique des extraits d'eau ont été évalués *in vitro* sur des bio-essais cellulaires de mesure de l'activité transcriptionnelle des récepteurs nucléaires hormono-dépendants, les hormones endocriniennes engendrant la majorité de leurs effets par la voie génomique. Trois bio-essais basés sur des cellules transfectées avec un gène rapporteur à la luciférase ont ainsi été utilisés : les tests MELN (Balaguer *et al.*, 1999), PC-DR-LUC (Jugan *et al.*, 2007) et MDA-kb2 (Wilson *et al.*, 2002), permettant de détecter respectivement les perturbations de l'activité transcriptionnelle du récepteur aux estrogènes ER α dépendant du 17 β -estradiol (E2), du récepteur aux hormones thyroïdiennes TR α 1 dépendant de la triiodothyronine (T3) et du récepteur aux androgènes AR dépendant de la dihydrotestostérone (DHT).

Les cellules ont été exposées pendant 20 h aux extraits d'eau dilués au moins au 1/1 000^{ème} en absence ou en présence du ligand hormonal (E2, T3 ou DHT) de chaque récepteur nucléaire pour mesurer respectivement les activités agonistes et hormono-compétitives des extraits d'eau. Les expériences ont été réalisées en plaques 96 puits selon des conditions de culture décrites par Jugan *et al.* (2009) et Wilson *et al.* (2002).

A la fin de l'expérience, l'activité transcriptionnelle a été mesurée : elle est proportionnelle à la luminescence émise par l'activité de la luciférase synthétisée sur un substrat luciférine (Jugan *et al.*, 2009). En parallèle, sur les mêmes puits d'expérience que pour la mesure de luciférase, la viabilité cellulaire a été évaluée par fluorescence par le test au Bleu Alamar (test à la résazurine) pour s'assurer de l'absence de toxicité de chaque condition testée.

Chaque extrait a été analysé, à raison de 4 à 5 points de répétition de mesure par expérience et de 2 à 3 répétitions d'expériences en moyenne, et ce parallèlement à une gamme d'étalonnage du ligand hormonal de chaque récepteur (E2, T3 ou DHT) ou de l'antagoniste du récepteur AR, la flutamide (Flut), pour les mesures d'activité anti-androgénique. Un témoin négatif a été réalisé sur chaque plaque de culture ; il correspond au solvant DMSO à 0,1 % dans le milieu de culture.

L'activité luciférase a été exprimée en *Relative Luminescence Unit* (RLU) ou activité luciférase relative, correspondant au signal luminescent obtenu pour une condition donnée rapporté à celui du témoin négatif. L'activité luciférase relative a ensuite été corrigée de la viabilité relative ou *Relative Fluorescence Unit* (RFU), exprimant les résultats en RLU/RFU afin d'être dans les mêmes conditions d'exploitation de données issues de la phase 5 du PIREN Seine (voir paragraphe *Potentiel perturbateur endocrinien des extraits organiques de la colonne d'eau* de la partie 3.4.1.1.2).

Les paramètres de la régression de Hill de la sigmoïde obtenue pour chaque gamme (logiciel Graphpad Prism 5, San Diego, USA) ont permis de réaliser une évaluation quantitative de l'activité luciférase des extraits, exprimée en quantité d'équivalents (éq.) hormone ramenée au litre d'échantillon avant extraction. Toute valeur RLU/RFU non significativement différente (test *t* de Student) de celle du témoin négatif (égale à 1) est considérée comme inférieure à la limite de détection (LD). Les limites de quantification (LQ) des bio-essais cellulaires (correspondant à la valeur du « bottom » des gammes + un écart-type) sont en moyenne de : 0,03 \pm 0,01 pg E2, 55,17 \pm 14,38 pg T3, and 66,01 \pm 24,45 ng Flut par litre de milieu de culture, respectivement pour les effets estrogéniques sur MELN, thyroïdiens sur PC-DR-LUC et anti-androgéniques sur MDA-kb2. Toute activité d'extrait non significativement différente (test *t* de Student) de celle de son blanc d'extraction est notée « ns ».

Le test embryo-larvaire médaka (MELA)

Le test embryo-larvaire médaka (MELA) a été utilisé pour la première fois par Helmstetter et Alden (1995). Il permet de mesurer la toxicité de polluants hydrosolubles ou d'échantillons d'eau. Dans notre cas précis, ce test a été utilisé pour évaluer la toxicité de l'eau et des matières en suspension (MES) obtenues à partir d'échantillons collectés en Seine au cours de trois campagnes en septembre 2011 et juillet et décembre 2012

(**Figure 3.30**). Les embryons de médaka japonais, *Oryzias latipes*, ont été exposés pendant la totalité de leur développement (9 à 10 j post-fécondation à 26 °C) à l'eau filtrée (à 0,8 µm) ou aux MES retenues sur le filtre, puis les effets produits sur les embryons (survie, taux d'éclosion, durée du développement embryonnaire, activité cardiaque) et les larves à l'éclosion (survie, malformations, taille des larves à l'éclosion, comportement natatoire) ont été analysés. Un groupe témoin avec des embryons exposés dans les mêmes conditions à une eau de source (Cristalline) a été ajouté à chaque série d'analyses. Chaque échantillon a été analysé en triplicat.

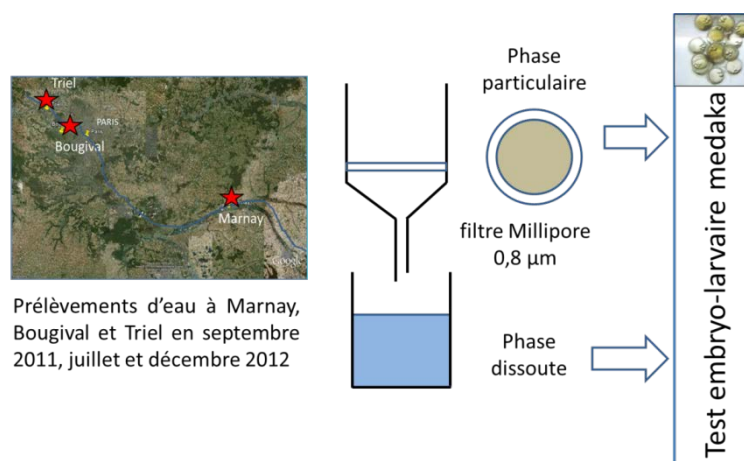


Figure 3.1 : Stratégie expérimentale mise en œuvre pour l'analyse de la toxicité des eaux de Seine avec le test embryo-larvaire medaka

Les réponses obtenues ont été intégrées dans une analyse de type IBR (Integrated Biological Response), comme décrite par Sanchez *et al.* (2013 ; IBRv2). Les marqueurs les plus robustes et pertinents d'un point de vue écologique ont été sélectionnés pour cette démarche afin de prendre en compte différents aspects-clés du développement embryo-larvaire : la survie (viabilité embryonnaire et larvaire), le processus d'éclosion (taux d'éclosion, durée du développement embryonnaire), la croissance (longueur totale des larves à l'éclosion) et la tératogénicité globale (pourcentage total de larves malformées). Lors de cette approche, la réponse de chaque marqueur X_i est rapportée à une valeur de référence X_0 (ici, correspondant aux réponses observées pour le traitement témoin *i.e.* l'eau cristalline). Après une transformation logarithmique destinée à réduire la variance et une standardisation des données, un indice de déviation A_i de chaque biomarqueur par rapport à la référence est déterminé. Enfin, la somme (en valeur absolue) des indices A_i est calculée à titre d'indicateur intégré du niveau de perturbation globale des organismes (IBR). Cet IBR peut ensuite être « normalisé » en fonction du nombre de marqueurs (IBRn) pris en compte dans la démarche afin de permettre des comparaisons entre plusieurs approches n'impliquant pas nécessairement le même nombre de réponses (Broeg et Lehtonen, 2006).

Principaux résultats et discussion

Potentiel perturbateur endocrinien des extraits organiques de la colonne d'eau

Concernant les essais sur cellules MDA-kb2, aucune activité anti-androgénique n'a été relevée pour les extraits d'eau testés. Par contre, des effets agonistes significatifs ont été observés, mais pour des niveaux de RLU trop faibles pour pouvoir distinguer la part des effets passant le récepteur AR (données non montrées). En effets, les MDA-kb2 contiennent à la fois le récepteur AR aux androgènes et le récepteur GR aux

glucocorticoïdes, et l'expression du gène de la luciférase est sous la dépendance d'un même élément de réponse commun à ces deux récepteurs (Wilson *et al.*, 2002).

Les résultats des essais sur cellules PC-DR-LUC n'ont mis en évidence aucun effet hormono-compétitif, et seul l'extrait d'eau de Triel prélevée en juillet 2012 a montré une activité thyroïdienne significative, montant à x 13,8 en RLU/RFU. Comparativement, l'activité estrogénique de ce même extrait sur cellules MELN s'élève à x 11,9, et est la plus élevée. Ces données (non montrées) suggèrent donc une forte contamination de l'eau de surface par des composés PE sur ce site en période estivale.

Dans l'étude de Jugan *et al.* (2009), des affluents de station de traitement des eaux usées (STEU) en région parisienne ont montré une activité thyromimétique significative, alors que celle-ci n'était plus quantifiable pour les effluents de STEU et pour les eaux de surface. Néanmoins, ces données suggèrent que des composés thyroïdiens sont émis par les activités humaines et pourraient sous certaines conditions (élimination incomplète dans la STEU, dépôts atmosphériques...) se retrouver dans le milieu aquatique. Au niveau international, Murata et Yamauchi (2008) ont mis en évidence une activité thyro-mimétique d'effluents de STEU au Japon.

Au cours de la phase 5 du PIREN Seine, le potentiel estrogénique des eaux de surface prélevées sur les sites de Marnay, Bougival et Triel avait déjà été évalué sur 9 campagnes, entre février et novembre 2010.

Ainsi, pour mieux mettre en évidence les variations spatio-temporelles du potentiel PE du milieu, les données des campagnes « Axe Seine » des phases 5 et 6 du PIREN Seine ont été rassemblées (**Figures 3.31** et **3.32**).

Le potentiel perturbateur estrogénique des eaux de surface de chacun des trois sites étudiés est représenté dans la **Figure 3.31**. Les valeurs box-plot sont issues de données sur 12 campagnes « Axe Seine ». Un gradient d'activité biologique marqué est observé entre l'amont (Marnay) et l'aval (Bougival et Triel), le site de Triel présentant globalement l'activité estrogénique la plus élevée (0,5 ng E2/L en médiane, *versus* 0,3 et 0,2 ng E2/L, respectivement pour Bougival et Marnay). La répartition de ces activités entre les sites suit les mêmes tendances que celles des concentrations en composés estrogéniques. En effet, pour les campagnes réalisées en 2010, une corrélation a été observée entre la contamination amont-aval du milieu par des estrogènes (E2 et estrone surtout) et son potentiel estrogénique (Gaspéri *et al.*, 2010). Les niveaux d'activité estrogénique retrouvés sur ces trois sites de l'Axe Seine sont similaires à ceux déjà observés lors de précédents travaux sur des sites du bassin parisien (Miège *et al.*, 2009 ; Oziol *et al.*, 2009).

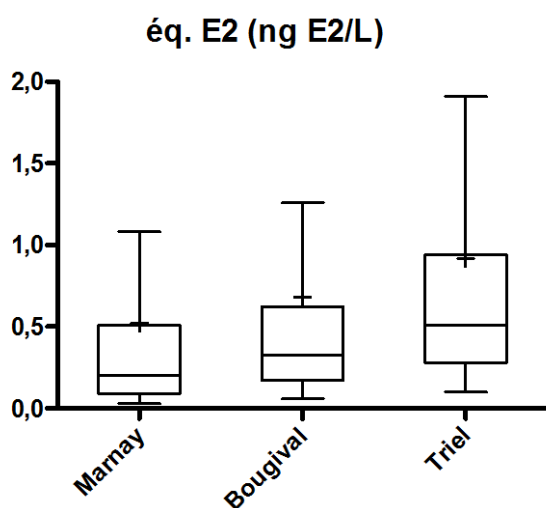


Figure 3.2 : Variabilité spatiale du potentiel estrogénique (éq. E2 en ng E2/L) des eaux de surface entre Marnay, Bougival et Triel ; suivi réalisé sur 12 campagnes entre février 2010 et décembre 2012 (n = 2-3 expériences)

La Figure 3.32 montre l'évolution temporelle du potentiel estrogénique des extraits d'eau prélevée sur les sites de Marnay, Bougival et Triel sur 12 campagnes entre février 2010 et décembre 2012. Globalement, les profils d'activité selon les saisons montrent un potentiel estrogénique du milieu plus élevé en période de basses eaux (juin et juillet essentiellement) sur les sites de Bougival et Triel. L'évolution de ce potentiel PE selon les conditions hydriques pour les campagnes de 2010 s'avère en accord avec les profils de contamination par les estrogènes, une diminution des débits s'accompagnant d'une augmentation des concentrations en hormones et des valeurs d'éq. E2 (Gaspéri *et al.*, 2010).

Concernant le potentiel des eaux de surface à perturber l'activité estrogénique d'E2, aucun effet antagoniste vis-à-vis de cette activité n'a été observé.

A l'inverse, des effets de synergie d'action, ou potentiels sur-inducteurs, vis-à-vis de l'activité E2 ont pu être mis en évidence. Ces effets suivent les mêmes tendances entre sites que les effets estrogéniques, étant non significatifs pour Marnay, et de significativité croissante entre Bougival et Triel. Ils s'avèrent être les plus importants pour la campagne de juillet 2012, une sur-induction de + 23 % étant mesurée pour l'extrait d'eau de Bougival, alors qu'elle est de + 96 % pour celui de Triel. Le potentiel sur-inducteur de xénobiotiques vis-à-vis de l'activité luciférase induite par les hormones endocrines a déjà été observé, tant au niveau estrogénique (Freyberger et Schmuck, 2005), thyroïdien (Yamada-Okabe *et al.*, 2005) qu'androgénique (Christen *et al.*, 2010). Néanmoins, les diverses hypothèses avancées pour expliquer ce type d'effet PE restent encore à valider.

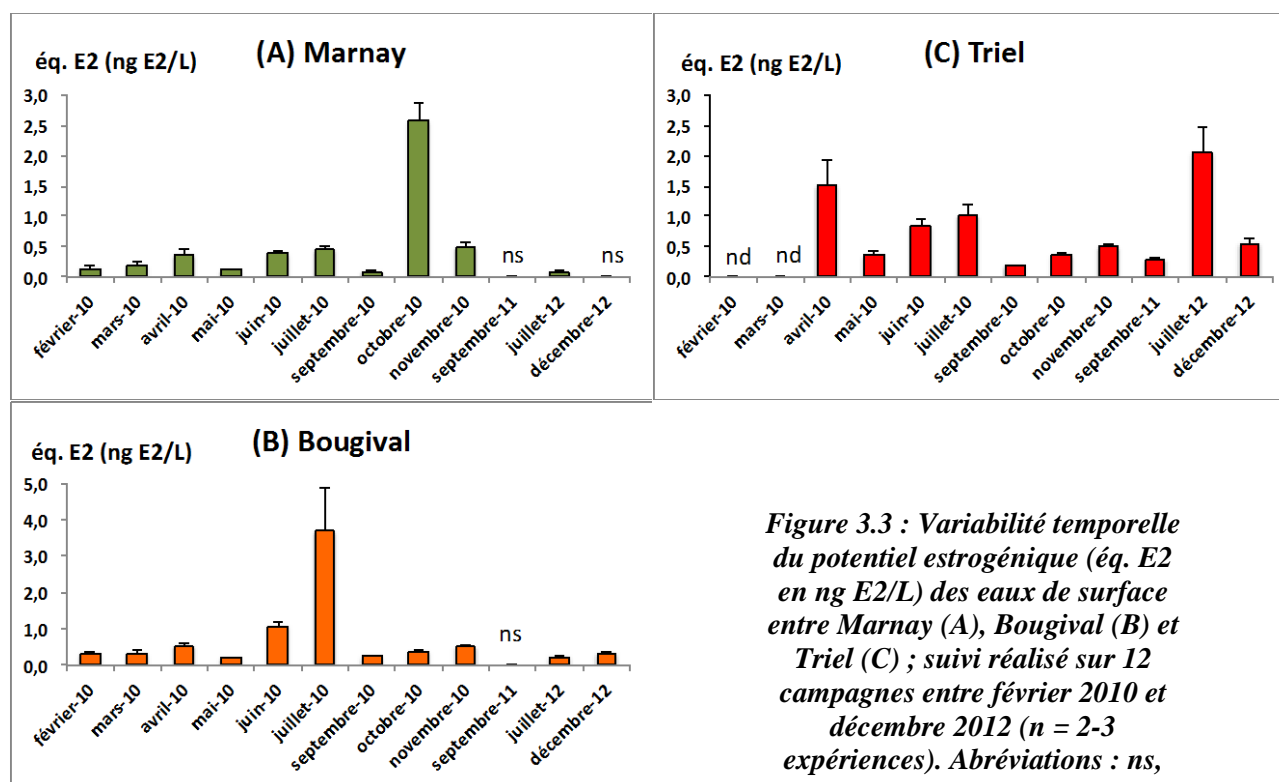


Figure 3.3 : Variabilité temporelle du potentiel estrogénique (eq. E2 en ng E2/L) des eaux de surface entre Marnay (A), Bougival (B) et Triel (C) ; suivi réalisé sur 12 campagnes entre février 2010 et décembre 2012 (n = 2-3 expériences). Abréviations : ns, non significatif par rapport au blanc d'extraction ; nd, non déterminé

Pour les campagnes de Sept. 2011, Juil. 2012 et Déc. 2012, les activités agonistes des extraits d'eau mesurées sur les cellules MELN, PC-DR-LUC et MDA-kb2 ont été comparées avec les niveaux de contamination de la colonne d'eau par des composés PE suspectés ou avérés (facteurs d'induction des réponses biologiques considérés dans un test de corrélation de Spearman). Des associations positives

significatives ont été trouvées entre le potentiel PE du milieu, notamment estrogénique, et sa contamination par des ETM (Cd et Zn surtout), de nombreux médicaments et certains pesticides ou composés perfluoroalkylés. Ces observations sont en accord avec la littérature qui rapporte des effets PE pour ces familles de composés (Caliman et Gavrilescu, 2009 ; Iavicoli *et al.*, 2009 ; Georgescu *et al.*, 2011 ; De Coster et Van Larebeke, 2012 ; Ewence *et al.*, 2015). Cependant, le lien entre activité biologique et présence d'ETM reste très hypothétique, car les extraits testés à l'aide de ces bio-essais devraient concentrer uniquement les contaminants sous forme organique et donc peu d'éléments métalliques qui ne sont pas majoritairement sous cette forme.

Analyse de la toxicité de la colonne d'eau par le test MELA

Les résultats obtenus pour la fraction dissoute (eaux filtrées à 0,8 µm) montrent globalement une toxicité faible à modérée pour l'ensemble des prélèvements à l'exception des échantillons de Bougival et Triel de septembre 2011 où l'on observe une toxicité aiguë. La toxicité est plus marquée pour toutes les campagnes pour les eaux de Triel et Bougival alors que les eaux de Marnay se sont révélées peu toxiques (**Tableau 3.11**).

Tableau 3.1 : Toxicité des eaux de Seine (fraction dissoute filtrée à 0,8 µm et testée à 100 %) sur embryons et larves de poisson médaka (test MELA). Seuls les effets significatifs par rapport au groupe témoin sont indiqués par des flèches

		Campagne 1 (Sept. 2011)			Campagne 3 (Juil. 2012)			Campagne 4 (Déc. 2012)		
		Marnay	Bougival	Triel	Marnay	Bougival	Triel	Marnay	Bougival	Triel
Viabilité	Embryonnaire		↓	↓						
	Larvaire									
Activité cardiaque	Rythme cardiaque									
Eclosion	Taux d'éclosion									
	Durée développement									
Biométrie larvaire	Longueur totale								↓	↓
	Taille de la tête					↓	↓			↓
	Rapport Tête/Longueur					↓				
	Surface sac vitellin									
Malformations larvaires	% moyen d'individus malformés		↑							
Comportement natatoire larvaire	Vitesse moyenne (sur 30 s)				↑	↓	↓			
	Distance parcourue (sur 10 min)									

Les réponses observées chez les stades précoces de développement de médaka pour la phase particulaire (MES) montrent une toxicité généralement faible pour l'ensemble des prélèvements. La toxicité est légèrement plus marquée (effets subaigus) à Triel et Bougival en septembre 2011 et à Triel en décembre 2012 (**Tableau 3.12**).

Tableau 3.2 : Toxicité des matières en suspension sur embryons et larves de poisson médaka (test MELA). Seuls les effets significatifs par rapport au groupe témoin sont indiqués par des flèches

		Campagne 1 (Sept. 2011)			Campagne 3 (Juil. 2012)			Campagne 4 (Déc. 2012)		
		Marnay	Bougival	Triel	Marnay	Bougival	Triel	Marnay	Bougival	Triel
Viabilité	Embryonnaire									
	Larvaire									
Activité cardiaque	Rythme cardiaque									
Ecllosion	Taux d'écllosion									
	Durée développement		↑							
Biométrie larvaire	Longueur totale									
	Taille de la tête									
	Rapport Tête/Longueur									
	Surface sac vitellin			↓						
Malformations larvaires	% moyen d'individus malformés									
Comportement larvaire	Vitesse moyenne natatoire (sur 30 s)									↑
	Distance parcourue (sur 10 min)		↑							↑

Les réponses obtenues pour la phase dissoute (considérée comme la fraction la plus biodisponible potentiellement) ont été intégrées dans une approche de type IBR, dont les principaux résultats sont présentés sur la **Figure 3.33**. Les diagrammes étoiles issus de cette démarche mettent clairement en évidence le gradient de toxicité amont-aval des échantillons d'eau, avec des profils de réponse de plus en plus marqués de Marnay à Bougival puis Triel et une toxicité aiguë prononcée au niveau des sites en aval de Paris, pour les échantillons de la campagne C1 de Sept. 2011 (**Figure 3.33A, B et C**).

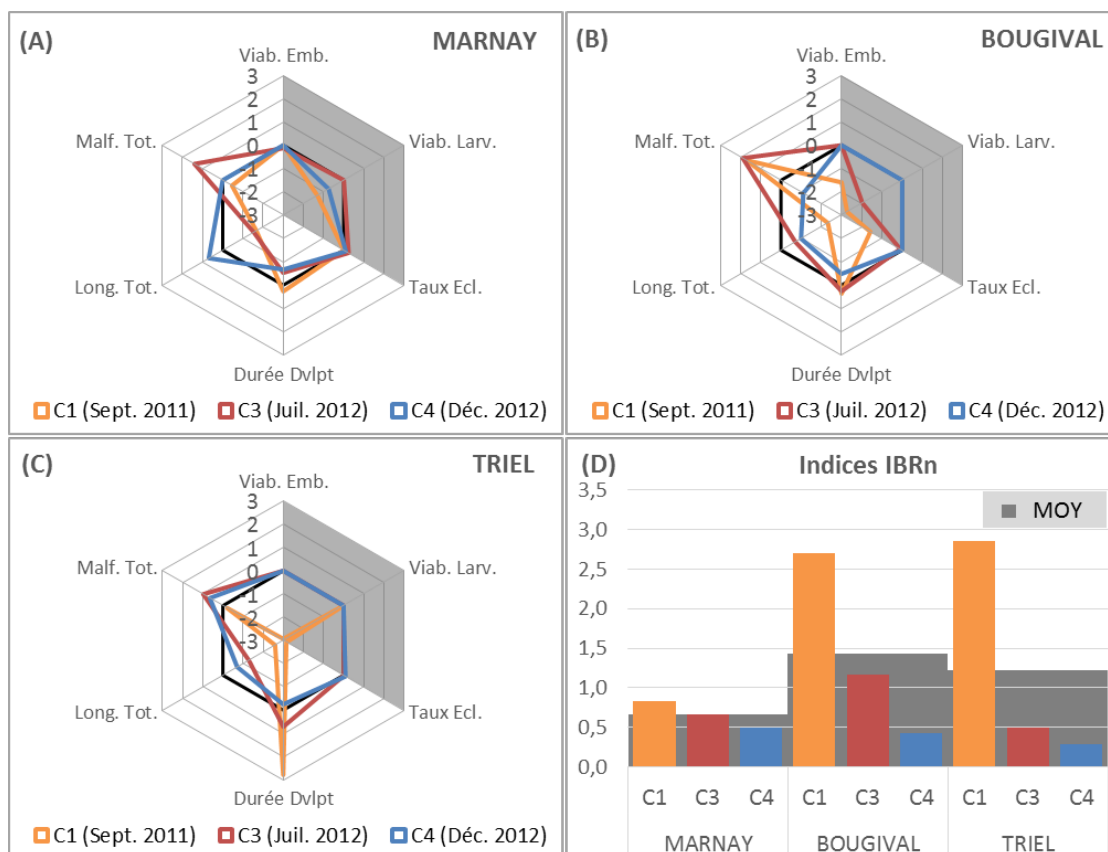


Figure 3.4 : Approche IBR appliquée aux réponses du test MELA sur la fraction dissoute de la colonne d'eau. Diagrammes en étoile des réponses (A_i) pour les sites de Marnay (A), Bougival (B) et Triel (C) au cours des trois campagnes de 2011-2012. Indices IBRn (D) observés pour chaque site et chaque campagne ainsi que l'IBRn moyen (barres grises) de chaque site. Abréviations : Viab. Emb./Larv., viabilité embryonnaire/larvaire ; Taux Ecl., taux d'éclosion ; Durée Dvlpt, durée du développement embryonnaire (= age à l'éclosion) ; Long. Tot., longueur totale des larves à l'éclosion ; Malf. Tot., pourcentage total de larves malformées.

Les indices IBRn calculés illustrent bien ces observations (**Figure 3.33D**), allant croissants de l'amont vers l'aval et dont les valeurs les plus élevées concernent les échantillons de la campagne C1 et les plus faibles ceux de la campagne de décembre 2012 (C4). Des IBRn supérieurs à 2 sont observés pour Bougival et Triel à la campagne C1, traduisant clairement la toxicité aiguë (zone grisée des diagrammes étoiles) observée chez les stades précoces de développement de medaka pour ces seuls échantillons (**Tableau 3.11**).

Les indices IBRn ont ensuite été comparés aux niveaux de contamination de la colonne d'eau et ont montré des corrélations positives significatives ($p < 0,05$) avec la contamination globale en PFAS (Σ PFAS ; $r = 0,744$) ainsi que certains ETM dissous dont Co, Mn, Ni et Pb (valeurs respectives de r égales à 0,690, 0,690, 0,825 et 0,842).

5.1.2 Toxicité de la matrice sédimentaire

Les études menées en 2011 et 2012 dans le cadre du programme PIREN-Seine ont mis en évidence une forte embryotoxicité associée à un potentiel perturbateur endocrinien élevé du compartiment sédimentaire en aval

de l'agglomération parisienne et plus particulièrement au niveau du site de Triel. L'origine de ces effets n'est encore pas identifiée à ce jour.

Il a donc été proposé, en 2013, de caractériser plus complètement la toxicité de la matrice sédimentaire, prélevée sur les 3 stations pilotes de l'axe Seine lors de 3 campagnes (Sept. 2011, Déc. et Juil. 2012), en prenant en compte, au-delà des seuls effets embryotoxiques mesurés précédemment, les effets génotoxiques et les effets comportementaux sur un poisson modèle, le médaka japonais *O. latipes* (test MELAc).

Par ailleurs, nous avons également proposé de tester le potentiel toxique de ces mêmes sédiments à l'aide de 3 types de tests cellulaires : le test Microtox[®] qui permet de mesurer le potentiel cytotoxique, le SOS Chromotest permettant de mesurer le potentiel génotoxique d'un échantillon, et la série de tests de perturbations endocriniennes qui ont déjà été mis en œuvre comme ce qui a été entrepris sur les échantillons de la colonne d'eau. Les deux premiers tests ont été appliqués sur extraits aqueux (élutriats et eaux de porosité) et sur extraits organiques de sédiment afin de mesurer respectivement la toxicité de la fraction biodisponible (extraits aqueux) et celle de la fraction organique totale (extrait organique). Les tests PE ont été entrepris sur extraits organiques de sédiment uniquement.

L'ensemble de ces analyses a pour objectif d'établir un tableau de bord plus complet de la toxicité du compartiment sédimentaire en Seine. L'objectif à terme est de pouvoir (i) identifier des classes de substances à risque en Seine mais également et, (ii) disposer d'un panel d'outils assortis de protocoles fiables pour identifier les substances toxiques présentes dans le compartiment sédimentaire.

Matériel et méthodes

Prélèvements et traitements des échantillons

La toxicité des sédiments collectés le long de l'axe Seine « Marnay-Bougival-Triel » a été évaluée sur les 3 campagnes conduites en septembre 2011, juillet 2012 et décembre 2012, au moyen de deux tests bactériens de génotoxicité (SOS Chromotest) et de cytotoxicité (Microtox[®]) à partir d'extraits organiques et aqueux (eaux de porosité et élutriats). De plus et comme pour la colonne d'eau, le potentiel PE a été évalué à partir d'un extrait organique obtenu à partir de chaque matrice sédimentaire prélevée. La stratégie expérimentale adoptée pour l'évaluation du potentiel toxique des sédiments à l'aide des tests *in vitro* est présentée sur la **Figure 3.34**. Enfin, les effets embryotoxiques, tératogènes, comportementaux et génotoxiques ont également été caractérisés sur embryons de médaka, *O. latipes* exposés aux sédiments bruts fraîchement décongelés par le test embryo-larvaire médaka par sédiment contact (MELAc).

Afin de permettre l'application de ces différents tests de toxicité, des échantillons composites de sédiments superficiels ont été prélevés sur les sites de Marnay, Bougival et Triel au cours de chaque campagne de prélèvement et traités de la manière suivante, afin d'obtenir les phases tests désirées :

Eau de porosité : les sédiments conservés à -20 °C ont été décongelés la veille. Après centrifugation 10 min à 4 000 rpm à 20 °C, le surnageant correspondant à l'eau d'imbibition des sédiments a été prélevé et immédiatement soumis au test Microtox[®] selon le protocole dit « 100% test protocole en phase solide ».

Elutriat de sédiment : 6 g (poids frais) de matrice sédimentaire ont été mis en présence de 24 mL d'eau osmosée. Le mélange a été extrait pendant 10 min à 20 °C (agitateur-shaker IKA) à 300 tr/min et à température ambiante. Le surnageant contenant les polluants extractibles et biodisponibles a été immédiatement soumis au test Microtox[®] selon le protocole dit « 100% test protocole en phase solide ».

Extrait organique : les extraits organiques ont été préparés au LSPE (UMR 8079, UPSud) selon le protocole décrit dans la **Figure 3.35**. Brièvement, les extraits organiques ont été préparés à partir du sédiment brut lyophilisé selon la méthode de Kinani *et al.* (2010) : le sédiment (3 g poids sec) a subi 4 extractions successives aux ultrasons par 3 mL d'hexane/acétone (2:1, v:v) ; l'extrait a ensuite été évaporé à sec sous flux d'azote avant concentration dans 100 µL de DMSO. Un témoin d'extraction (blanc) a été réalisé en

parallèle de chaque extraction. Les mêmes extraits ont ensuite été analysés avec le SOS Chromotest, le test Microtox® et les tests *in vitro* de perturbations endocriniennes.

