



HAL
open science

Influence des processus biogéochimiques sur la contamination par les PCB des espèces piscicoles des lacs d'altitude

Yann-Michel Nellier

► **To cite this version:**

Yann-Michel Nellier. Influence des processus biogéochimiques sur la contamination par les PCB des espèces piscicoles des lacs d'altitude. Ecologie, Environnement. Université Grenoble Alpes, 2015. Français. NNT : 2015GREAA012 . tel-01404532

HAL Id: tel-01404532

<https://theses.hal.science/tel-01404532>

Submitted on 28 Nov 2016

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.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

Spécialité : Biodiversité, écologie, environnement

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Yann-Michel NELLIER

Thèse dirigée par **Emmanuel NAFFRECHOUX** et
codirigée par **Marie-Elodie PERGA**

préparée au sein du **Laboratoire de Chimie Moléculaire et
Environnement**
dans **l'École Doctorale Sciences et Ingénierie des Systèmes,
de l'Environnement et des Organisations**

Influence des processus biogéochimiques sur la contamination par les PCB des espèces piscicoles des lacs d'altitude

Thèse soutenue publiquement le **29 juin 2015**,
devant le jury composé de :

M. Joan GRIMALT

PR, Institute of Environmental Assessment and Water Research, Rapporteur

Mme Karen KIDD

PR, University of New Brunswick, Rapporteur

M. Jérôme ROSE

CR, CNRS / Université Aix-Marseille, Examineur, Président du jury

M. Emmanuel NAFFRECHOUX

PR, Université Savoie Mont Blanc, Directeur de thèse

Mme Marie-Elodie PERGA

DR, INRA / Université Savoie Mont Blanc, Co-directeur de thèse



Ces travaux ont été financés par une allocation doctorale de recherche ARC

Environnement de la région Rhône-Alpes



RESUME

Les lacs d'altitude sont soumis à des retombées atmosphériques de polluants organiques persistants (POP) issus pour la plupart des activités humaines malgré leur éloignement des sources d'émissions de ces composés. Si les mécanismes de transport atmosphérique de ces polluants jusqu'aux sites d'altitude sont désormais bien connus (« global distillation » ou « grasshopper effect »), on dispose en revanche de très peu d'informations quant à leur devenir dans ces écosystèmes montagnards. Le travail présenté a pour objectif de déterminer les processus internes au lac influençant le devenir de ces polluants, avec un accent plus particulier sur leurs interactions avec les phases organiques et leur intégration dans les réseaux trophiques. En raison de leurs propriétés physico-chimiques très variables entre congénères (*e.g.*, peu à très hydrophobes), les polychlorobiphényles (PCB) ont été choisis comme modèles de POP.

L'étude a été conduite sur deux lacs alpins du Parc National des Ecrins (Isère, France): le lac de la Muzelle (2110 m) et le lac de Plan Vianney (2250 m). Le suivi en 2012 et 2013, à fréquence saisonnière, des concentrations en PCB des composants biologiques, des fractions particulaires et dissoutes et des flux atmosphériques déposés sur les lacs a permis d'évaluer à la fois les variations saisonnières, interannuelles, et entre les lacs, de la contamination de la faune piscicole et de les relier aux intrants atmosphériques et aux processus biogéochimiques lacustres.

Nos résultats identifient la fonte du manteau neigeux comme vecteur rapide et important de transfert des PCB atmosphériques aux lacs d'altitude (40% des apports annuels en seulement 2 à 3 semaines). Le bilan de masse révèle aussi que les flux de PCB entrants sont supérieurs aux flux sortants des lacs et met ainsi en évidence leur rôle de puits de PCB atmosphériques. La distribution des PCB entre les phases "particules" et "eau" varie à la fois entre lacs et saisons, révélant une succession d'équilibre et de non-équilibre thermodynamiques. En effet, la couverture de glace en hiver isole les lacs de l'atmosphère et donc des sources de polluants, permettant aux PCB d'atteindre l'équilibre thermodynamique de partition entre les phases particulaire et dissoute. A l'opposé, en périodes d'eaux libres, les paramètres d'influence de l'adsorption des PCB sur la matière particulaire (température, concentration et nature des particules, concentration de PCB) répondent à la variabilité environnementale, empêchant l'atteinte de l'état d'équilibre. Enfin, si la contamination de la faune piscicole varie tant entre lacs qu'entre saisons, l'absence de relation entre concentrations en PCB et divers indicateurs trophiques (composition en isotopes stables du carbone ou biomarqueurs lipidiques) révèle que cette contamination ne dépend ni de l'habitat ni de la variabilité trophique des individus. Au contraire, la contamination de la faune piscicole est liée à la concentration des polluants en phase dissoute. Dans les lacs d'altitude, les POP, même s'ils sont présents à faible concentration, seraient donc essentiellement transférés à la faune piscicole par un phénomène de bioconcentration et non par un mécanisme de bioaccumulation.

Nos résultats mettent en évidence la nécessité de mieux connaître l'éco-dynamique des POP, y compris dans les milieux faiblement contaminés. Dans un contexte de changement global pour lequel les intrants dans les écosystèmes d'altitude risquent de varier en intensité ou en temporalité, ces connaissances permettront (i) d'évaluer le rôle futur des lacs comme puits ou sources secondaires de POP pour l'atmosphère et (ii) prévoir l'évolution des niveaux de contamination de la faune piscicole dans les écosystèmes aquatiques éloignés des sources de production.

Mots clés : POP, polychlorobiphényles, lac d'altitude, dépôts atmosphériques, transfert, répartition, bioconcentration

ABSTRACT

Altitude lakes undergo atmospheric deposition of persistent organic pollutants (POPs) resulting mainly from human activities despite their distance from emission sources. If the mechanisms driving the atmospheric transport of these pollutants to altitude environment are now fairly known ("global distillation" or "grasshopper effect"), there is still few information about their fate in these mountain ecosystems. This work aims to identify the internal lake processes influencing the fate of POPs, with a particular focus on their interaction with the organic phases and their integration into food webs. Due to their variability of physico-chemical properties between congeners (*e.g.*, less to more hydrophobic), polychlorinated biphenyls (PCBs) have been chosen as POP models.

The study was conducted on two alpine lakes from the National Park of Ecrins (Isère, France): Lake Muzelle (2110 m) and Lake Plan Vianney (2250 m). A monitoring was conducted in 2012 and 2013 to assess PCBs concentration in aquatic organisms, particulate and dissolved fractions and atmospheric PCBs inputs. Thus, seasonal, interannual and inter-lakes variability of PCBs level in fish have been assessed and linked to atmospheric inputs and biogeochemical lake processes.

Our results show that snowmelt corresponds to an important and sudden flux of PCBs to altitude lakes (40% of annual contributions during the few weeks of spring thaw). Mass balance also reveals that PCBs inputs are higher than outputs, highlighting the role of altitude lakes as atmospheric PCBs sinks. PCBs partition between particulate and dissolved phases varies both between lakes and seasons, revealing a succession of thermodynamics equilibrium and non-equilibrium. In fact, when lakes are ice-covered, the water column is isolated from the atmosphere and therefore from sources of pollutants, allowing to reach a thermodynamic equilibrium partition of PCBs between the particulate and dissolved phases. On the contrary, when lakes are ice-free, parameters affecting PCBs adsorption on particulate matter (temperature, concentration and nature of the particles, PCBs concentration) are subject to environmental variability, preventing chemicals to reach thermodynamic equilibrium. Finally, even though PCBs fish contamination varies both between lakes and between seasons, the lack of relationship between PCBs concentrations and trophic indicators (stable isotope composition of carbon or lipid biomarkers) highlights that fish level of PCBs does not depend on habitat use and inter-individual trophic variability. In contrast, the PCBs concentration in fish is related to the concentration of pollutants in the dissolved phase. In altitude lakes, even though POPs are presented at low concentrations, these chemicals are mainly transferred to the fish compartment by bioconcentration rather than bioaccumulation.

These results highlight the need to improve our knowledge on POPs ecodynamics even in low contaminated environments. In a context of global change for which pollutant inputs in altitude ecosystems might vary in intensity or temporality, this research appears essential to (i) assess the future role of altitude lakes as atmospheric POPs sinks or secondary sources and (ii) predict any modification of PCBs levels in fish in remote aquatic ecosystems.

Key words: POP, polychlorinated biphenyls, altitude lake, atmospheric inputs, transfer, partition, bioconcentration

« Le commencement de toutes les sciences, c'est l'étonnement de ce que les choses sont ce qu'elles sont. »

Aristote, Métaphysique

« Laboratoire. Même quand on ne trouve rien, on renifle l'odeur de la vérité qui se cache. »

Jean Rostand, Carnet d'un biologiste

A mes parents, Nadine et Jacques

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Madame Karen Kidd et Monsieur Joan Grimalt d'avoir accepté de faire ce long voyage pour rapporter mes travaux de thèse ainsi que Monsieur Jérôme Rose pour avoir accepté de les juger et de présider ce jury.

Je souhaite exprimer toute ma reconnaissance à mes directeurs de thèse, Marie-Elodie Perga et Emmanuel Naffrechoux. Merci pour vos conseils (plus ou moins imaginés, n'est-ce pas Marie !), votre soutien et votre patience. J'ai beaucoup appris, merci de m'avoir fait partager vos connaissances et de m'avoir orienté vers une rédaction « plus sexy » ou « avec plus de poils aux pattes ». Et promis, à l'avenir je ne ferai plus mon « black carbon » ! Je tiens également à vous remercier pour votre aide lors des campagnes de terrain.

Un grand merci à Alex Bec pour avoir cru en moi et permis de faire mes premiers pas dans le monde de la Recherche.

Un remerciement tout particulier à Martial Armand pour les analyses des contenus stomacaux et les analyses d'acide gras ; à David Pobel pour les comptages phytoplancton.

Merci à mes collègues chimistes du LCME qui ont accueilli le biologiste que je suis (j'ai bien retenu la leçon : manips de bio = manips de charlot, mais n'oubliez pas, manips de chimiste = manips de fumiste !). Un grand merci à Nathalie pour m'avoir initié aux techniques d'extraction des PCB et à l'analyse en GC-MS, à Joël et Philippe pour leur support technique et leur aide sur le terrain, à Jean-Luc pour la patience dont il a fait preuve lorsque je pourrissais la colonne de la GC, à Christine pour ses précieux conseils. J'adresse un remerciement tout particulier à Violaine, ma voisine de paillasse pour sa joie de vivre, son humour et son écoute. Merci d'avoir été mon petit leprechaune pour la vaisselle ou encore les filtrations (même si tu as rajouté de l'eau sur les filtres C18 alors qu'il ne fallait pas !).

Une pensée toute particulière à mes collègues doctorants, post-doctorants et techniciens : Benjamin, mon voisin de bureau pour ses délires sur les naines à barbe de la Maurienne et ses conseils en chimie ; Elodie pour nos longues conversations ; Julie et Tamara, mes anciennes collègues du bureau pour leur patience face aux délires partagés avec Benjamin ; Johanna, la petite dernière du bureau pour nos papotages ; Aude, Alexandre, Florie, Jean-Charles, Liliane, Marion, Sara et Sylvain pour les échanges autour d'un verre ou d'une bonne raclette.

Je tiens également à remercier mes collègues du CARTEL : Emilie pour ses « bons points panier basket », ses hari croco (je te laisse évidemment les rouges !), ses prêts dons de

consommables et son encadrement dans le cadre de mon activité de monitorat ; David pour nos délires au cours des séances de TP ; Jean pour la réalisation des campagnes d'échosondage sur les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney ; Jean-Christophe pour sa participation aux campagnes de juillet 2013 ; Denis pour le parrainage de l'appel à projet de la Fondation ENG ; Leslie pour les comptages zooplancton et Valérie pour les analyses scalimétriques.

Un grand merci à mes collègues du laboratoire EDYTEM : Emmanuel pour avoir été le MacGyver des campagnes de terrain et pour ta bonne humeur ; Laurent pour les informations essentielles sur les flux sédimentaires au lac de la Muzelle ; Pierre pour la datation des carottes de sédiments et sa participation à la campagne de septembre 2012 ; Cécile pour son aide lors des analyses granulométriques et la caractérisation des bassins versants ; Jérôme pour les informations relatives à la nature des sols des bassins versants et Nathalie pour nos discussions à l'occasion des TP de biologie végétale.

Merci au Parc des Ecrins pour m'avoir autorisé à effectuer les prélèvements sur ces magnifiques lacs. Je tiens également à remercier les gardes du Parc du secteur de Bourg d'Oisans pour leur participation aux campagnes de prélèvements avec un remerciement tout particulier à Jérôme Forêt et Clotilde Sagot.

Merci à Chantal Durdan, la gardienne du refuge de la Muzelle, pour son accueil chaleureux, les bons petits plats, les prêts d'outils et d'autocuiseur ! Merci à Jojo le berger pour son aide et la partie de pêche.

Je remercie également Raphaël, Christelle, Baptiste et Mathéo pour l'hébergement, les activités de loisirs et les repas partagés (délicieux ce petit reblochon de la Clusaz !) ; Florent pour nos délires depuis le DUT et son soutien ; Marie-Pierre B. pour son écoute et son soutien.

Merci aux Cowboys Fringants qui, grâce à leurs tounes, m'ont permis d'aller « Droit Devant ».

Pour terminer, je souhaite remercier les membres de ma famille : mes parents pour leur patience, leur compréhension et leur soutien indéfectible depuis mon départ pour l'EPA ; mes grands-parents et ma sœur pour leur bonne humeur et leur soutien. Un merci tout particulier à mon papy qui a accepté de braver le froid, la pluie et le vent de nombreuses fois pour se rendre à la boire faire un tour aux canards (même si j'ai terminé ma thèse, j'espère bien que l'on y retournera pour la prochaine saison !).