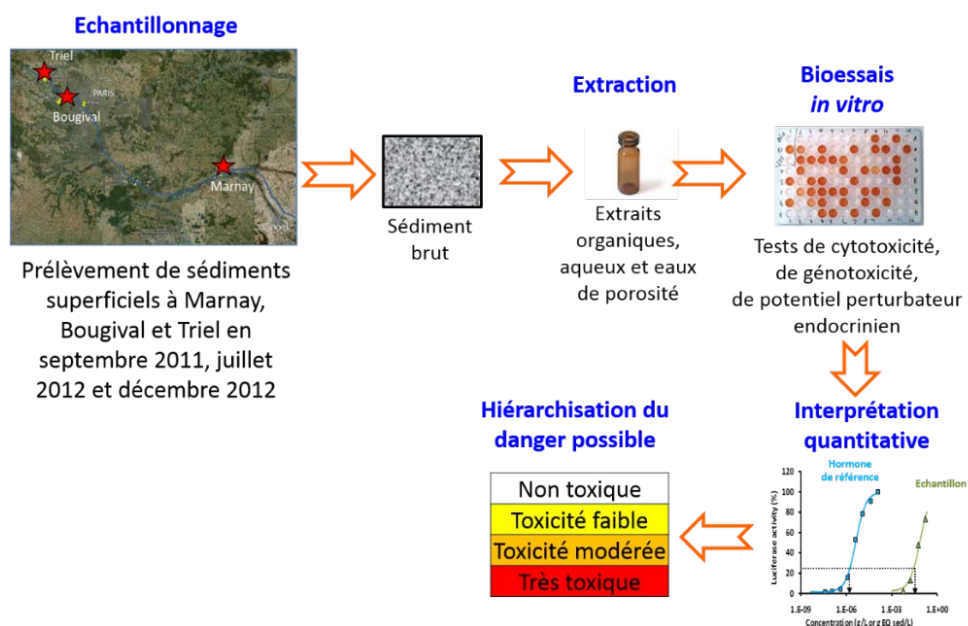


Figure 3.5 : Stratégie expérimentale mise en œuvre pour l'analyse de la toxicité des sédiments de Seine avec les tests MELAc, Microtox® et SOS Chromotest, et de leur potentiel PE avec les bio-essais cellulaires MELN, PC-DR-LUC et MDA-kb2

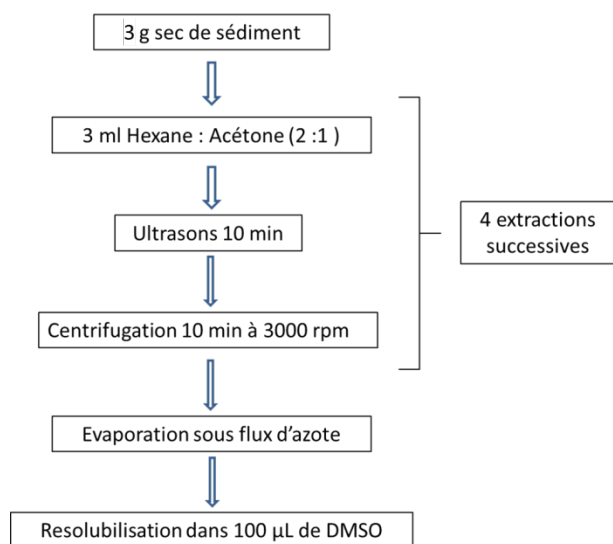


Figure 3.6 : Protocole de préparation des extraits organiques de sédiment d'après la méthode de Kinani et al. (2010)

Tests *in vitro* de perturbations endocriniennes

Les potentiels perturbateurs estrogénique, thyroïdiens et androgéniques des extraits de sédiment ont été évalués *in vitro*, respectivement sur les bio-essais cellulaires MELN, PC-DR-LUC et MDA-kb2 comme précédemment décrit (voir paragraphe *Tests in vitro de perturbations endocriniennes* de partie 3.4.1.1.1).

Les paramètres des relations dose-réponse, représentant les RLU (effets agonistes) ou les pourcentages d'inhibition (effets antagonistes) obtenus pour diverses dilutions d'extraits de sédiment, ont été calculés par régression non linéaire de Hill avec le logiciel Graphpad Prism 5 (San Diego, USA). Il s'agit des concentrations efficaces EC10, EC25, EC50 pour les activités agonistes ou des concentrations inhibitrices IC10, IC25, IC50 pour les activités antagonistes. Les valeurs EC10 ou IC10 peuvent être considérées comme la concentration sans effet observé ou *no observed effect concentration* (NOEC), alors que les valeurs EC25 ou IC25 peuvent représenter la plus petite concentration induisant un effet observé ou *lowest observed effect concentration* (LOEC) selon Warne et van Dam (2008). Les équivalents (éq.) hormones calculés correspondent au rapport entre l'EC25 de l'hormone et l'EC25 de l'extrait (Kinani *et al.*, 2010).

Test Microtox®

Le test Microtox® est un test de toxicité aiguë qui consiste à mesurer la bioluminescence émise par une bactérie marine *Vibrio fischeri* en présence de la substance ou de l'échantillon à analyser (Bulich, 1979). L'exposition de cette souche bactérienne à une substance cytotoxique va conduire à une baisse de la viabilité cellulaire qui se traduit en retour par une diminution de la bioluminescence émise par la culture bactérienne. Celle-ci est comparée à celle émise par une culture témoin non exposée. Ce test est sensible, rapide, reproductible (Ribo *et al.*, 2001) et normalisé (EN ISO 11348-3). Il a été largement appliqué à tous les domaines nécessitant une expertise toxicologique et notamment à l'évaluation de la toxicité de matrices environnementales telles que des eaux, des effluents, des sols, des sédiments, etc. (Pedersen *et al.*, 1998 ; Kwok *et al.*, 2005).

Ce test a été utilisé pour déterminer le potentiel cytotoxique de chaque extrait organique et aqueux de sédiment. Une courbe dose-réponse a été construite à partir de 5 points de dilution (raison 1/2) afin de déterminer la concentration efficace inhibitrice 50 % après 30 min d'exposition (EC50_{30min}).

Test SOS Chromotest

Le SOS Chromotest est un test de génotoxicité sur une souche bactérienne d'*Escherichia coli* modifiée génétiquement (Quillardet et Hofnung, 1985). Ce test consiste à déterminer la capacité d'une substance chimique à induire l'expression d'un des composants du système de réparation d'urgence SOS, le gène *sfia*. Plus il y a de dommages induits dans le génome de souche par le composé testé, plus la souche exprimera fortement le gène *sfia*. La mesure de cette activation s'opère grâce à un gène rapporteur *LacZ* qui code pour la synthèse de la β -galactosidase dont l'activité est dosée par spectrophotométrie à 420 nm en présence d'ortho-nitrophényl β -D-galactopyranoside (ONPG). Ce test présente une haute sensibilité et spécificité vis-à-vis d'un large panel de composés génotoxiques (Quillardet et Hofnung, 1993) et a été utilisé pour l'évaluation du potentiel génotoxique de différentes matrices environnementales : particules atmosphériques (Škarek *et al.*, 2007), sédiments (Chen et White, 2004 ; Cachot *et al.*, 2006), eaux de surface (Zani *et al.*, 2005), matrices biologiques (White *et al.*, 1997) etc.

Ce test a été réalisé sur les extraits (aqueux et organiques) de sédiment à trois dilutions (1/10, 1/33 et 1/100) en présence ou non d'une fraction microsomale S9 qui permet la bioactivation des composés pro-génotoxiques.

Le test embryo-larvaire médaka par sédiment contact (MELAc)

Le test embryo-larvaire médaka par sédiment contact (MELAc) a été développé par le laboratoire EPOC. Il permet de mesurer la toxicité de polluants organiques (Vicquelin *et al.*, 2011 ; Le Bihanic *et al.*, 2014b) ou métalliques (Barjhoux *et al.*, 2012) accumulés dans les sédiments sans recourir à une extraction de ces polluants. Le protocole utilisé pour ce test est présenté dans la **Figure 3.36**. L'analyse des dommages à l'ADN par le test des comètes a été réalisée selon le protocole décrit par Morin *et al.* (2011). Le protocole pour l'analyse comportementale a été décrit par Le Bihanic *et al.* (2014a). Les effets génotoxiques et comportementaux ont été mesurés uniquement sur les échantillons de sédiment collectés en 2012.

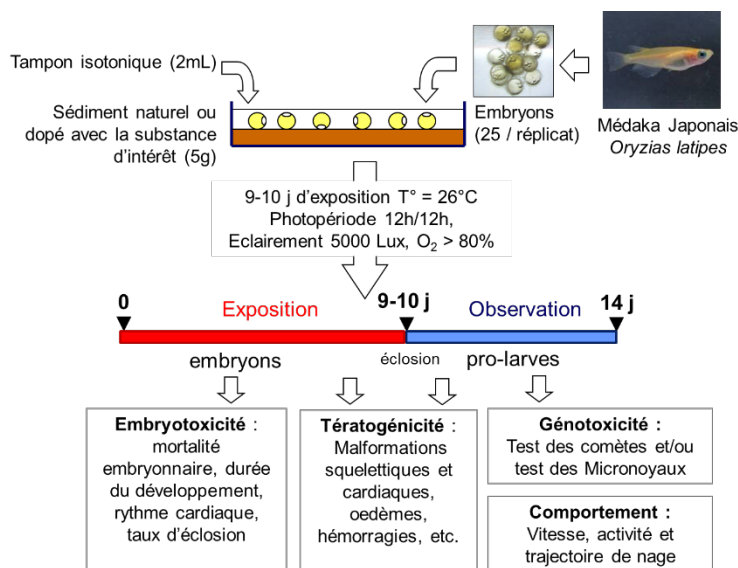


Figure 3.7 : Stratégie expérimentale appliquée lors du test embryon-larvaire médaka par sédiment-contact (MELAc)

Approche IBR appliquée au test MELAc et aux tests *in vitro* sur extraits organiques

Comme décrit précédemment (voir paragraphe Le test embryon-larvaire médaka (MELA) de la partie 3.4.1.1.1 pour plus de détails), une analyse de type IBR des réponses d'une part, du test MELAc, et d'autre part, des différents tests *in vitro* (tests PE, Microtox[®] et SOS Chromotest) a été entreprise afin de proposer une évaluation globale et intégrative de la toxicité ou du potentiel toxique des échantillons de sédiments. Les valeurs de référence utilisées lors de ces approches IBR correspondent aux réponses observées pour les traitements témoins des différents tests, i.e., le sédiment d'Yville-sur-Seine pour le test MELAc et le blanc d'extraction pour les tests *in vitro* sur extraits organiques.

Principaux résultats et discussion

Potentiel perturbateur endocrinien des extraits organiques des sédiments

Le potentiel estrogénique du sédiment en Seine est présenté sur la **Figure 3.37**. Quelle que soit la campagne de prélèvement, les relations dose-réponse obtenues pour les extraits de sédiment de Marnay, Bougival et Triel ont permis d'estimer des concentrations NOEC, LOEC et EC50. Celles-ci sont largement plus basses pour les extraits de Bougival et Triel que pour ceux de Marnay. Un gradient croissant d'activité estrogénique est donc observé d'amont en aval de l'axe Seine. Les valeurs d'éq. E2 sont en moyenne de 0,7 ng E2/g de sédiment sur les 2 sites en aval. Ce niveau d'activité estrogénique est en accord avec celui déjà observé pour des sédiments de rivières françaises (Kinani *et al.*, 2010).

Alors que le sédiment de Triel présente des valeurs de NOEC, LOEC et EC50 inférieures à celles du sédiment de Bougival en juillet 2012 (**Figure 3.37B**), l'inverse est observé en décembre 2012 (**Figure 3.37C**) et ces valeurs sont semblables entre les 2 sites pour septembre 2012 (**Figure 3.37A**). Les concentrations maximales en extraits de sédiment qui ont pu être testées sans engendrer de toxicité cellulaire induisent des niveaux d'activités RLU max. décroissants selon l'ordre suivant : juillet 2012 (x 35 en RLU) >> septembre 2011 (x 15 en RLU) > décembre 2012 (x 8 en RLU) (**Figure 3.37A, B et C**). Les concentrations EC10, EC25, EC50 abondent dans ce sens, étant les plus basses en juillet 2012 ; il en est de même pour les valeurs d'éq. E2, qui sont les plus élevées à cette saison.

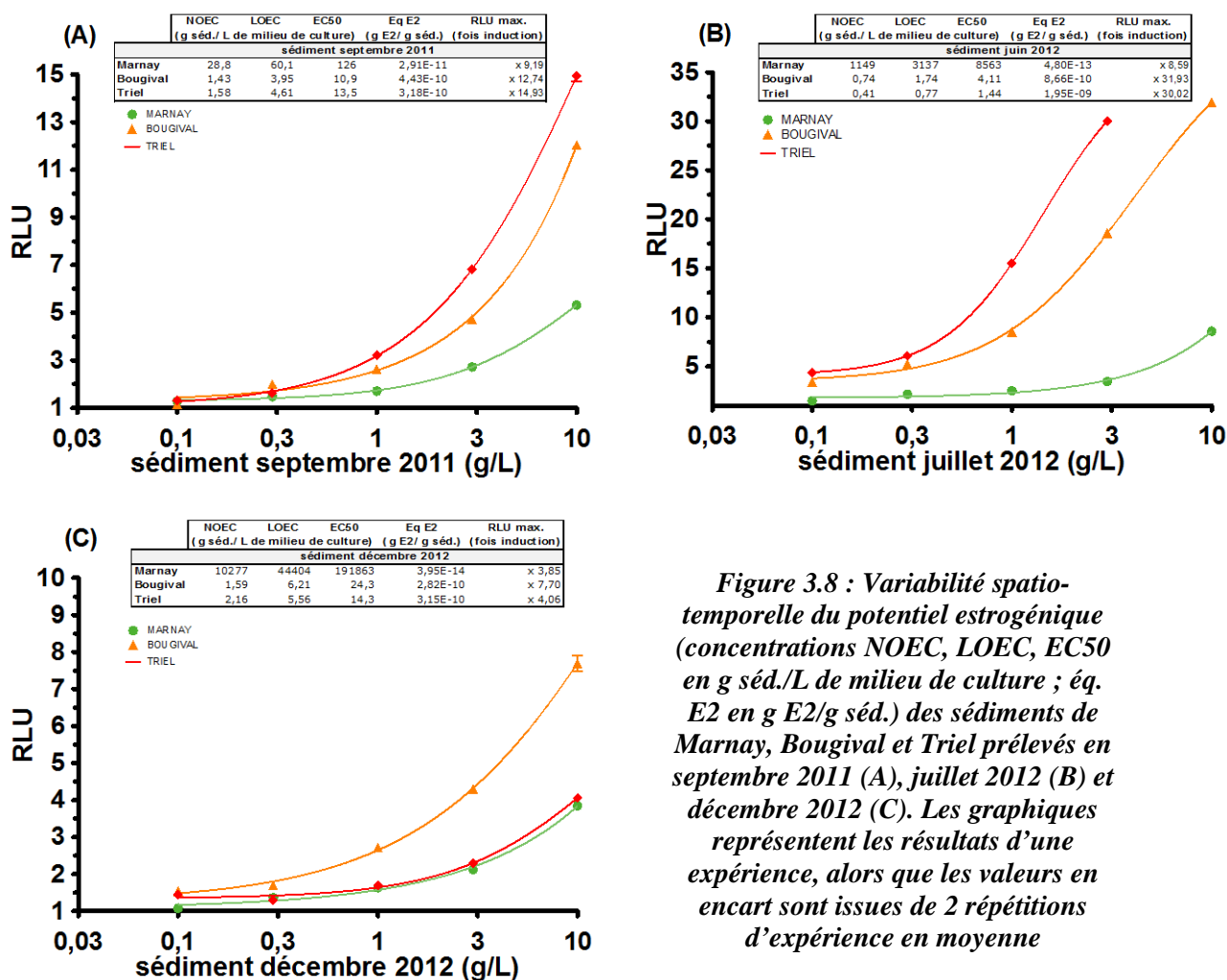


Figure 3.8 : Variabilité spatio-temporelle du potentiel estrogénique (concentrations NOEC, LOEC, EC50 en g séd./L de milieu de culture ; eq. E2 en g E2/g séd.) des sédiments de Marnay, Bougival et Triel prélevés en septembre 2011 (A), juillet 2012 (B) et décembre 2012 (C). Les graphiques représentent les résultats d'une expérience, alors que les valeurs en encart sont issues de 2 répétitions d'expérience en moyenne

Les extraits de sédiment n'ont présenté aucun effet anti-estrogénique. Au contraire, une exposition concomitante des cellules MELN aux extraits de sédiment et à E2 entraîne une sur-induction de l'activité de l'hormone. Ces effets sur-inducteurs des sédiments varient globalement dans le même sens que leurs effets agonistes vis-à-vis du récepteur ERα. Ils sont donc les plus élevés pour les extraits de sédiment de la campagne de juillet 2012, ceux de Marnay, Bougival et Triel sur-induisant la réponse d'E2 respectivement de + 102 %, + 152 % et de + 406 %. Ces niveaux d'activité sont bien plus élevés que ceux mesurés pour la colonne d'eau (voir paragraphe *Potentiel perturbateur endocrinien des extraits organiques de la colonne d'eau* de la partie 3.4.1.1.2).

Aucun effet hormono-compétitif des extraits de sédiment n'a été observé sur cellules PC-DR-LUC. Par contre, ils ont montré un potentiel agoniste vis-à-vis du récepteur TRα1 aux hormones thyroïdiennes, excepté ceux de Marnay prélevés en septembre 2011 et décembre 2012 (**Tableau 3.13A**). En accord avec leurs activités estrogéniques, les extraits de sédiment présentent un potentiel thyroïdien largement plus faible à Marnay qu'à Bougival et Triel. Quelle que soit la saison, les niveaux d'activité RLU max. de Triel sont toujours supérieurs à ceux de Bougival (x 2,9 versus x 2,4) ; il en est de même pour les valeurs d'eq. T3. Par contre, alors que les concentrations NOEC, LOEC et EC50 du sédiment de Triel sont plus basses que celles de Bougival en septembre 2011 et juillet 2012, l'inverse est observé en décembre 2012. D'après l'ensemble des paramètres dose-réponse étudiés, le potentiel thyroïdien du sédiment en Seine est globalement le plus élevé en septembre 2011 et surtout en juillet 2012 par rapport à décembre 2012. Aucune autre équipe n'a

étudié le potentiel perturbateur thyroïdien des sédiments en France. Au niveau international, Li *et al.* (2014) rapportent seulement un potentiel antagoniste de sédiments vis-à-vis de récepteur TR, mais en utilisant d'autres bio-essais que le test PC-DR-LUC. Ces observations sont en accord avec le fait que les composés susceptibles d'interférer avec la transcription génique médiée par TR α 1 sont plutôt des molécules apolaires (Jugan *et al.*, 2009), présentant une certaine affinité pour les matières en suspension ou les sédiments.

Tableau 3.3 : Variabilité spatio-temporelle du potentiel thyroïdien (A) et anti-androgénique (B) des sédiments de Marnay, Bougival et Triel prélevés en septembre 2011, juillet 2012 et décembre 2012 ; le potentiel PE est estimé à partir des concentrations NOEC, LOEC, EC50 (en g séd./L de milieu de culture), des éq. T3 ou Flut (en g T3 ou Flut/g séd.) et des niveaux de RLU (résultats de 2 répétitions d'expérience en moyenne). Abréviations : nd, non déterminé ; ns, non significatif ; LQ, limite de quantification (voir paragraphes Tests in vitro de perturbations endocriniennes des parties 3.4.1.1.1 et 3.4.1.2.1 pour détails)

(A)						(B)					
NOEC	LOEC	EC50	Eq. T3	RLU max.		NOEC	LOEC	IC50	Eq. Flut	Inhib. max.	
(g séd./L de milieu de culture)	(g séd./L de milieu de culture)	(g séd./L de milieu de culture)	(g séd./L de milieu de culture)	(fois induction)		(g séd./L de milieu de culture)	(g séd./L de milieu de culture)	(g Flut/g séd.)	(g Flut/g séd.)	(%)	
Sédiment de Septembre 2011 (C1)						Sédiment de Septembre 2011 (C1)					
Marnay	nd	nd	nd	< LQ	x 1,78	Marnay	nd	nd	nd	< LQ	81,3 (ns)
Bougival	0,18	0,67	2,44	2,51 E-07	x 2,66	Bougival	0,64	2,40	8,83	3,19 E-05	57,4
Triel	0,01	0,03	0,20	5,22 E-06	x 3,27	Triel	0,01	0,24	4,13	3,14 E-04	47,4
Sédiment de Juillet 2012 (C3)						Sédiment de Juillet 2012 (C3)					
Marnay	17,6	32,1	58,7	6,20 E-10	x 1,76	Marnay	nd	nd	nd	< LQ	90,3 (ns)
Bougival	0,14	0,26	0,47	7,76 E-08	x 2,47	Bougival	0,14	0,28	0,59	1,93 E-04	72,63
Triel	0,04	0,08	0,16	2,54 E-07	x 3,18	Triel	0,24	0,26	0,29	2,11 E-04	57,92
Sédiment de Décembre 2012 (C4)						Sédiment de Décembre 2012 (C4)					
Marnay	nd	nd	nd	< LQ	x 1,43 (ns)	Marnay	nd	nd	nd	< LQ	98,5 (ns)
Bougival	0,72	1,16	1,87	1,71 E-08	x 2,03	Bougival	2,10	7,94	30,1	1,16 E-05	73,0
Triel	1,47	2,07	2,92	9,62 E-09	x 2,25	Triel	4 346	51 285	605 252	1,79 E-09	80,6

Concernant les essais sur cellules MDA-kb2, les extraits de sédiment ont engendré à la fois des effets agonistes (essais en absence d'hormone) et des effets antagonistes (essais en présence de DHT). L'activité anti-androgénique des sédiments est uniquement quantifiable pour les deux sites en Seine aval (**Tableau 3.13B**). En considérant l'ensemble des paramètres évalués (concentrations NOEC, LOEC, EC50, éq. Flut, RLU max.), les différences marquées entre Bougival et Triel ne s'observent que pour la campagne de décembre 2012, le potentiel anti-androgénique du sédiment de Bougival étant supérieur à celui de Triel. Il ressort également que l'effet antagoniste du sédiment vis-à-vis de l'activité de DHT varie entre les différentes campagnes selon l'ordre suivant : juillet 2012 > septembre 2011 >> décembre 2012. Les valeurs

d'éq. Flut quantifiées en période estivale sont environ de 200 µg Flut/g sédiment, soit 6 fois plus élevées que les valeurs maximales déjà rapportées pour des sédiments de rivières françaises (Kinani *et al.*, 2010).

Le potentiel agoniste des extraits de sédiments sur cellules MDA-kb2 est quantifiable quels que soient le site et la campagne de prélèvement considérés. Les résultats ne sont pas présentés ici, car il n'a pas été possible de distinguer la part des effets agonistes passant par le récepteur AR aux androgènes et par le récepteur GR aux glucocorticoïdes, même si les deux voies d'action semblent impliquées dans les réponses observées. Celles-ci abondent néanmoins dans le sens des autres activités PE mises en évidence : un potentiel agoniste croissant d'amont en aval de l'axe Seine, et plus élevé en juillet 2012. Le potentiel androgénique de sédiments sur cellules MDA-kb2 a déjà été rapporté dans la littérature, avec des données nationales (Kinani *et al.*, 2010) ou internationales (Louiz *et al.*, 2008).

Pour les campagnes de Sept. 2011, Juil. 2012 et Déc. 2012, les activités agonistes des extraits organiques de sédiment mesurées sur les cellules MELN, PC-DR-LUC et MDA-kb2 ont été comparées avec les niveaux de contamination des sédiments par des composés PE suspectés ou avérés (facteurs d'induction maximal des réponses biologiques considérés dans un test des corrélations de Spearman).

Des associations positives significatives ont été trouvées entre le potentiel PE du sédiment en Seine, notamment estrogénique, et sa contamination par certains composés. Concernant les éléments métalliques, ceux significativement corrélés à l'activité biologique de la matrice sédimentaire sont surtout l'arsenic (As), l'argent (Ag), le cadmium (Cd) et l'antimoine (Sb), ce qui est en accord avec les effets PE déjà rapportés pour ces composés (Choe *et al.*, 2003 ; Rana, 2014), excepté l'Ag dont les effets PE ont encore trop peu été étudiés (Massarsky *et al.*, 2014). Cependant, de même que les extraits d'eau testés pour leur potentiel PE, les extraits de sédiments devraient concentrer uniquement les contaminants sous forme organique, et pas spécifiquement les ETM. Ainsi, le lien entre activité biologique et contamination du sédiment par les éléments métalliques reste là encore très hypothétique. Il resterait à les confirmer en testant des extraits préparés suivant un protocole spécifique d'extraction des ETM.

Une association positive ressort également entre tous les effets PE mesurés et (i) les teneurs en certains pesticides organochlorés (OCP) du sédiment, notamment les composés HCB, DDEs et 4,4-DDT qui présentent, comme d'autres, un potentiel PE (Tamura *et al.*, 2006 ; Aït-Aïssa *et al.*, 2010 ; Boas *et al.*, 2012 ; Mrema *et al.*, 2013), (ii) l'ensemble des HAP quantifiés, famille de composés pour laquelle des effets PE ont également déjà été rapportés, surtout concernant son représentant le BaP (Gozgit *et al.*, 2004 ; Tamura *et al.*, 2006) et, (iii) tous les congénères PCB analysés, en accord avec les effets PE de ces composés décrits dans la littérature (Zou *et al.*, 2002 ; Janošek *et al.*, 2006 ; Freitas *et al.*, 2011).

Enfin, concernant les contaminants PFAS, des corrélations positives ont été mises en évidence entre les concentrations de ces composés, notamment le composé majoritaire PFOS, et l'activité PE du sédiment, celle-ci étant de nature anti-androgénique, en accord avec l'étude de Kjeldsen et Bonfeld-Jørgensen (2013), et agoniste sur cellules MDA-kb2.

Potentiel cytotoxique des extraits de sédiment

Les différents extraits de sédiment ont été analysés par le test Microtox®. Les eaux de porosité et les éluviats de sédiment des deux campagnes C1 (Sept. 2011) et C3 (Juil. 2012) présentent globalement le même profil de toxicité (**Figure 3.38**) à savoir : (i) une toxicité faible à modérée pour tous les échantillons ; (ii) un gradient amont-aval évident avec une toxicité beaucoup plus marquée à l'aval de l'agglomération parisienne (Bougival et Triel). Le sédiment de Triel de décembre 2012 se distingue des deux premiers prélèvements par une toxicité moindre. Ceci pourrait s'expliquer par un sédiment plus grossier et l'absence de particules fines (fraction généralement la plus affine pour les micropolluants métalliques et organiques) en raison d'une forte crue de la Seine au moment du prélèvement.

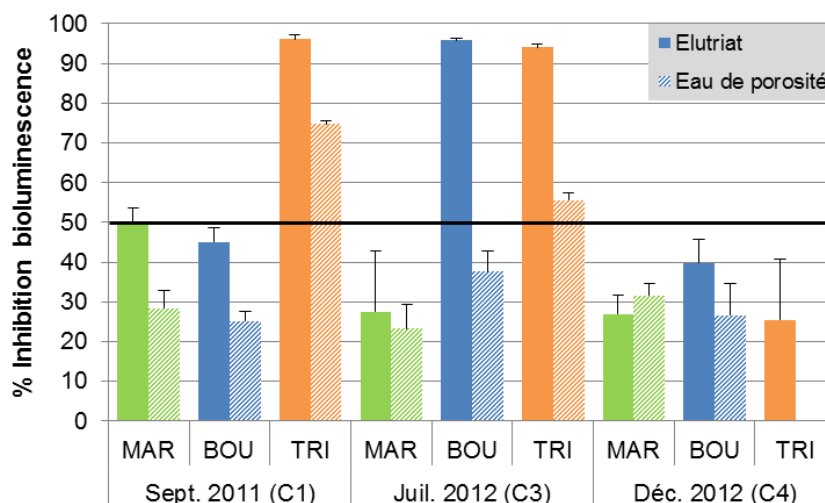


Figure 3.9 : Cytotoxicité des eaux de porosité (barres pleines) et des éluviats (barres hachurées) des sédiments de Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel) à la plus forte concentration testée (Moyenne ± écart-type, N=3) par le test Microtox®. Le sédiment de Triel de décembre 2012 trop grossier n'a pas permis de récupérer de l'eau de porosité

Concernant les extraits organiques des sédiments, les données présentées en **Figure 3.39** font clairement apparaître des différences de toxicité inter-sites avec une toxicité beaucoup plus marquée (faibles EC50) sur les sites à l'aval de Paris (Bougival et Triel) et moindre sur le site amont de Marnay (EC50 plus élevées). Au niveau de ce dernier, on peut également noter une fluctuation temporelle de la toxicité avec des niveaux de toxicité plus élevés en juillet 2012 par rapport à septembre 2011 et décembre 2012.

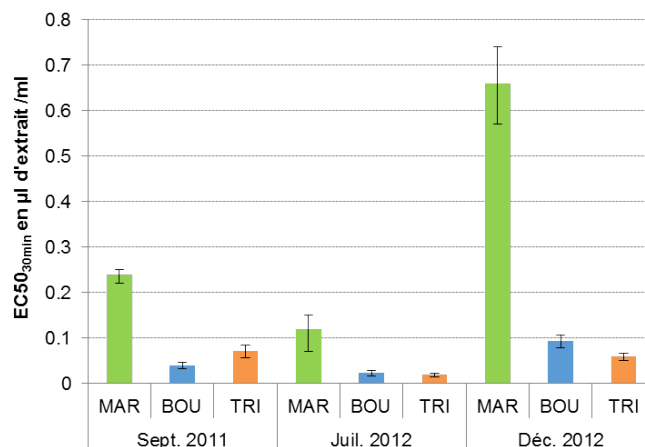


Figure 3.10 : Cytotoxicité des extraits organiques de sédiment de Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel) évaluée par le test Microtox®. Les résultats sont exprimés en concentration efficace inhibitrice 50 % après 30 min d'exposition (EC50_{30min}). N.B. : la toxicité est inversement proportionnelle à la valeur d'EC50

Potentiel génotoxique des extraits de sédiment

Le potentiel génotoxique des eaux de porosité et des éluutriats de sédiment a été déterminé à l'aide du SOS Chromotest avec et sans bioactivation préalable des pro-génotoxiques. Aucune génotoxicité n'a été mesurée pour les extraits aqueux en présence de S9 (résultats non présentés). En revanche, une génotoxicité relativement élevée a été mesurée pour l'eau de porosité du sédiment de Triel de Sept. 2011 (FI = 2,5), sans activation S9. Une génotoxicité plus modérée mais néanmoins significative a également été relevée à Marnay et Triel en Sept. 2011 et Juil. 2012 (**Figure 3.40**).

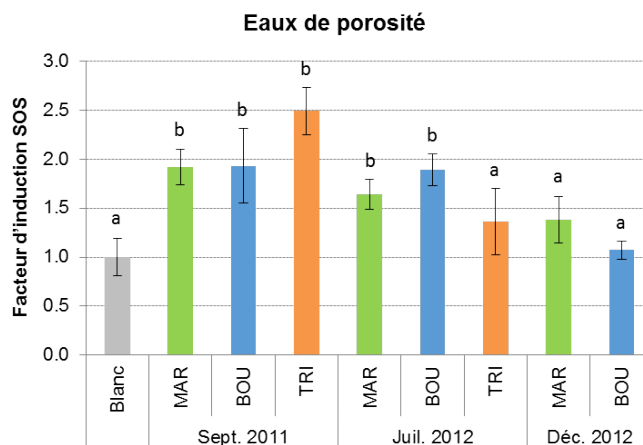


Figure 3.11 : Potentiel génotoxique (sans activation S9) des eaux de porosité des sédiments prélevés en Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel). Les résultats sont exprimés en facteur d'induction (FI) par rapport au contrôle solvant (Blanc). Les valeurs correspondent à la moyenne ± écart type (N = 3). Les lettres indiquent une différence significative entre les échantillons (ANOVA de Kruskal-Wallis et test post-hoc de comparaisons multiples, $p < 0,05$).

Le potentiel génotoxique des extraits organiques de sédiment avec et sans bioactivation est présenté dans la **Figure 3.41**. Une variabilité inter-sites apparaît clairement avec une génotoxicité globalement plus marquée sur le site de Bougival et de façon moindre à Triel. Les extraits de sédiment de Marnay apparaissent faiblement génotoxiques. La génotoxicité fluctue au cours du temps, elle est globalement moindre en Déc. 2012 par rapport à Sept. 2011 et Juil. 2012.

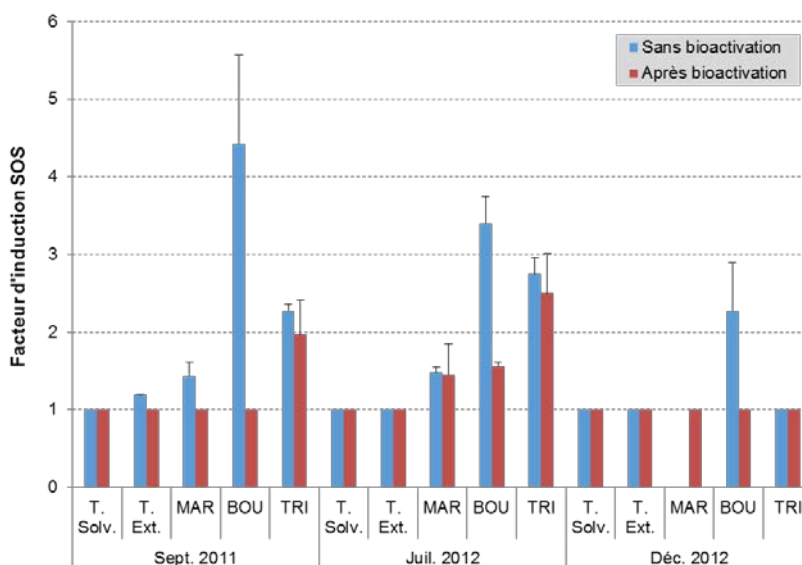


Figure 3.12 : Potentiel génotoxique des extraits organiques (dilution 1/100ème) de sédiment de Seine (MAR, Marnay ; BOU, Bougival ; TRI, Triel). Les résultats sont exprimés en facteur d'induction (FI) moyen (\pm écart-type) par rapport au contrôle solvant (T. Solv.). Un FI inférieur à 1,5 traduit l'absence de génotoxicité, entre 1,5 et 2 il traduit une génotoxicité modérée et au-delà de 2 une génotoxicité forte. T. Ext., témoin d'extraction.

Les résultats obtenus sur les eaux de porosité et les extraits organiques de sédiment confirment donc la présence de composés génotoxiques directs et indirects en Seine notamment à l'aval de l'agglomération parisienne.

Application de l'approche IBR aux tests in vitro de perturbations endocriniennes, de cytotoxicité et de génotoxicité sur extraits organiques de sédiments

Les réponses des différents tests *in vitro* obtenues pour les extraits organiques de sédiments ont été intégrées dans une approche de type IBR, dont les principaux résultats sont présentés sur la **Figure 3.42**. L'examen des diagrammes étoiles issus de cette démarche permet de retrouver les grandes conclusions tirées de l'analyse des résultats de chaque test avec des réponses de plus en plus marquées de l'amont à l'aval, notamment en termes de potentiels perturbateurs endocriniens et cytotoxiques (**Figure 3.42A, B et C**). Les profils de réponses sont globalement similaires mais s'accroissent entre Marnay et les deux sites en aval de Paris, Bougival et Triel.

Le calcul de l'IBRn moyen de chaque site (**Figure 3.42D**) illustre bien le gradient de toxicité croissant entre Marnay d'un côté (IBRn moyen de 1,31), et Bougival et Triel de l'autre (IBRn moyen de 2,18 et 2,28, respectivement). Les variations de potentiels toxiques inter-échantillons, en fonction de la campagne de prélèvement, sont également retracées en accord avec les observations faites pour chaque test. De manière générale, ces fluctuations identifient une augmentation graduelle du potentiel toxique entre les échantillons prélevés en Déc. 2012, Sept. 2011 et Juil. 2012 (**Figure 3.42D**).

Par contre, un profil de réponse particulier est observé pour les extraits du sédiment de Triel : son potentiel toxique est bien moindre en Déc. 2012 que lors des autres campagnes, comparativement à celui de Bougival.

Le potentiel toxique plus marqué pour l'extrait de sédiment de Bougival, par rapport à celui de Triel pour la campagne hivernale de 2012, peut résulter des caractéristiques spécifiques de ce dernier (matrice granulométrique très grossière, faible teneur en COP et N-NH₄ ; **Tableau 3.2**) du fait des conditions hydrologiques particulières lors de ce prélèvement.

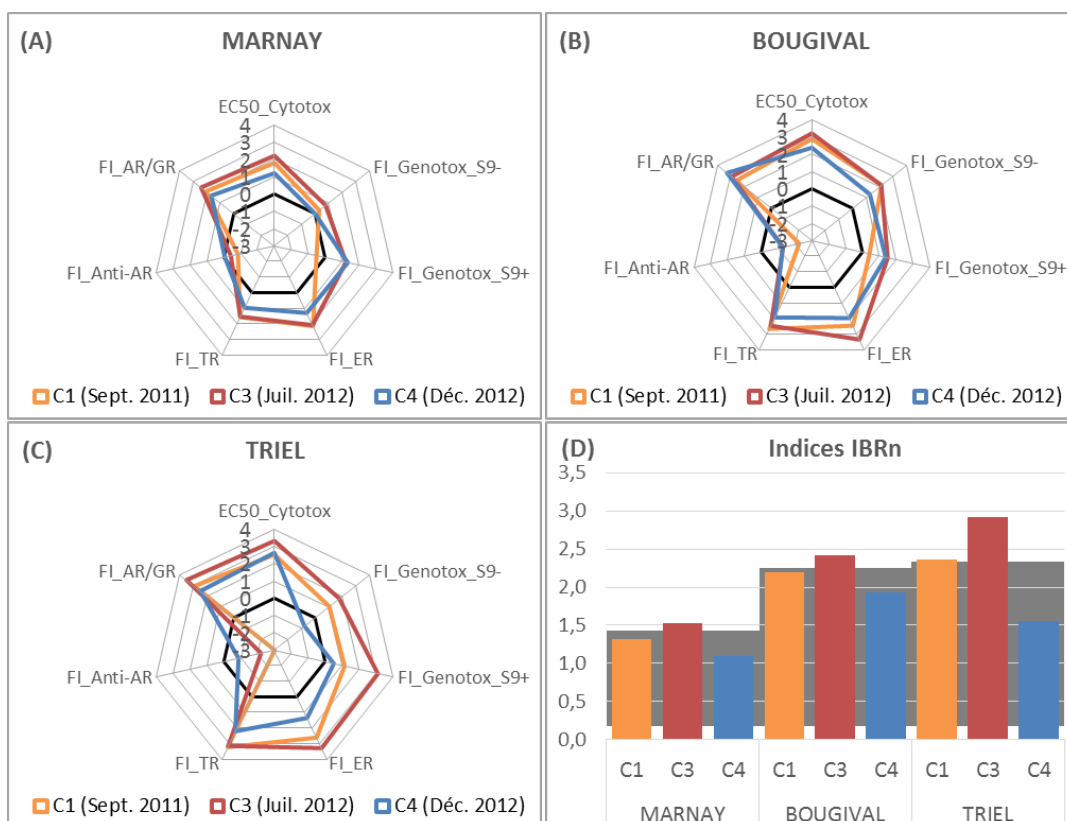


Figure 3.13 : Approche IBR appliquée aux réponses des tests in vitro sur extraits organiques de sédiment. Diagrammes en étoile des réponses (A_i) pour les sites de Marnay (A), Bougival (B) et Triel (C) au cours des trois campagnes de 2001-2012. Indices IBRn (D) observés pour chaque site et chaque campagne ainsi que l'IBRn moyen (barres grises) de chaque site. Abréviations : EC50_Cytotox, EC50 30 min issue du test Microtox® ; FI_Genotox_S9-/+, facteur d'induction SOS Chromotest sans (S9-) et avec (S9+) bioactivation ; FI_ER/TR/AR/GR, facteur d'induction RLU observé pour les effets agonistes des récepteurs estrogénique (ER), thyroïdien (TR) et androgénique/glucocorticoïdien (AR/GR) ; FI_Anti-AR, facteur d'inhibition RLU observé pour les effets antagonistes du récepteur androgénique

Lorsque les indices IBRn calculés sont confrontés aux concentrations en ETM (sur la sélection de 11 éléments parmi les 26 analysés, voir note en fin de partie 3.2.3.3) et en micropolluants organiques, des corrélations positives ($p < 0,05$; test de corrélation de Spearman) sont mises en évidence avec les teneurs en ETM dont Cr, Zn, As, Ag, Cd et Sb (valeurs de r comprises entre 0,683 pour Zn et 0,802 pour Sb), ainsi qu'avec plusieurs familles de composés organiques dont notamment les HAP (valeur r avec Σ HAP égale à 0,950 ; corrélations significatives avec tous les HAP individuels), les OCP (valeur r avec Σ OCP égale à 0,933 ; corrélations significatives avec tous les OCP individuels, sauf les composés de type DDT et le 2,4-DDD) et les PCB (valeur r avec Σ PCB égale à 0,933 ; corrélations significatives avec tous les PCB individuels). Encore une fois et comme mentionné précédemment, le lien entre activité biologique et la contamination par les ETM du sédiment reste très hypothétique et à confirmer en testant des extraits préparés suivant un protocole spécifique aux éléments métalliques.

Effets sur la survie et le développement des embryons et larves de médaka

Tous les sédiments testés se sont révélés toxiques pour les embryons et larves de médaka (**Tableau 3.14**). Cette toxicité est beaucoup plus marquée sur les sites à l’aval de Paris et notamment sur le site de Triel. L’exposition aux sédiments de Triel de Sept. 2011 et Juil. 2012 a réduit significativement la survie et le taux d’éclosion des embryons de médaka. Cette toxicité aiguë n’a pas été observée pour le sédiment de Triel de Déc. 2012. La toxicité des sédiments collectés à Bougival était également plus marquée qu’à Marnay mais seuls des effets subaigus sur le développement (âge à l’éclosion, malformations squelettiques et cardiaques) et la croissance (taille totale ou taille de la tête) ont été observés.

Tableau 3.4 : Toxicité des sédiments vis-à-vis des embryons et larves de poisson médaka (test MELAc). Seuls les effets significatifs par rapport au groupe témoin sont indiqués par des flèches. Le signe « † » indique la mort des individus, empêchant la mesure de certains paramètres.

		Campagne 1 (Sept. 2011)			Campagne 3 (Juil. 2012)			Campagne 4 (Déc. 2012)		
		Marnay	Bougival	Triel	Marnay	Bougival	Triel	Marnay	Bougival	Triel
Viabilité	Embryonnaire			↓						
	Larvaire			†			†			
Activité cardiaque	Rythme cardiaque			↓			↓			
Éclosion	Taux d’éclosion			↓			↓			
	Durée développement		↓	†		↑				
Biométrie larvaire	Longueur totale			†			†			
	Taille de la tête			†	↓	↓	†	↓	↓	↓
	Rapport Tête/Longueur			†			†			
	Surface vitellin sac			†			†	↑		
Malformations larvaires	% moyen d’individus malformés	↑	↑	†			†			↑
Comportement larvaire	Vitesse moyenne natatoire (sur 30 s)			†			†	↑		
	Distance parcourue (sur 10 min)			†			†	↑		

De façon similaire à ce qui a été fait pour la fraction dissoute de la colonne d’eau, les réponses obtenues lors du test MELAc ont été intégrées dans une approche de type IBR, dont les principaux résultats sont présentés sur la **Figure 3.43**.

Une nouvelle fois, l'approche IBR a permis d'intégrer de façon cohérente et pertinente l'ensemble des réponses obtenues par l'application du test MELAC à l'évaluation de la toxicité des sédiments.

Les profils de réponses sont similaires mais s'accroissent entre les sites de Marnay, Bougival et Triel C4, concernant les perturbations de la durée du développement embryonnaire, de la croissance et l'apparition de malformations chez les larves nouvellement écloses (**Figure 3.43A, B et C**). En revanche, le site de Triel pour les campagnes C1 et C3 se démarque clairement des autres observations avec une toxicité aiguë marquée (**Figure 3.43C**).

Les valeurs IBRn calculées au cours de cette démarche d'intégration confirment bien la présence d'un gradient de toxicité amont-aval : les sédiments de Marnay induisent peu d'effets chez les stades précoces de développement de médaka (IBRn d'environ 0,6 pour tous les échantillons), ceux de Bougival montrent une toxicité plus marquée mais se limitant à l'apparition d'effets subaigus (IBRn ~1 pour toutes les campagnes), et ceux de Triel engendrent les effets les plus marqués (IBRn, variant de 0,95 pour la campagne C4 à 4,95 pour la campagne C3), notamment en raison des effets mis en évidence sur la survie et le taux d'éclosion des individus exposés.

Les indices IBRn ont été confrontés aux niveaux de contamination des sédiments et présentent des corrélations significatives ($p < 0,05$; test de corrélation de Spearman) positives avec plusieurs familles de micropolluants organiques dont Σ HAP ($r = 0,833$), Σ OCP ($r = 0,883$) et Σ PCB ($r = 0,883$), ainsi que de nombreux ETM incluant Cu, Cr, Zn, As, Ag, Cd, Sb et Pb (valeurs de r comprises entre 0,683 pour Zn et 0,950 pour As).

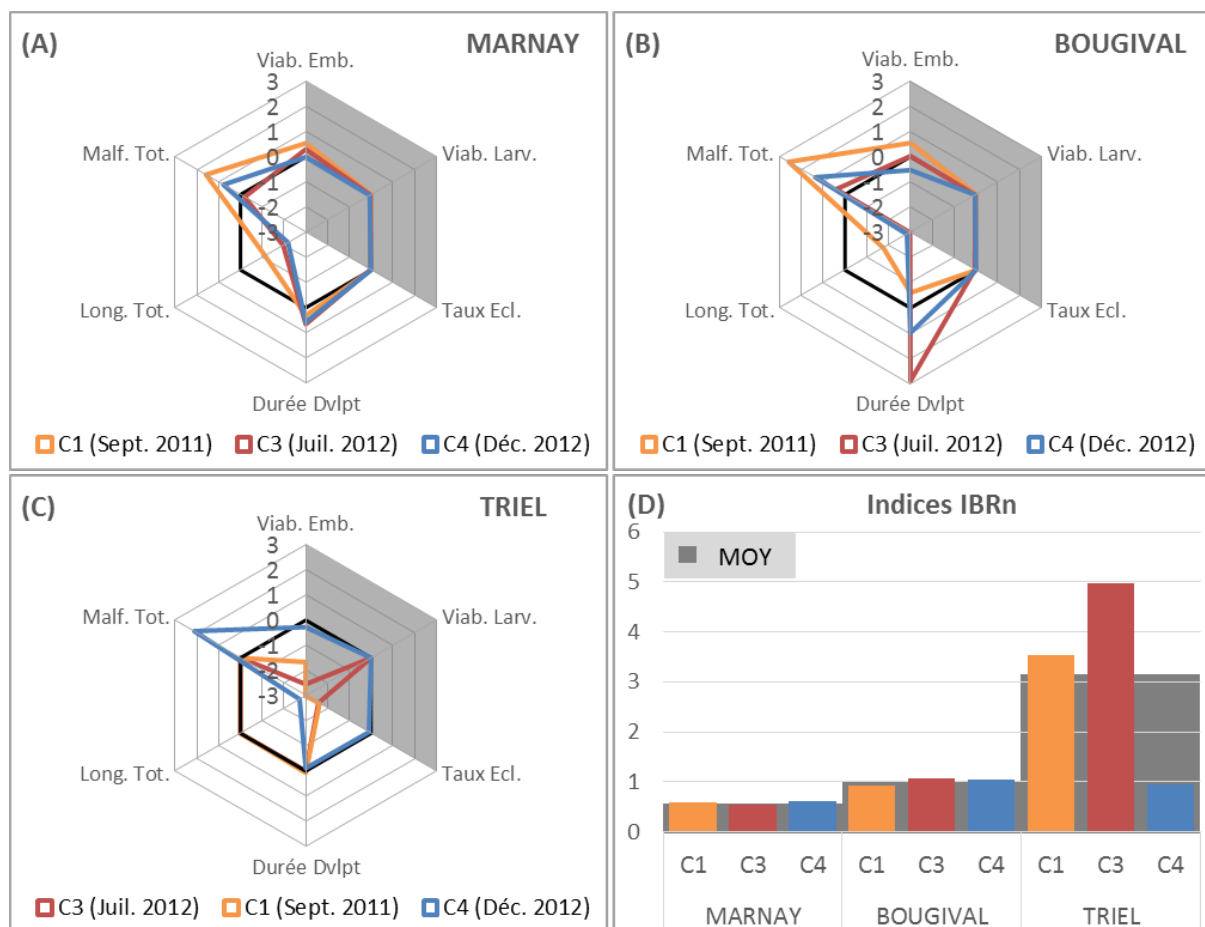


Figure 3.14 : Approche IBR appliquée aux réponses du test MELAc sur sédiments. Diagrammes en étoile des réponses (A_i) pour les sites de Marnay (A), Bougival (B) et Triel (C) au cours des trois campagnes de 2011-2012. Indices IBRn (D) observés pour chaque site et chaque campagne ainsi que l'IBRn moyen (barres grises) de chaque site. Abréviations : Viab. Emb./Larv., viabilité embryonnaire/larvaire ; Taux Ecl., taux d'éclosion ; Durée Dvlpt, durée du développement embryonnaire (= age à l'éclosion) ; Long. Tot., longueur totale des larves à l'éclosion ; Malf. Tot., pourcentage total de larves malformées.

Effets génotoxiques sur larves de médaka

Le test des comètes a été réalisé sur larves de médaka exposées aux sédiments de Seine pendant toute la phase embryonnaire. Les résultats obtenus ont révélé des taux d'endommagement de l'ADN relativement faibles qui fluctuent entre 11,4 et 18,8 %, mais aucune différence statistique n'a été mise en évidence entre sites et selon les périodes de prélèvement (résultats non présentés).

Effets sur le comportement natatoire des larves de médaka

L'analyse du comportement a été réalisée sur des larves exposées au stade embryonnaire aux différents sédiments collectés en Seine. Aucune différence significative de vitesse moyenne de nage n'a été observée d'un site à l'autre, à l'exception des larves exposées au sédiment de Marnay de décembre 2012 (**Tableau 3.14**). Ces larves présentaient une vitesse de nage significativement plus élevée par rapport à tous les autres sites que ce soit en condition de lumière ou à l'obscurité (résultats non présentés).

5.1.3 Conclusion

L'ensemble de ces données montre que le sédiment présente un potentiel PE ubiquiste le long de l'axe Seine, celui-ci augmentant largement entre le site amont (Marnay), et les deux sites en aval (Bougival et Triel). Il est également le plus élevé en période estivale, qui correspond à une période de basses eaux où peuvent se concentrer les contaminants. Alors que le potentiel perturbateur endocrinien mis en évidence pour les extraits de la colonne d'eau est uniquement de nature estrogéno-mimétique, l'analyse des extraits de sédiment a permis de mettre en évidence la présence dans le milieu de composés PE pléiotropes, dont le potentiel PE est de non seulement de nature estrogéno-mimétique, mais aussi de type anti-androgénique et thyro-mimétique. Ainsi, le sédiment en Seine semble donc être une matrice adaptée pour caractériser le danger lié aux perturbations endocriniennes inhérent à la contamination du milieu aquatique, par la mise en œuvre de bio-essais cellulaires *in vitro*. Au cours de cette étude, l'analyse des échantillons de sédiment s'est également révélée pertinente pour l'étude d'autres aspects toxiques ciblés ou plus généraux.

En effet, les extraits aqueux des sédiments de Marnay, Bougival et Triel collectés au cours des 3 campagnes de 2011 et 2012 apparaissent faiblement à modérément cytotoxiques (test Microtox®) avec une cytotoxicité beaucoup plus marquée à l'aval de Paris et notamment sur le site de Triel. Par ailleurs, les prélèvements de décembre 2012 se distinguent par une cytotoxicité moindre qui pourrait être liée à une période de crue et à une érosion/un lessivage des particules fines. Les extraits organiques et les eaux de porosité de ces mêmes sédiments apparaissent faiblement à modérément génotoxiques avec ou sans bioactivation, traduisant donc la présence de composés génotoxiques et pro-génotoxiques. Cette génotoxicité est, une nouvelle fois, globalement plus marquée à l'aval de Paris.

Les analyses réalisées sur embryons et larves de poisson médaka ont révélé une forte embryotoxicité des sédiments en aval de Paris mais peu ou pas d'effets sur le comportement ou l'intégrité de l'ADN. On peut donc penser que certains des contaminants génotoxiques détectés par l'approche *in vitro* (SOS Chromotest sur extrait organique de sédiment) ne sont pas ou peu biodisponibles et/ou toxiques pour des organismes pluricellulaires tels que des embryons de poisson. De plus, l'application de ce test embryo-larvaire poisson sur les échantillons de la colonne d'eau (phase dissoute et MES) a permis de mettre en évidence que les eaux collectées en Seine apparaissent globalement moins toxiques que les sédiments. Néanmoins une forte toxicité des eaux (effets aigus) a été mesurée à l'aval de Paris en septembre 2011.

Ainsi, quel que soit le test biologique utilisé, un gradient de toxicité amont-aval très marqué a été observé sur les sédiments, et de façon moins prononcée au niveau de la colonne d'eau. La toxicité apparaît globalement beaucoup plus forte à l'aval de Paris avec notamment la présence de substances potentiellement génotoxiques et de substances embryotoxiques et tératogènes. Une fluctuation temporelle de la toxicité des eaux et de façon moindre des sédiments a été observée. Ces variations de toxicité sont vraisemblablement associées aux variations des flux de polluants mais aussi aux fluctuations des conditions hydro-climatiques.

L'ensemble des bio-essais *in vitro* mis en œuvre au cours de cette étude ainsi que le test embryo-larvaire medaka (MELA) apparaissent donc suffisamment sensibles pour mesurer la toxicité des sédiments et de la colonne d'eau en Seine. Le test MELA présente néanmoins l'avantage de mesurer cette toxicité directement sur l'échantillon environnemental (eau ou sédiment) sans extraction préalable des polluants présents dans la matrice étudiée, procédure qui tend à augmenter drastiquement la biodisponibilité de ces composés.

Dans une démarche d'intégration de l'ensemble des réponses obtenues par ces différents bio-essais, l'application de l'approche IBR s'est avérée pertinente et représentative des conclusions individuelles issues de chaque test. Cette approche a permis d'aboutir à un indice global de perturbations des organismes pour chaque échantillon testé, tout en conservant un visuel plus détaillé sur les principales fonctions impactées, grâce aux diagrammes étoiles. La « normalisation » des indices IBR par le nombre de marqueurs utilisés dans le calcul permet également de pouvoir comparer les amplitudes de réponses entre différentes séries tests. Par exemple, la comparaison des gammes de valeurs IBRn obtenues pour le test MELA sur la phase dissoute de la colonne d'eau (IBRn moyens compris entre 0,66 pour Marnay et 1,43 pour Bougival) et celles observées pour le test MELAc sur sédiments (IBRn moyens compris entre 0,58 pour Marnay et 3,15 pour

Triel), confirme bien une toxicité des matrices sédimentaires plus importante que celle de la colonne d'eau, particulièrement au niveau des sites aval.

Le point clé de cette approche IBR repose sur les valeurs de référence auxquelles sont rapportées les réponses des différents biomarqueurs. La qualité, la robustesse et la pertinence de ces valeurs de référence sont donc primordiales pour la validité de l'outil et de ses conclusions. Concernant les tests *in vitro*, l'utilisation des réponses observées pour les blancs d'extraction comme valeurs de référence peut avoir conduit à une surestimation des perturbations mises en évidence par ces bio-essais. Une meilleure cohérence environnementale pourrait être obtenue en utilisant l'extrait organique d'un sédiment naturel « témoin », comme par exemple celui d'Yville-sur-Seine déjà utilisé en tant que traitement contrôle lors du test MELAc, pour générer ces valeurs de référence.

Enfin, dans le but de caractériser plus précisément le danger inhérent à la contamination du milieu au niveau de l'axe Seine, il serait intéressant d'aborder cet aspect par une double approche chimie/biologie de type Effect-Directed Analysis (EDA), ou analyse dirigée par les bio-essais qui a déjà été mise en œuvre pour caractériser la contamination de sédiments en France (Creusot *et al.*, 2013).

5.2 Bio-essais in situ sur le gammare *G. fossarum*

Contact particulier : A. Geffard (alain.geffard@univ-reims.fr)

Depuis une dizaine d'années, un effort soutenu a été mené pour le développement de biomarqueurs moléculaires et individuels chez une espèce d'un intérêt écologique fort, le gammare *Gammarus fossarum*. Ces travaux, basés sur l'étude d'une population de référence, se sont portés i) sur la caractérisation de réponses en lien avec l'acquisition de l'énergie (alimentation, activité digestive), la reproduction et un marqueur de neurotoxicité (activité de l'acétylcholinestérase AChE), incluant la définition de valeurs de référence et seuil pour chacune des réponses (Xuerab *et al.*, 2009 ; Coulaud *et al.*, 2011 ; Charron *et al.*, 2013) ainsi que ii) sur les conditions de mesure de ces biomarqueurs *in situ*, par la validation d'une approche active (Dedourge-Geffard *et al.*, 2009). L'ensemble de cette stratégie (multi-biomarqueurs et approche active) a été déployé pour l'évaluation de la qualité des eaux de l'axe Seine.

5.2.1 Matériel et méthodes

Exposition in situ

Les gammares utilisés pour les transplantations sont issus d'une population référence "La Tour du Pin" (E : 5°27'33" N : 45°34'10"). Les organismes adultes sont sélectionnés par un tamis de maille 2 et 2,5mm, et sont stockés dans des récipients avec de l'eau de la rivière. Au laboratoire les organismes sont gardés 15 jours à $12 \pm 0,5$ °C selon un cycle de 16h/8h (jour/nuit). Les gammares sont nourris *ad libitum* avec des feuilles d'aulne (*Alnus glutinosa*) récoltées dans une zone faiblement anthropisée, et préalablement placées pendant 6 jours, à température ambiante, dans les aquariums de stabulation. Des vers lyophilisés (*Tubifex* sp.) sont également distribués deux fois par semaine. Vingt-quatre heures avant la transplantation pour chacun des sites, 4 cylindres de polypropylène (longueur 10 cm, diamètre 5,5 cm) contenant 20 gammares chacun sont préparés. Dans chacun des cylindres, 20 disques de feuilles d'aulne de 20 mm de diamètre ont été ajoutés. Les cages contenant les gammares ont été transplantées durant 2 (enzymes, taux d'alimentation) ou 4 (marqueurs de la reproduction) semaines sur les sites de Marnay, Bougival et Triel, au cours de trois campagnes correspondant à trois saisons (automne 2011, été et hiver 2012). A l'issue de ces expositions les disques de feuilles sont récupérés pour l'estimation du taux d'alimentation, des gammares femelles sont analysés pour les stades de mue, le nombre d'ovocytes ou d'embryons alors que les gammares males sont utilisés pour les mesures d'activité des enzymes digestives et de l'AChE.

Activité acétylcholinestérase (AChE)

La méthode a été décrite dans les travaux de Xuereb *et al.* (2009). Brièvement, les pools de gammares (5 réplicats de 5 individus) ont été broyés au moyen d'un Ultra- Turrax® T25 basic (vitesse de 24 000 rpm pendant 35 s et à 4 °C) dans du tampon phosphate (0,1 M, pH 7,8) contenant 0,1 % de triton X100, selon un rapport poids/volume de 1/10. Les homogénats ainsi obtenus ont été centrifugés à 9 000 x g durant 15 min, à 4 °C. La mesure de l'activité a été réalisée en microplaques de 96 puits à fond plat (Greiner). Le milieu réactionnel est composé de 330 µl de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,8), 20 µl de DTNB (0,0076 M) et 20 µl de fraction S9. La réaction enzymatique est initiée par l'ajout de 10 µl d'ester de thiocholine. Cinq réplicats de mesure ont été effectués pour chaque échantillon testé. Durant chaque session de dosage, l'hydrolyse spontanée des substrats a été estimée par la réalisation d'un blanc sans S9. La présence, dans la fraction S9, de composés possédant des groupements thiols a systématiquement été évaluée au moyen de blancs sans ester de thiocholine. L'absorption du TNB formé au cours de la réaction a été enregistrée toutes les 60 s durant 10 min à 25 °C à l'aide d'un spectrophotomètre Safire® (TECAM). L'activité enzymatique est exprimée en nmol.min⁻¹ comme recommandé par Xuereb *et al.* (2009).

Acquisition d'énergie

L'acquisition de l'énergie est évaluée, d'une part, par la mesure du taux d'alimentation et, d'autre part, par la mesure de la capacité digestive.

Pour chaque réplicat, la surface des disques de feuilles a été mesurée avant et après leur mise en présence avec les gammares (2 semaines) au moyen d'un scanner Espon perfection 3490 PHOTO® et du logiciel d'analyse d'image SigmaScan® Pro v5.0 (Systat Software). Les taux d'alimentation ont été exprimés en surface de feuille consommée par gammare et par jour (mm².jour⁻¹.gammare⁻¹) et à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Taux d'alimentation}_t = \frac{\sum_{t=1}^D (S_{i,t} - S_{i,t-1}) / ((l_{i,t} + l_{i,t-1}) / 2)}{D} \times M$$

où t est le $t^{\text{ième}}$ temps de mesure et D est la période sur laquelle le taux d'alimentation est analysé ; S est la surface totale des disques d'un même lot ; l est le nombre de gammares vivants ; M est le facteur de conversion des pixels en millimètres².