Sommaire

CHAPITRE 1 : Introduction générale

I.	Introduction	3
II.	Transfert des PCB dans l'environnement	6
1.	Les sources primaires de PCB	6
2.	Transport atmosphérique des PCB à longue distance	8
3.	Sources secondaires de PCB	10
4.	Transfert des PCB aux lacs d'altitude	11
a)	Voies de transfert des PCB atmosphériques aux lacs d'altitude	11
b)	Influence des processus biogéochimiques	15
5.	Transfert des PCB dans les réseaux trophiques aquatiques	18

CHAPITRE 2 : Démarche méthodologique et analyses complémentaires

Préambule

I.	Sites d'études	25
II.	Stratégie d'échantillonnage	29
III.	Analyses complémentaires	33
1.	Caractéristiques physico-chimiques de l'eau	33
2.	Monitoring haute-fréquence	34
a)	Suivi de la température de l'eau	35
b)	Suivi de la concentration de Chlorophylle <i>a</i>	37
3.	Dénombrement et identification du phytoplancton	38
4.	Dénombrement et identification du zooplancton	40
5.	Contenus stomacaux de la faune piscicole	42

CHAPITRE 3 : Les lacs d'altitude sont-ils des puits de PCB?

Préambule

I.	Introduction	52
II.	Materials	53
1.	Study sites	53
2.	Sampling	55
3.	Organochlorine compounds analysis	57
4.	Mass budget calculations	58
a)	Inputs	60
b)	Outputs	62
c)	Loadings	65
III.	Results	66
1.	Loadings	67
2.	Inputs	69
3.	Outputs	69
IV.	Discussion	72
1.	Evaluation of the mass budget	72

a)	Water-air exchange	72
b)	Outflow	72
c)	Robustness of the mass budget	73
2.	Inputs	73
3.	Seasonal variations of water column load	74
4.	Within or between lakes differences	75
5.	PCB mass budget	77
V.	Conclusions	77

CHAPITRE 4 : Influence des processus internes au lac sur le devenir des PCB

Préambule

I.	Introduction	92
II.	Material and methods	93
1.	Site description	93
2.	Sampling method	95
3.	Phytoplankton biomass and composition	96
4.	PCBs extraction and quantification	96
5.	Partitioning	97
6.	Statistical analyses	97
III.	Results and discussion	98
1.	PCBs concentration	98
2.	Particulate-dissolved phase partition of PCBs	100
3.	Factors affecting PCBs partitioning	103
a)	Particulate matter	103
b)	Phytoplankton	104
c)	Temperature	106
d)	Octanol-water coefficient	106

CHAPITRE 5 : Influence de la structure des réseaux trophiques sur les niveaux de contamination aux PCB des poissons

Préambule

I.	Introduction	129
II.	Materials and methods	130
1.	Study sites	130
2.	Sample collection	131
3.	Sample processing	131
4.	PCBs analysis	133
5.	Stable isotope analysis	134
6.	Fatty acid analysis	134
7.	Data analysis	135
III.	Results	135
1.	Fish PCBs levels	135
2.	Fish characteristics	136
3.	Food web structure	137
4.	PCBs and phytoplankton in water	140

IV. Discussion	143
1. Seasonal variations of fish PCBs level in Lake Plan Vianney	143
2. Inter-lakes differences	145
V. Conclusion	146
CHAPITRE 6 : Discussion générale et perspectives	147
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	159
ANNEXES	179

Liste des figures

Figure 1 : cartographie des milieux aquatiques pollués aux PCB en France	7
Figure 2 : mécanismes de dispersion des POP tels que les PCB par voie atmosphérique à l'échelle mondiale	8
Figure 3 : mécanisme d'adsorption des POP par la neige	12
Figure 4 : processus de transfert des POP dans le manteau neigeux	12
Figure 5 : exemple de couplage entre transfert du PCB 153 et cycle du carbone organique en milieu marin	15
Figure 6 : illustration du mécanisme de « biological pump » dans l'Océan Arctique	17
Figure 7 : mécanismes de contamination et de dépuration des PCB chez un poisson	19
Figure 8 : présentation des principaux flux de PCB envisagés dans les lacs d'altitude et des trois volets d'investigations de ce travail doctoral	21
Figure 9 : a) le lac de la Muzelle et b) le lac de Plan Vianney	25
Figure 10 : localisation géographique des lacs de la Muzelle et Plan Vianney	26
Figure 11: différents phénotypes de poissons capturés au lac de Plan Vianney résultant de l'hybridation possible entre le saumon de fontaine et l'omble chevalier	27
Figure 12 : schéma descriptif du système de monitoring mis en place au lac de la Muzelle ..	34
Figure 13 : évolution de la température de l'eau à différentes profondeurs pour les lacs de a) la Muzelle de juin 2012 à septembre 2013 et b) Plan Vianney de septembre 2012 à septembre 2013.....	35
Figure 14 : profil thermique de la colonne d'eau à chaque campagne de prélèvements pour les lacs de a) la Muzelle et b) Plan Vianney.....	36
Figure 15 : évolution de la température de l'eau pour différentes profondeurs et de la concentration de Chlorophylle <i>a</i> mesurée deux mètres en dessous de la surface pour le lac de la Muzelle entre janvier 2012 et avril 2013.....	37
Figure 16 : biomasse moyenne (surface et fond) des différents groupes phytoplanctoniques présents dans la colonne d'eau des lacs de a) la Muzelle et b) Plan Vianney.....	39
Figure 17 : abondance des proies vs. présence de ces proies dans les contenus stomacaux des poissons	42
Figure 18 : stocks, flux entrants et sortants de PCB estimés dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney.	50
Figure 19: geographical localisation of the studied lakes	54
Figure 20: Σ PCBs mass budget (mg yr^{-1}) for year both studied lakes in 2012	66

Figure 21: Mean PCBs concentration in bulk water (particulate + dissolved) to Lake Muzelle and Lake Plan Vianney	68
Figure 22: distribution of selected PCBs congeners (#52, #101, #138, #153 and #180) for calculated or estimated parameters of mass balance in 2012. a) Lake Muzelle and b) Lake Plan Vianney	71
Figure 23: mean PCBs concentration associated with particulate matter (hatched bar) and in dissolved phase (white bar) to a) Lake Muzelle and b) Lake Plan Vianney	99
Figure 24: mean PCBs partitioning (average of samples collected at 4 m depth and 3 m above max depth) between dissolved phase, micro-, nano- and picoplankton for a) Lake Muzelle and b) Lake Plan Vianney	102
Figure 25: biomass of different phytoplankton groups ($\mu\text{gC L}^{-1}$, average surface and bottom) at a) Lake Muzelle and b) Lake Plan Vianney for each sampling campaign	105
Figure 26: $\log K_p$ vs $\log K_{ow}$ in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney when lakes were a) ice-covered and b) ice-free	108
Figure 27 : mean PCBs concentration \pm standard deviation for fish at each sampling campaign	136
Figure 28 : results from the principal component analyses on fatty acids composition of fish for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney	139
Figure 29 : results from the principal component analyses consisting of PCBs fish contamination for each sampling campaign and both studied lakes using particulate-dissolved phase partition, phytoplankton biomass and PCBs fish concentration parameters	142
Figure 30 : flux de PCB envisagés dans le lac de la Muzelle (mg PCB an^{-1})	152
Figure 31 : prédiction du changement d'intensité des précipitations dans les régions alpines pour les prochaines décennies par rapport à la période de référence 1961-1990	155

Liste des tableaux

Tableau 1 : principales caractéristiques physico-chimiques de l'eau échantillonnée dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney pour chaque campagne de prélèvements	34
Tableau 2 : description du système de monitoring mis en place pour les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney	34
Tableau 3 : identification et dénombrement des organismes zooplanctoniques présents dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney	41
Tableau 4 : description des échantillons collectés pour les différentes campagnes de prélèvements et leurs analyses respectives	44
Tableau 5: limnological characteristics of the studied lakes	54
Tableau 6: description of parameters used in mass budget	59
Tableau 7: PCBs concentration in gas phase for remote lakes, background sites of mid-latitude and Lake Muzelle	64
Tableau 8: PCBs congeners distribution and concentration in dissolved water near the surface of Lake Muzelle and Lake Plan Vianney	68
Tableau 9: values of log K_{OW} derived from literature and log K_{OM} calculated using its relationships with log K_{OW} for selected PCBs congeners	80
Tableau 10: values of Henry's law constant and enthalpy of phase change for selected PCBs congeners reported in the literature and used in this study.	82
Tableau 11: minimum and maximum values of calculated or estimated parameters of mass budget for Lake Muzelle	84
Tableau 12: minimum and maximum values of calculated or estimated parameters of mass budget for Lake Plan Vianney	84
Tableau 13: air-water fugacity ratios for selected PCB congeners	85
Tableau 14: PCB congeners concentration and distribution in snow for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney	86
Tableau 15: seasonal variations of water temperature, and of concentrations in total suspended matter, total organic carbon and particulate organic carbon in 2012 and 2013 for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney	94
Tableau 16: linear regression of log K_p vs log K_{ow} for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney	108
Tableau 17 : blank values in UHQ water for each type of filter used	112

Tableau 18: PCB congeners concentration range associated with dissolved phase, micro-, nano- and picoplankton in water near the surface (4m) and the bottom (3m above max depth) of Lake Muzelle	113
Tableau 19 : PCB congeners concentration range associated with dissolved phase, micro-, nano- and picoplankton in water near the surface (4m) and the bottom (3m above max depth) of Lake Plan Vianney	114
Tableau 20: results of Student's test testing the difference of PCBs concentration in particulate matter (pico-, nano- and microplankton) and dissolved phase between both depths	115
Tableau 21: results of Fisher's exact test testing the difference of PCBs repartition between particulate phases (<i>i.e.</i> , pico-, nano- and microplankton) and dissolved phase amongst sampled depths for a same campaign	116
Tableau 22: seasonal variations of microplankton concentration, dissolved organic carbon and microphytoplankton biomass for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney in 2012 and 2013	117
Tableau 23: relationship between organic matter quantity (<i>i.e.</i> , concentrations of microplankton or dissolved organic carbon) or quality (<i>i.e.</i> , relative proportion of phytoplankton) and the relative proportion of PCBs associated with microplankton for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (surface and bottom water were considered)	118
Tableau 24: biomass of main phytoplankton species and total phytoplankton biomass for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney	119
Tableau 25: linear regression of $\log K_p$ vs. total phytoplankton biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$) for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (surface and bottom water were considered)	120
Tableau 26: linear regression of $\log K_p$ vs. main phytoplankton species biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$) for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (surface and bottom water were considered)	121
Tableau 27: linear regression of particulate phase concentration vs. mean water temperature (surface and bottom) for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney	122
Tableau 28: linear regression of $\log K_p$ vs. $\log K_{ow}$ for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney for each sampling campaign (surface and bottom water were considered)	123
Tableau 29 : summary informations on collected samples and respective analyses.....	132
Tableau 30 : carbon isotope signature \pm standard deviation (‰) of fish, micro-, pico- and nanoplankton in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney	138
Tableau 31 : mean \pm standard deviation percentages of identified fatty acids (FA) in fish from Lake Muzelle and Lake Plan Vianney	139

Tableau 32 : means of targeted fatty acid (FA) and indexes \pm standard deviation per cent amount in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney 140

CHAPITRE 1 : Introduction générale

I. Introduction

Au début des années 60, la parution du « Printemps silencieux » (Carson et al., 1962) et les progrès en chimie analytique ont conduit la communauté scientifique internationale à étudier le devenir dans l'environnement de composés chimiques de synthèse industrielle. D'importantes concentrations de molécules organiques, telles que des pesticides (DDT, toxaphène), ont alors été mises en évidence dans de nombreux compartiments environnementaux à l'échelle mondiale (Cade et al., 1968; Cory et al., 1970; Nash and Woolson, 1967).

Certains composés ont été regroupés en une catégorie définie par la convention de Stockholm (<http://chm.pops.int>) sous le terme de polluants organiques persistants (POP). Ces polluants possèdent des propriétés physico-chimiques particulières ayant plusieurs conséquences sur leur devenir dans l'environnement. Tout d'abord, ils présentent une importante résistance aux dégradations chimiques, physiques et biologiques à l'origine de leur persistance dans les compartiments environnementaux (temps de demi-vie supérieur à 1 an). Les POP sont également lipophiles, à l'origine de leur accumulation par les organismes terrestres et aquatiques (*i.e.*, bioaccumulation et bioconcentration) et de leur transfert important par voie alimentaire jusqu'aux consommateurs supérieurs (*i.e.*, bioamplification) dont l'Homme (Fitzgerald et al., 1998; Laird et al., 2013). De plus, ces composés présentent une toxicité manifeste pour les organismes. En effet, certains POP tels que les polychlorobiphényles (PCB) ont été reconnus cancérigènes notamment pour l'Homme (classe 1, International Agency for Research on Cancer ; <http://www.iarc.fr>). Enfin, leur semi-volatilité permet leur transport atmosphérique sur de longues distances et par conséquent leur diffusion à l'échelle mondiale (Wania and Mackay, 1993b; Wania and Mackay, 1995; Wania and Westgate, 2008). Ainsi, des concentrations importantes de POP ont été mises en évidence dans des écosystèmes éloignés des sources de production ou d'utilisation tels que les milieux marins arctiques (Braune et al., 2005; DeWit et al., 2004; Muir and Howard, 2006) ou encore les lacs d'altitude (Grimalt et al., 2001; Vilanova et al., 2001a; Vilanova et al., 2001b). En 2009, neuf composés ont été ajoutés à la liste initiale des POP, augmentant leur nombre à vingt et un. Actuellement, l'intégration de six nouveaux composés est évaluée par la communauté scientifique internationale. L'émergence de nouveaux POP met en évidence la nécessité de mieux connaître les processus de transfert de ces composés au sein des écosystèmes récepteurs pour mieux appréhender leur devenir et le risque environnemental à court, moyen et long termes. Malgré les caractéristiques communes décrites précédemment,

les POP se distinguent les uns des autres par une diversité de propriétés physico-chimiques (*e.g.*, peu à très volatils, peu à très hydrophobes, etc) qui impose d'étudier le devenir de « composés modèles des POP » tels que les PCB.