Pour les enzymes digestives et les protéines totales, six pools de 3 gammares sont préparés par site et campagne. Le broyage des échantillons s'effectue dans un tampon Tris-HCl de 0,01 M à pH 7. Le volume de tampon est ajusté en fonction de la masse de tissus frais, à raison de 50 mg de tissus par mL de tampon utilisé. Pour broyer l'échantillon, trois billes en inox de 3 mm de diamètre sont placées dans chaque échantillon, qui est ensuite positionné dans un broyeur (Retsch) pour 2 minutes de broyage à une fréquence de 30 Hz. L'homogénat est ensuite centrifugé à 10 000 x g durant 10 minutes à 4 °C puis le surnageant obtenu est divisé pour le dosage des différentes enzymes digestives.

La mesure des activités des enzymes digestives sur le surnageant a été effectuée selon le protocole décrit par Palais *et al.* (2012) avec respectivement de l'amidon (1 %) et de la carboxyméthylcellulose (2 %) comme substrat pour l'amylase et la cellulase. L'activité de la trypsine est déterminée selon le protocole décrit par García-Carreño et Haard (1993), en utilisant comme substrat le N-Benzoyl-DL-arginine 4-nitroanilide hydrochloride (BAPNA, 3 mM). Chaque activité enzymatique est exprimée par µg de produit généré/min/mg de protéine. La quantité de protéines dans le surnageant est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) en utilisant le BSA (Bovine Serum Albumin) comme protéine standard.

Reproduction

Les paramètres biologiques de reproduction étudiés sont la mue, la fertilité et la fécondité. Pour la définition du stade de mue, les extrémités de la 3^{ème} et 4^{ème} paires de périopodes ont été sectionnées à l'aide de ciseaux de Wecker, placées entre lame et lamelle et observées au microscope (DM 2500[®], Leica, x 400). Les stades de mue ont été déterminés par l'observation des tissus. La fertilité est définie par la mesure du nombre d'ovocytes secondaires dans chaque ovaire. Les ovocytes sont comptés *in vivo* par transparence en observant les femelles sous une loupe binoculaire (grossissement x 30) (Geffard *et al.*, 2010). Concernant la fécondité, celle-ci est évaluée par la mesure du nombre d'embryons chez les femelles. Pour ceci, les embryons sont retirés du marsupium, déposés dans une goutte d'eau sur une lame de verre et comptés sous une loupe binoculaire (grossissement x 80). Le stade de développement embryonnaire est déterminé sur la base des critères définis chez *Gammarus pulex* (McCahon et Pascoe, 1988) et adaptés chez *Gammarus fossarum* par Geffard *et al.* (2010).

Traitement des données

Les résultats obtenus pour les différentes réponses biologiques seront intégrés dans une analyse de type IBR (Integrated Biological Response) selon la procédure décrite par Sanchez *et al.* (2013; IBRv2). Dans cette approche chaque réponse (X_i) est comparée à une valeur référence moyenne (X_0) suivie d'une transformation log pour réduire la variance (Y_i). Dans notre cas, nous avons choisi de considérer comme valeur référence moyenne, non pas les résultats issus du site le plus amont (Marnay) mais les valeurs basales établies préalablement avec notre population référence (Tour du Pin). Pour les différents biomarqueurs, ces valeurs basales prennent en considération, lorsque cela est nécessaire, l'influence de paramètres environnementaux globaux tels que la température (Xuereb *et al.*, 2009 ; Charron *et al.*, 2013). Les autres étapes du calcul restent identiques à celles présentées par Sanchez *et al.* (2013) définissant pour chaque réponse un indice de déviation du biomarqueur (A) par rapport à la référence ainsi qu'un indicateur intégré des différentes réponses (IBR) correspondant à la somme, en valeur absolue, des indices A des différents biomarqueurs.

5.2.2 Principaux résultats et discussion

Les résultats de la première campagne (Sept. 2011) sont présentés dans la **Figure 3.44**. Concernant le site de Marnay, les niveaux de réponse des activités des enzymes digestives et des marqueurs liés à la reproduction sont tout à fait similaires aux valeurs de références préalablement établies expliquant des valeurs individuelles de l'indice A proche de 0 pour ces paramètres. A l'inverse il est noté pour les organismes exposés sur le site de Marnay une induction du taux d'alimentation ($A > 1,5$) et de l'activité de l'acétylcholinestérase ($A > 1,5$). Bien que les données de la littérature décrivent généralement une inhibition de ces réponses, plusieurs études ont cependant observé une induction de ces réponses chez des organismes en lien avec une dégradation de la qualité de leur milieu de vie. Ceci conduit ainsi à un IBR de 5,97 pour le site de Marnay. Durant cette même campagne des inhibitions marquées des activités digestives ainsi que des effets toxiques sur les paramètres liés à la reproduction (retard de mue et nombre d'ovocyte pour Bougival ; retard de mue, nombre d'ovocyte et d'embryons pour Triel) ont été mis en évidence (**Figure 3.44**). Ceci se traduit par des indices IBR de 9,73 et 12,35 respectivement pour les sites de Bougival et Triel.

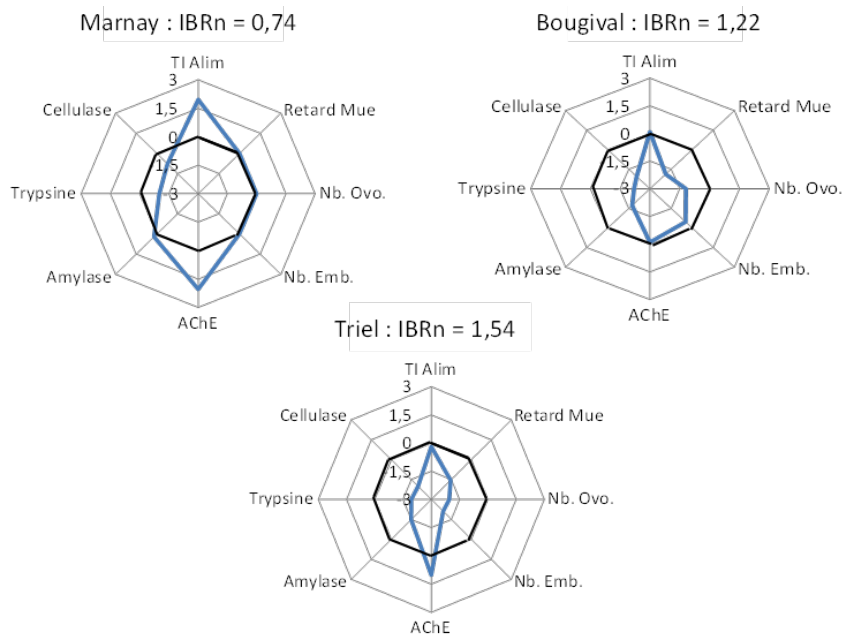


Figure 3.15 : Diagrammes en étoile obtenus à partir des différentes réponses biologiques mesurées chez les gammarus exposés 2 ou 4 semaines sur les sites de Marnay, Bougival et Triel lors de la campagne de Sept. 2011. Abréviations : Alim, taux d'alimentation ; Ret Mue, retard de mue ; Nb. Ovo, nombre d'ovocytes ; Nb. Emb, nombre d'embryons ; AChE, activité acétylcholinestérase ; et les activités des enzymes digestives (amylase, cellulase et trypsine)

Les indices IBR enregistrés durant cette campagne (Sept. 2011) traduisent un effet, gradué d'amont en aval de l'axe Seine, de la qualité des masses d'eau sur la physiologie des gammarus après 2 ou 4 semaines d'exposition. Sur les deux derniers sites, les effets particulièrement notés sur les mécanismes d'acquisition de l'énergie (capacité digestive) mais également sur la reproduction, peuvent suggérer des risques quant au maintien des individus voire de leur population. Ces résultats sont tout à fait en accord avec le degré d'exposition des organismes respectivement sur les différents sites comme cela a été souligné par les mesures de bioaccumulation (voir partie 3.3.1).

La **Figure 3.45** présente les indices intégrés issus des résultats obtenus sur l'ensemble des trois campagnes (automne 2011, été et hiver 2012). Les trois campagnes ont conduit à des résultats tout à fait similaires à ceux de la campagne de 2011 seule, soulignant l'induction de certaines réponses (taux d'alimentation et AChE) chez les organismes exposés à Marnay et les effets toxiques des masses d'eau sur les activités digestives et la reproduction pour les organismes exposés à Bougival et Triel. Les indices IBR calculés pour l'ensemble des trois campagnes sont tout à fait similaires à ceux des trois sites pour la campagne de 2011 seule, et traduisent toujours le gradient amont-aval de la qualité des masses d'eau de l'axe Seine sur la physiologie des gammarus.

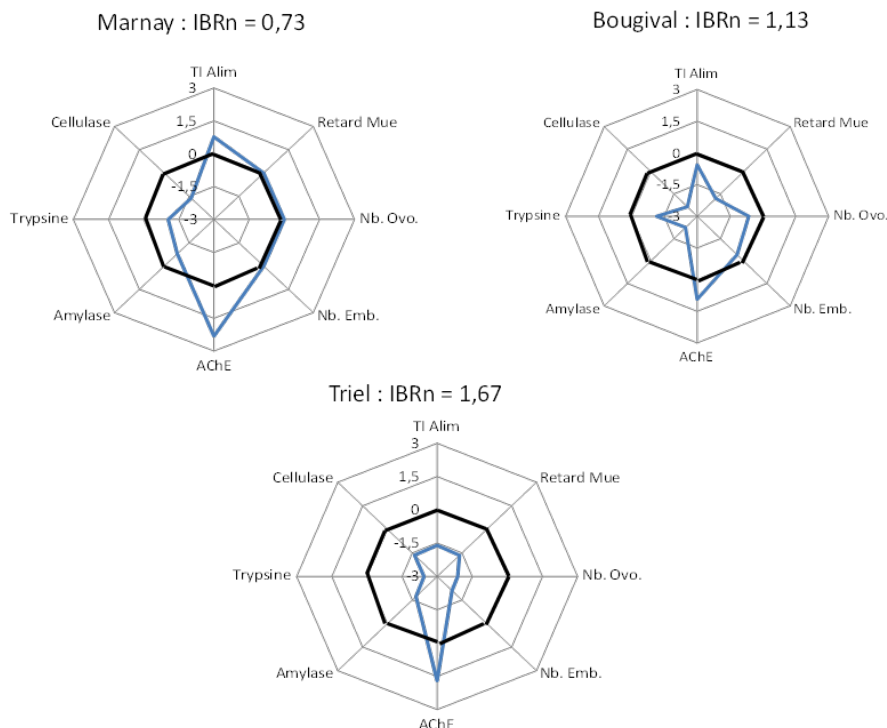


Figure 3.16 : Diagrammes en étoile obtenus à partir des différentes réponses biologiques mesurées chez les gammarus exposés 2 ou 4 semaines sur les sites de Marnay, Bougival et Triel sur les trois campagnes (automne 2011, été et hiver 2012). Abréviations : Alim, taux d'alimentation ; Ret Mue, retard de mue ; Nb. Ovo, nombre d'ovocytes ; Nb. Emb, nombre d'embryons ; AChE, activité acétylcholinestérase ; et les activités des enzymes digestives (amylase, cellulase et trypsine)

5.2.3 Conclusion

L'utilisation de biomarqueurs mesurés chez des gammarus dans le cadre d'une approche active apparaît être une démarche tout à fait pertinente pour évaluer, classer la qualité de masses d'eau, et étudier la variabilité saisonnière de la toxicité.

Pour les sites de Bougival et Triel, les effets observés révèlent une toxicité avérée du milieu sur les fonctions d'alimentation, de reproduction, ainsi que sur la régulation endocrine. Les différentes analyses ont permis de mettre en évidence un certain effet saisonnier en termes de type et de niveau de réponse.

En effet, au cours de la campagne d'automne 2011, seul de forts effets reprotoxiques ont été observés. Pour les deux autres campagnes (été et hiver 2012), la fonction d'alimentation est altérée avec une dégradation plus importante en Déc. 2012 (l'inhibition est supérieure à 80 % pour la campagne hivernale alors qu'elle ne dépasse pas les 50 % pour la campagne estivale). En revanche, les perturbations concernent également une diminution de la fertilité et de la fécondité à Triel au cours de la campagne d'été 2012. L'effet saisonnier témoigne ainsi d'une variabilité de la toxicité du milieu entre les 3 campagnes.

Par ailleurs, l'impact mis en évidence sur les fonctions de reproduction suggère un risque potentiel pour le maintien des populations et des fonctions écologiques associées à ces espèces. Cependant, pour améliorer la représentativité écologique de ces mesures ainsi que leur interprétation sous la forme d'un indice (IBR), il est nécessaire de préciser la représentativité de la population unique de gammarus utilisée pour comparer les sites vis-à-vis des populations autochtones pouvant présenter des critères d'adaptation aux différentes conditions stressantes de leur milieu de vie.

5.3 Réponses des communautés microbiennes

5.3.1 Réponses des biofilms périphytiques face à pression métallique

Contact particulier : L. Fechner (lise.fechner@irstea.fr) – Approche PICT

F. Petit (fabienne.petit@univ-rouen.fr) – Gènes de résistance aux ETM

Cette action a pour objectif de comparer les mécanismes d'adaptation aux métaux traces des communautés microbiennes de biofilms et de sédiments.

La Directive Cadre Européenne sur l'Eau (DCE 2000/60/CE) vise à atteindre un bon état écologique des masses d'eau, en évaluant les niveaux et l'impact écologique de cette contamination. Dans ce contexte, les biofilms microbiens des rivières ou périphyton s'avèrent des modèles d'étude appropriés, pour étudier l'adaptation de ces communautés exposées chroniquement à la contamination chimique.

L'objectif des travaux de l'ANR est de caractériser les mécanismes d'adaptation des communautés périphytiques exposées à une contamination métallique. L'acquisition de tolérance des communautés microbiennes aux métaux traces a été étudiée *i*) par approche PICT qui mesure l'inhibition par les métaux de l'activité β -glucosidase caractéristique de la composante microbienne hétérotrophe, *ii*) par l'évaluation de l'occurrence et l'expression de gènes bactériens conférant la résistance aux métaux traces et, *iii*) par l'étude de la diversité microbienne totale, après séquençage à haut débit (Illumina) de la région V3-V4 du gène codant l'ARNr 16S.

Matériel et méthodes

Approche PICT

Sur les mêmes échantillons de biofilms naturels de rivière collectés pour l'étude de la bioaccumulation des ETM, la tolérance des biofilms au Cu, Ni, Pb et Zn a été mesurée par une approche PICT (Pollution-Induced Community Tolerance), développée sur un test de toxicité à court terme basé sur l'activité bêta-glucosidase (Fechner *et al.*, 2010).

Etude des gènes de résistance aux ETM chez les communautés bactériennes du biofilm et des sédiments

Les mécanismes de résistance ciblés au cours de ces travaux correspondent aux gènes *czcA* (cobalt, zinc et cadmium) et *silA* (argent) codant pour des pompes HME-RND; le gène *cadA* (cadmium) codant pour une pompe de type P1B-ATPase ; et le gène *merA* des *Actinobacteria* et β/γ *Proteobacteria* qui confère la résistance au mercure, après le changement de spéciation de l'ion mercurique.

Dans le cadre de l'ANR Sequadapt, le travail a été effectué sur des biofilms prélevés le long d'un gradient d'anthropisation (Marnay, Triel, Bougival), au cours de quatre campagnes (09/11, 04/12, 07/12, et 12/12) et sur des biofilms (Marnay) exposés en laboratoire (conditions contrôlées) à une contamination mono- et multi-métallique (Cd et/ou Zn). De manière complémentaire et dans le cadre de la phase 6 du programme PIREN-Seine (Axe 4), nous avons également travaillé avec des sédiments qui ont été prélevés au cours des mêmes campagnes sur les mêmes sites. Cette approche permettra de comparer la réponse de deux communautés microbiennes du compartiment aquatique (périphyton et sédimentaire) exposées aux mêmes contaminants.

Principaux résultats et discussion*Mesure de la tolérance aux ETM par l'approche PICT*

Globalement, les niveaux de tolérance augmentent depuis le site en amont vers le site en aval de Paris (**Tableau 3.15**), reflétant ainsi, d'une part le gradient de pollution métallique mesurée dans les eaux de la rivière sur les trois sites, d'autre part les concentrations en ETM accumulés dans les biofilms. Par ailleurs, la tolérance au Cu tend à augmenter pendant les saisons chaudes, mais aucune tendance saisonnière ne se dégage clairement pour le Ni, le Pb et le Zn, et aucun lien n'a pu être établi avec la bioaccumulation en ETM dans les biofilms.

Tableau 3.5 : EC50 normalisée en mg ETM / g de MES (EC50/MES ± IC95%) et pourcentages maximum d'inhibition (%max) obtenus pour chaque test de toxicité réalisé sur les biofilms échantillonnés sur les 3 sites. Pour le pourcentage d'inhibition maximal, les bornes des intervalles de confiance 95% sont indiquées entre crochets et les valeurs supérieures à 100% sont remplacées par 100. Nd : non déterminé

ETM	Campagne	Réponse biologique	Marnay	Bougival	Triel
Cu	Automne 2011	EC50/MES	0.93 ± 0.28	4.58 ± 1.05	2.42 ± 0.52
		% max	97.42 [94.36 - 100]	100 [99.52 - 100]	97.79 [97.09 - 98.69]
	Printemps 2012	EC50/MES	1.40 ± 0.30	1.01 ± 0.29	1.90 ± 0.42
		% max	98.61 [95.64 - 100]	94.39 [88.60 - 98.68]	92.25 [91.55 - 93.57]
	Eté 2012	EC50/MES	1.65 ± 0.17	7.20 ± 2.04	5.76 ± 3.43
		% max	98.40 [96.91 - 100]	95.10 [92.58 - 96.83]	93.32 [92.61 - 95.37]
	Hiver 2012	EC50/MES	nd	nd	1.50 ± 1.15
		% max	nd	nd	74.56 [67.04 - 82.20]
Ni	Automne 2011	EC50/MES	6.85 ± 2.95	12.31 ± 2.75	16.02 ± 8.72
		% max	76.69 [72.25 - 83.78]	81.63 [77.62 - 85.06]	90.30 [81.10 - 100]
	Printemps 2012	EC50/MES	nd	nd	10.03 ± 2.70
		% max	nd	nd	66.76 [63.57 - 72.37]
	Eté 2012	EC50/MES	6.13 ± 1.28	18.85 ± 3.42	11.63 ± 3.82
		% max	92.86 [88.64 - 96.52]	85.98 [82.18 - 90.09]	72.38 [69.29 - 76.52]
	Hiver 2012	EC50/MES	19.68 ± 7.83	6.80 ± 3.95	11.64 ± 6.77
		% max	71.48 [67.54 - 81.46]	44.88 [40.63 - 51.68]	42.65 [38.89 - 47.88]
Pb	Automne 2011	EC50/MES	45.53 ± 10.20	67.91 ± 11.63	147.40 ± 57.81
		% max	67.66 [64.94 - 70.58]	79.21 [76.17 - 82.39]	93.98 [93.32 - 94.66]
	Printemps 2012	EC50/MES	nd	46.76 ± 14.86	39.09 ± 5.33
		% max	nd	88.46 [84.17 - 94.12]	70.94 [69.36 - 72.27]
	Eté 2012	EC50/MES	34.33 ± 3.24	46.26 ± 6.04	75.35 ± 43.52
		% max	96.21 [95.36 - 97.13]	86.37 [83.58 - 88.39]	85.36 [81.90 - 88.67]
	Hiver 2012	EC50/MES	nd	86.70 ± 54.80	94.31 ± 63.84
		% max	nd	36.54 [29.73 - 39.77]	38.69 [33.02 - 43.88]
Zn	Automne 2011	EC50/MES	2.25 ± 0.71	53.22 ± 3.59	4.27 ± 1.25
		% max	85.94 [83.63 - 88.28]	82.89 [82.23 - 83.38]	82.33 [79.03 - 85.48]
	Printemps 2012	EC50/MES	nd	1.08 ± 0.37	2.58 ± 1.22
		% max	nd	99.23 [97.33 - 100]	83.50 [78.66 - 90.14]
	Eté 2012	EC50/MES	1.81 ± 0.18	7.74 ± 0.90	4.85 ± 1.04
		% max	100	95.37 [93.26 - 97.88]	92.78 [90.41 - 95.41]
	Hiver 2012	EC50/MES	23.49 ± 4.12	nd	nd
		% max	64.19 [62.45 - 66.56]	nd	nd

Ainsi, la tolérance du biofilm aux métaux est révélatrice du niveau de contamination du milieu. Toutefois, la température semble être une variable environnementale importante qui façonne la structure des communautés microbiennes et la réponse à l'exposition toxique. Ces résultats tendent donc à démontrer que la date d'échantillonnage constitue un paramètre important à considérer dans l'utilisation de biofilms de rivière dans l'évaluation des impacts de pressions urbaines.

Mécanismes de résistances : occurrence et expression de gènes de résistance aux ETM

Les résultats présentés dans ce rapport correspondent à des actions complémentaires aux travaux réalisés dans le cadre de l'ANR Sequadapt.

Les expérimentations en laboratoire (expositions contrôlées) montrent une acquisition de tolérance au Cd et Zn pour les communautés hétérotrophes du périphyton exposées simultanément aux deux métaux. Au sein de ces biofilms, le gène *czcA* est exprimé et la diversité microbienne est modifiée avec une augmentation de l'abondance des *Burkholderiales*, *Cytophagales* et *Sphingobacteriales*.

Au sein des communautés microbiennes de biofilms prélevés *in situ*, une tolérance au Cd et Zn est observée par approche PICT avec des niveaux de tolérance plus importants pour les communautés microbiennes de Bougival/Triel comparativement au site moins anthropisé de Marnay (voir partie 3.4.3.1.2). Tous les gènes de résistance ont été détectés mais seuls les gènes *silA* et *czcA* sont exprimés, suggérant une sélection de bactéries résistantes en réponse à une exposition chronique à des seuils toxiques en Ag, Zn, Co ou Cd.

Pour les sédiments de surface, l'occurrence des gènes de résistance aux métaux traces a été montrée pour tous les échantillons à l'exception des gènes *cadA* et *merA* d'*Actinobacteria* (Figure 3.46). La quantification des gènes correspondants est en cours. Bien que présents au sein des communautés microbiennes des sédiments, ces gènes ne s'expriment pas à l'exception du gène *silA* pour les échantillons de Triel (07/12) et Marnay (12/12).

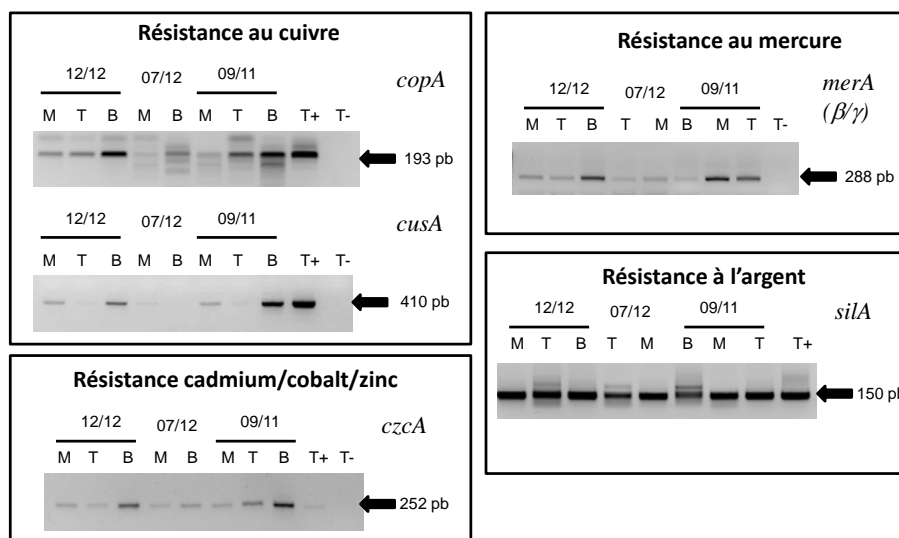


Figure 3.17 : Détection des gènes de résistance aux métaux traces au sein des communautés microbiennes des sédiments le long de l'axe Seine (M, Marnay ; B, Bougival ; T, Triel)

Conclusion

L'ensemble des résultats montre que les communautés microbiennes du périphyton s'adaptent à une exposition chronique à des métaux *in situ*, notamment après l'acquisition et l'expression de gènes de

résistance aux métaux traces. L'expression de ces gènes n'a pas été confirmée pour les communautés microbiennes des sédiments suggérant que les mécanismes d'adaptation aux métaux traces ne sont pas identiques à ceux identifiés pour les microorganismes du périphyton. Des travaux ont déjà montré que la diversité spécifique des communautés microbiennes des sédiments de surface était différente de celle des microorganismes présents dans la colonne d'eau en Seine, et ont été confirmés par les travaux réalisés dans le cadre de la phase 6 du PIREN (voir partie 3.4.3.2). Dans ces dépôts de sédiment récent, il est également possible que les microorganismes n'aient pas encore été exposés à des seuils toxiques en métaux traces ; ce qui pourrait à nouveau expliquer l'absence de l'expression de gènes de résistance aux métaux. Dans les sédiments non consolidés d'eau douce, zones de dépôt de particules en suspension, les métaux pourraient être sous une forme non biodisponible car associés à des complexes organo-minéraux ; cette biodisponibilité pourra être évaluée par les résultats issus des tests de toxicité.

Les premières analyses de diversité des périphytons exposés en microcosme montrent une modification de la diversité spécifique avec une sélection d'espèces connues pour se développer dans des milieux contaminés (*Burkholderia*). Dans le cadre de l'ANR Sequadapt, l'étude de la diversité spécifique des biofilms prélevés *in situ* permettra de déterminer si le niveau d'exposition chronique s'est traduit aussi par l'émergence de ces genres bactériens et donc s'il existe une empreinte génétique (espèces) indicatrice qui serait le reflet de la contamination métallique.

5.3.2 Structure des communautés bactériennes dans la colonne d'eau et les sédiments et corrélation avec les paramètres physico-chimiques et les niveaux de contamination

Contact particulier : I. George (igeorge@ulb.ac.be)

Les pollutions chimiques affectent les différents niveaux trophiques des écosystèmes, y compris le compartiment bactérien. Dans ce projet, nous avons donc évalué l'impact des polluants organiques et minéraux sur la structure des communautés microbiennes de la colonne d'eau et des sédiments de la Seine. Notre objectif est de déterminer si des corrélations entre les concentrations en polluants et la composition du compartiment bactérien pouvaient être trouvées en Seine démontrant ainsi que les polluants avaient un impact sur la composition du compartiment microbien des eaux et sédiments de la Seine, et donc sur les cycles biogéochimiques régis par l'activité bactérienne.

Matériel et méthodes

Echantillonnage d'eau et de sédiments de la Seine

Lors des 3 campagnes d'échantillonnage (C1 : 26/09/2011, C3 : 03/07/2012, et C4 : 11/12/2013), des échantillons d'eau de Seine ont été prélevés en triplicats au seau (500 à 1000 ml) et filtrés sur des membranes Cyclo-pore de 0,2 µm de porosité. Des échantillons de sédiments ont été prélevés en triplicats à la louche (0-10 cm de profondeur, 1 g). Les filtres et les échantillons de sédiments ont été à -80 °C avant extraction de l'ADN. En parallèle, des échantillons d'eau et de sédiments ont été fixés dans du formol 2 % final et conservés à 4 °C pour les estimations d'abondance microbienne.

Estimation de l'abondance bactérienne par microscopie à épifluorescence

Les cellules procaryotiques ont été comptées en microscopie à épifluorescence, après filtration des échantillons sur membrane Millipore Millex®-GV noire (diamètre des pores : 0,22 µm) et coloration des échantillons au DAPI (4',6'-diamidino-2-phénylindole)⁶ à 5 µg/ml (concentration finale). Les échantillons de sédiment ont été préalablement soumis à un protocole de décrochage des bactéries de la matrice minérale : 3 fois 1 min à 60 W.

⁶ Colorant intercalant de l'ADN double brin

Extraction de l'ADN

L'ADN de la plupart des échantillons a été extrait suivant un protocole « classique » d'extraction au phénol-chloroforme-alcool isoamylique, après une étape de lyse des cellules en présence de lysozyme, mutanolysine et sodium dodécyl sulfate. L'ADN des échantillons de sédiments de juillet 2012 et d'eau et de sédiments de décembre 2012 a par contre été extrait à l'aide de kits MoBio (PowerSoil DNA Isolation et PowerWater DNA Isolation). Ces kits permettent d'extraire rapidement un ADN de plus grande pureté, mais en moindre quantité. Un léger biais en termes de diversité bactérienne (moindre avec les kits) et de genres bactériens représentés a été observé en comparant le protocole « classique » et les kits sur quelques échantillons (résultats non détaillés ici).

Séquençage et analyse des pyroséquences

Les échantillons ont été pyroséquencés (technologie « 454 » ; Margulies *et al.*, 2005) par la firme Research and Testing Laboratories (Lubbock, Texas), après amplification par PCR d'un fragment du gène codant pour l'ARNr16S à l'aide des amorces 28F-519R (28F: 5'-GAG TTT GAT YMTGGC TC et 519R: 5'-GWA TTA CCG CGG CKG CTG). Les séquences obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel MOTHUR (Schloss *et al.*, 2009). Les séquences trop courtes, chimériques, dont le signal était trop proche du bruit de fond ou présentant des mésappariements au niveau des amorces ont été éliminées (ce qui représentait 30 à 50 % des séquences par échantillon). Les séquences restantes (1 700 à 13 400 en fonction des échantillons) ont été regroupées par le logiciel en taxons OTU_{0,03} (« Operational taxonomic units »), c'est-à-dire en groupes de séquences partageant au moins 97 % d'identité génétique. Pour calculer les indicateurs de diversité, nous avons considéré le plus petit dénominateur commun aux échantillons, soit 1 700 pyroséquences par échantillon (choisies aléatoirement par MOTHUR).

Afin de déterminer l'affiliation phylogénétique des séquences des différents échantillons, celles-ci ont été comparées à la base de données SILVA (<http://www.arb-silva.de/>) jusqu'au niveau du genre (groupes de séquences partageant au moins 95 % d'identité). Il est en effet déconseillé de faire de la phylogénie au-delà du genre quand on travaille sur un petit fragment du gène codant pour l'ARNr16S et non sur le gène entier.

A l'aide du logiciel PRIMER v6, la structure des communautés bactériennes (nombre et abondance relative des OTU_{0,03}) a été comparée entre échantillons par le calcul d'un coefficient de dissimilarité de Bray-Curtis, après transformation des données à la racine carrée. Ce coefficient permet d'évaluer la dissimilarité entre deux échantillons, en termes d'abondance d'espèces présentes dans chaque échantillon. La matrice X résultant de la comparaison des échantillons deux à deux a servi de base à la représentation graphique de ces dissimilarités sous forme de dendrogramme ou de graphe « Non-metric MultiDimensional Scaling » (NMDS). Le dendrogramme permet de repérer rapidement des groupes d'échantillons plus-ou-moins similaires entre eux. Dans un graphe NDMS, chaque échantillon est représenté par un point ; plus la structure de sa communauté bactérienne est différente d'un autre échantillon, plus les deux points seront éloignés.

En parallèle *et uniquement pour le compartiment eau*, les valeurs des paramètres physico-chimiques (température, pH, concentration en micropolluants etc.) ont été transformées à la racine carrée et normalisées avant de servir de base au calcul d'une matrice basée sur des distances euclidiennes. Les rangs des deux matrices ont été comparés via le coefficient de corrélation des rangs de Spearman. L'objectif était de lier la structure des communautés bactériennes aux paramètres environnementaux. La représentation de telles corrélations se fait dans les graphes NMDS sous forme de vecteurs (un vecteur = une variable environnementale) : la position de chaque vecteur est calculée de manière à ce qu'il pointe vers les échantillons pour lesquels la valeur de sa variable environnementale est supérieure à la moyenne des valeurs de cette variable pour l'ensemble des échantillons. Plus le vecteur est long, plus la corrélation entre la variable environnementale et la distribution des échantillons est bonne. Afin d'alléger les graphes, nous avons choisi de ne pas représenter les vecteurs trop courts, i.e. ceux pour lesquels la valeur du coefficient de Spearman était inférieure à une valeur seuil (précisée sur chaque figure).

Une approche similaire a été suivie pour représenter la corrélation de certains vecteurs « biotiques » (phyla, genres) à la distribution des échantillons. Dans ce but, une 3^e matrice a été calculée sur base de l'abondance relative des différents phyla (ou genres) après transformation des données à la racine carrée. Les rangs de

cette matrice ont été comparés avec ceux de la matrice X via le coefficient de corrélation de Spearman. Les phyla (ou genres) les mieux corrélés à la distribution des échantillons ont été représentés sur le graphe NMDS.

Principaux résultats et discussion

Abondances microbiennes dans l'eau et les sédiments de la Seine

Lors des 3 campagnes d'échantillonnage, nous avons observé des abondances de microorganismes variant de 3,27 à 34,1 milliards de cellules par litre d'eau, soit en moyenne, 10,6 milliards de cellules par litre (**Figure 3.47**). A chaque station, les abondances étaient nettement supérieures en décembre 2012, quand le débit de la Seine était le plus élevé (178, 273, 537 m³/sec à Vernon en octobre 2011, juillet 2012 et décembre 2012, respectivement ; données : GIP-Seine Aval), ce qui suggère une remise en suspension plus importante de bactéries adsorbées aux particules minérales lors de cette campagne. Les abondances microbiennes dans les sédiments étaient très variables (de 160 milliards à 6 110 milliards de cellules par kg de sédiment ; soit en moyenne, 2 036 milliards cellules/kg sédiment), et en moyenne environ 200 fois supérieures à celles de la colonne d'eau à unité de masse égale.

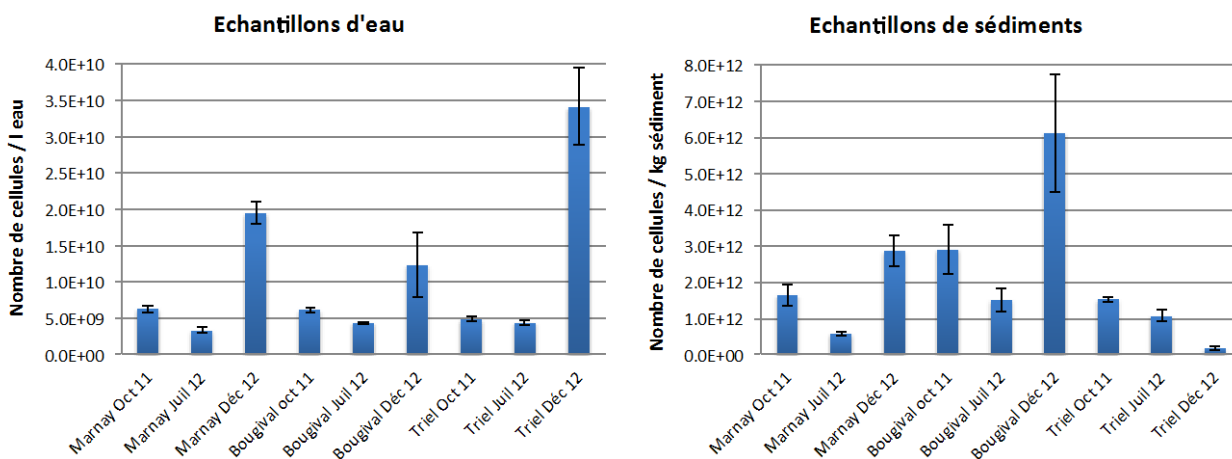


Figure 3.18 : Abondances microbiennes dans l'eau et les sédiments de Marnay, Bougival et Triel lors des 3 campagnes d'échantillonnage. Les barres d'erreur correspondent à des triplicats de comptages

Richesse spécifique des échantillons

La **Figure 3.48** présente le nombre de taxons (OTU_{0.03}) observés dans nos échantillons (parmi 1 700 pyroséquences) et le nombre estimé à l'aide de l'estimateur ACE (« abundance-based coverage estimator » ; Chao et Lee, 1992). La richesse en OTU_{0.03} était très nettement supérieure dans les sédiments par rapport à la colonne d'eau. Cette tendance peut s'expliquer par une plus grande hétérogénéité des sédiments par rapport au milieu aqueux en termes de gradients physico-chimiques.

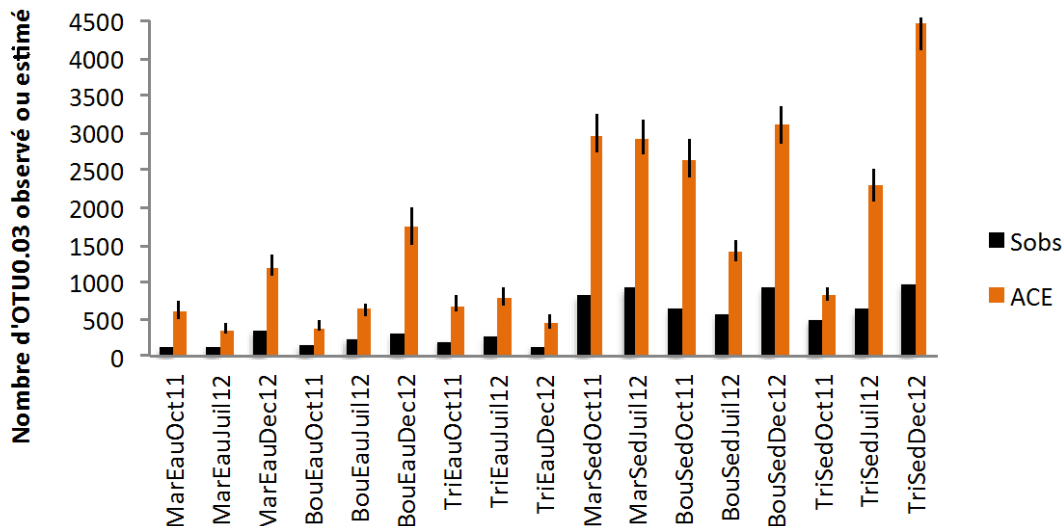


Figure 3.19 : Richesse en OTU_{0.03} (observée en noir ; estimée en orange) dans la Seine à Marnay (Mar), Bougival (Bou) et Triel (Tri) lors des 3 campagnes d'échantillonnage. Eau, bactéries de la colonne d'eau ; Sed, bactéries du sédiment. Les barres verticales noires représentent les intervalles de confiance à 95 %

La richesse en taxons des échantillons était globalement corrélée aux abondances microbiennes (**Figure 3.49**). Enfin, la richesse en taxons ne semblait ni diminuer, ni augmenter de manière récurrente le long de l'axe Marnay-Bougival-Triel, quel(le) que soit la campagne ou le type d'échantillon (eau *versus* sédiments). Par exemple, nous n'avons pas observé d'« enrichissement » en espèces lors du passage de l'agglomération parisienne.

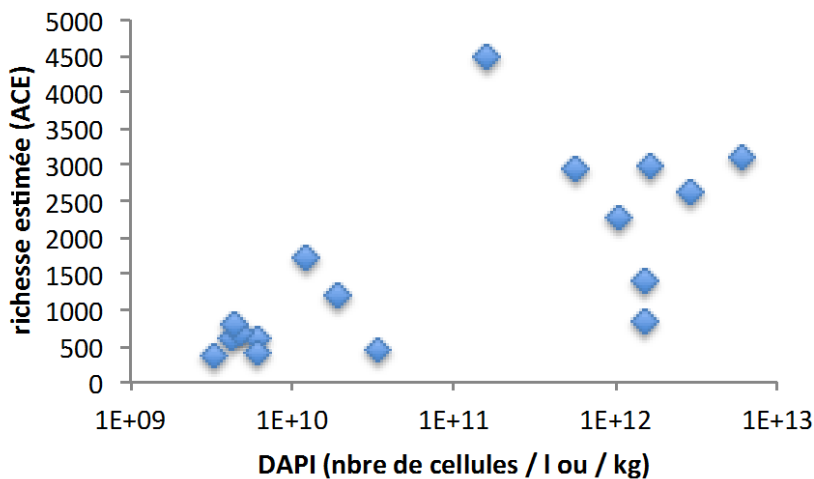


Figure 3.20 : Corrélation entre la richesse OTU_{0.03} estimée et le nombre de cellules procaryotiques (échelle logarithmique) comptées par microscopie à épifluorescence dans les mêmes échantillons d'eau ou de sédiment

(Dis)similarité de la structure des communautés bactériennes le long de l'axe Marnay-Bougival-Triel

La dissimilarité de structure des communautés bactériennes (nombre et abondance relative des différents OTU_{0,03}) entre échantillons a été représentée sous forme de dendrogramme (**Figure 3.50**) ou de graphe NMDS (**Figures 3.51** et **3.52**). Deux échantillons manquent dans l'étude : le sédiment de Marnay de décembre 2012 en raison d'un problème d'extraction d'ADN, et l'eau de Triel de décembre 2012, éliminé de l'étude en raison d'une composition phylogénétique tout-à-fait anormale (résultats non présentés ici).

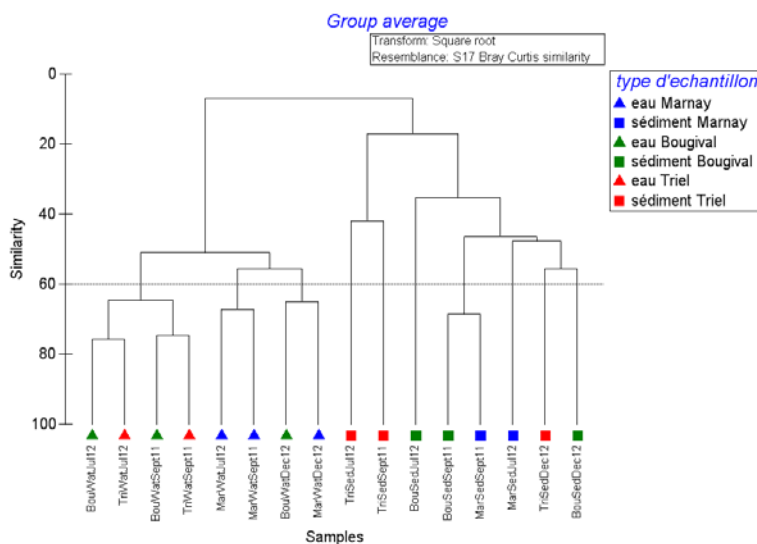


Figure 3.21 : Dendrogramme de similarité de la structure des communautés bactériennes dans les différents échantillons d'eau (« Wat ») et de sédiment (« Sed ») collectés à Marnay (Mar), Bougival (Bou) et Triel (Tri) aux 3 campagnes d'échantillonnage (septembre 2011, juillet 2012 et décembre 2012)

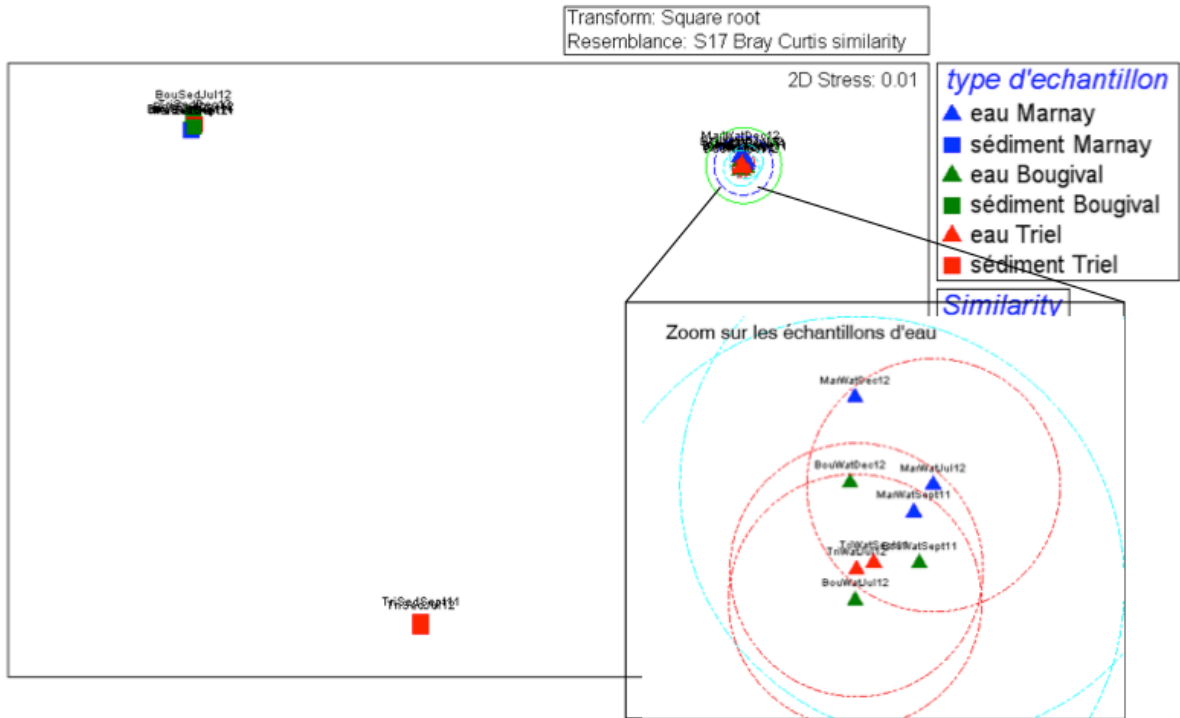


Figure 3.22 : Représentation graphique « non-metric multidimensional scaling » en 2D de la (dis)similarité entre communautés bactériennes des différents échantillons. Plus deux points sont proches, plus la structure de leurs communautés bactériennes est similaire

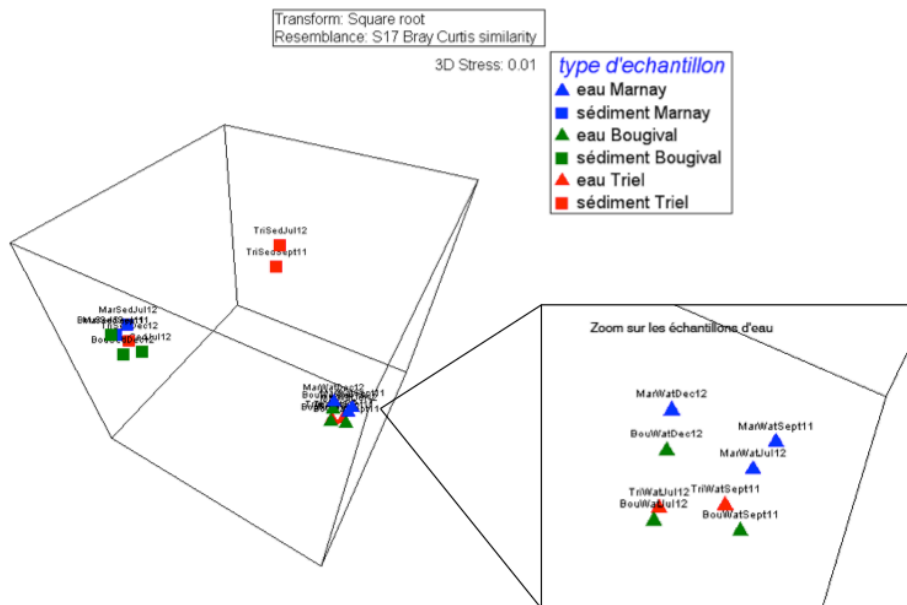


Figure 3.23 : Représentation graphique « non-metric multidimensional scaling » en 3D de la (dis)similarité entre communautés bactériennes des différents échantillons. Plus deux points sont proches, plus la structure de leurs communautés bactériennes est similaire

Très clairement, les échantillons d'eau et de sédiments formaient des groupes séparés (**Figure 3.50**). Les échantillons d'eau étaient plus similaires entre eux que ne l'étaient les échantillons de sédiments. En effet, deux sous-groupes d'échantillons de sédiments sont visibles sur la **Figure 3.50**.

L'analyse des **Figures 3.51** et **3.52** aboutit aux mêmes conclusions : tous les échantillons d'eau formaient un groupe bien distinct. Les échantillons de sédiments quant à eux formaient 2 sous-groupes distincts (2 échantillons de Triel *versus* tous les autres échantillons). Si l'on compare les différentes campagnes, c'est à Marnay que la structure des communautés bactériennes dans l'eau et les sédiments variait le moins dans le temps et à Triel qu'elle variait le plus, après que les eaux de la Seine aient traversé l'agglomération parisienne et aient été mélangées à celle de la Marne et de l'Oise.

Composition phylogénétique des communautés bactériennes de l'eau et des sédiments de la Seine le long de l'axe Marnay-Bougival-Triel

Les groupes phylogénétiques présents dans les échantillons d'eau et de sédiments de la Seine ont été déterminés en comparant les pyroséquences à la base de données SILVA à l'aide du logiciel MOTHUR. L'analyse a été faite au niveau du phylum, de la classe, de l'ordre, de la famille, et du genre. Seuls les résultats au niveau du phylum (excepté pour les *Proteobacteria*, où nous avons spécifié les différentes classes) et du genre seront présentés dans ce rapport. Les phyla représentant plus de 0,1 % de l'ensemble des pyroséquences (tous échantillons confondus) sont présentés sur la **Figure 3.53** ; les genres les plus abondants représentant ensemble 95 % des pyroséquences sont présentés sur la **Figure 3.55** et détaillés plus loin.

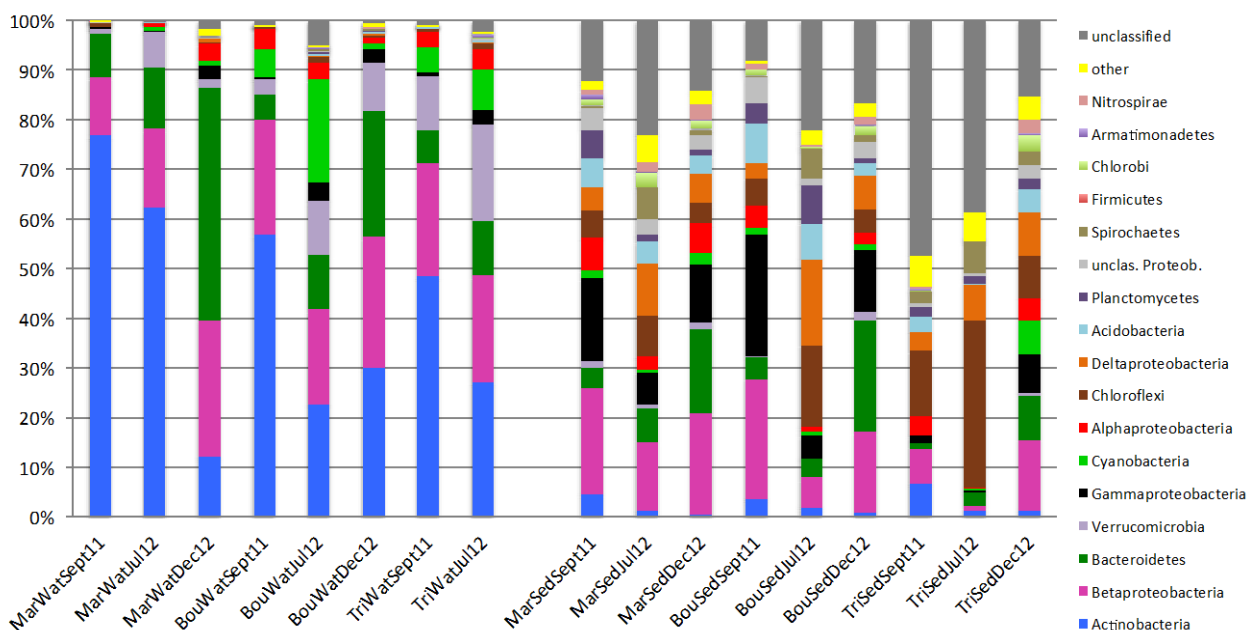


Figure 3.24 : Composition phylogénétique (au niveau du phylum) des communautés bactériennes des échantillons d'eau (« Wat ») et de sédiment (« Sed ») le long de l'axe Marnay-Bougival-Triel aux 3 campagnes d'échantillonnage (septembre 2011, juillet 2012 et décembre 2012). Les phyla représentant < 0,1% de l'ensemble des pyroséquences ont été groupés dans la catégorie « other » (autres)

Les échantillons d'eau étaient dominés par 4 à 5 phyla/classes: *Actinobacteria* (aussi appelé « Actinomycètes » ; groupe très diversifié et ubiquiste de bactéries principalement hétérotrophes), β -*Proteobacteria* (groupe très diversifié au niveau métabolique, comprenant de nombreuses bactéries hétérotrophes, bien représenté dans les eaux douces), *Bacteroidetes* (groupe de bactéries spécialisées dans la

dégradation de matière organique complexe comme les polymères de plantes), *Verrucomicrobia* (groupe de bactéries hétérotrophes mal caractérisé) et *Cyanobacteria* (bactéries photosynthétiques). Le phylum des *Bacteroidetes* était plus abondant dans les échantillons de décembre 2012 qu'aux autres campagnes (dû à un plus grand lessivage du bassin versant ?). La composition phylogénétique des sédiments était très différente de celle de l'eau, avec d'avantage de phyla bien représentés: β -*Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, γ - et α -*Proteobacteria* (deux classes de bactéries très diversifiées au niveau métabolique), *Chloroflexi* (groupe de bactéries telluriques, souvent bien représenté dans les milieux anaérobies), δ -*Proteobacteria* (groupe de bactéries anaérobies, incluant des bactéries sulfato-réductrices), *Acidobacteria* (groupe de bactéries telluriques) et *Planctomycetes* (bactéries typiques des sédiments dulcicoles et marins). Entre 8 % et 47 % des pyroséquences n'ont pas pu être classifiées au niveau du phylum (« unclassified »), ce qui pourrait être dû à la sous-représentation des bactéries des sédiments d'eau douce (un environnement relativement peu étudié) dans les bases de données phylogénétiques.

Lesquels de ces phyla expliquaient le mieux la dissimilarité des communautés bactériennes de la colonne d'eau ?

Les vecteurs représentant les phyla les mieux corrélés à la distribution des échantillons d'eau sont présentés sur le graphe NMDS (**Figure 3.54** ; il s'agit du même graphe que la **Figure 3.51**, mais sans les échantillons de sédiment). On a observé sur ce graphe que les échantillons Marnay se positionnaient séparément des échantillons Bougival et Triel. Cinq phyla étaient bien corrélés à cette disposition et certains pointaient vers des échantillons précis (ex : les *Chloroflexi* vers Bougival et Triel juillet 2012). Ces vecteurs correspondaient aussi bien à des taxons dominants (**Figure 3.53**) dans la composition des communautés bactériennes de l'eau (ex : β -*Proteobacteria*, *Bacteroidetes*) qu'à des taxons peu représentés (ex : *Chloroflexi*, δ -*Proteobacteria*, *Firmicutes*). La dissimilarité des communautés ne s'expliquait donc pas uniquement par une différence d'abondance relative des taxons dominants.

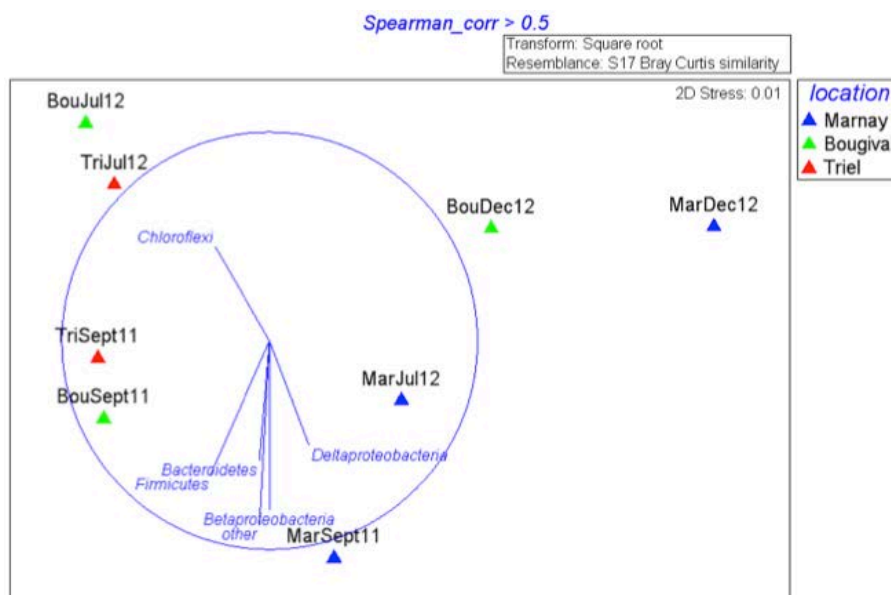


Figure 3.25 : Représentation graphique NMDS en 2D de la (dis)similarité entre communautés bactériennes des échantillons d'eau. Seuls les vecteurs « phyla » les mieux corrélés à la distribution spatiale de ces communautés sont représentés (seuil du coefficient de Spearman choisi égal à 0,5). Le cercle correspond à une valeur du coefficient de Spearman égale à 1

Au niveau des genres, il est remarquable de constater que la colonne d'eau de Seine aux différentes stations était dominée par un genre non caractérisé d'Actinobactéries (A, **Figure 3.55**) représentant 10 % à 73 % des pyroséquences. Celui-ci appartient à la famille ACK-M1, qui est composée de très petits vibrions planctoniques à stratégie de vie oligotrophe. Quelques autres genres étaient bien représentés (**Figure 3.55**) : *Limnohabitans* (β -Proteobacteria d'eau douce, B) ; un genre non caractérisé de *Verrucomicrobia* (C), *Flavobacterium* (*Bacteroidetes* d'eau douce, D), *Arcicella* (*Bacteroidetes* de rivières et d'eau du robinet, E). Dans les sédiments, nous avons observé une plus grande diversité de genres, dont un petit nombre dominaient la communauté bactérienne de certains échantillons : un genre d'un phylum inconnu (F) ; un genre non caractérisé de *Bacteroidetes* (G) ; un genre non caractérisé de *Sinobacteraceae* (γ -Proteobacteria, H), qui est une famille de bactéries telluriques ; un genre non caractérisé de *Burkholderiales* (β -Proteobacteria ; I) ; et un genre non caractérisé de *Chloroflexi* (J). L'écologie de tous ces genres n'est pas connue, car peu d'isolats (voir le plus souvent aucun) n'est/ne sont disponible(s) dans les collections de cultures.

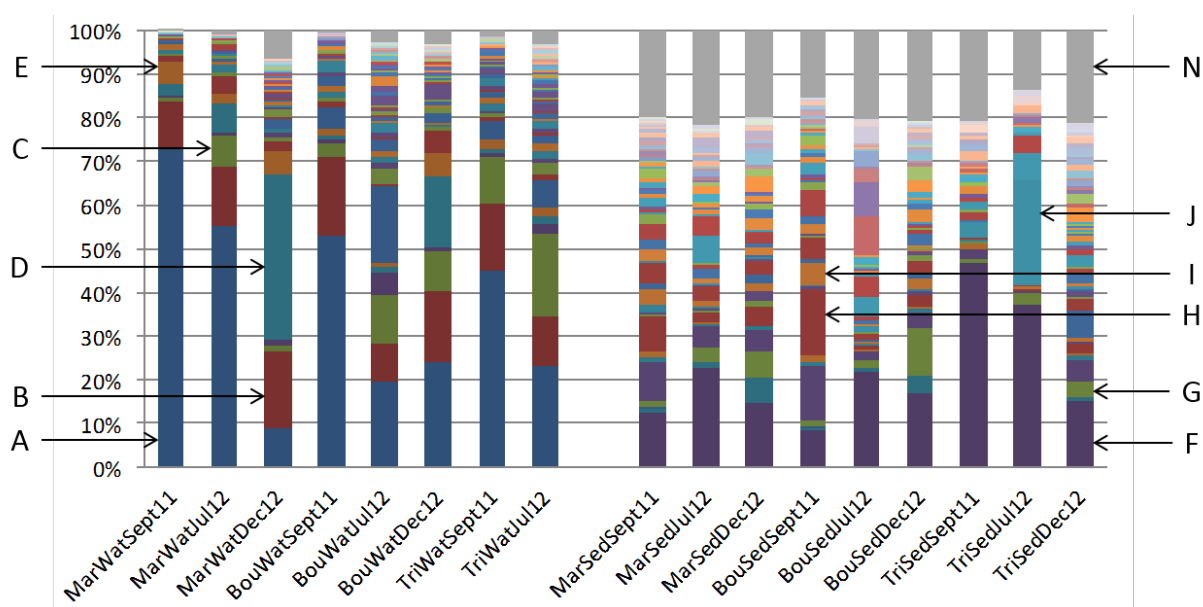


Figure 3.26 : Composition phylogénétique (au niveau du genre) des communautés bactériennes des échantillons d'eau (« Wat ») et de sédiment (« Sed ») le long de l'axe Marnay-Bougival-Triel aux 3 campagnes d'échantillonnage (septembre 2011, juillet 2012 et décembre 2012). L'identité phylogénétique des taxons A à J est détaillée dans le texte. Les genres minoritaires ont été groupés dans la catégorie N, qui représente 5 % de l'ensemble des pyroséquences

Lesquels de ces genres expliquaient le mieux la dissimilarité des communautés bactériennes de la colonne d'eau ?

Les vecteurs représentant les genres les mieux corrélés à la distribution des communautés d'échantillons d'eau sont présentés sur le graphe NMDS (**Figure 3.56**). Il ne s'agit pas des genres dominants de la **Figure 3.55**. Autrement dit, les genres dominants dans les communautés bactériennes ne permettaient pas de discriminer celles-ci entre elles. Certains genres étaient bien corrélés avec les échantillons de Marnay (**Figure 3.56**) : *Limnohabitans*, *Polynucleobacter*, *Polaromonas*, etc. Ils sont tous composés de bactéries d'eau douce à stratégie de vie oligotrophe. Un genre non identifié de *Chloroflexi* était très bien corrélé aux échantillons à l'aval de Paris (Bougival et Triel) en juillet 2012. Le phylum *Chloroflexi* est mal caractérisé : il est surtout composé des bactéries thermophiles (improbable ici) mais comprend aussi des genres typiques de milieux pollués (comme *Dehalococcoides*).