Les PCB forment une famille de 209 congénères différenciés d'après le nombre et la position de leur(s) atome(s) de chlore (Ballschmiter and Zell, 1980). Cette diversité de composition et de structure chimique leur confère une importante variabilité de propriétés physico-chimiques. Ces composés ont été synthétisés industriellement depuis 1929 et utilisés principalement comme fluide diélectrique dans les transformateurs et les condensateurs mais également dans la formulation des lubrifiants et des huiles de coupe, des pesticides et des retardateurs de flamme, des peintures, adhésifs, enduits, joints de bâtiments ou plastiques. La grande stabilité de ces composés, qui était l'un des atouts de leurs usages, a contribué à leur persistance dans l'environnement. Leur dispersion à l'échelle mondiale, reportée pour la première fois en 1969 dans la chair d'aigles marins vivant à l'écart des sources de production (Jensen et al., 1969), est liée à leur caractère lipophile qui a conduit à leur bioaccumulation par les organismes aquatiques puis leur bioamplification dans les réseaux trophiques marins, jusqu'aux consommateurs supérieurs. La production et l'utilisation des PCB ont culminé dans les années 1970 et diminuent depuis car de nombreux pays ont stoppé leur production et limité leur utilisation suite à la découverte de leur toxicité (Breivik et al., 2002). Néanmoins, ces composés sont encore présents en grande quantité dans notre environnement (stock de PCB estimé à 2400 tonnes dans les sols, 366 010 tonnes dans les milieux aquatiques, 1 290 tonnes dans l'air et 4 570 tonnes dans les organismes ; Tanabe 1988) et représentent un danger potentiel pour la qualité des écosystèmes et la santé humaine (Ljunggren et al., 2014; Naffrechoux, 2015b; Spanò et al., 2005). En plus d'être encore présents dans l'environnement, ces composés continuent de circuler entre les différents compartiments environnementaux à l'échelle mondiale (Wania and Mackay, 1996) sous l'influence du réchauffement climatique (Bogdal et al., 2010; Bogdal et al., 2009). Ainsi, même si le stock global diminue, des concentrations de PCB peuvent augmenter localement en raison de l'augmentation de leurs dépôts atmosphériques (Arellano et al., 2015).

Des études récentes conduites sur des lacs d'altitude européens ont montré des différences notables de contamination aux PCB de la faune piscicole, tout en soulignant la multiplicité des facteurs d'influence (Gallego et al., 2007; Schmid et al., 2007; Vives et al., 2003). La communauté scientifique a soulevé le rôle potentiel de différents facteurs d'origine abiotique telle que la localisation géographique, la température (Grimalt et al., 2001) ou d'origine biotique comme l'âge du poisson (Vives et al., 2005), sa position dans le réseau

trophique (Rasmussen et al., 1990), son contenu lipidique (Vander Zanden and Rasmussen, 1996) ou encore son habitat alimentaire (Guildford et al., 2008; Kidd et al., 2001). Certaines études ont même évoqué l'influence conjuguée de deux types de facteurs, notamment la disponibilité des PCB pour les organismes et leur voie de transfert jusqu'aux poissons (Granberg et al., 2008; Hudson et al., 2005; Jeremiason et al., 1999). Aujourd'hui, identifier les processus à l'origine de cette variabilité de contamination constitue un enjeu scientifique majeur pour estimer le devenir des PCB et de manière plus générale des composés organiques semi-volatils lipophiles dans les écosystèmes lacustres.

Notre hypothèse est que **la variabilité de contamination aux PCB de la faune piscicole des lacs d'altitude résulte davantage de processus biogéochimiques internes aux lacs que de différences d'intensité des apports de PCB atmosphériques**. On entend par processus biogéochimiques, le transfert des PCB entre les différentes phases et les différents compartiments (*e.g.*, adsorption et absorption par la matière particulaire ou les organismes, échanges à l'interface air-eau ou eau-sédiments, sédimentation, etc). Ces processus vont être influencés par des caractéristiques physiques (*e.g.*, température), chimiques (*e.g.*, hydrophobie des composés) et biologiques (*e.g.*, nature des particules) qui détermineront, entre autre, la répartition des PCB entre les phases particulaires et dissoute dans la colonne d'eau. La répartition des PCB dans la colonne d'eau est considérée comme l'un des paramètres clés influençant le devenir des PCB dans les milieux aquatiques (Hamelink et al., 1994). Ainsi, ces processus biogéochimiques internes aux lacs pourraient influencer sur l'efficacité de transfert des PCB atmosphériques dans les réseaux trophiques, jusqu'aux poissons.

Pour tester cette hypothèse, il est nécessaire d'identifier au préalable les « manques de connaissances » concernant le devenir des PCB dans les lacs d'altitude. A ce titre, nous effectuerons un bilan des connaissances scientifiques actuelles sur (i) les sources de PCB pour les lacs d'altitude, (ii) les voies de transfert des PCB à ces écosystèmes lacustres, (iii) l'influence des processus biogéochimiques internes aux lacs sur le devenir des PCB, et (iv) les mécanismes de transfert des PCB jusqu'à la faune piscicole. Cet état de l'art identifiera les principaux objectifs à atteindre pour vérifier cette hypothèse.

II. Transfert des PCB dans l'environnement

1. Les sources primaires de PCB

Les sources primaires de PCB correspondent à l'émission directe de ces composés vers le milieu aquatique à partir de sites d'utilisation et de stockage. On peut citer les déversements accidentels ou volontaires de mélanges commerciaux tels que de l'Aroclor[®] ou le Pyralène[®], présents dans de nombreux transformateurs électriques ou utilisés par certaines industries (papeterie, production de matériels électriques, etc). L'un des plus importants déversements industriels correspond au rejet dans la rivière Hudson (USA) d'environ 600 tonnes de PCB entre 1940 et 1977 par l'industriel General Electric (State of New York, 2013). Dans le nord du Wisconsin (USA), le recyclage de papier carbone dont l'encre de copie contient des PCB a conduit aux rejets d'environ 115 tonnes de PCB dans la rivière Fox entre 1957 et 1971, contaminant près de 11 millions de tonnes de sédiment (<http://wi.water.usgs.gov>). En France, les milieux aquatiques ont également été les récepteurs de sources primaires de PCB (Figure 1). Par exemple, l'activité de production de transformateur électrique par l'industriel Savoisiennne d'électricité a conduit à des rejets accidentels ou volontaires de PCB dans un affluent du lac du Bourget, le Tillet. Ces polluants ont été transportés jusqu'au lac puis transférés dans le réseau trophique lacustre. D'importantes concentrations de PCB ont été mesurées dans les poissons, conduisant à la mise en place de mesures restrictives pour la consommation des produits de la pêche (arrêté préfectoral du 2 avril 2008). Des problèmes identiques ont été mis en évidence dans le fleuve Rhône (arrêté interpréfectoral du 20 mars 2006) suite aux rejets de PCB par l'usine TREDI, spécialisée dans le traitement des matériels électriques contenant des PCB, à Saint Vulbas (Ain). Les rejets des stations de traitement d'eaux usées (contribution liée en partie à l'excrétion humaine ou aux rejets industriels) peuvent également entraîner une pollution aux PCB de certains cours d'eau ou lacs (Chevreuil et al., 1987; Chevreuil et al., 1988; Thevenon et al., 2013). Enfin, le lessivage des sols ou déchets des sites pollués par les eaux de ruissellement participe également au transfert des PCB vers les écosystèmes adjacents tels que les lacs (Provini et al., 1995).

Chapitre 1 : Introduction générale

Les PCB originaires de ces sources primaires ne sont toutefois pas définitivement stockés dans les écosystèmes pollués. Ils peuvent en effet être volatilisés depuis les masses d'eau, voire depuis les sols et transférés ensuite par les courants aériens à des sites très éloignés de la source initiale.

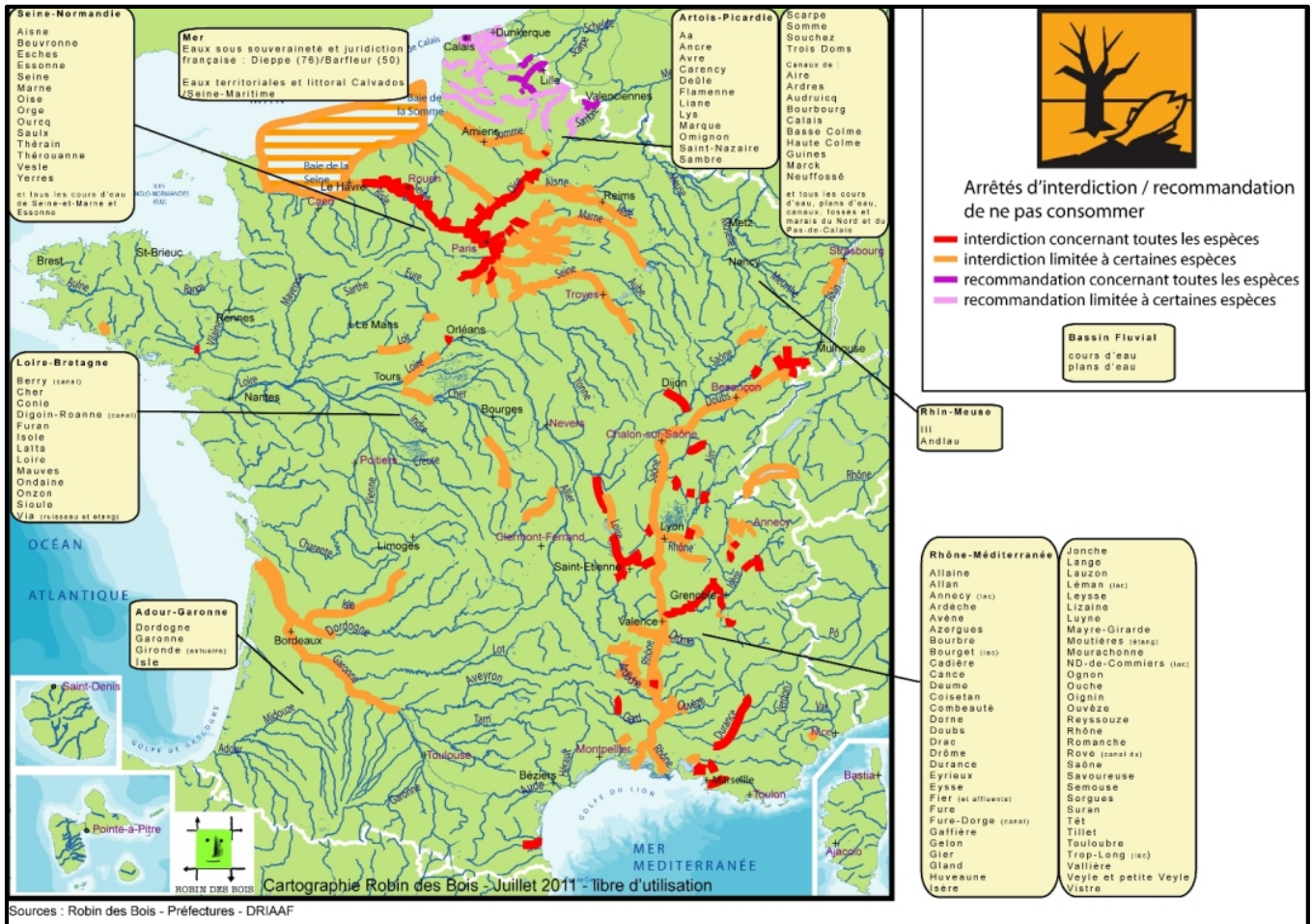


Figure 1 : cartographie des milieux aquatiques pollués aux PCB en France (version de juillet 2011) d'après l'association Robin des Bois (<http://www.robindesbois.org>)

2. Transport atmosphérique des PCB à longue distance

Ces dernières décennies, de nombreuses investigations ont été menées pour identifier les processus atmosphériques responsables de la dispersion des POP, tels que les PCB, à l'échelle mondiale (Scheringer et al., 2004; Scheringer et al., 2000; Wania and Mackay, 1993a; Wania and Mackay, 1995; Wania and Mackay, 1996; Wania and Westgate, 2008; Wegmann et al., 2006). Plusieurs phénomènes physiques à l'origine de leur dispersion par voie atmosphérique ont été identifiés (Figure 2).