Corrélation entre la structure des communautés bactériennes de l'eau et les paramètres physico-chimiques globaux

Après avoir recherché quels taxons étaient susceptibles d'expliquer la distribution des communautés bactériennes dans les graphes NMDS, des corrélations ont été recherchées entre cette distribution et divers paramètres physico-chimiques. Plusieurs paramètres (matières en suspension, carbone organique dissous, oxygène dissous, etc.) n'ont pas pu être inclus dans nos analyses car les jeux de données étaient incomplets. La **Figure 3.57** montre que certains vecteurs étaient bien corrélés à cette distribution (voir la longueur des vecteurs sur le graphique) et pointaient vers des échantillons particuliers : la température de l'eau était plus élevée dans les échantillons « aval » (Bougival et Triel) de septembre 2012, le pH était plus élevé à Marnay aux 3 campagnes, les concentrations en phosphates (PO₄(²⁻)) et sulfates (SO₄(²⁻)) étaient plus élevées dans les échantillons « aval » de juillet 2012, la concentration en ammonium (NH₄⁺) était plus élevée dans les échantillons « aval » de juillet et septembre 2012, et la concentration en nitrates (NO₃⁻) était plus élevée à Bougival en décembre 2012.

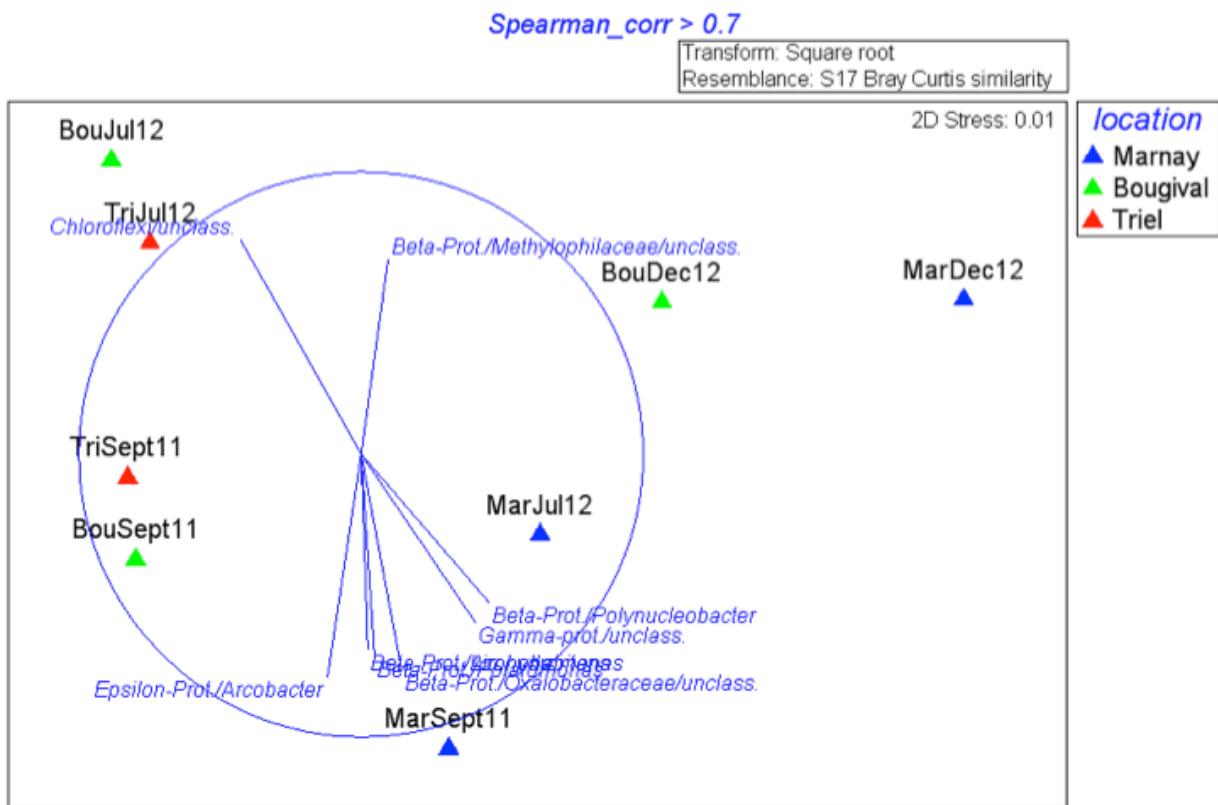


Figure 3.27 : Représentation graphique NMDS en 2D de la (dis)similarité entre communautés bactériennes des échantillons d'eau. Seuls les vecteurs « genres » les mieux corrélés à la distribution spatiale de ces communautés sont représentés sur le graphe (seuil du coefficient de Spearman choisi égal à 0,7)

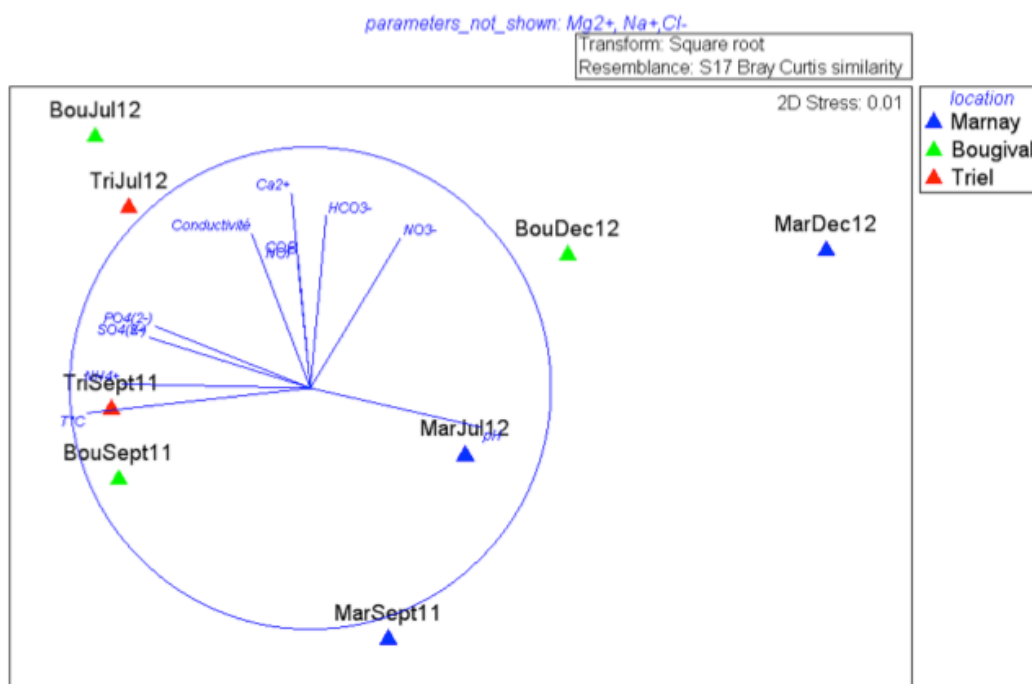


Figure 3.28 : Représentation graphique NMDS en 2D de la (dis)similarité entre les communautés bactériennes des échantillons d’eau. Tous les vecteurs représentant les paramètres physico-chimiques globaux sont représentés sur le graphe (sauf les concentrations en Mg^{2+} , Na^{+} et Cl^{-}). Les valeurs des paramètres physico-chimiques sont des moyennes pour chaque campagne. Abréviations : voir Annexe 2 (page 165)

Corrélation entre la structure des communautés bactériennes et les concentrations en polluants dans la colonne d’eau

Enfin, nous avons recherché des corrélations entre la distribution (reflet de la (dis)similarité) des communautés bactériennes dans le graphe NMDS et les concentrations en divers polluants de la colonne d’eau: pesticides (PEST), éléments traces métalliques (ETM), résidus médicamenteux (MED), alkylphénols (AKP) et perfluoroalkylés (AKP).

Concernant les pesticides (**Figure 3.58**), la plupart des vecteurs (de TerY à ProS) pointaient vers les échantillons en aval de l’agglomération parisienne (Bougival-Triel) indiquant que la concentration en pesticides TerY à ProS était plus élevée dans ces échantillons, d’autres ne pointaient vers aucun échantillon en particulier, 2 vecteurs (PropiC et Msulf-Meth) pointaient vers l’échantillon de Marnay de décembre 2012, et 1 vecteur (DEA) pointait vers les échantillons de Marnay en général. Ce dernier résultat n’est pas surprenant, puisque l’atrazine, dont l’un des résidus principaux est la DEA, était un pesticide très utilisé en agriculture (et aujourd’hui interdit).

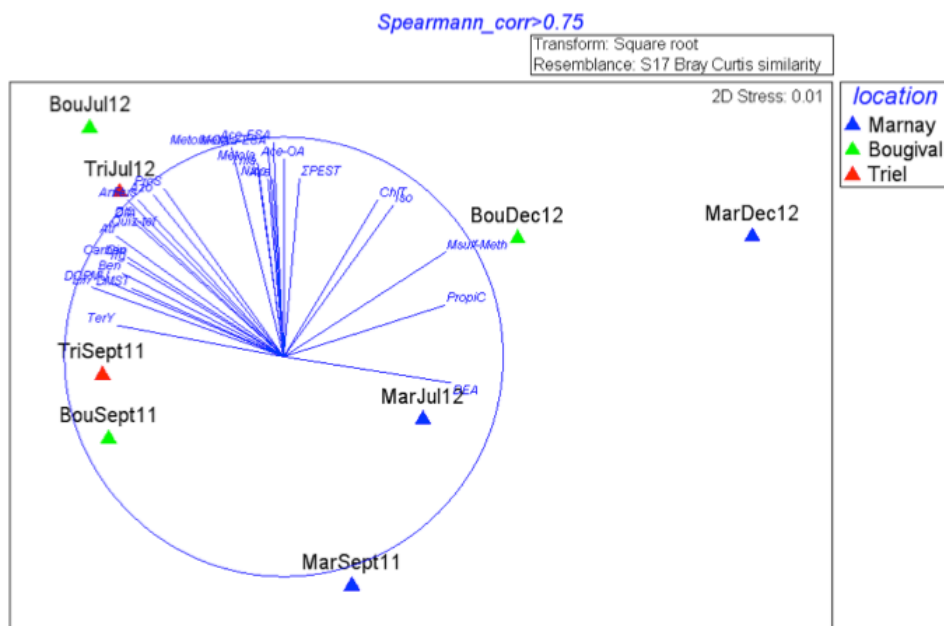


Figure 3.29 : Représentation graphique NMDS en 2D de la (dis)similarité entre communautés bactériennes des échantillons d’eau. Seuls les vecteurs « pesticides » les mieux corrélés à la distribution spatiale de ces communautés sont représentés sur le graphe (seuil du coefficient de Spearman choisi = 0,75). Abréviations : voir Annexe 2 (page 165)

La corrélation entre la distribution des communautés bactériennes dans le graphe NMDS et les concentrations en ETM était globalement meilleure pour les ETM dissous que particuliers (**Figure 3.59**, voir la longueur des vecteurs). La quasi-totalité des vecteurs « ETM » pointaient vers les échantillons aval (surtout en juillet 2012) (**Figure 3.59**). La même tendance a été observée pour les résidus médicamenteux (**Figure 3.60**), les alkyphénols et les composés perfluoroalkylés (sans distinction entre juillet et septembre 2012) (**Figure 3.61**).

En résumé, il existait une différence de composition chimique marquée entre les échantillons de Marnay et ceux en aval de l’agglomération parisienne (Bougival et Triel), au même titre que la structure des communautés bactériennes étaient différente. Rappelons cependant que la bonne corrélation entre la plupart des paramètres physico-chimiques (surtout les micropolluants, à l’exception de certains pesticides) et la structure des communautés bactériennes n’est en rien la démonstration d’un lien de cause à effet. Cette relation de causalité ne pourra être démontrée que par des expériences en laboratoire.

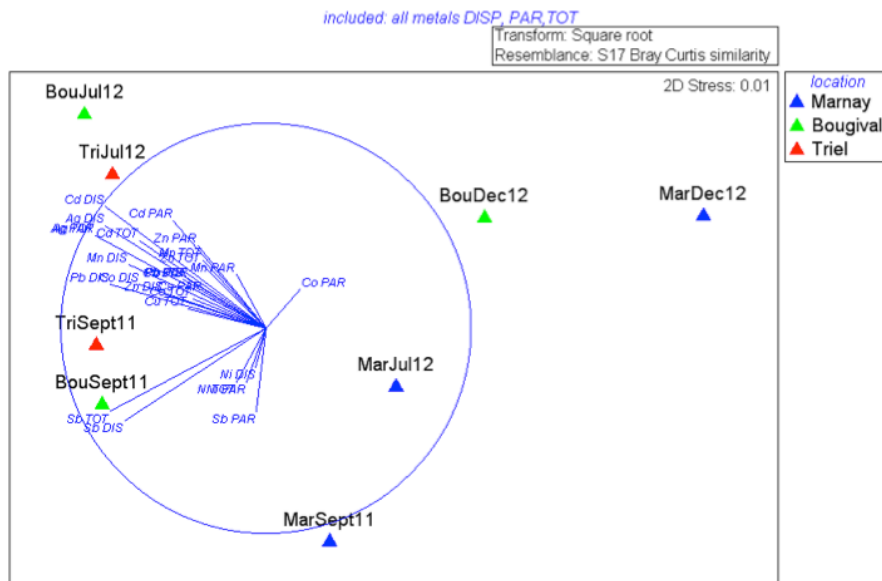
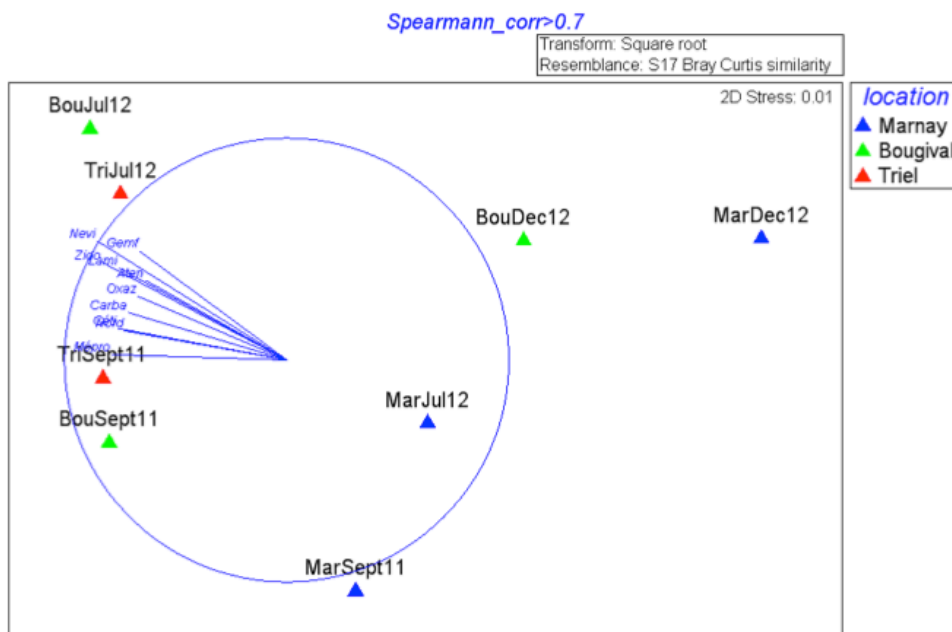
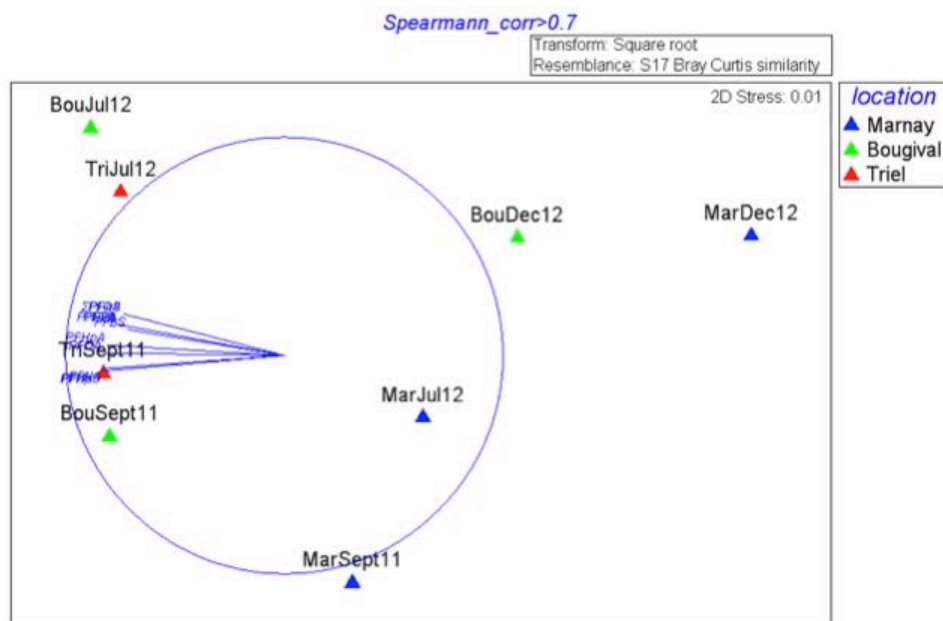


Figure 3.30 : Représentation graphique NMDS en 2D de la (dis)similarité entre communautés bactériennes des échantillons d’eau. Tous les vecteurs « ETM dissous (DIS), particulières (PAR) ou totaux (TOT) » sont représentés sur le graphe. Les concentrations en métaux étaient des moyennes pour chaque campagne (qui a duré plusieurs jours)



**Figure 3.31 : Représentation graphique NMDS en 2D de la (dis)similarité entre communautés bactériennes des échantillons d’eau. Seuls les vecteurs « résidus médicamenteux » les mieux corrélés à la distribution spatiale de ces communautés sont représentés sur le graphe (seuil du coefficient de Spearman choisi = 0,7).
Abréviations : voir Annexe 2 (page 165)**



**Figure 3.32 : Représentation graphique NMDS en 2D de la (dis)similarité entre communautés bactériennes des échantillons d'eau. Seuls les vecteurs « alkyphénols » et « perfluoroalkylés » les mieux corrélés à la distribution spatiale de ces communautés sont représentés sur le graphe (seuil du coefficient de Spearman choisi = 0,7).
Abréviations : voir Annexe 2 (page 165)**

Conclusion

Les trois campagnes réalisées sur l’axe Marnay-Bougival-Triel nous ont permis d’observer des différences notoires entre la colonne d’eau et les sédiments en termes de richesse de taxons ($OTU_{0.03}$), de structure des communautés bactériennes et de composition phylogénétique de celles-ci. Globalement, comparés aux échantillons de sédiments, les échantillons d’eau étaient moins diversifiés (moins de taxons différents), présentaient une communauté assez similaire d’un site à l’autre et d’une campagne à l’autre, et étaient dominés par quelques genres bactériens seulement. De plus, les communautés bactériennes au sein des sédiments présentaient une plus structure plus variable au cours du temps d’amont en aval de Paris.

Sauf exception, la dissimilarité des communautés bactériennes d’un échantillon d’eau à l’autre n’était pas due aux phyla/genres dominants mais à des taxons rares. De bonnes corrélations ont été mises en évidence entre la structure des communautés bactériennes de la colonne d’eau et les concentrations de la plupart des paramètres abiotiques mesurés lors des campagnes, particulièrement les micropolluants (métaux, résidus de médicaments, alkyphénols,...). La même analyse des corrélations entre paramètres biotiques et abiotiques reste à faire pour le compartiment sédimentaire.

6 Conclusion générale et perspectives

Les travaux réalisés dans la phase 6 avaient pour objectif de caractériser la qualité du milieu le long de l’axe Seine à l’aide d’une approche intégrative s’appuyant sur l’acquisition de nombreux paramètres à différents niveaux d’organisation : *i*) la physico-chimie du milieu et la biodisponibilité des contaminants, *ii*) des réponses moléculaires (biomarqueurs enzymatiques, tests *in vitro*, etc.), *iii*) des réponses au niveau de

l'organisme entier (par ex. reproduction gammare, test *in vivo*), et *iv*) des réponses au niveau populationnel (par ex. les travaux sur les communautés microbiennes en termes de structure et de diversité).

Les résultats soulignent de façon claire un gradient de pression chimique amont-aval et une biodisponibilité des contaminants, se traduisant régulièrement par des dépassements de Normes de Qualité Environnementales pour le compartiment dissous (NQE eau), de valeurs seuils établies pour les sédiments (TEC/PEC) et de valeurs de référence dans le biote (valeurs seuils établies chez la population de référence gammare).

En complément des mesures dans le milieu et d'accumulation dans le biote, l'analyse de leurs effets associés (chez les organismes exposés *in situ* et lors de test en laboratoire) *via* les réponses biologiques discrimine une nouvelle fois clairement le site amont (Marnay) des deux sites aval (Bougival et Triel), démontrant sans appel les impacts de la pression anthropique du bassin parisien sur les organismes.

Cependant, le suivi des différents paramètres sur plusieurs campagnes a également permis de montrer une certaine variabilité saisonnière, à la fois en termes de niveaux de contamination du milieu et des réponses biologiques associées. Les différentes analyses suggèrent que plusieurs facteurs peuvent être impliqués dans les variations ou tendances saisonnières observées comme les conditions hydrologiques (débit), la saisonnalité des usages de certains composés (par ex. cas des résidus médicamenteux et des pesticides) qui conditionne leur niveau de présence dans le milieu, et la physico-chimie générale du milieu (comme le pH, la T°C, les concentrations en certains anions et cations majeurs etc.) qui peut moduler la spéciation et donc la biodisponibilité des contaminants.

Pour différents niveaux d'organisation (moléculaire, test *in vivo*, test *in vitro*), les réponses biologiques ont été intégrées dans un indice unique global (*Integrated Biomarker Response*, IBR) visant à aider les décideurs et gestionnaires des milieux aquatiques. Cette démarche s'est avérée tout à fait appropriée à la problématique de l'étude en synthétisant fidèlement les observations effectuées pour chacune des réponses analysées.

Néanmoins, afin d'améliorer la pertinence et la robustesse de ces outils et indices, il reste nécessaire de poursuivre les investigations dans différentes voies afin de :

- améliorer la caractérisation et la compréhension des mécanismes associés à la variabilité « naturelle » (individuelle, inter-espèce, saisonnière...),
- préciser les valeurs de référence et les seuils des différentes réponses biologiques, par l'intégration de leur caractère prédictif en précisant le lien entre leur modulation et les conséquences éventuelles au niveau individuel et populationnel,
- associer les réponses mesurées aux différents niveaux au sein d'une même approche intégrée de type « approche par éléments de preuve » (*Weight-of-Evidence approach*, WoE ; démarche déjà proposée dans le cadre de la réglementation REACH en tant que composante de la procédure de prise de décision sur les propriétés des substances, et donc une part importante de l'évaluation de la sécurité chimique) qui repose sur le calcul de « quotient de danger » en comparant des mesures faites sur différents volets ou « lignes de preuves » (contamination, biodisponibilité/bioaccumulation, biomarqueurs, bio-essais en laboratoire...) à des valeurs de référence propre à chaque paramètre. A chacun de ces quotients est associé un facteur de pondération propre en fonction de son « poids » *i.e.* de l'importance de son impact écologique (par ex. le facteur de pondération pour un quotient illustrant un effet sur la survie des organismes sera plus important que celui concernant des réponses moléculaires). Chaque quotient ainsi pondéré est ensuite intégré dans le calcul d'un indice global permettant une hiérarchisation facilitée des dangers associés à un site ainsi qu'une discrimination des sites entre eux en fonction de leur niveau d'impact. Cette approche permettrait de proposer un outil d'aide à la gestion applicable à différentes procédures d'analyse de risque ou d'impact d'aménagements,
- mettre en place de suivis à long terme sur les stations de la zone atelier (ZA) Seine. Ces suivis seront en outre l'occasion de poursuivre et d'enrichir les bases de données initiées au cours de la phase 6

afin de développer un véritable historique des différents paramètres acquis lors de ces études. Ce recensement exhaustif et évolutif de données, abordant différents aspects de l'évaluation de la qualité du milieu, pourra alors devenir outil de choix pour proposer une analyse plus robuste de l'état écologique et chimique du milieu ainsi qu'un meilleur visuel sur son évolution au cours du temps.

7 Références bibliographiques

Aït-Aïssa, S., Laskowski, S., Laville, N., Porcher, J.M., and Brion, F. (2010). Anti-androgenic activities of environmental pesticides in the MDA-kb2 reporter cell line. *Toxicology in Vitro*, 24(7), 1979-1985. DOI: 10.1016/j.tiv.2010.08.014.

Ancion, P.-Y., Lear, G., Dopheide, A., and Lewis, G.D. (2013). Metal concentrations in stream biofilm and sediments and their potential to explain biofilm microbial community structure. *Environmental Pollution*, 173, 117-124. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.10.012>.

Balaguer, P., François, F., Comunale, F., Fenet, H., Boussioux, A.-M., Pons, M., Nicolas, J.-C., and Casellas, C. (1999). Reporter cell lines to study the estrogenic effects of xenoestrogens. *Science of the Total Environment*, 233(1-3), 47-56. DOI: 10.1016/s0048-9697(99)00178-3.

Barjhoux, I., Baudrimont, M., Morin, B., Landi, L., Gonzalez, P., and Cachot, J. (2012). Effects of copper and cadmium spiked-sediments on embryonic development of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 79, 272-282. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.01.011.

Besse, J.P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P., and Geffard, O. (2013). Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: Towards the determination of threshold values. *Water Research*, 47(2), 650-660. DOI: 10.1016/j.watres.2012.10.024.

Boas, M., Feldt-Rasmussen, U., and Main, K.M. (2012). Thyroid effects of endocrine disrupting chemicals. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 355(2), 240-248. DOI: 10.1016/j.mce.2011.09.005.

Bourgeault, A., Gourlay-Francé, C., Priadi, C., Ayrault, S., and Tusseau-Vuillemin, M.-H. (2011). Bioavailability of particulate metal to zebra mussels: Biodynamic modelling shows that assimilation efficiencies are site-specific. *Environmental Pollution*, 159(12), 3381 - 3389. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.08.034.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.

Broeg, K., and Lehtonen, K.K. (2006). Indices for the assessment of environmental pollution of the Baltic Sea coasts: Integrated assessment of a multi-biomarker approach. *Marine Pollution Bulletin*, 53(8-9), 508-522. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2006.02.004.

Buck, R.C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J.M., Cousins, I.T., Voogt, P.D., Jensen, A.A., Kannan, K., Mabury, S.A., and van Leeuwen, S.P.J. (2011). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and origins. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 7(4), 513-541. DOI: 10.1002/ieam.258.

Bulich, A.A. (1979). Use of luminescent bacteria for determining toxicity in aquatic environments. In: *Aquatic toxicology, 2nd conference*, L. L. Marling et R.A. Kimerle (eds.), *American Society for testing and Materials (ASTM)*, Philadelphie, PA, 1979, pp. 98-110.

Cachot, J., Geffard, O., Augagneur, S., Lacroix, S., Le Menach, K., Peluhet, L., Couteau, J., Denier, X., Devier, M.H., Pottier, D., and Budzinski, H. (2006). Evidence of genotoxicity related to high PAH content of sediments in the upper part of the Seine estuary (Normandy, France). *Aquatic Toxicology*, 79(3), 257-267. DOI: 10.1016/j.aquatox.2006.06.014.

Caliman, F.A., and Gavrilesco, M. (2009). Pharmaceuticals, personal care products and endocrine disrupting agents in the environment – A review. *Clean - Soil, Air, Water*, 37(4-5), 277-303. DOI: 10.1002/clen.200900038.

Chao, A., and Lee, S.-M. (1992). Estimating the Number of Classes via Sample Coverage. *Journal of the American Statistical Association*, 87(417), 210-217. DOI: 10.2307/2290471.

Charron, L., Geffard, O., Chaumot, A., Coulaud, R., Quéau, H., Geffard, A., and Dedourge-Geffard, O. (2013). Effect of water quality and confounding factors on digestive enzyme activities in *Gammarus fossarum*. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(12), 9044 - 9056. DOI: 10.1007/s11356-013-1921-5.

Chen, G., and White, P.A. (2004). The mutagenic hazards of aquatic sediments: A review. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 567(2-3 Spec. Iss.), 151-225. DOI: 10.1016/j.mrrev.2004.08.005.

Choe, S.Y., Kim, S.J., Kim, H.G., Lee, J.H., Choi, Y., Lee, H., and Kim, Y. (2003). Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. *Science of the Total Environment*, 312(1-3), 15-21. DOI: 10.1016/s0048-9697(03)00190-6.

Christen, V., Crettaz, P., Oberli-Schrämml, A., and Fent, K. (2010). Some flame retardants and the antimicrobials triclosan and triclocarban enhance the androgenic activity *in vitro*. *Chemosphere*, 81(10), 1245-1252. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.09.031.

Cladière, M., Gasperi, J., Lorgeoux, C., Bonhomme, C., Rocher, V., and Tassin, B. (2013). Alkylphenolic compounds and bisphenol A contamination within a heavily urbanized area: Case study of Paris. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(5), 2973-2983. DOI: 10.1007/s11356-012-1220-6.

Coulaud, R., Geffard, O., Xuereb, B., Lacaze, E., Quéau, H., Garric, J., Charles, S., and Chaumot, A. (2011). *In situ* feeding assay with *Gammarus fossarum* (Crustacea): Modelling the influence of confounding factors to improve water quality biomonitoring. *Water Research*, 45(19), 6417-6429. DOI: 10.1016/j.watres.2011.09.035.

Creusot, N., Budzinski, H., Balaguer, P., Kinani, S., Porcher, J.M., and Aït-Aïssa, S. (2013). Effect-directed analysis of endocrine-disrupting compounds in multi-contaminated sediment: Identification of novel ligands of estrogen and pregnane X receptors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(8), 2553-2566. DOI: 10.1007/s00216-013-6708-5.

De Coster, S., and Van Larebeke, N. (2012). Endocrine-disrupting chemicals: Associated disorders and mechanisms of action. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012. DOI: 10.1155/2012/713696.

Dedourge-Geffard, O., Palais, F., Biagianti-Risbourg, S., Geffard, O., and Geffard, A. (2009). Effects of metals on feeding rate and digestive enzymes in *Gammarus fossarum*: An *in situ* experiment. *Chemosphere*, 77(11), 1569-1576. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.09.042.

Ewence, A., Brescia, S., Johnson, I., and Rumsby, P.C. (2015). An approach to the identification and regulation of endocrine disrupting pesticides. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 214-220. DOI: 10.1016/j.fct.2015.01.011.

Fechner, L. (2010). Acquisition de tolérance et modification de structure des communautés périphytiques : une réponse précoce à la pression urbaine dans les milieux aquatiques. *Thèse de doctorat*, p. 362. Université Paris-Est, Paris.

Fechner, L.C., Gourlay-Francé, C., Uher, E., and Tusseau-Vuillemin, M.H. (2010). Adapting an enzymatic toxicity test to allow comparative evaluation of natural freshwater biofilms' tolerance to metals. *Ecotoxicology*, 19(7), 1302-1311. DOI: 10.1007/s10646-010-0517-9.

Fialkowski, W., Rainbow, P.S., Smith, B.D., and Zmudzinski, L. (2003). Seasonal variation in trace metal concentrations in three talitrid amphipods from the Gulf of Gdansk, Poland. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 288(1), 81-93. DOI: 10.1016/s0022-0981(02)00594-4.

Flück, R., Campiche, S., De Alencastro, L.F., Rossi, L., Benoît J. D. Ferrari, I.L., Santiago, S., Werner, I., and Nathalie, C. (2012). Surveillance de la qualité des sédiments – Etat actuel des méthodes disponibles et mise en place de recommandations. *Aqua & Gas*, 4, 18-22.

Freitas, J., Cano, P., Craig-Veit, C., Goodson, M.L., David Furlow, J., and Murk, A.J. (2011). Detection of thyroid hormone receptor disruptors by a novel stable *in vitro* reporter gene assay. *Toxicology in Vitro*, 25(1), 257-266. DOI: 10.1016/j.tiv.2010.08.013.

Freyberger, A., and Schmuck, G. (2005). Screening for estrogenicity and anti-estrogenicity: A critical evaluation of an MVLN cell-based transactivation assay. *Toxicology Letters*, 155(1), 1-13. DOI: 10.1016/j.toxlet.2004.06.014.

García-Carreño, F.L., and Haard, N.F. (1993). Characterization of proteinase classes in langostilla (*Pleuroncodes planipes*) and crayfish (*Pacifastacus astacus*) extracts. *Journal of Food Biochemistry*, 17(2), 97-113. DOI: 10.1111/j.1745-4514.1993.tb00864.x.

Gaspéri, J., Moreau-Guigon, E., Labadie, P., Blanchard, M., Teil, M.-J., Tlili, K., Quoc Dinh, T., Tran, C., Alliot, F., Desportes, A., Bourges, C., Chevreuil, M., Cladière, M., Lorgeoux, C., Miège, C., Bados, P., Coquery, M., Oziol, L., Bimbot, M., Huteau, V., Karolak, S., and Levi, Y. (2010). Contamination de la Seine par les micropolluants organiques : évolution selon les conditions hydriques et l'urbanisation. *Rapport de synthèse 2007-2010*, PIREN-Seine, p. 22. URL: http://www.sisyphe.upmc.fr/piren/?q=webfm_send/989.

Geffard, O., Xuereb, B., Chaumot, A., Geffard, A., Biagianti, S., Noël, C., Abbaci, K., Garric, J., Charmantier, G., and Charmantier-Daures, M. (2010). Ovarian cycle and embryonic development in *Gammarus fossarum*: Application for reproductive toxicity assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(10), 2249-2259. DOI: 10.1002/etc.268.

Georgescu, B., Georgescu, C., Dărăban, S., Bouaru, A., and Pașcalău. (2011). Heavy metals acting as endocrine disrupters. *Animal Science and Biotechnologies*, 44(2), 89-93.

Gozgit, J.M., Nestor, K.M., Fasco, M.J., Pentecost, B.T., and Arcaro, K.F. (2004). Differential action of polycyclic aromatic hydrocarbons on endogenous estrogen-responsive genes and on a transfected estrogen-responsive reporter in MCF-7 cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 196(1), 58-67. DOI: 10.1016/j.taap.2003.12.003.

Helmstetter, M.F., and Alden, R.W.I. (1995). Toxic responses of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) eggs following topical and immersion exposures to pentachlorophenol. *Aquatic Toxicology*, 32(1), 15-29. DOI: 10.1016/0166-445x(94)00059-y.

Hodoki, Y. (2005). Bacteria biofilm encourages algal immigration onto substrata in lotic systems. *Hydrobiologia*, 539(1), 27-34. DOI: 10.1007/s10750-004-3082-5.

Iavicoli, I., Fontana, L., and Bergamaschi, A. (2009). The effects of metals as endocrine disruptors. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews*, 12(3), 206-223. DOI: 10.1080/10937400902902062.

Janošek, J., Hilscherová, K., Bláha, L., and Holoubek, I. (2006). Environmental xenobiotics and nuclear receptors - Interactions, effects and *in vitro* assessment. *Toxicology in Vitro*, 20(1), 18-37. DOI: 10.1016/j.tiv.2005.06.001.

Jugan, M.L., Lévy-Bimbot, M., Pomérance, M., Tamisier-Karolak, S., Blondeau, J.P., and Lévi, Y. (2007). A new bioluminescent cellular assay to measure the transcriptional effects of chemicals that modulate the alpha-1 thyroid hormone receptor. *Toxicology in Vitro*, 21(6), 1197-1205. DOI: 10.1016/j.tiv.2007.03.020.

Jugan, M.L., Oziol, L., Bimbot, M., Huteau, V., Tamisier-Karolak, S., Blondeau, J.P., and Lévi, Y. (2009). *In vitro* assessment of thyroid and estrogenic endocrine disruptors in wastewater treatment plants, rivers and drinking water supplies in the greater Paris area (France). *Science of the Total Environment*, 407(11), 3579-3587. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.01.027.

Kinani, S., Bouchonnet, S., Creusot, N., Bourcier, S., Balaguer, P., Porcher, J.M., and Aït-Aïssa, S. (2010). Bioanalytical characterisation of multiple endocrine- and dioxin-like activities in sediments from reference and impacted small rivers. *Environmental Pollution*, 158(1), 74-83. DOI: 10.1016/j.envpol.2009.07.041.

Kjeldsen, L.S., and Bonefeld-Jørgensen, E.C. (2013). Perfluorinated compounds affect the function of sex hormone receptors. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(11), 8031-8044. DOI: 10.1007/s11356-013-1753-3.

Kwok, Y.C., Hsieh, D.P.H., and Wong, P.K. (2005). Toxicity identification evaluation (TIE) of pore water of contaminated marine sediments collected from Hong Kong waters. *Marine Pollution Bulletin*, 51(8-12), 1085-1091. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2005.06.009.

Labadie, P., and Chevreuil, M. (2011). Biogeochemical dynamics of perfluorinated alkyl acids and sulfonates in the River Seine (Paris, France) under contrasting hydrological conditions. *Environmental Pollution*, 159(12), 3634-3639. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.07.028.

Labadie, P., Munoz, G., Peluhet, L., Fechner, L., Geffard, O., and Budzinski, H. (2013). Les polluants organiques persistants dans la Seine : dynamique spatio-temporelle & transfert vers le compartiment biologique. *Rapport d'activité 2013*, PIREN-Seine (ed.), PIREN-Seine, p. 13. URL: http://www.sisyphe.upmc.fr/piren/?q=webfm_send/1306.

Le Bihanic, F., Clérandeau, C., Le Menach, K., Morin, B., Budzinski, H., Cousin, X., and Cachot, J. (2014a). Developmental toxicity of PAH mixtures in fish early life stages. Part II: adverse effects in Japanese medaka. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(24), 13732-13743. DOI: 10.1007/s11356-014-2676-3.

Le Bihanic, F., Perrichon, P., Landi, L., Clérandeau, C., Le Menach, K., Budzinski, H., Cousin, X., and Cachot, J. (2014b). Development of a reference artificial sediment for chemical testing adapted to the MELA sediment contact assay. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(24), 13689-13702. DOI: 10.1007/s11356-014-2607-3.

Le Pape, P., Ayrault, S., and Quantin, C. (2012). Trace element behavior and partition versus urbanization gradient in an urban river (Orge River, France). *Journal of Hydrology*, 472-473, 99-110. DOI: 10.1016/j.jhydrol.2012.09.042.

Lebrun, J.D., Uher, E., Tusseau-Vuillemin, M.H., and Gourlay-Francé, C. (2014). Essential metal contents in indigenous gammarids related to exposure levels at the river basin scale: Metal-dependent models of bioaccumulation and geochemical correlations. *Science of the Total Environment*, 466-467, 100-108. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.07.003.

Lebrun, J.D., Geffard, O., Urien, N., François, A., Uher, E., and Fechner, L.C. (2015). Seasonal variability and inter-species comparison of metal bioaccumulation in caged gammarids under urban diffuse contamination gradient: Implications for biomonitoring investigations. *Science of the Total Environment*, 511, 501-508. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.12.078.

Li, J., Li, M., Ren, S., Feng, C., and Li, N. (2014). Thyroid hormone disrupting activities of sediment from the Guanting Reservoir, Beijing, China. *Journal of Hazardous Materials*, 274, 191-197. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.04.021.

Liu, C., Gin, K.Y.H., Chang, V.W.C., Goh, B.P.L., and Reinhard, M. (2011). Novel perspectives on the bioaccumulation of PFCs - The concentration dependency. *Environmental Science and Technology*, 45(22), 9758-9764. DOI: 10.1021/es202078n.

Louiz, I., Kinani, S., Gouze, M.E., Ben-Attia, M., Menif, D., Bouchonnet, S., Porcher, J.M., Ben-Hassine, O.K., and Aït-Aïssa, S. (2008). Monitoring of dioxin-like, estrogenic and anti-androgenic activities in sediments of the Bizerta lagoon (Tunisia) by means of *in vitro* cell-based bioassays: Contribution of low concentrations of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs). *Science of the Total Environment*, 402(2-3), 318-329. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.05.005.

MacDonald, D.D., Ingersoll, C.G., and Berger, T.A. (2000). Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39(1), 20-31. DOI: 10.1007/s002440010075.

Margulies, M., Egholm, M., Altman, W.E., Attiya, S., Bader, J.S., Bembien, L.A., Berka, J., Braverman, M.S., Chen, Y.-J., Chen, Z., Dewell, S.B., Du, L., Fierro, J.M., Gomes, X.V., Godwin, B.C., He, W., Helgesen, S., Ho, C.H., Irzyk, G.P., Jando, S.C., Alenquer, M.L.I., Jarvie, T.P., Jirage, K.B., Kim, J.-B., Knight, J.R., Lanza, J.R., Leamon, J.H., Lefkowitz, S.M., Lei, M., Li, J., Lohman, K.L., Lu, H., Makhijani, V.B., McDade, K.E., McKenna, M.P., Myers, E.W., Nickerson, E., Nobile, J.R., Plant, R., Puc, B.P., Ronan, M.T., Roth, G.T., Sarkis, G.J., Simons, J.F., Simpson, J.W., Srinivasan, M., Tartaro, K.R., Tomasz, A., Vogt, K.A., Volkmer, G.A., Wang, S.H., Wang, Y., Weiner, M.P., Yu, P., Begley, R.F., and Rothberg, J.M. (2005). Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437(7057), 376-380. DOI: 10.1038/nature03959.

Massarsky, A., Streck, L., Craig, P.M., Eisa-Beygi, S., Trudeau, V.L., and Moon, T.W. (2014). Acute embryonic exposure to nanosilver or silver ion does not disrupt the stress response in zebrafish (*Danio rerio*) larvae and adults. *Science of the Total Environment*, 478, 133-140. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.01.077.

McCahon, C.P., and Pascoe, D. (1988). Culture techniques for three freshwater macroinvertebrate species and their use in toxicity tests. *Chemosphere*, 17(12), 2471-2480. DOI: 10.1016/0045-6535(88)90157-9.

Meybeck, M., Mouchel, J.-M., Idlafkih, Z., Andreassian, V., and Thibert, S. (1998). Transferts d'eau, de matières dissoute et particulaire dans le réseau fluvial. In: *La Seine en son bassin*. Michel Meybeck, Ghislain de Marsily, et Eliane Fustec (eds.), Elsevier, Paris (France), pp. 345-389.

Miège, C., Gabet, V., Coquery, M., Karolak, S., Jugan, M.L., Oziol, L., Levi, Y., and Chevreuil, M. (2009). Evaluation of estrogenic disrupting potency in aquatic environments and urban wastewaters by combining chemical and biological analysis. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 28(2), 186-195. DOI: 10.1016/j.trac.2008.11.007.

Morin, B., Filatreau, J., Vicquelin, L., Barjhoux, I., Guinel, S., Leray-Forget, J., and Cachot, J. (2011). Detection of DNA damage in yolk-sac larvae of the Japanese Medaka, *Oryzias latipes*, by the comet assay. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399(6), 2235-2242. DOI: 10.1007/s00216-010-4602-y.

Morin, S., Duong, T.T., Dabrin, A., Coynel, A., Herlory, O., Baudrimont, M., Delmas, F., Durrieu, G., Schäfer, J., Winterton, P., Blanc, G., and Coste, M. (2008). Long-term survey of heavy-metal pollution, biofilm contamination and diatom community structure in the Riou Mort watershed, South-West France. *Environmental Pollution*, 151(3), 532-542. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2007.04.023>.

Mrema, E.J., Rubino, F.M., Brambilla, G., Moretto, A., Tsatsakis, A.M., and Colosio, C. (2013). Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity. *Toxicology*, 307, 74-88. DOI: 10.1016/j.tox.2012.11.015.

Munoz, G., Giraudel, J.L., Botta, F., Lestremau, F., Dévier, M.H., Budzinski, H., and Labadie, P. (2015). Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: A French nationwide survey. *Science of the Total Environment*, 517, 48-56. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.02.043.

Murata, T., and Yamauchi, K. (2008). 3,3',5-Triiodo-L-thyronine-like activity in effluents from domestic sewage treatment plants detected by *in vitro* and *in vivo* bioassays. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 226(3), 309-317. DOI: 10.1016/j.taap.2007.09.003.

Oziol, L., Miège, C., Bados, P., Bimbot, M., Huteau, V., Schiavone, S., Karolak, S., Coquery, M., and Levi, Y. (2009). Evaluation du potentiel perturbateur endocrinien des eaux de la Seine et en sortie du bassin versant de l'Orge : analyses chimiques et biologiques. *Rapport d'activité 2009*, PIREN-Seine, p. 11. URL: http://www.sisyphe.upmc.fr/piren/?q=webfm_send/872.

Palais, F., Dedourge-Geffard, O., Beaudon, A., Pain-Devin, S., Trapp, J., Geffard, O., Noury, P., Gourlay-Francé, C., Uher, E., Mouneyrac, C., Biagiante-Risbourg, S., and Geffard, A. (2012). One-year monitoring of core biomarker and digestive enzyme responses in transplanted zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). (1573-3017 (Electronic)). DOI: 10.1007/s10646-012-0851-1.

Pedersen, F., Børnestad, E., Andersen, H.V., Kjølholt, J., and Poll, C. (1998). Characterization of sediments from Copenhagen Harbour by use of biotests. *Water Science and Technology*, 37(6), 233-240. DOI: 10.1016/S0273-1223(98)00203-0.

Priadi, C., Bourgeault, A., Ayrault, S., Gourlay-France, C., Tusseau-Vuillemin, M.-H., Bonte, P., and Mouchel, J.-M. (2011). Spatio-temporal variability of solid, total dissolved and labile metal: passive vs. discrete sampling evaluation in river metal monitoring. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(5), 1470-1479. DOI: 10.1039/c0em00713g.

Priadi, C., Le Pape, P., Morin, G., Ayrault, S., Maillot, F., Juillot, F., Hochreutener, R., Llorens, I., Testemale, D., Proux, O., and Brown, G.E. (2012). X-ray absorption fine structure evidence for amorphous zinc sulfide as a major zinc species in suspended matter from the seine river downstream of Paris, Ile-De-France, France. *Environmental Science and Technology*, 46(7), 3712-3720. DOI: 10.1021/es2041652.

Priadi, C.R., Ayrault, S., Morin, G., and Bonté, P. (2010). Caractérisation des phases porteuses : métaux particuliers en Seine. *Rapport de synthèse 2007-2010*, PIREN-Seine (ed.), PIREN-Seine, p. 13. URL: http://www.sisyphe.upmc.fr/piren/?q=webfm_send/991.

Quillardet, P., and Hofnung, M. (1985). The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Research - Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 147(3), 65-78. DOI: 10.1016/0165-1161(85)90020-2.

Quillardet, P., and Hofnung, M. (1993). The SOS chromotest: A review. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 297(3), 235-279.

Rana, S.V.S. (2014). Perspectives in endocrine toxicity of heavy metals - A review. *Biological Trace Element Research*, 160(1), 1-14. DOI: 10.1007/s12011-014-0023-7.

Ribo, J.M., Canela, M., and Griful, E. (2001). Repeatability and reproducibility of the luminescent bacteria bioassay. *Environmental Toxicology*, 16(2), 127-135. DOI: 10.1002/tox.1016.

Richter, S., and Nagel, R. (2007). Bioconcentration, biomagnification and metabolism of 14C-terbutryn and 14C-benzo[a]pyrene in *Gammarus fossarum* and *Asellus aquaticus*. *Chemosphere*, 66(4), 603-610. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.08.002.

Sanchez, W., Burgeot, T., and Porcher, J.-M. (2013). A novel 'Integrated Biomarker Response' calculation based on reference deviation concept. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(5), 2721-2725. DOI: 10.1007/s11356-012-1359-1.

Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Van Horn, D.J., Weber, C.F., and Weber, C.F. (2009). Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 1098-5336. DOI: 10.1128/AEM.01541-09.

Schorer, M., and Eisele, M. (1997). Accumulation of Inorganic and Organic Pollutants by Biofilms in the Aquatic Environment. *Water, Air, and Soil Pollution*, 99(1-4), 651-659. DOI: 10.1023/a:1018384616442.

Škarek, M., Janošek, J., Čupr, P., Kohoutek, J., Novotná-Rychetská, A., and Holoubek, I. (2007). Evaluation of genotoxic and non-genotoxic effects of organic air pollution using *in vitro* bioassays. *Environment International*, 33(7), 859-866. DOI: 10.1016/j.envint.2007.04.001.

Tamura, H., Ishimoto, Y., Fujikawa, T., Aoyama, H., Yoshikawa, H., and Akamatsu, M. (2006). Structural basis for androgen receptor agonists and antagonists: Interaction of SPEED 98-listed chemicals and related compounds with the androgen receptor based on an *in vitro* reporter gene assay and 3D-QSAR. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14(21), 7160-7174. DOI: 10.1016/j.bmc.2006.06.064.

Teil, M.-J., Blanchard, M., Moreau-Guigon, E., Dargnat, C., Alliot, F., Bourges, C., Desportes, A., and Chevreuil, M. (2013). Phthalate fate in the hydrographic network of the river seine basin (France) under contrasted hydrological conditions. *Water, Air, and Soil Pollution*, 224(6), 14. DOI: 10.1007/s11270-013-1592-3.

Teil, M.-J., Tlili, K., Blanchard, M., Labadie, P., Alliot, F., and Chevreuil, M. (2014). Polychlorinated biphenyls, polybrominated diphenyl ethers, and phthalates in roach from the Seine River basin (France): Impact of densely urbanized areas. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 66(1), 41-57. DOI: 10.1007/s00244-013-9955-8.

Tien, C.J., and Chen, C.S. (2013). Patterns of metal accumulation by natural river biofilms during their growth and seasonal succession. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(4), 605-616. DOI: 10.1007/s00244-012-9856-2.

Tusseau-Vuillemin, M.H., Gourlay, C., Lorgeoux, C., Mouchel, J.-M., Buzier, R., Gilbin, R., Seidel, J.L., and Elbaz-Poulichet, F. (2007). Dissolved and bioavailable contaminants in the Seine river basin. *The Science of the Total Environment*, 375(1-3), 12. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.12.018.

Uher, E., Mirande-Bret, C., and Gourlay-Francé, C. (2011). Lessons from a large scale deployment of DGT in the Seine basin. *RSC Environmental Chemistry Group Bulletin*, 1, 1-8.

Vicquelin, L., Leray-Forget, J., Peluhet, L., LeMenach, K., Deflandre, B., Anschutz, P., Etcheber, H., Morin, B., Budzinski, H., and Cachot, J. (2011). A new spiked sediment assay using embryos of the Japanese medaka specifically designed for a reliable toxicity assessment of hydrophobic chemicals. *Aquatic Toxicology*, 105(3-4), 235-245. DOI: 10.1016/j.aquatox.2011.06.011.

Warne, M.S.J., and van Dam, R. (2008). NOEC and LOEC data should no longer be generated or used. *Australasian Journal of Ecotoxicology*, 14(1), 1-5.

White, P.A., Blaise, C., and Rasmussen, J.B. (1997). Detection of genotoxic substances in bivalve molluscs from the Saguenay Fjord (Canada), using the SOS Chromotest. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 392(3), 277-300. DOI: 10.1016/s1383-5718(97)00082-x.

Wilson, V.S., Bobseine, K., Lambricht, C.R., and Gray Jr, L.E. (2002). A novel cell line, MDA-kb2, that stably expresses an androgen- and glucocorticoid-responsive reporter for the detection of hormone receptor agonists and antagonists. *Toxicological Sciences*, 66(1), 69-81. DOI: 10.1093/toxsci/66.1.69.

Xuereb, B., Chaumot, A., Mons, R., Garric, J., and Geffard, O. (2009). Acetylcholinesterase activity in *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda): Intrinsic variability, reference levels, and a reliable tool for field surveys. *Aquatic Toxicology*, 93(4), 225-233. DOI: 10.1016/j.aquatox.2009.05.006.

Yamada-Okabe, T., Sakai, H., Kashima, Y., and Yamada-Okabe, H. (2005). Modulation at a cellular level of the thyroid hormone receptor-mediated gene expression by 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD), 4,4'-diiodobiphenyl (DIB), and nitrofen (NIP). *Toxicology Letters*, 155(1), 127-133. DOI: 10.1016/j.toxlet.2004.09.005.

Zani, C., Feretti, D., Buschini, A., Poli, P., Rossi, C., Guzzella, L., Di Caterino, F., and Monarca, S. (2005). Toxicity and genotoxicity of surface water before and after various potabilization steps. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 587(1-2), 26-37. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2005.07.006.

Zou, E., Hatakeyama, M., and Matsumura, F. (2002). Foci formation of MCF7 cells as an *in vitro* screening method for estrogenic chemicals. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11(2), 71-77. DOI: 10.1016/s1382-6689(01)00100-4.

Annexes

1 Fiches hydromorphologiques des stations de l’Aulne et de la Mérantaise

L’Aulne à Bullion (amont)

Département : 78

Coord (Lamb II ét.): 573931.312-2403581.876

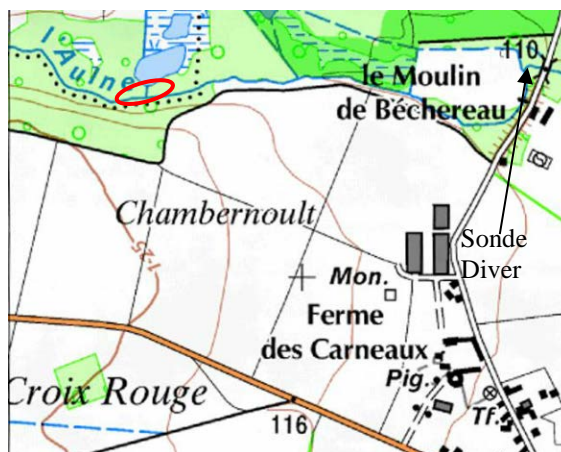
Taille BV: 32,2 km²

Pente fond : 0,19 %

Distance entre transects : 4 m

D₅₀ : 0,17 mm

Station hydro : sonde Diver installée au niveau du pont de Béchereau



Caractéristiques à plein bord :

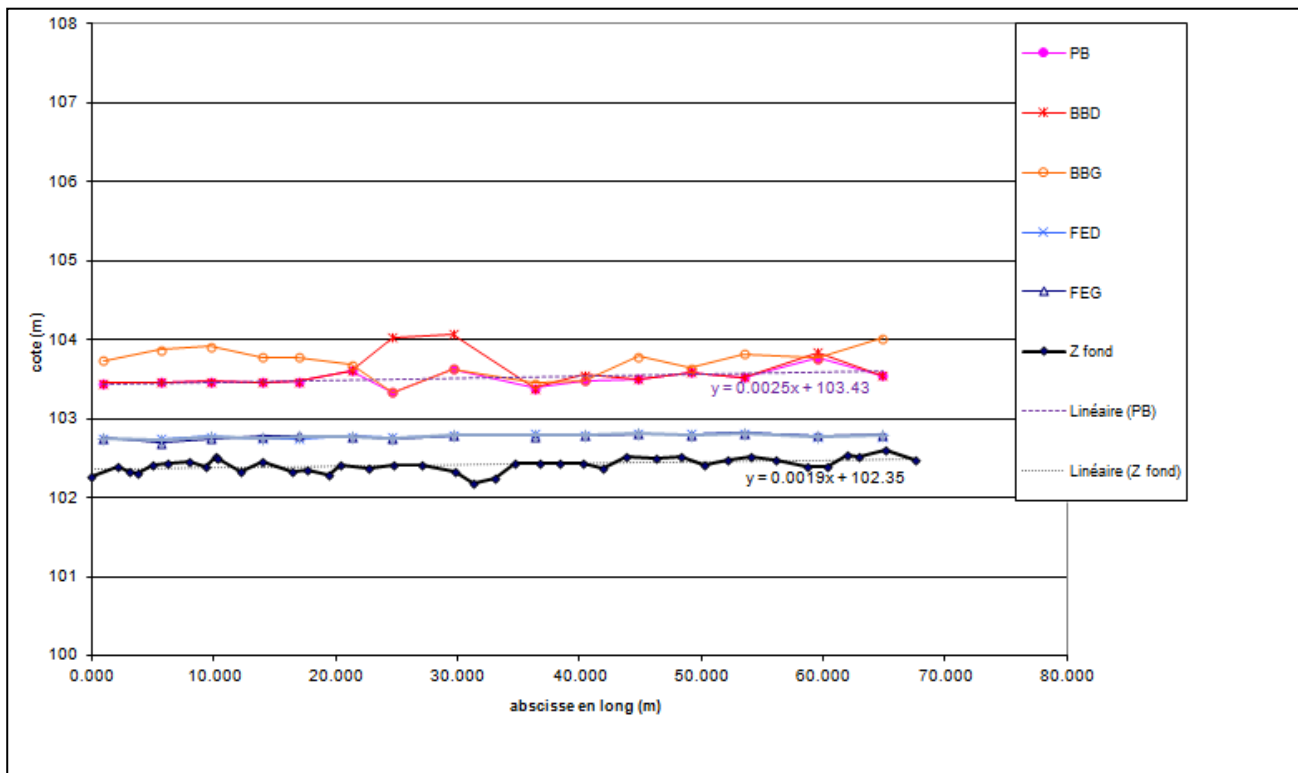
Q : 1 m³/s

Largeur au miroir: 4,8 m

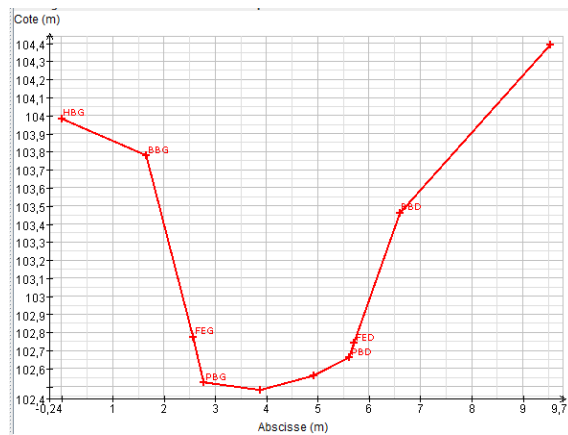
Hauteur d'eau moyenne : 0,70 m

Profil en long et morphologie de la station :

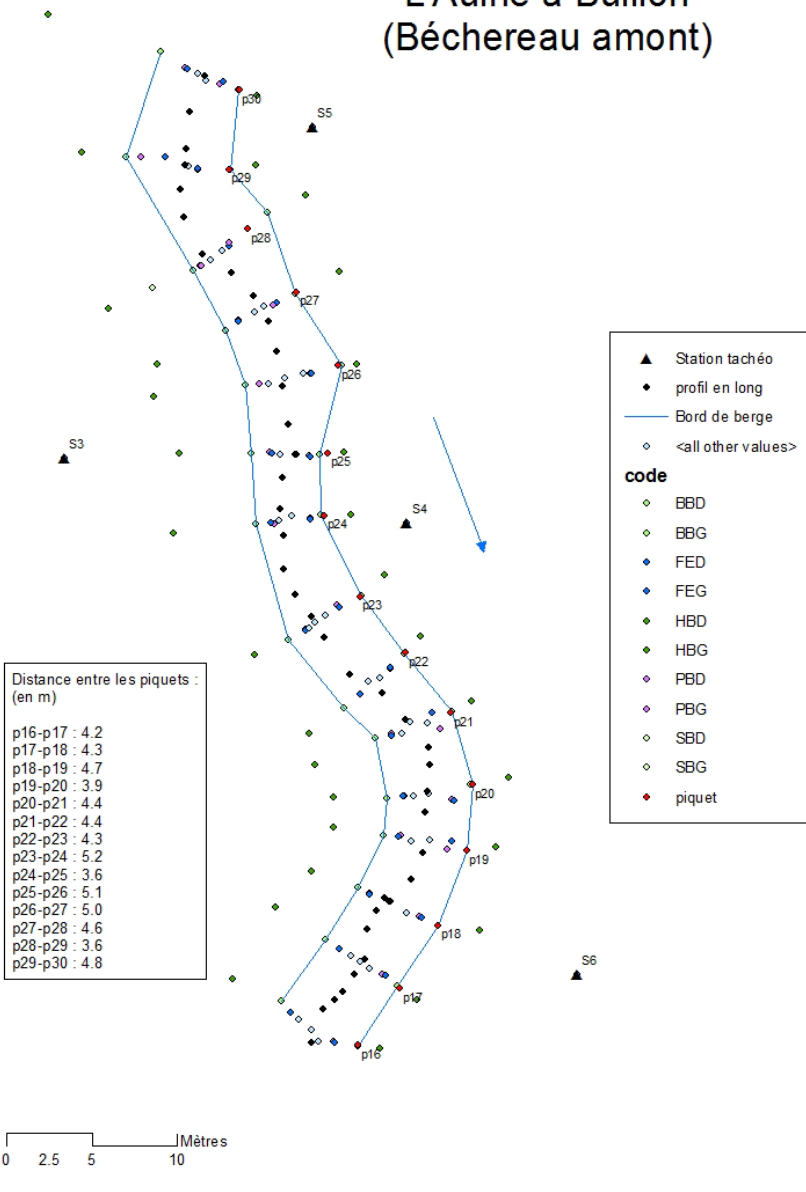
Observé le 05/12/2011 à Q = 0,055



Le profil en travers numéro 19 :



**L'Aulne à Bullion
(Bécheureau amont)**



L'Aulne à Béchereau (aval)