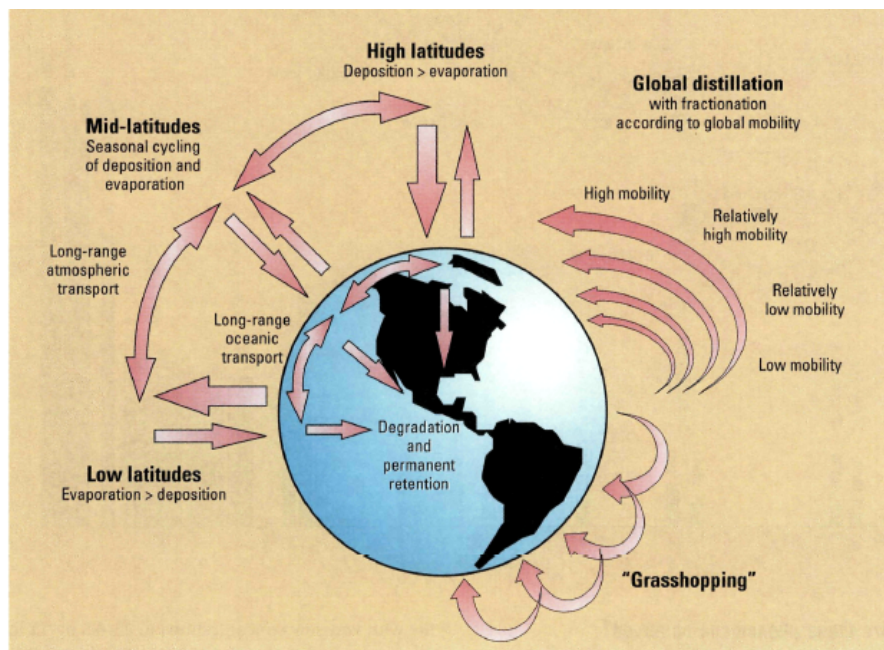


Figure 2 : mécanismes de dispersion des POP tels que les PCB par voie atmosphérique à l'échelle mondiale (d'après Wania and Mackay, 1996)

Le transport atmosphérique des PCB est gouverné par un phénomène de « global distillation » (Wania and Mackay, 1993b; Wania and Mackay, 1995). Ce phénomène est lié à l'existence de différentes propriétés physico-chimiques au sein d'une même famille de polluants (*i.e.*, congénères). Dans le cas des PCB, les congénères les plus volatils (*i.e.*, les moins chlorés) sont présents à 98% sous forme gazeuse dans l'atmosphère ce qui permet leur transport à longue distance. Cette migration explique leur accumulation au niveau des pôles (AMAP, 2004). Au contraire, les congénères les moins volatils (comportant au moins 6 atomes de chlore) sont principalement associés à des particules atmosphériques et se déposent plus rapidement (*i.e.*, à proximité des sources), dans les zones de moyenne latitude ou de

haute altitude (*e.g.*, zones arctiques, montagnes). Ce transport atmosphérique depuis les zones de production et d'utilisation des polluants vers les milieux de hautes latitude et altitude s'effectue, au moins en partie, par l'intermédiaire d'un cycle répété de processus de dépôt et de volatilisation des polluants qui dépend des variations saisonnières et journalières de température. Ce phénomène a été reporté dans la littérature sous le nom de « grasshopper effect » (Gouin et al., 2004; Wania and Mackay, 1996).

Par ailleurs, le phénomène de « cold trapping » ou « cold condensation » influence également la dispersion atmosphérique des PCB. Ce phénomène correspond à une concentration plus importante d'un composé dans une région froide par comparaison à celle mesurée dans une région tempérée, malgré des concentrations atmosphériques identiques (Wania and Westgate, 2008; Wegmann et al., 2006). La distribution des PCB entre les phases particulaire, dissoute et gazeuse dans l'atmosphère est fonction de la constante de Henry (*i.e.*, volatilité) et du coefficient de partage octanol-air (K_{oa}). Ces caractéristiques physico-chimiques étant dépendantes de la température, toute modification de cette dernière entraînera des changements de distribution des polluants dans l'atmosphère. La diminution de la température favorise la dissolution dans l'eau météorique ou l'adsorption sur les particules atmosphériques, conduisant au dépôt des polluants sous forme de précipitations (pluie, neige) ou dépôts secs. Ce phénomène sera amplifié dans les zones de montagne où les précipitations (neigeuses) sont plus abondantes. Par ailleurs, les faibles températures vont limiter la volatilisation des PCB atmosphériques déposés et favoriser leur adsorption sur le sol, la végétation et les organismes, favorisant ainsi leur piégeage dans ces écosystèmes froids. La rétention des polluants dans ces écosystèmes sera importante si leur coefficient de partage octanol-air est compris entre 10^9 et 10^{11} (Wania and Westgate, 2008).

3. Sources secondaires de PCB

Les compartiments environnementaux de stockage temporaire, à l'origine du transport des POP par voie atmosphérique, constituent des sources dites secondaires. Les incendies de 2004 dans les régions boréales ont par exemple entraîné la remobilisation et le transport par voie atmosphérique aux zones arctiques (Eckhardt et al., 2007) des PCB initialement stockés dans les sols forestiers (Meijer et al., 2003) après piégeage initial des PCB gazeux par la canopée (Horstmann and McLachlan, 1998; Wania and McLachlan, 2001). En zone péri-alpine, la volatilisation des PCB à partir d'un lac pollué par une source primaire peut entraîner la contamination d'écosystèmes lacustres, indemnes de pollution initiale, jusqu'à environ 40 km par un "effet halo" (Naffrechoux et al., 2015a).

Dans les écosystèmes aquatiques, la remobilisation des PCB stockés dans les sédiments par des processus de diffusion, de bioturbation ou de remise en suspension (Eggleton and Thomas, 2004; Gevao et al., 1997; Josefsson et al., 2010) constitue aussi une source secondaire pour les organismes aquatiques (par bioaccumulation) et pour les écosystèmes aquatiques connectés (*e.g.*, transfert de sédiments suite à l'érosion). L'érosion des berges ou la remise en suspension des sédiments contaminés de la rivière Fox (*cf* p 6) lors des crues a ainsi entraîné le transport d'environ 72 tonnes de PCB au lac Michigan (Green Bay). Chaque année, 100 à 200 kg de PCB sont encore transportés au lac Michigan, entraînant des risques sanitaires pour l'Homme par consommation des poissons contaminés (Schwartz et al., 1983; Turyk et al., 2012). Le changement climatique global amplifie la mobilisation des PCB depuis les sources secondaires. La hausse des températures peut par exemple remobiliser vers des milieux aquatiques (torrents, lacs, océans) des PCB déposés auparavant depuis l'atmosphère dans les glaciers d'altitude (Bettinetti et al., 2008; Bogdal et al., 2010; Bogdal et al., 2009; Schmid et al., 2010) ou les calottes polaires (Hung et al., 2010; Ma et al., 2011).

Le transport des PCB à longue distance par la voie atmosphérique, à partir de sources secondaires, varie selon des gradients de latitude, d'altitude (et de température) qui conduisent à une contamination plus importante des écosystèmes situés dans les régions froides (Simonich and Hites, 1995). Des PCB ont été mis en évidence dans des écosystèmes éloignés des sources de production et d'utilisation comme les zones arctiques ou encore les lacs d'altitudes (Fernandez et al., 2005; Galassi et al., 1997; Melnikov et al., 2003; Strachan et al., 2001). Dans les zones tempérées, les lacs d'altitude peuvent être utilisés comme écosystèmes sentinelles pour évaluer (i) les flux de PCB émis globalement par les sources secondaires et (ii) leur devenir dans l'écosystème aquatique. L'intérêt des lacs d'altitude comme sentinelle est

renforcé dans le contexte actuel de changement global, pour lequel les intrants de PCB vont varier en intensité (remobilisation par volatilisation des stocks présents dans les sols ou les lacs de plaine pollués, les glaciers, en raison de l'augmentation de la température ; Bogdal et al., 2010; Bogdal et al., 2009, Dalla Valle et al., 2007) ou en temporalité (les PCB étant associés aux précipitations, une couverture nivale plus importante au printemps entraînera des apports de PCB plus conséquents à la différence de la période estivale où des épisodes pluvieux plus faibles les diminueront ; Gobiet et al., 2014). Les concentrations de PCB dans l'eau et la faune piscicole peuvent alors augmenter et entraîner des problèmes sanitaires. En effet, certains lacs d'altitude constituent une ressource en eau pour les habitants des vallées.

4. Transfert des PCB aux lacs d'altitude

a) Voies de transfert des PCB atmosphériques aux lacs d'altitude

Les PCB peuvent être transférés aux lacs d'altitude par différentes voies : dépôts atmosphériques à la surface du lac, absorption de PCB atmosphérique en phase gazeuse à l'interface air-eau ou apports par le bassin versant.

Les dépôts atmosphériques de PCB peuvent être sous forme liquide (pluie et neige) ou solide (particules atmosphériques). Dans les lacs d'altitude, en raison des faibles températures annuelles (*e.g.*, -1°C à 8°C ; Grimalt et al., 2009), la neige peut constituer une part importante des précipitations annuelles. Des études ont montré que la neige accumulait des concentrations plus importantes de POP comparée à la pluie (Franz and Eisenreich, 1998; Lei and Wania, 2004) car la structure cristalline de la neige lui confère une surface spécifique plus importante que les gouttelettes de pluie (Hoff et al., 1995). La capacité d'adsorption des polluants gazeux ou le lessivage des particules atmosphériques sont ainsi augmentés (Figure 3).

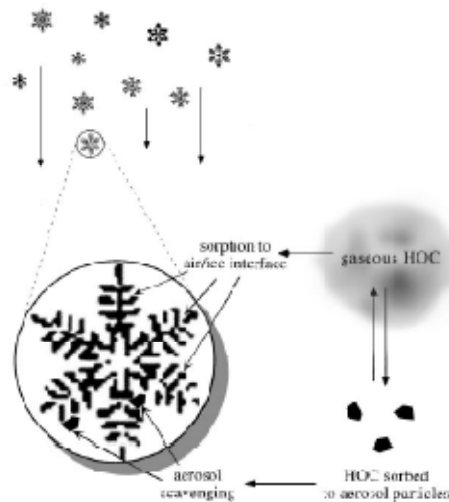


Figure 3 : mécanisme d'adsorption des POP par la neige (d'après Wania et al., 1998)

La neige constitue donc un réservoir important de PCB atmosphériques mais également un compartiment de transfert de ces composés depuis l'atmosphère vers les écosystèmes terrestres et aquatiques (Daly and Wania, 2004; Herbert et al., 2006). Au printemps, la fonte du manteau neigeux libère les polluants stockés durant l'hiver et permet leur transfert aux sols, à la végétation ou aux étendues d'eau (Figure 4).

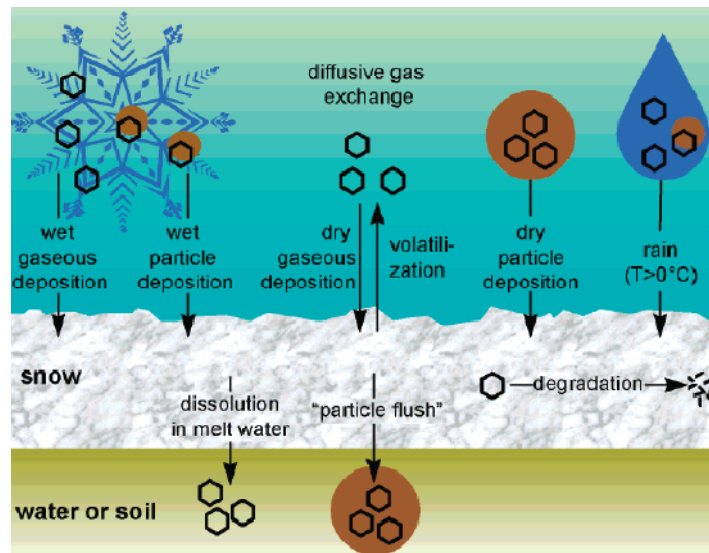


Figure 4 : processus de transfert des POP dans le manteau neigeux (d'après Daly and Wania, 2004)

De nombreuses études ont été conduites pour mesurer les concentrations de PCB dans la neige des zones polaires (Hargrave et al., 1988; Herbert et al., 2005; Jaffrezo et al., 1994) et des milieux de montagne en Amérique du Nord (Blais et al., 1998; Burniston et al., 2007; Hageman et al., 2006; Swackhamer et al., 1988). Les quelques études réalisées dans les milieux de montagne européens ont montré que les concentrations de PCB dans le manteau neigeux étaient similaires à celle mesurées en Amérique du Nord (Arellano et al., 2011; Carrera et al., 2000). La contamination des écosystèmes de montagne, y-compris européens, semblent ainsi être due au transport atmosphérique des PCB à longue distance. Grimalt et al. (2009) ont suggéré que le piégeage des polluants par le manteau neigeux constituait un des principaux mécanismes de transfert des PCB aux lacs d'altitude en période froide. Toutefois, la quantification des dépôts atmosphériques de PCB pour trois lacs d'altitude (Redo, Ovre Neadalsvatn, Gossenkölesee) pendant 15 mois (mars 1997 à octobre 1998 ; Carrera et al., 2002) a montré que les dépôts atmosphériques estivaux (*i.e.*, pluie + dépôts secs) pouvaient excéder les dépôts hivernaux (*i.e.*, neige + dépôts secs).

Une étude (Van Drooge et al., 2004) réalisée sur deux lacs d'altitude européens (Redo et Starolesnianke Pleso) a, entre autre, montré que les PCB atmosphériques les plus volatils étaient principalement présents sous forme gazeuse plutôt qu'associés à des particules (de 75 à 95% de la concentration atmosphérique totale). Ainsi, le phénomène d'absorption des PCB atmosphériques sous forme gazeuse à l'interface air-eau pourrait être une voie de transfert importante de ces composés dans les lacs d'altitude. A ce jour, seules deux études conduites sur le lac d'altitude Redo (Meijer et al., 2006; Meijer et al., 2009) ont suggéré que le flux annuel d'échange de deux congénères (PCB 28 et PCB 153) à l'interface air-eau correspondait à une volatilisation. Toutefois, une importante alternance saisonnière de flux de volatilisation et d'absorption des PCB à l'interface air-eau a été observée. En effet, ce flux est dépendant de la température de l'air et de la vitesse du vent (Liss and Slater, 1974; Mackay et al., 2006) ce qui peut entraîner d'importantes modifications de son intensité et de son sens (*i.e.*, échanges de l'air vers l'eau ou de l'eau vers l'air) au cours du temps.