Département : 78

Coord (Lamb II ét.): 574533.284-2403524.133

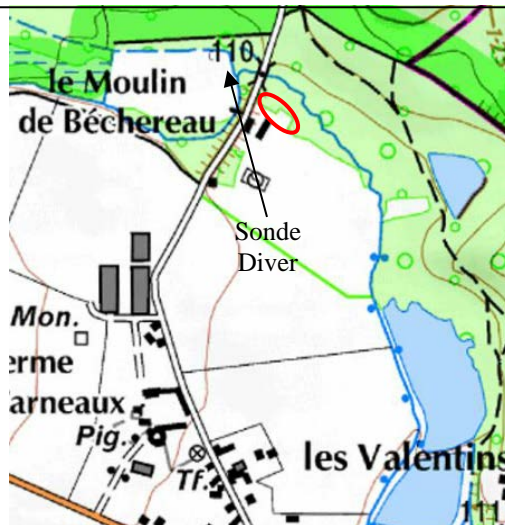
Taille BV: 36,3 km²

Pente fond : 0,75 ‰

Distance entre transects : 4 m

D₅₀ : 0,5 mm

Station hydro : sonde Diver installée au niveau du pont de Béchereau



Caractéristiques à plein bord :

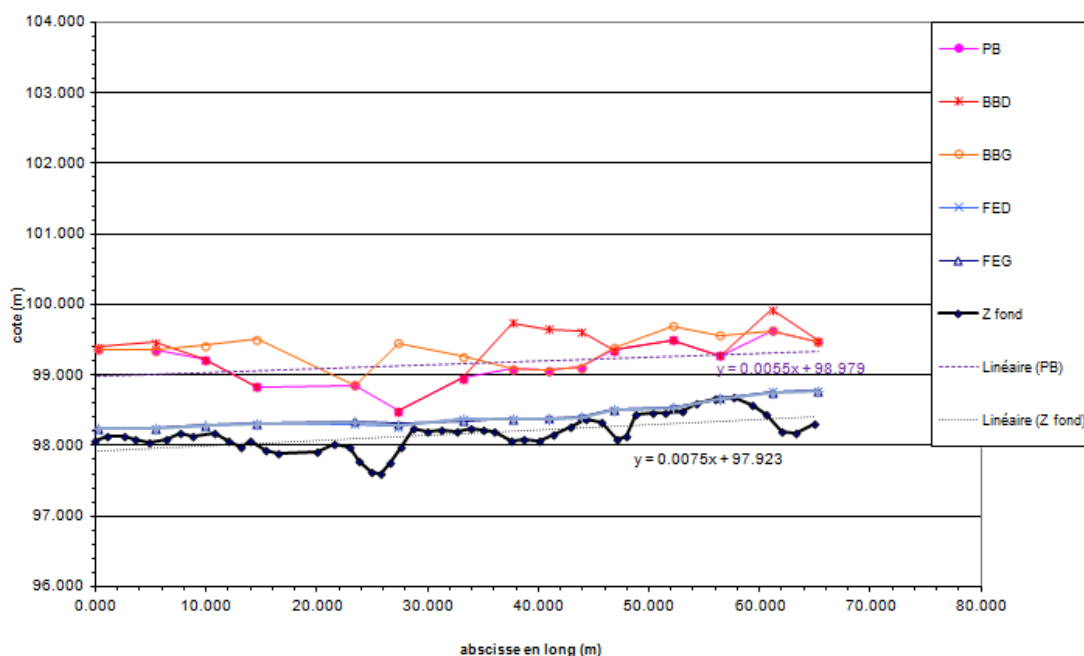
Q : 2 m³/s

Largeur au miroir : 5,2 m

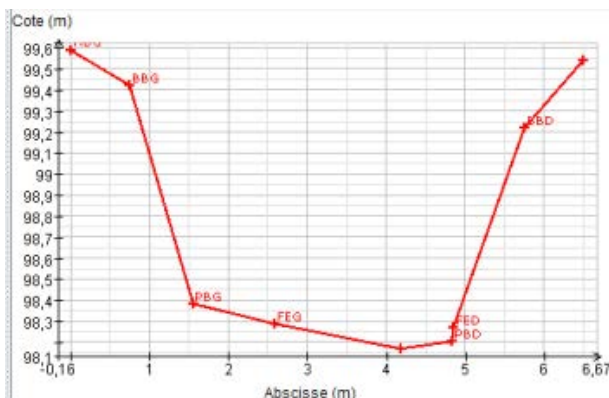
Hauteur d'eau moyenne : 0,70 m

Profil en long et morphologie de la station :

Observé le 22/11/2011 à Q = 0,030 m³/s



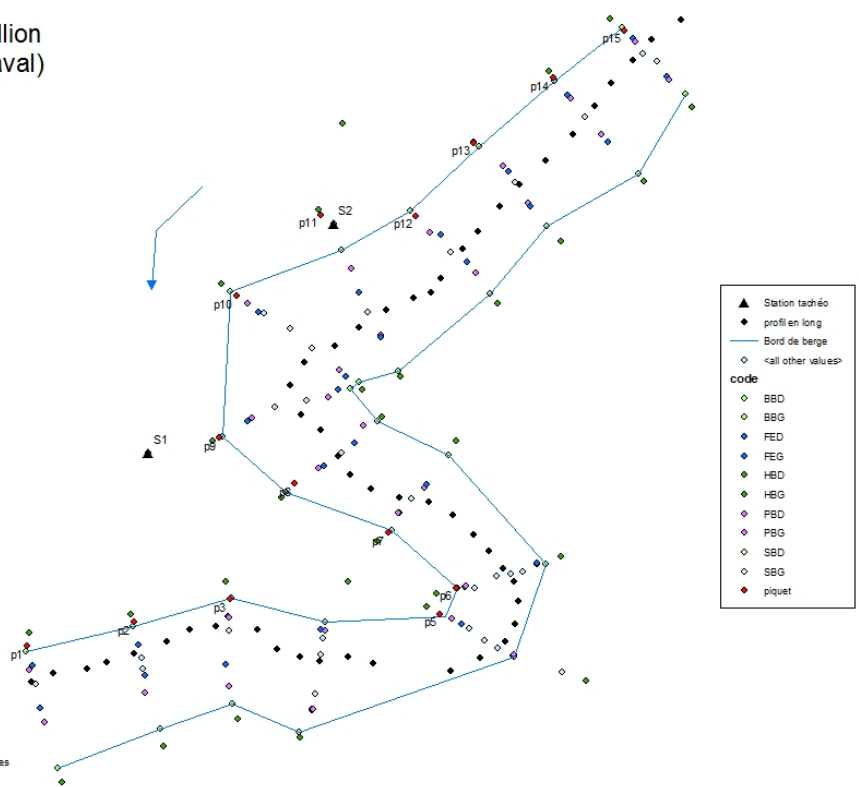
Le profil en travers numéro 03 :



**L'Aulne à Bullion
(Bécheveau aval)**

Distance entre les piquets :
(en m)

p1-p2 :	5.2
p2-p3 :	4.7
p5-p6 :	1.5
p6-p7 :	4.1
p7-p8 :	5.0
p8-p9 :	4.2
p9-p10 :	6.7
p10-p11 :	5.5
p11-p12 :	4.5
p12-p13 :	4.4
p13-p14 :	4.7
p14-p15 :	4.2



La Mérantaise à Chateaufort (amont Ors)

Département : 78

Coord (Lamb II ét.): 582438.967-2414632.596

Taille BV: 23,1 km²

Pente fond : 0,41 %

Distance entre transects : 5 m

D₅₀ : 0,9 mm

Station hydro : sonde Diver installée sur le pont des Prés Bicheret



Caractéristiques à plein bord :

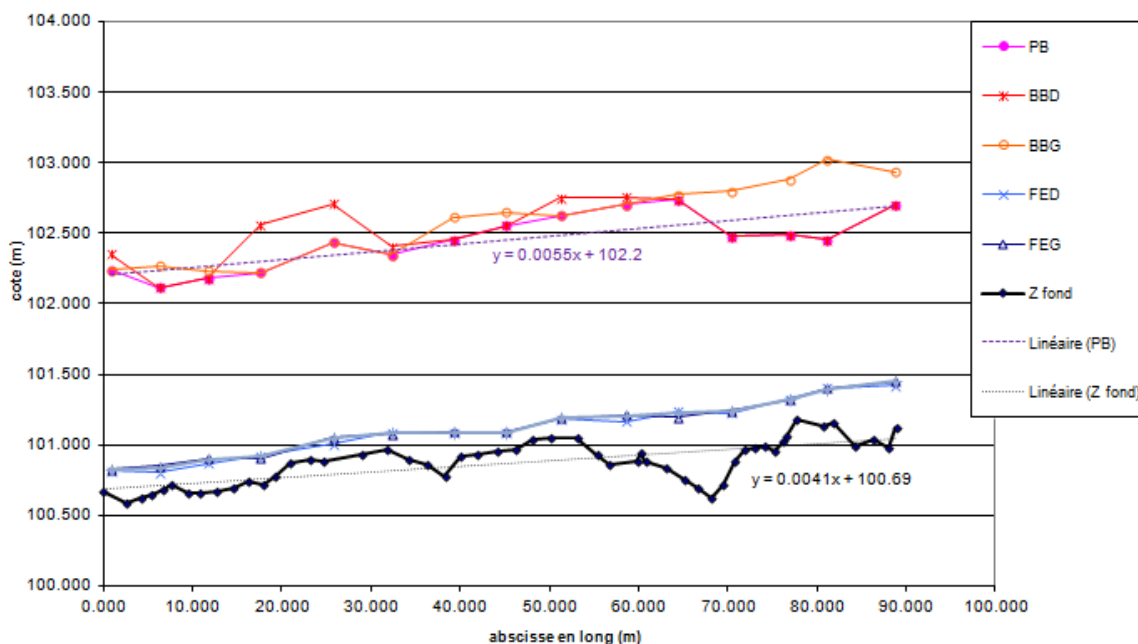
Q : 4 m³/s

Largeur au miroir : 6,1 m

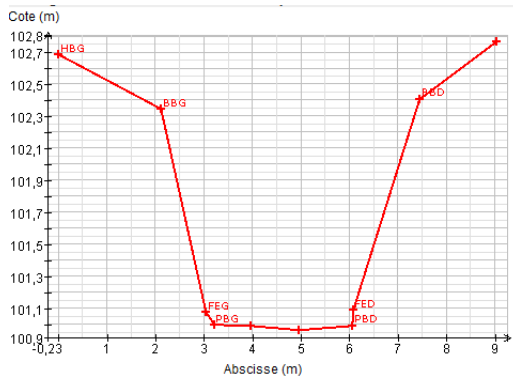
Hauteur d'eau moyenne : 1,0 m

Profil en long et morphologie de la station :

Observé le 17/11/2011 à Q = 0,053 m³/s



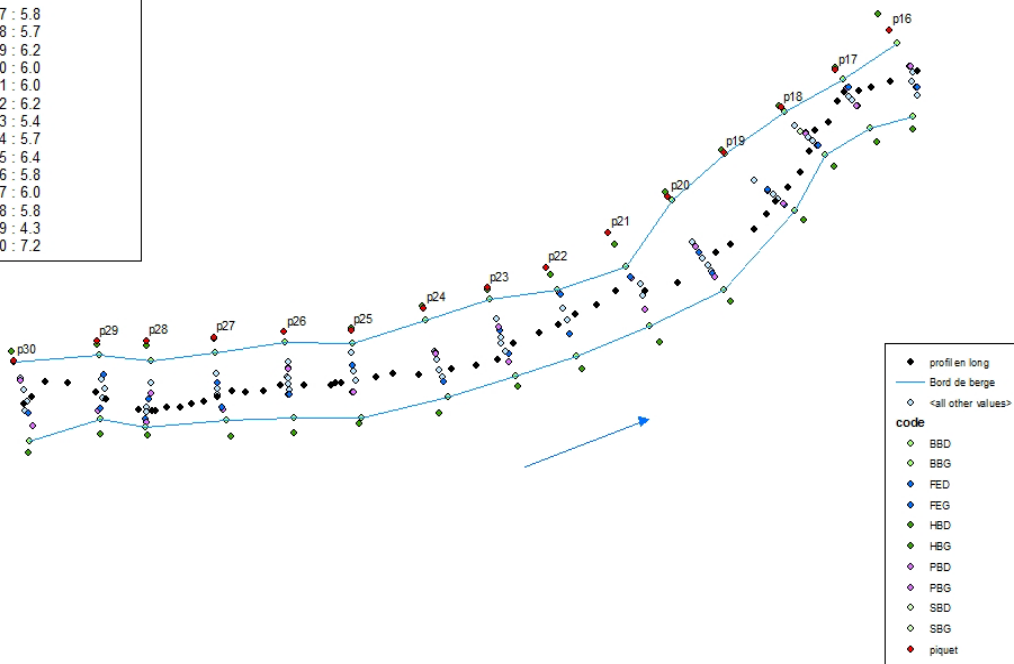
Le profil en travers numéro 19 :



S10
**La Mérentaise à Chateaufort
(Ors amont)**

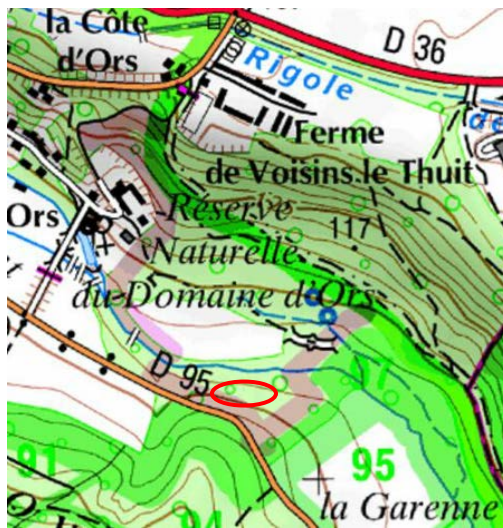
Distance entre les piquets :
(en m)

p16-p17 : 5.8
p17-p18 : 5.7
p18-p19 : 6.2
p19-p20 : 6.0
p20-p21 : 6.0
p21-p22 : 6.2
p22-p23 : 5.4
p23-p24 : 5.7
p24-p25 : 6.4
p25-p26 : 5.8
p26-p27 : 6.0
p27-p28 : 5.8
p28-p29 : 4.3
p29-p30 : 7.2



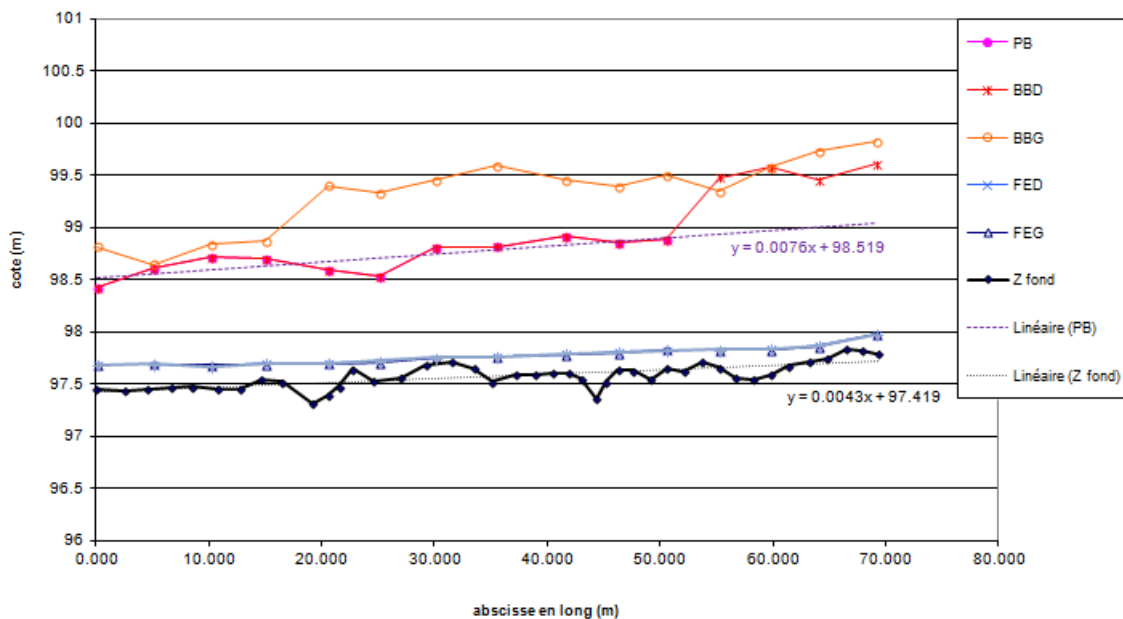
La Mérantaise à Chateaufort (aval Ors)

Département : 78
Coord (Lamb II ét.): 582825.239-2414410.801
Taille BV: 23,1 km²
Pente fond : 0,43 %
Distance entre transects : 5 m
D₅₀ : 0,93 mm
Station hydro : sonde Diver installée sur le pont des Prés Bicheret

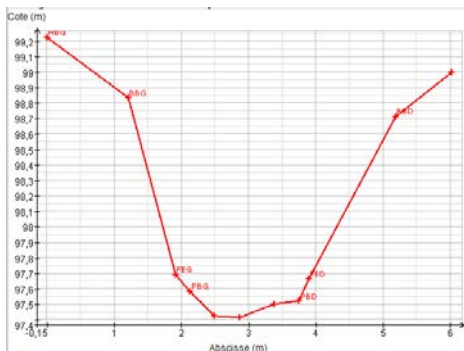


Caractéristiques à plein bord :
Q : 3,5 m³/s
Largeur au miroir: 6,0 m
Hauteur d'eau moyenne : 0,9 m

Profil en long et morphologie de la station :
 Observé le 15/11/2011 à Q = 0,061 m³/s



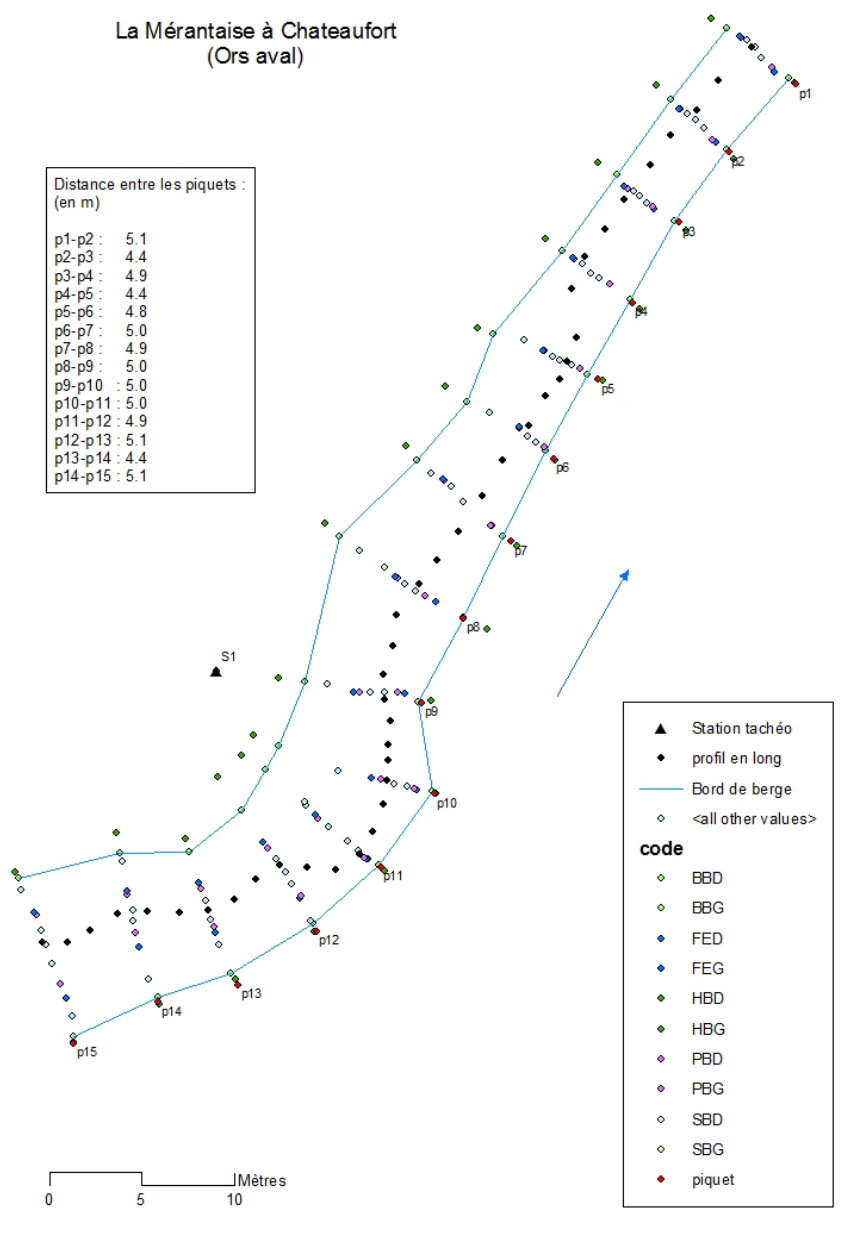
Le profil en travers numéro 3 :



La Mérantaise à Chateaufort (Ors aval)

Distance entre les piquets : (en m)

p1-p2 :	5.1
p2-p3 :	4.4
p3-p4 :	4.9
p4-p5 :	4.4
p5-p6 :	4.8
p6-p7 :	5.0
p7-p8 :	4.9
p8-p9 :	5.0
p9-p10 :	5.0
p10-p11 :	5.0
p11-p12 :	4.9
p12-p13 :	5.1
p13-p14 :	4.4
p14-p15 :	5.1



- ▲ Station tachéo
 - ◆ profil en long
 - Bord de berge
 - ◇ <all other values>
- code**
- ◇ BBD
 - ◇ BBG
 - ◇ FED
 - ◇ FEG
 - ◇ HBD
 - ◇ HBG
 - ◇ PBD
 - ◇ PBG
 - ◇ SBD
 - ◇ SBG
 - ◆ piquet



2 Abréviations spécifiques utilisées

Paramètres physico-chimiques globaux

CHLA	Chlorophylle <i>a</i>	mg C/L	Milligramme de carbone par litre
CID	Carbone inorganique dissous	mg N/L	Milligramme d'azote par litre
COD	Carbone organique dissous	NOP	Azote organique particulaire
Cond.	Conductivité	O2 diss.	Oxygène dissous
COP	Carbone organique particulaire	T°C	Température en degré Celsius
MES	Matières en suspension		

Micropolluants organiques

Alkylphénols (AKP)

4-NP	4-Nonylphénol	ΣAKP	Somme des concentrations en alkylphénols (3 composés dosés)
4-t-BP	4-ter-Butylphénol		
4-t-OP	4-ter-Octylphénol		

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Acte	Acénaphène	Flue	Fluorène
Acty	Acénaphthylène	Fluo	Fluoranthène
An	Anthracène	IP	Indeno(1,2,3)pyrène
BaA	Benzo(a)anthracène	Naph	Naphtalène
BaP	Benzo(a)pyrène	Per	Pérylène
BbkF	Benzo(b,k)Fluoranthène	Phe	Phenanthrène
BeP	Benzo(e)pyrène	Pyr	Pyrène
BghiP	Benzo(g,h,i)Pérylène	ΣHAP	Somme des concentrations en HAP (17 composés dosés)
Chy/Tri	Chrysène + Triphène		
DahA	Dibenzo(ah)anthracène		

Perfluoroalkylés (PFAS)

6:2FTS	Sulfonate de 6:2 fluorotélomère	PFHxA	Acide perfluorohexanoïque
--------	---------------------------------	-------	---------------------------

EtFOSA	N-éthyl-perfluorosulfonamide	PFHxS	Perfluorohexanesulfonate de potassium
FOSA	Perfluorooctane sulfonamide	PFNA	Acide perfluorononanoïque
MeFOSA	N-méthyl-perfluorosulfonamide	PFOA	Acide perfluorooctanoïque
PFBA	Acide perfluorobutanoïque	PFOS	Perfluorooctanesulfonate de potassium
PFBS	Perfluorobutanesulfonate de potassium	PFPA	Acide perfluoropentanoïque
PFDA	Acide perfluorodécanoïque	PFTeDA	Acide perfluorotétradécanoïque
PFDoA	Acide perfluorododécanoïque	PFTrDA	Acide perfluorotridecaneïque
PFDS	Sulfonate de perfluorobutane	PFUnA	Acide perfluoroundécaneïque
PFHpA	Acide perfluoroheptanoïque	ΣPFAS	Somme des concentrations en composés perfluoroalkylés (20 composés dosés)
PFHpS	Perfluoroheptanesulfonate de potassium		

Pesticides (PEST)

124 DCPU	1,2,4 Dichlorophénylurée	Hexa	Hexazinone
134 DCPU	1,3,4 Dichlorophénylurée	Hx-Sim	Hydroxy simazine
Ace	Acetochlor	Imi	Imidacloprid
Ace-ESA	Acetochlor ESA	Irg	Irgarol
Ace-OA	Acetochlor OA	Iso	Isoproturon
Ala	Alachlore	Lin	Linuron
Ame	Amethryn	Metaz	Métazachlor
Atr	Atrazine	Methio	Méthiocarb
Atr-2-hx	2-hydroxy atrazine	Metola	Métolachlor
Azo	Azoxystrobine	Metola-ESA	Métolachlor ESA
Ben	Bentazone	Metola-OA	Métolachlor OA
Carben	Carbendazime	Metox	Métoxuron
Carbet	Carbetamide	Msulf-Meth	Métsulfuron-méthyl
Carbo	Carbofuran	Nico	Nicosulfuron
ChlS	Chlorsulfuron	Promet	Promethryn
ChIT	Chlorotoluron	PropaC	Propachlor

Cya	Cyanazine	PropaZ	Propazine
Cyro	Cyromazine	PropiC	Propiconazole
DCPMU	3-(3,4-Dichlorophényl)-1-méthylurée	ProS	Prosulfuron
DEA	Diéthyl-atrazine	Pym	Pymethroline
DIA	Déisopropyl-atrazine	Quiz-ethyl	Quizalofop-ethyl
Dif	Diflufenican	Quiz-tef	Quizalofop-p-tefuryl
Dim	Diméthachlore	Sim	Simazine
Diu	Diuron	TerY	Terbutryn
DMSA	N',N'-diméthyl-N-phényl sulphamide	TerZ	Terbutylazine
DMST	Diméthylsulfotoluidide	TerZ-Des	Terbutylazine desethyl
Fla	Flazasulfuron	Thia	Thiamethoxan
Flua	Fluazifop-p-butyl	ΣPEST	Somme des concentrations des pesticides (56 composés dosés)
Flus	Flusilazole		

Pesticides organochlorés (OCP)

HCB	Hexachlorobenzène	Hepta	Heptachlore
2,4-DDD	2,4'-Dichlorodiphényldichloroéthane	Hepta-Ex	Heptachlore époxyde
2,4-DDE	2,4' DDE	Mir	Mirex
2,4-DDT	2,4'-Dichlorodiphényltrichloroéthane	Tr-Nona	<i>trans</i> nonachlor
4,4-DDD	4,4'-Dichlorodiphényldichloroéthane	γ-HCH	γ-Hexachlorocyclohexane (lindane)
4,4-DDE	4,4'-Dichlorodiphényldichloroéthylène	ΣOCP	Somme des concentrations en OCP (13 composés dosés)
4,4-DDT	4,4'-Dichlorodiphényltrichloroéthane		
Cis-Chl	<i>cis</i> chlordane		

Résidus médicamenteux (MED)

Abac	Abacavir	Imip	Imipramine
Ac 4-chl	Acide 4-chlorobenzoïque	Indi	Indinavir
Ac Clo	Acide clofibrique	Keto	Ketoprofène
Ac Fén	Acide fénofibrique	Lami	Lamivudine

PIREN-Seine – Phase 6 - Rapport de fin de phase – « Ecologie et Ecotoxicologie »

Ac Sal	Acide salicylique	Lora	Lorazepam
Aceb	Acébutolol	Losa	Losartan
Alpra	Alprazolam	Mépro	Méprobamate
Amit	Amitriptyline	Meto	Metoprolol
Aspi	Aspirine	Napro	Naproxene
Aten	Atenolol	Nelf	Nelfinavir
Ator	Atorvastatine	Nevi	Nevirapine
Beza	Bezafibrate	Nord	Nordiazepam
Biso	Bisoprolol	Oxaz	Oxazepam
Brom	Bromazepam	Para	Paracétamol
Café	Caféine	Prav	Pravastatine
Carba	Carbamazépine	Prim	Primidone
Céti	Cétirizine	Prop	Propranolol
Clen	Clenbuterol	Rani	Ranitidine
Clon	Clonazepam	Rito	Ritonavir
Clop	Clopidogrel	Salb	Salbutamol
Diaz	Diazepam	Saqui	Saquinavir
Diclo	Diclofenac	Sild	Sildenafil
Diso	Disopyramide	Sota	Sotalol
Doxé	Doxépine	Terb	Terbutaline
Fluox	Fluoxétine	Théo	Théophylline
Gemf	Gemfibrozil	Timo	Timolol
Hx-Ibup	Hydroxy ibuprofène	ΣMED	Somme des concentrations en médicaments (55 composés dosés)
Ibup	Ibuprofène		

Le programme de recherche PIREN-Seine a été lancé il y a plus de 25 ans, en 1989. Il fait aujourd'hui partie de la « Zone Atelier Seine » labellisée par l'Institut Ecologie et Environnement du CNRS. Les chercheurs contribuant au programme appartiennent à des nombreuses institutions de l'enseignement et de la recherche (Universités, CNRS, Grandes Ecoles, INRA, IRSTEA,...). Le programme fonctionne par grandes phases de 4 ou 5 années. Cette série de 7 volumes concerne la synthèse de la 6^{ième} phase du programme qui s'est étendue de 2011 à 2015.

Les chercheurs du programme développent avec les institutions du bassin de la Seine une recherche pluri-disciplinaire, à la fois utile au développement des politiques liées à l'eau au sein du bassin, et d'un niveau scientifique reconnu. Les projets de recherche, pour chaque phase du programme, sont ainsi co-construits au travers de séquences d'ateliers et de discussions entre les chercheurs du programme et leurs partenaires, les chercheurs se nourrissant aussi des pratiques de leurs pairs dans le domaine des sciences de l'environnement au sein du réseau national des Zones Ateliers.

Depuis 25 ans, le programme s'est intéressé à de nombreux aspects de fonctionnement du bassin de la Seine, en intégrant ses systèmes naturels, systèmes hydriques, sols, et les hommes qui y vivent et qui l'ont façonné depuis des siècles. Les résultats des recherches menées sont publiés dans de nombreux ouvrages et revues scientifiques internationales, dont on trouvera la liste sur le site internet du programme (<http://www.piren-seine.fr>). Ils sont également utilisés dans l'élaboration des politiques publiques et des schémas directeurs dans le bassin de la Seine, alors que différents outils issus du programme sont utilisés pour la gestion opérationnelle de certaines masses d'eau.

Pour sa 6^{ième} phase, le programme PIREN-Seine a bénéficié du soutien :

- de l'Agence de l'Eau Seine-Normandie,
- du Syndicat Interdépartemental pour l'Assainissement de l'Agglomération Parisienne,
- du Syndicat des Eaux d'Ile de France,
- de l'EPTB Seine Grands Lacs,
- de la Direction Régionale et Interdépartementale de l'Environnement et de l'Energie
- d'Eau de Paris,
- de la Lyonnaise des Eaux,
- du Centre National de la Recherche Scientifique,
- de bourses doctorales provenant de la Région Ile-de-France.