Dans les zones d'altitude, les sols peuvent accumuler des quantités de POP, tels que des PCB, suite à leurs dépôts par voie atmosphérique (Barra et al., 2005; Borghini et al., 2005; Meijer et al., 2003). Par conséquent, le lessivage du bassin versant par les précipitations pourrait constituer une voie de transfert non négligeable des PCB stockés dans les sols aux lacs d'altitude. Une étude conduite sur deux lacs d'altitude européens (Redo et Ladove) a montré que les sédiments lacustres présentaient des concentrations plus importantes de PCB que les sols du bassin versant (Grimalt et al., 2004). Toutefois, les auteurs ont écarté

l'hypothèse d'un transfert des PCB depuis le bassin versant vers les écosystèmes lacustres en raison de la faible solubilité de ces composés prévenant tout transfert hydrique, et de l'absence d'érosion du bassin versant. Des résultats identiques ont été obtenus pour un cours d'eau de plaine où seulement 3% des PCB déposés sur un bassin versant ont été transférés jusqu'à son exutoire (Rowe et al., 2007a). Les auteurs suggèrent que la volatilisation des PCB déposés sur les sols du bassin versant serait responsable du faible transfert de ces composés au cours d'eau. En effet, seuls les PCB les moins volatils (*i.e.*, les plus chlorés) ont été transférés au système hydrologique. Certains lacs d'altitude sont alimentés par la fonte de glaciers de leur bassin versant. Les POP atmosphériques stockés dans les glaciers au cours du temps (Grannas et al., 2013; Villa et al., 2006; Villa et al., 2003; Wang et al., 2008) pourraient constituer, en cas de fonte, un apport de PCB aux lacs d'altitude. Des études récentes ont montré que les eaux de fonte des glaciers sont des vecteurs importants de polluants, notamment de PCB, pour les lacs d'altitudes (Bettinetti et al., 2008; Bogdal et al., 2010; Bogdal et al., 2009; Schmid et al., 2010) ou les lacs arctiques (Blais et al., 2001a; Blais et al., 2001b).

Dans les écosystèmes aquatiques, les flux entrants de PCB mesurés (dépôts atmosphériques, apport via la fonte des glaciers) et calculés (absorption à l'interface air-eau, lessivage du bassin versant, diffusion à l'interface sédiments-eau) sont généralement comparés aux flux sortant de PCB (exutoire, volatilisation à l'interface air-eau, enfouissement dans les sédiments, diffusion à l'interface eau-sédiments). Ces études permettent (i) d'identifier les principales voies de transfert de ces composés dans les milieux aquatiques et (ii) déterminer le rôle des écosystèmes aquatiques dans l'éco-dynamique de ces polluants (*i.e.*, puits, ou source). L'essentiel de ces études a été conduit dans les Grands Lacs américains (Bamford et al., 2002; Mackay, 1989; Swackhamer et al., 1988; Totten et al., 2002), les zones côtières (Dalla Valle et al., 2003; Totten et al., 2001), les lacs de plaines (Gevao et al., 1998; Gevao et al., 2000; Sanders et al., 1996) ou les lacs arctiques (Blais et al., 2001b; Freitas et al., 1997; Helm et al., 2002). A ce jour, un seul lac d'altitude a fait l'objet de telles investigations (Meijer et al., 2006; Meijer et al., 2009) mais seulement pour deux congénères (PCB 28 et PCB 153). Pour améliorer les connaissances relatives aux mécanismes de transfert des PCB atmosphériques aux lacs d'altitude, nous évaluerons : **(i) sous quelle(s) formes et selon quelle(s) dynamique(s) les PCB intègrent les lacs d'altitudes, et (ii) quel est le rôle des lacs d'altitude dans l'éco-dynamique des PCB en milieux de montagne.**

b) Influence des processus biogéochimiques

A la fin des années 70, l'identification du carbone organique particulaire comme l'un des principaux facteurs gouvernant la répartition des POP dans les écosystèmes aquatiques (Karickhoff et al., 1979; Mackay, 1979) a mis en évidence l'importance des processus biogéochimiques sur le devenir de tels composés. Plusieurs études conduites en milieux marins ou lacustres ont alors confirmé le lien entre cycle du carbone et devenir des POP (Figure 5 ; Dachs et al., 2002; Jurado et al., 2007; Larsson et al., 1998; Mackay, 1989).

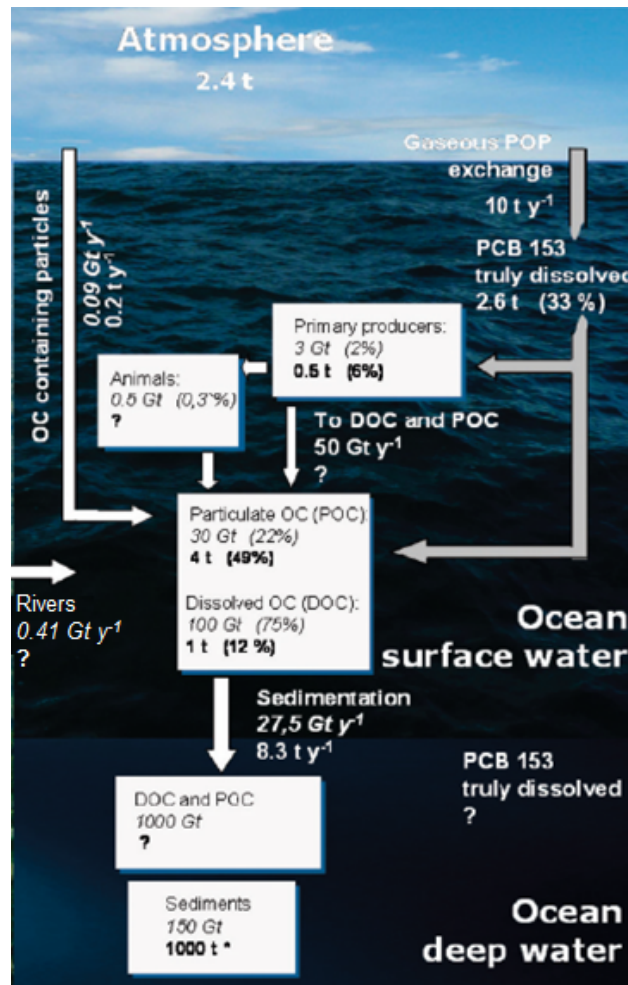


Figure 5 : exemple de couplage entre transfert du PCB 153 et cycle du carbone organique (OC) en milieu marin (modifié d'après Nizetto et al., 2010)

NB : les chiffres en caractère gras correspondent au PCB 153 et en italique au carbone organique.

Bien que le phytoplancton ne représente qu'une fraction infime du carbone organique pélagique des écosystèmes aquatiques (*e.g.*, environ 0,2% du carbone organique pélagique total dans les eaux de surface océaniques ; Jacques and Saugier, 2008), sa croissance rapide en fait un important vecteur de transfert de carbone organique vers les eaux profondes ou les sédiments lors de sa sénescence. Face à ce constat, la communauté scientifique s'est appliquée à évaluer le rôle du phytoplancton dans le transfert des POP en milieux aquatiques. Une étude conduite dans deux lacs de la région des lacs expérimentaux (Ontario, Canada) par Jeremiasson et al. (1999) a montré une amplification du flux de PCB de la colonne d'eau vers le sédiment avec l'augmentation du niveau trophique du lac. L'analyse des trappes à sédiments a révélé que ce transfert plus important de PCB vers le compartiment benthique dans le lac eutrophe était lié à une augmentation du flux de sédimentation des particules. D'autre part, les auteurs ont émis l'hypothèse que l'eutrophisation des écosystèmes lacustres pouvait augmenter les flux d'absorption de PCB atmosphériques à l'interface air-eau. Le développement d'un modèle dynamique couplant à la fois les échanges à l'interface air-eau et l'adsorption des PCB par le phytoplancton a pu confirmer cette hypothèse (Dachs et al., 1999; Dachs et al., 2000). Ce modèle a révélé que les échanges de PCB à l'interface air-eau n'étaient pas seulement influencés par des paramètres physiques (*e.g.*, température, vitesse du vent) mais également par la croissance et l'abondance du phytoplancton. Ce phénomène amplifie alors l'absorption des PCB gazeux de l'atmosphère à l'interface air-eau pour évoluer vers un nouvel état d'équilibre. La littérature existante attribue ce mécanisme à l'influence conjuguée du phytoplancton sur l'absorption des PCB atmosphériques à l'interface air-eau et sur leur transfert les sédiments. Il est répertorié sous l'appellation « biological pump » (Figure 6; Galban-Malagon et al., 2012; Jurado and Dachs, 2008; Lohmann et al., 2007; Nizzetto et al., 2012).

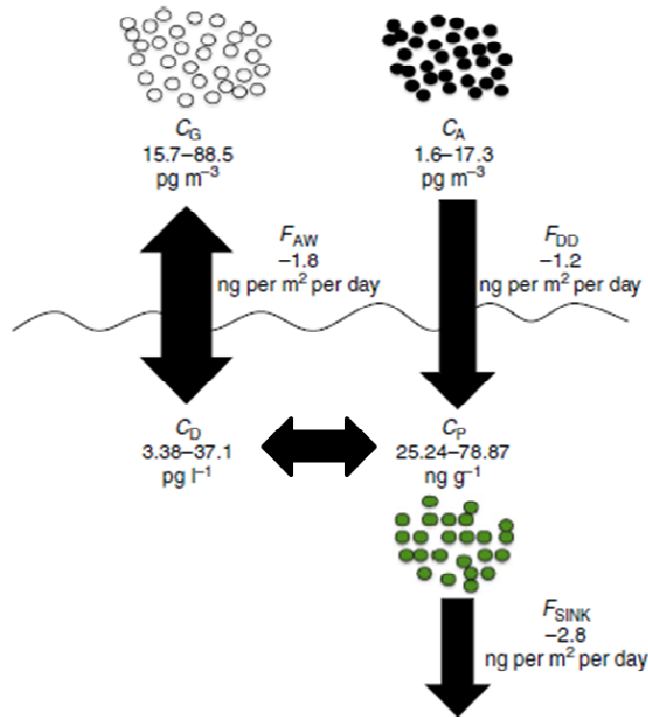


Figure 6 : illustration du mécanisme de « biological pump » dans l’Océan Arctique (modifié d’après Galban-Malagon et al., 2012).

NB : C_A , C_G , C_D et C_P = concentrations respectives des PCB associés aux particules atmosphériques, des PCB gazeux, des PCB dissous et des PCB associés à des particules aquatiques (*e.g.*, phytoplankton) ; F_{AW} = flux de PCB de l’air vers l’eau, F_{DD} = flux de PCB associés à des dépôts secs et F_{SINK} = flux de PCB vers les eaux profondes et le sédiment.

De manière générale, l’adsorption des POP sur les particules en suspension dans l’eau est considérée comme le principal facteur influençant le devenir de ces polluants dans les écosystèmes aquatiques, tel que leur transfert vers les sédiments ou les eaux profondes (Dachs et al., 1996; Dachs et al., 2000; Gustafsson et al., 1997a; Gustafsson et al., 1997b). Dans la littérature, différents paramètres physico-chimiques et biologiques influençant la distribution des POP entre les phases particulaires et dissoutes ont été suggérés comme la température de l’eau (Bergen et al., 1993), la concentration des matières en suspension (Turner et al., 1999; Van Hoof and Andren, 1991), l’hydrophobicité des composés (Achman et al., 1993) ou la composition spécifique du phytoplankton (Swackhamer and Skoglund, 1991). Cependant, l’influence respective de chaque paramètre n’a pas encore été clairement définie. Par exemple, des études ont montré des relations positives (Bergen et al., 1993), négatives (Pearson et al., 1996) ou l’absence de relation (Schulz-Bull et al., 1995) entre l’hydrophobicité du composé et sa distribution entre les phases particulaires et dissoutes. Les

investigations conduites dans les lacs d'altitude ont uniquement évalué l'influence de paramètres physico-chimiques (Galassi et al., 1997; Vilanova et al., 2001a; Vilanova et al., 2001b). Ces études ont suggéré que la température et l'hydrophobicité des composés influenceraient la répartition des PCB dans la colonne d'eau. Néanmoins, environ 30% de la variation de la distribution des PCB entre les phases particulaire et dissoute restaient encore inexpliqués.

Au cours de ce travail doctoral, en quantifiant notamment l'influence relative de paramètres physico-chimiques et biologiques sur la répartition des PCB dans la colonne d'eau et leur devenir dans l'écosystème, nous avons cherché à identifier **quel(s) processus biogéochimique(s) interne(s) influence(nt) le devenir des PCB dans les écosystèmes lacustres d'altitude.**

Les processus biogéochimiques régulent également le devenir de la matière dans les milieux aquatiques en incluant des processus biologiques tels que les transferts trophiques.

5. Transfert des PCB dans les réseaux trophiques aquatiques

Une fois présents dans les écosystèmes aquatiques, le caractère lipophile des PCB va favoriser leur transfert vers les organismes et entraîner leur contamination. Cette contamination s'effectue soit par voie dissoute, soit par voie trophique. On distingue alors deux types de mécanismes :

- bioconcentration : processus par lequel un composé est transféré à un organisme par voie dissoute, c'est-à-dire par le biais d'échanges respiratoires ou tégumentaires. La bioconcentration correspond à la différence entre la quantité de polluant absorbée par exposition directe et la quantité de polluant éliminée via les échanges respiratoires, les déjections et les activités métaboliques (croissance, reproduction).
- bioaccumulation : processus par lequel un composé est absorbé par un organisme par voie dissoute (*i.e.*, bioconcentration) et par voie trophique.

L'importance relative du transfert des polluants par voie trophique ou par voie dissoute est toujours débattue en écotoxicologie (Fisk et al., 2003; Gray, 2002; Gray, 2003).

L'intensité des phénomènes de bioconcentration et de bioaccumulation des PCB par les poissons peut être influencée par certaines caractéristiques tels que leur contenu lipidique

(Landrum and Fisher, 1999) ou leur âge (Vives et al., 2004; Vives et al., 2005). En effet, les individus les plus âgés ont été en contact avec le milieu pendant une durée plus longue que les individus jeunes, entraînant une bioconcentration plus importante des polluants. Les individus les plus âgés ont également consommé un plus grand nombre de proies amplifiant la bioaccumulation des polluants. De plus, certains paramètres physiologiques peuvent induire des différences de bioaccumulation des PCB entre individus. Différentes études (Larsson et al., 1993; Madenjian, 2011; Madenjian et al., 2009; Madenjian et al., 2014) ont montré que le sexe des poissons influençait leur niveau de contamination aux POP. Ces différences pourraient être en partie attribuées à un transfert des polluants bioaccumulés par les femelles aux œufs lors de la ponte ou à un taux de croissance plus important chez les femelles, entraînant une amplification du phénomène de « dilution par la croissance » des polluants. Les différents mécanismes de contamination et de dépuración des PCB envisagés chez les poissons sont présentés dans la Figure 7.

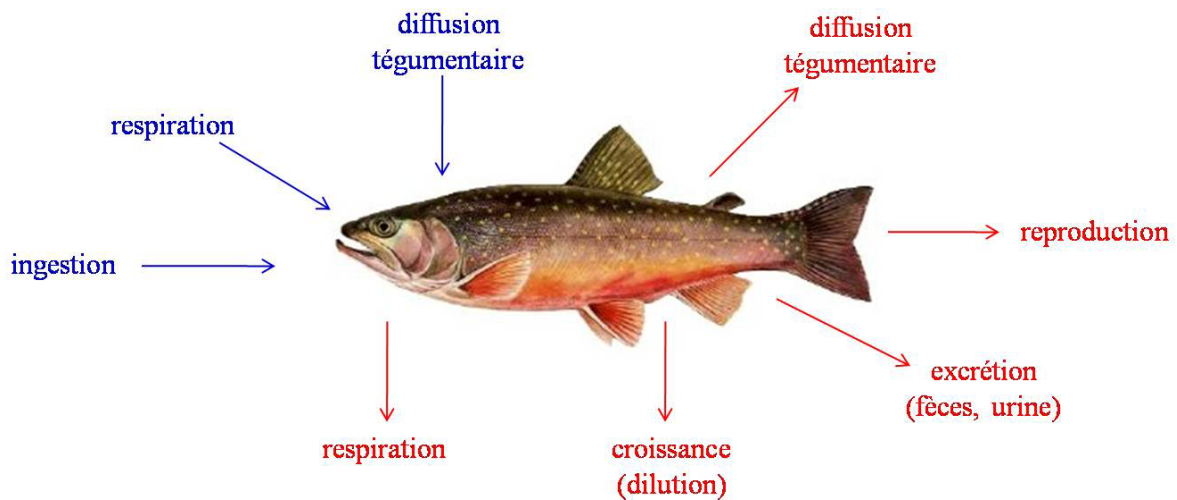


Figure 7 : mécanismes de contamination (en bleu) et de dépuración (en rouge) des PCB chez un poisson (adapté d'après Mackay and Fraser, 2000)

En raison de leur bioaccumulation par les organismes et de leur résistance à la dégradation biologique, les PCB vont être transférés dans les réseaux trophiques depuis les proies vers les prédateurs entraînant une augmentation de leur concentration à chaque niveau trophique. Ce mécanisme est reporté dans la littérature sous le nom de bioamplification. Certaines investigations ont montré que les variations inter-spécifiques de contamination aux PCB de la faune piscicole pouvaient résulter en partie de différences d'intensité de bioamplification lié à leur position trophique (*e.g.*, consommateur secondaire, super prédateur). En effet, ces études ont mis en évidence l'existence d'une corrélation positive entre la concentration en POP des poissons et leurs niveaux trophiques ($\delta^{15}\text{N}$; Kidd et al., 1998; Kidd et al., 1995; Kucklick and Baker, 1998; Rasmussen et al., 1990; Stapleton et al., 2001; Vander Zanden and Rasmussen, 1996).

Précédemment, nous avons souligné le couplage entre cycle du carbone et transfert des PCB dans les écosystèmes aquatiques (§4.b ; Figure 5). Des investigations combinant dosage de PCB et traçage isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) ont été réalisées pour identifier la relation entre origine de la matière organique soutenant la voie trophique et niveau de contamination de la faune piscicole. En milieu lacustre, ces études ont montré que les poissons s'alimentant sur des ressources pélagiques présentaient des niveaux de contamination plus importants que ceux dont l'habitat alimentaire était essentiellement benthique (Guildford et al., 2008; Kidd et al., 2001), contrairement à ce qui avait été observé en milieu lotique (Lopes et al., 2011; Wilson et al., 1995). Guildford et al. (2008) ont mis en évidence l'existence d'une corrélation positive entre les niveaux de contamination aux PCB des Cristivomers (*Salvelinus namaycush*) et le pourcentage d'organismes phytoplanctoniques mixotrophes (*Cryptophyceae* et *Dynophyceae*). Les auteurs ont suggéré que le transfert des PCB par la boucle microbienne pourrait amplifier le mécanisme de bioamplification des PCB dans les réseaux trophiques pélagiques. Des études conduites sur le terrain et en laboratoire (Hudson et al., 2005; Wallberg et al., 1997; Wallberg et al., 2001) ont également mis en évidence l'importance de la boucle microbienne comme voie de transfert des PCB dans les réseaux trophiques aquatiques.

Dans ce contexte, une partie de ce travail de thèse consistera à évaluer **comment la structure du réseau trophique influence sa capacité à intégrer et transférer les PCB jusqu'à la faune piscicole dans les lacs d'altitude.**

Ce travail de thèse cherche à identifier les paramètres influençant le devenir des PCB dans les écosystèmes aquatiques éloignés des sources de production et d'utilisation tels que les lacs d'altitude. Plus particulièrement, nous avons voulu savoir si la variabilité des apports de PCB atmosphériques aux lacs, des processus biogéochimiques internes aux lacs et de la structure du réseau trophique pouvait entraîner une variabilité des transferts de ces polluants jusqu'à la faune piscicole. Afin de tester notre hypothèse, ce travail de thèse s'articulera autour de trois volets d'investigations qui répondront aux objectifs énoncés suite à l'analyse des connaissances scientifiques actuelles

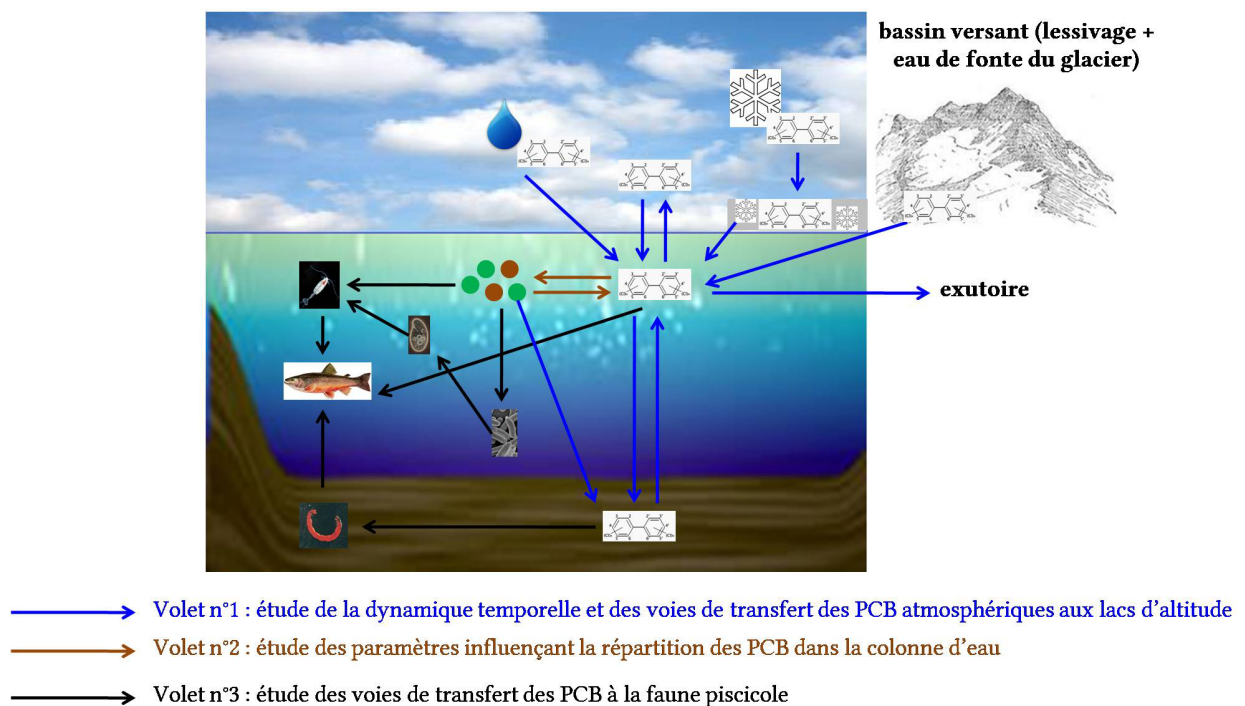


Figure 8 : présentation des principaux flux de PCB envisagés dans les lacs d'altitude et des trois volets d'investigations de ce travail doctoral

CHAPITRE 2 : Démarche méthodologique et analyses complémentaires

Les résultats de ce travail doctoral sont présentés sous la forme d'une thèse par articles scientifiques. Ce chapitre présente la démarche méthodologique mise en place pour répondre aux objectifs. Les matériels et méthodes ainsi que la démarche qualité mis en œuvre pour l'obtention des résultats sont détaillés dans chacun des articles.

I. Sites d'études

Deux lacs d'altitude du Parc National des Ecrins (Alpes du Nord, Isère, France) ont été étudiés. Le lac de la Muzelle situé à 2 115 m d'altitude (10 ha, Figure 9), est un lieu touristique (1 500 nuitées en moyenne par an au refuge) et d'alpage important (environ 1 200 à 1 500 ovins) pendant la période estivale (SCERCL, 2009). Le lac de Plan Vianney situé à 2 250 m d'altitude (5 ha, Figure 9), n'est fréquenté que par des marcheurs de passage et son bassin versant n'est pas pâturé.

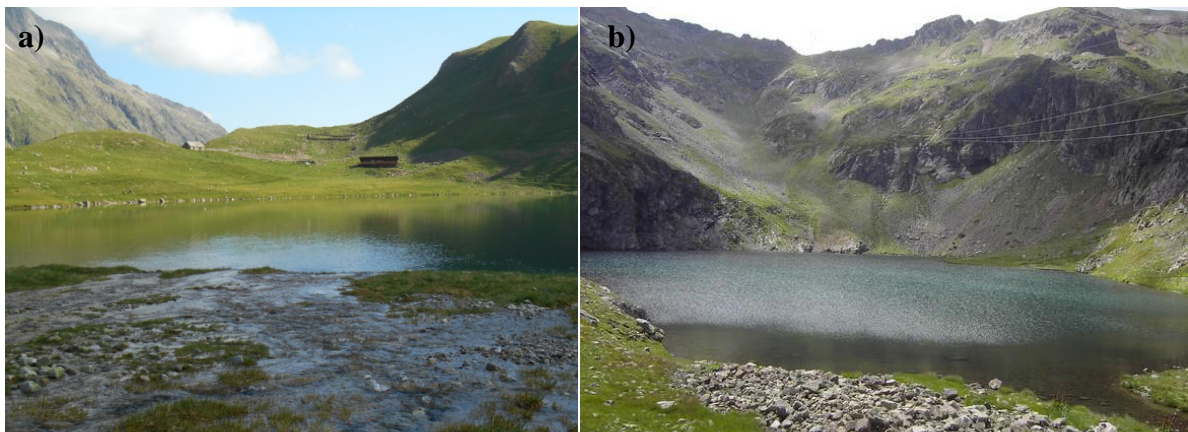


Figure 9 : a) le lac de la Muzelle et b) le lac de Plan Vianney (©Christine Piot et ©Patrice Valvert)

Ces sites ont été choisis pour:

(1) leur proximité géographique (4,3 km à vol d'oiseau, Figure 10) suppose des flux de PCB atmosphériques déposés à la surface des lacs identiques. Cette hypothèse sous-jacente a été vérifiée par la comparaison des concentrations de PCB mesurées dans les dépôts neigeux de chaque lac (chapitre 3);

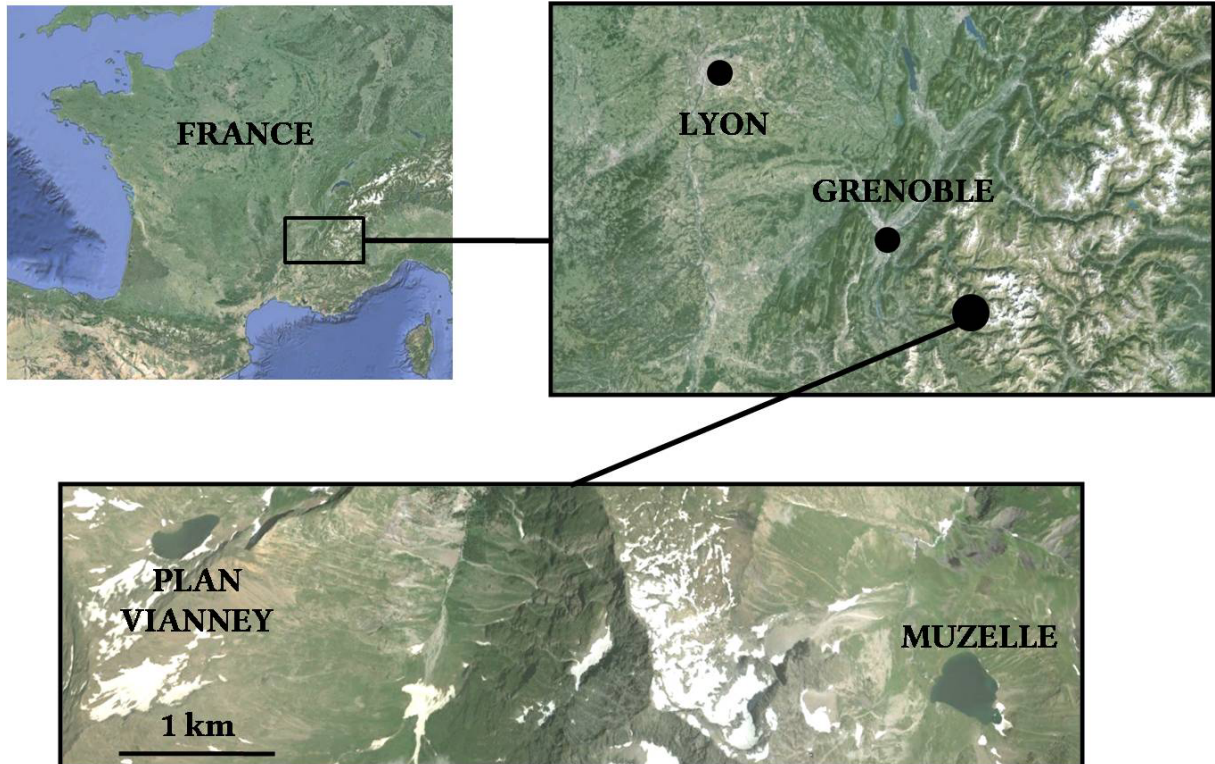


Figure 10 : localisation géographique des lacs de la Muzelle et Plan Vianney (Google Earth®)

(2) leurs bassins versants sont contrastés. Le bassin versant du lac de la Muzelle est environ 5,4 fois plus important que celui du lac de Plan Vianney (466 ha vs. 86 ha) avec la présence du glacier de la Muzelle dont les eaux de fonte alimentent le lac. Le ratio bassin versant / superficie du lac est donc de 48,1 pour le lac de la Muzelle et 15,9 pour le lac de Plan Vianney. Ces différences permettront de déterminer la relation entre les caractéristiques du bassin versant et les concentrations de PCB mesurées dans la colonne d'eau. En effet, les dépôts atmosphériques de PCB étant similaires pour les deux lacs, l'étude comparée des concentrations en PCB de la colonne d'eau nous permettra d'évaluer les apports de PCB issus : (i) du ruissellement des précipitations déposées sur le bassin versant, (ii) de l'érosion du bassin versant et (iii) de la fonte du glacier. Des études ont suggéré que la fonte de la neige, déposée sur les glaciers aux périodes où les concentrations de polluants dans l'atmosphère étaient importantes, constituerait une source de contamination pour les lacs d'altitude (Bettinetti et al., 2008; Bogdal et al., 2010; Bogdal et al., 2009) ;

(3) la disponibilité de la caractérisation de la faune piscicole de ces lacs (Cavalli et al., 1997; Cavalli et al., 2001; Cavalli et al., 2002). La faune piscicole du lac de la Muzelle est composée d'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*) et celle du lac de Plan Vianney, d'omble chevalier et de saumon de fontaine (*Salvelinus fontinalis*). Les individus du lac de Plan Vianney présentent un gradient de phénotype mixte entre les deux espèces, laissant supposer une hybridation des deux espèces (Figure 11). De tels cas d'hybridation ont déjà été reportés dans la littérature (Hammar et al., 1991). Dans notre étude, cette hybridation rend difficile, voire impossible, l'attribution d'une espèce pour certains individus capturés au lac de Plan Vianney. Ces deux espèces piscicoles sont connues pour leur capacité à bioaccumuler les POP, tels que les PCB (Cleemann et al., 2000; Evenset et al., 2004; Rognerud et al., 2002). De plus, l'omble chevalier et le saumon de fontaine constitue la principale faune piscicole des lacs d'altitude européens (Vives et al., 2004). A cet égard, les mécanismes de contamination aux PCB de la faune piscicole, identifiés dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney, pourront être généralisés aux autres lacs d'altitude ;



Figure 11: différents phénotypes de poissons capturés au lac de Plan Vianney résultant de l'hybridation possible entre le saumon de fontaine (en haut) et l'omble chevalier (en bas)

©Marie-Elodie Perga

(4) la mutualisation du matériel scientifique (*e.g.*, thermistor, sondes multiparamètres) entre les différents partenaires (Parc National des Ecrins, laboratoires universitaires de recherche) du réseau « Lacs Sentinelles » (<http://www.asters.asso.fr>) et de l'Observatoire des Lacs Alpains (<http://www6.inra.fr/soere-ola>) dont fait partie le lac de la Muzelle ;

(5) l'accès possible à pied après 3 à 4 heures de randonnée en période estivale.

L'étude comparée des flux de PCB atmosphériques déposés et des concentrations en PCB de la colonne d'eau pour chaque lac permettra (i) de déterminer la ou les principale(s) voie(s) de transfert des PCB atmosphériques aux lacs d'altitude (fonte du glacier, dépôts atmosphériques directs, etc), et (ii) d'identifier les processus biogéochimiques internes au lac qui influencent le devenir des PCB dans ces écosystèmes lacustres d'altitude. La comparaison des concentrations de PCB mesurées dans la faune piscicole des deux lacs permettra d'apprécier l'influence de la structure du réseau trophique sur l'intégration et le transfert des PCB jusqu'aux poissons dans les lacs d'altitude. En effet, les investigations précédentes (Cavalli et al., 1997; Cavalli et al., 2001; Cavalli et al., 2002) ont révélé que le taux de croissance des poissons du lac de la Muzelle était inférieur à celui des poissons du lac de Plan Vianney, malgré une densité piscicole plus faible. Les auteurs ont suggéré que ces différences pouvaient être attribuées à des régimes alimentaires différents entre les deux lacs. Ainsi, ces résultats soulignent l'existence de différences de structure du réseau trophique entre les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney. En complément de la comparaison entre les lacs, ces investigations avaient également pour objectif de relier les variabilités inter-annuelles et saisonnières des apports de PCB atmosphériques à la contamination des poissons.

II. Stratégie d'échantillonnage

Ce dernier objectif a orienté la stratégie d'échantillonnage. Sept campagnes de prélèvements ont été réalisées d'octobre 2011 à juillet 2013 : (i) lorsque le lac est sous glace en hiver (février 2013), (ii) peu avant la fonte nivale au printemps (avril 2012 et 2013), (iii) peu après le dégel en début d'été (juin 2012 et juillet 2013), et (iv) en fin de période estivale (octobre 2011 et septembre 2012). Les concentrations en PCB de la chair des poissons, des particules en suspension, de l'eau des lacs ainsi que les flux de PCB atmosphériques déposés et les flux de PCB sédimentés ont été déterminés. Pour chaque matrice étudiée, nous avons quantifié les 6 PCB indicateurs (PCBi) non « dioxin-like » (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 153, PCB 138 et PCB 180), sélectionnés en 1982 par le Bureau Communautaire de Référence de la Commission Européenne du fait de leur persistance et de leur abondance dans l'environnement ainsi que de leurs propriétés toxicologiques. Ces dosages ont été réalisés par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (GC-MS). Pour plus de détails concernant les protocoles d'extraction, le dosage en GC-MS et la démarche de qualité mise en place, se référer au matériel et méthodes des chapitres 3 (p 57-58), 4 (p 96) et 5 (p 130) ainsi qu'aux informations complémentaires fournies dans le chapitre 3 (p 79).

Par ailleurs, des analyses des caractéristiques physico-chimiques de l'eau ont été réalisées pour chaque campagne de prélèvements. Un système de monitoring haute-fréquence a également été mis en place pour suivre l'évolution temporelle de la stratification thermique des lacs. De plus, des dénombrements et des identifications des organismes phytoplanctoniques et zooplanctoniques ont été effectués. Ces analyses complémentaires sont présentées à la fin de ce chapitre (§ III, p 33).

La localisation des lacs de la Muzelle et de Plan Vianney a nécessité la mise en place d'une logistique de terrain adaptée aux conditions difficiles de ces sites d'altitude. Le matériel (bateau, système de pompage, groupe électrogène, etc) a été hélicoptéré jusqu'aux lacs étudiés pour l'ensemble des campagnes de prélèvements. Le personnel scientifique s'est rendu à pieds sur ces sites sauf pour les campagnes de prélèvements d'avril 2012, de février et d'avril 2013 où seul l'accès par hélicoptère était possible. En période d'englacement (février et avril), la durée des campagnes d'échantillonnage a été limitée à une seule journée par lac. Au cours de ces campagnes, un trou dans l'épaisse couche de neige et glace présente à la surface du lac (e.g., 140 cm en avril 2013 au lac de la Muzelle) a été réalisé pour permettre les prélèvements

d'eau et la capture des poissons à la ligne. Les faibles températures (de -8°C à -17°C) ont rendu difficile ces prélèvements car le matériel d'échantillonnage s'englaçait rapidement et le trou réalisé dans la couche de glace s'obstruait très vite sous l'effet du gel. En période d'eaux libres (octobre 2011, juin et septembre 2012, juillet 2013), les campagnes de prélèvements ont été réalisées à l'aide d'un bateau dans lequel était placé le système de pompage de l'eau.

Le premier volet de ce travail doctoral a été d'identifier sous quelle(s) forme(s) et selon quelle(s) dynamique(s) les PCB intègrent les lacs d'altitude. Pour ce faire, les apports de PCB par le bassin versant et les dépôts atmosphériques directs à la surface du lac ont été quantifiés. Pour le lac de la Muzelle, les apports de PCB par l'eau de fonte du glacier ont été mesurés à l'aide d'un préleveur passif équipé d'un adsorbant en mousse de polyuréthane qui a été placé dans le lit du ruisseau alimenté par l'eau de fonte du glacier (Annexe 1, p 177). Pour le lac de Plan Vianney, les potentiels apports de PCB issus des sources (nombreuses et diffuses) d'eau souterraine présentes sur le bassin versant n'ont pas été quantifiés car leur contribution a été considérée négligeable devant les dépôts atmosphériques directs de PCB à la surface du lac. Pour déterminer les flux de dépôts des PCB atmosphériques directs à la surface du lac, nous avons mesuré les concentrations en PCB (i) dans le manteau neigeux et (ii) dans les dépôts atmosphériques en période d'eaux libres à l'aide d'un préleveur passif de type jauge Owen (Annexe 2, p 178), et (iii) estimé les concentrations de PCB dans l'air afin de calculer les flux de PCB à l'interface air-eau. Dans les lacs d'altitude, le manteau neigeux correspondant à l'accumulation de 7 mois de dépôts de PCB atmosphériques, permet d'évaluer de manière efficace les différences d'intensité de ces derniers entre deux sites. Par conséquent, la comparaison des concentrations de PCB dans le manteau neigeux prélevé sur le bassin versant de chaque lac pourra confirmer l'hypothèse d'un dépôt atmosphérique identique à la surface des deux lacs. A partir des concentrations de PCB mesurées dans chaque matrice (neige, dépôts atmosphériques estivaux, etc), les flux de PCB annuels entrants dans les lacs ont été estimés en rapportant à la surface respective du lac, le flux mesuré au niveau du point de prélèvement (exprimé en $\text{ng 6PCBi m}^{-2}\text{an}^{-1}$; chapitre 3, § II.4.a, p 60).

Les flux sortants de la colonne d'eau correspondent (i) aux PCB exportés par l'exutoire du lac (torrent de la Pisse pour le lac de la Muzelle et torrent de Plan Vianney pour le lac de Plan Vianney), (ii) aux PCB volatilisés depuis la surface et (iii) aux PCB enfouis dans le sédiment. Le flux de PCB sortant via l'exutoire a été estimé pour boucler le bilan de masse [(dépôts atmosphériques directs + fonte du glacier + absorption)- (diffusion depuis la colonne d'eau

vers les sédiments + sédimentation + volatilisation)]. En période d'eaux libres, la colonne d'eau n'est pas physiquement isolée de l'atmosphère, permettant les échanges de PCB gazeux à l'interface air-eau par absorption ou volatilisation. Ces flux ont été estimés selon le modèle de Liss et Slater (1974) à partir des concentrations mesurées dans le compartiment aquatique (- 4 m), et des concentrations dans l'air, estimées à partir des concentrations dans la pluie et du "washout factor" (Atlas and Giam, 1988) ou celles mesurées sur d'autres sites éloignés des sources de production et d'utilisation de ces composés (chapitre 3, § II.4.b, p 62-64).

L'analyse des contenus des trappes à sédiments (Annexe 3, p 179), placées 1 m au-dessous du point le plus profond du lac, a permis de déterminer le flux de PCB sédimentant. Le flux de diffusion des PCB depuis les sédiments a été estimé à partir des concentrations de PCB en phase dissoute mesurées au fond (3 m au-dessus de la profondeur maximale) et celles mesurées dans les sédiments lacustres prélevés par carottage à l'aide d'un carottier léger à marteau (Uwitec[®] gravitycorer).

Le deuxième objectif de ce travail de thèse consistait à identifier quel(s) processus biogéochimique(s) interne(s) au lac déterminent le devenir des PCB dans les lacs d'altitude. A ce titre, nous avons cherché à déterminer les paramètres influençant la répartition des PCB entre les phases particulaires et dissoutes, processus clé déterminant le devenir des PCB dans les milieux aquatiques (Hamelink et al., 1994). Dans un premier temps, les concentrations de PCB ont été mesurées dans différents compartiments trophiques définis selon un critère de taille (Sieburth et al., 1978) : le microplancton (20 μm à 200 μm), le nanoplancton (2,7 μm à 20 μm) et le picoplancton (0,7 μm à 2,7 μm). L'étude de la répartition des PCB entre ces différentes fractions vise à évaluer l'importance respective de chaque classe planctonique comme stock de PCB, éventuellement transférable dans les réseaux trophiques. Dans un second temps, différents paramètres physico-chimiques et biologiques ont été mesurés : température de l'eau, carbone organique total, carbone organique dissous, quantité de particules en suspension, biomasse et composition du phytoplancton. Des investigations ont été conduites pour identifier les paramètres qui déterminent la répartition des PCB dans la colonne d'eau.

Le troisième objectif de cette thèse a été d'identifier comment la structure du réseau trophique influence sa capacité à intégrer et transférer les PCB dans les lacs d'altitude jusqu'à la faune piscicole. Pour chaque campagne de prélèvements, un maximum de poissons a été capturé à la ligne pour obtenir la meilleure représentativité du niveau de contamination aux PCB de la faune piscicole et étudier leur variabilité saisonnière, inter-annuelle et inter-lac. L'âge (défini à partir d'analyses scalimétriques), la taille et le contenu lipidique ont été déterminés pour chacun des poissons collectés, afin de déterminer leur influence respective sur les niveaux de contamination aux PCB de la faune piscicole. Des analyses de la composition en isotopes stables du carbone et de l'azote ont été réalisées en octobre 2011, juin et septembre 2012, et février 2013 représentant au mieux les lacs et les saisons. De plus, des analyses de biomarqueurs lipidiques ont été effectuées sur les poissons capturés en juin et septembre 2012 pour les deux lacs. Des analyses des isotopes stables du carbone et de l'azote ont également été réalisées pour les différents compartiments planctoniques et le zooplancton échantillonné (à l'aide d'un filet de maille 200 µm) dans le lac de Plan Vianney en septembre 2012, afin d'obtenir une signature isotopique des sources alimentaires pélagiques. La signature des sources d'alimentation benthiques ont été déterminées à partir des prélèvements de macro-invertébrés benthiques (principalement des *Chironomideae*) et des algues benthiques filamenteuses (*Spyrogyra sp.* et *Zygnema sp.*), réalisés à l'aide d'une benne Eckman en fin de période estivale. Le couplage entre ces analyses et le dosage des PCB dans les poissons a permis (i) d'évaluer l'influence de la structure du réseau trophique sur l'intégration et le transfert des PCB jusqu'à la faune piscicole, (ii) d'identifier les voies de transfert (dissoute ou trophique) des PCB atmosphériques aux poissons, et (iii) de déterminer les variabilités saisonnières, inter-annuelles et inter-lacs de niveaux de contamination aux PCB de la faune piscicole.

III. Analyses complémentaires

1. Caractéristiques physico-chimiques de l'eau

Pour chaque campagne de prélèvements, des mesures des principaux nutriments (phosphore total, orthophosphate, nitrate) et des principaux paramètres physico-chimiques (pH, conductivité, etc) ont été réalisées. Les résultats de ces analyses sont présentés dans le Tableau 1. Malgré des activités touristiques (refuge) et d'élevage (ovins) sur le bassin versant du lac de la Muzelle, les concentrations de nutriments mesurées dans la colonne d'eau sont similaires à celles de Plan Vianney. Les concentrations moyennes de phosphore total mesurées en hiver (période où les lacs sont isolés de toutes perturbations environnementales) dans la colonne d'eau étant inférieures à 0.005 mgP L^{-1} , attestent que ces deux lacs sont oligotrophes. Les concentrations de matière en suspension dans la colonne d'eau du lac de la Muzelle sont supérieures à celles mesurées dans le lac de Plan Vianney. Ces différences pourraient résulter d'un apport plus important de matière particulaire au lac de la Muzelle par son bassin versant (lié à la présence du ruisseau du glacier de la Muzelle) et/ou d'une biomasse phytoplanctonique plus importante.

Tableau 1 : principales caractéristiques physico-chimiques de l'eau échantillonnée dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney pour chaque campagne de prélèvements.

NA : non mesuré ; COT : carbone organique total ; COD : carbone organique dissous ; MES : matière en suspension exprimée en mg de poids secs par litre d'eau.

Campagne de prélèvements	Lac	Profondeur (m)	pH	Conductivité ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Phosphore total (mgP L^{-1})	Orthophosphate ($\text{mgPO}_4^{3-} \text{L}^{-1}$)	Nitrate ($\text{mgNO}_3^- \text{L}^{-1}$)	COT (mgC L^{-1})	COD (mgC L^{-1})	MES (mgPS L^{-1})
Octobre 2011	Muzelle	4 m	6,9	91	NA	< 0,005	< 1,0	1,6	1,1	NA
		15 m	6,9	84	0,015	< 0,005	< 1,0	0,9	0,4	NA
Avril 2012	Muzelle	4 m	7,3	94	0,007	< 0,005	< 1,0	0,6	0,3	9,3
	Plan Vianney	4 m	7,2	131	0,009	< 0,005	< 1,0	0,3	0,3	5,0
Juin 2012	Muzelle	4 m	7,2	145	0,014	0,011	< 1,0	NA	NA	2,9
		15 m	7,1	128	0,011	0,010	< 1,0	NA	NA	2,1
	Plan Vianney	4 m	7,2	156	0,013	0,011	< 1,0	4,9	3,4	0,4
		10 m	7,2	132	0,011	0,009	< 1,0	5,6	4,5	1,6
Septembre 2012	Muzelle	4 m	7,0	159	0,006	< 0,005	< 1,0	1,0	0,7	2,1
		15 m	7,0	145	< 0,005	< 0,005	< 1,0	1,6	0,9	4,0
	Plan Vianney	4 m	7,0	135	< 0,005	< 0,005	< 1,0	1,3	1,0	1,4
		10 m	6,9	116	< 0,005	< 0,005	< 1,0	2,5	1,6	0,1
Février 2013	Muzelle	4 m	7,0	92	0,006	< 0,005	< 1,0	2,6	2,5	1,7
		15 m	7,1	99	< 0,005	< 0,005	< 1,0	0,7	0,6	1,2
	Plan Vianney	4 m	7,3	118	0,009	< 0,005	< 1,0	0,9	0,7	2,9
		10 m	7,3	127	0,007	< 0,005	< 1,0	1,0	0,5	1,1

Avril 2013	Muzelle	4 m	6,9	95	< 0,005	< 0,005	< 1,0	2,6	2,5	2,7
		15 m	7,1	103	0,007	< 0,005	< 1,0	0,7	0,5	2,5
	Plan Vianney	4 m	7,3	121	< 0,005	< 0,005	< 1,0	1,0	0,8	0,6
		10 m	7,4	139	< 0,005	< 0,005	< 1,0	1,0	0,6	0,3
Juillet 2013	Muzelle	4 m	7,5	67	< 0,005	< 0,005	< 1,0	0,7	0,6	2,8
		15 m	7,2	78	< 0,005	< 0,005	< 1,0	0,7	0,7	1,7
	Plan Vianney	4 m	7,0	77	< 0,005	< 0,005	< 1,0	0,9	0,7	0,4
		10 m	7,1	92	< 0,005	< 0,005	< 1,0	0,7	0,7	0,4

2. Monitoring haute-fréquence

Pour chaque lac étudié, un système de monitoring composé de capteurs haute-fréquence et d'une trappe à sédiments a été installé au point le plus profond du lac (Figure 12, Tableau 2). L'analyse des contenus des trappes à sédiments a permis d'estimer les flux sédimentaires et de resuspensions des PCB pour chaque lac (chapitre 3). Dans le cadre de ce travail doctoral, seules les séries de données issues des capteurs haute-fréquence de température de l'eau et de chlorophylle *a* ont été utilisées. Les résultats obtenus sont présentés ci-après.

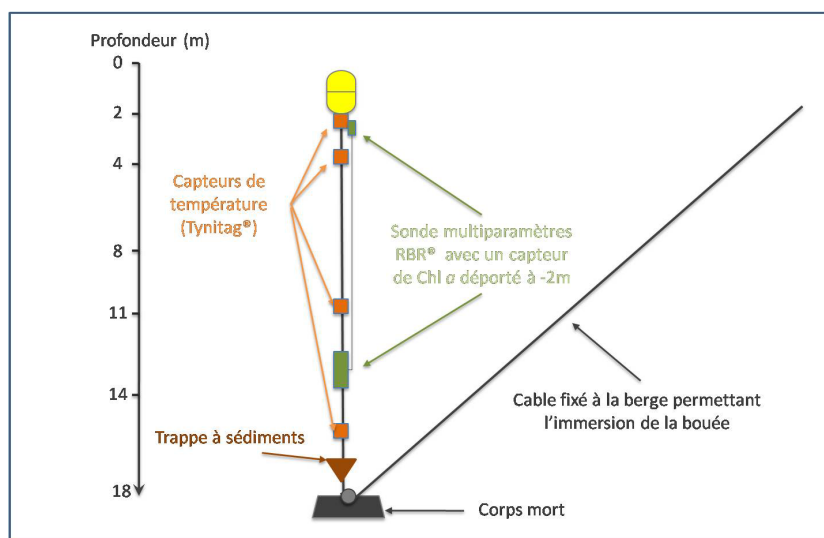


Figure 12 : schéma descriptif du système de monitoring mis en place au lac de la Muzelle (modifié d'après Rodriguez and Perga, 2014)

Tableau 2 : description du système de monitoring mis en place pour les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney

Lac	Capteur haute-fréquence	Paramètre	Profondeur (m)
Muzelle	Thermistor (Tynitag®)	Température	2
			4
			11
			15
	Sonde RBR® XR-420	Chlorophylle <i>a</i>	2
	Température, Oxygène dissous, Turbidité	14	
	Trappe à sédiments	Flux sédimentaire de PCB	17
Plan Vianney	Thermistor (Tynitag®)	Température	2
			4
			10
	Trappe à sédiments	Flux sédimentaire de PCB	11

a) Suivi de la température de l'eau

Les thermistors installés sur chaque lac ont mesuré et enregistré la température de l'eau toutes les heures. Les données recueillies ont permis le suivi temporel de la stratification thermique (Figure 13), considérée comme un paramètre influençant la répartition verticale des PCB dans la colonne d'eau (Dueri et al., 2009).

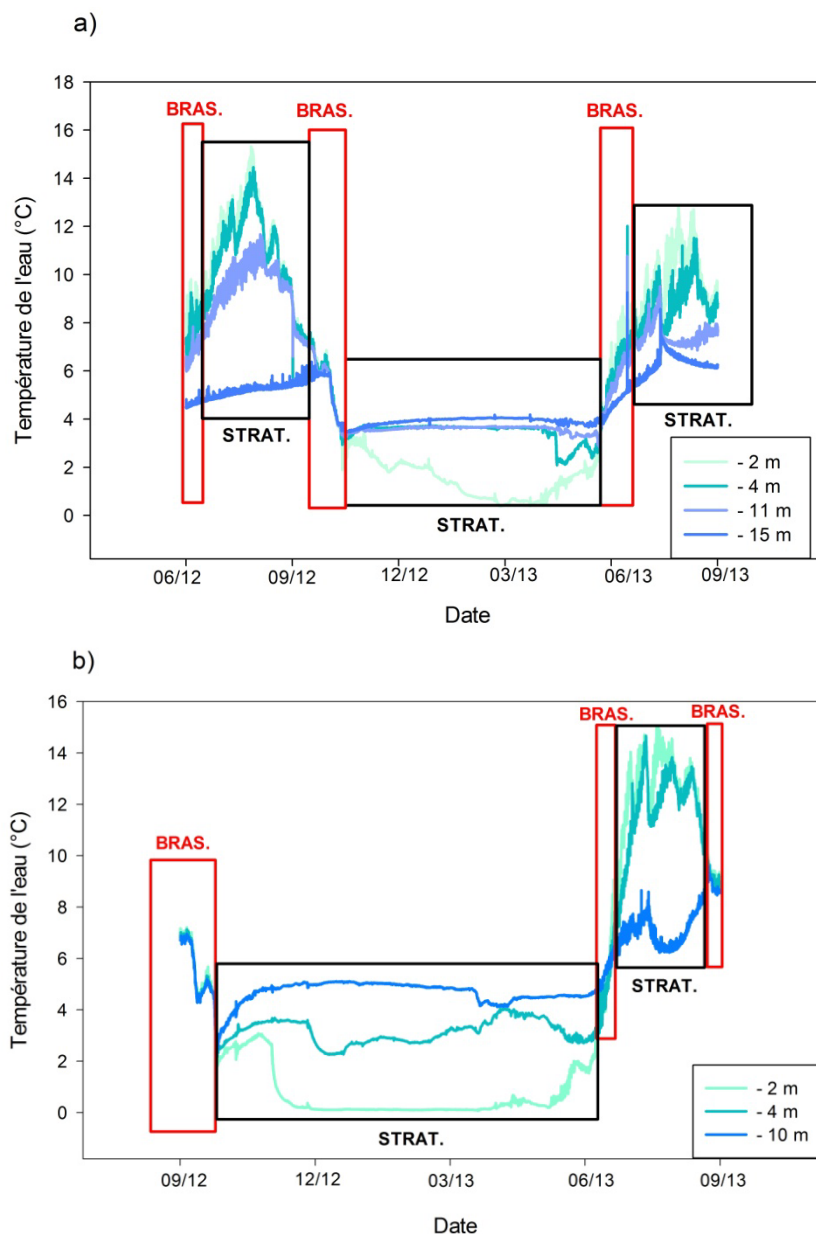


Figure 13 : évolution de la température de l'eau à différentes profondeurs pour les lacs de a) la Muzelle de juin 2012 à septembre 2013 et b) Plan Vianney de septembre 2012 à septembre 2013.

BRAS. : brassage de la colonne d'eau ; STRAT. : stratification thermique de la colonne d'eau.

Le suivi annuel de la température de l'eau montre que ces lacs sont dimictiques (2 brassages annuels en juin et septembre). La durée des brassages varie de 1 semaine en juin à près de 3 semaines en septembre. La colonne d'eau des lacs de la Muzelle et de Plan Vianney présentent une stratification thermique (les eaux de surface sont les plus chaudes) de la fin juin à la fin septembre, et une stratification thermique inversée (les eaux de surface sont les plus froides) de la mi-octobre à la mi-juin. Néanmoins, ces mesures ne permettent d'évaluer les différences inter-annuelles et inter-lacs de profil thermique de la colonne d'eau pour chaque campagne de prélèvements réalisée. Pour ce faire, des profils thermiques de la colonne d'eau ont été réalisés à l'aide d'une sonde RBR[®] XR-620 lors de chaque campagne de prélèvements et pour les deux lacs (Figure 14).

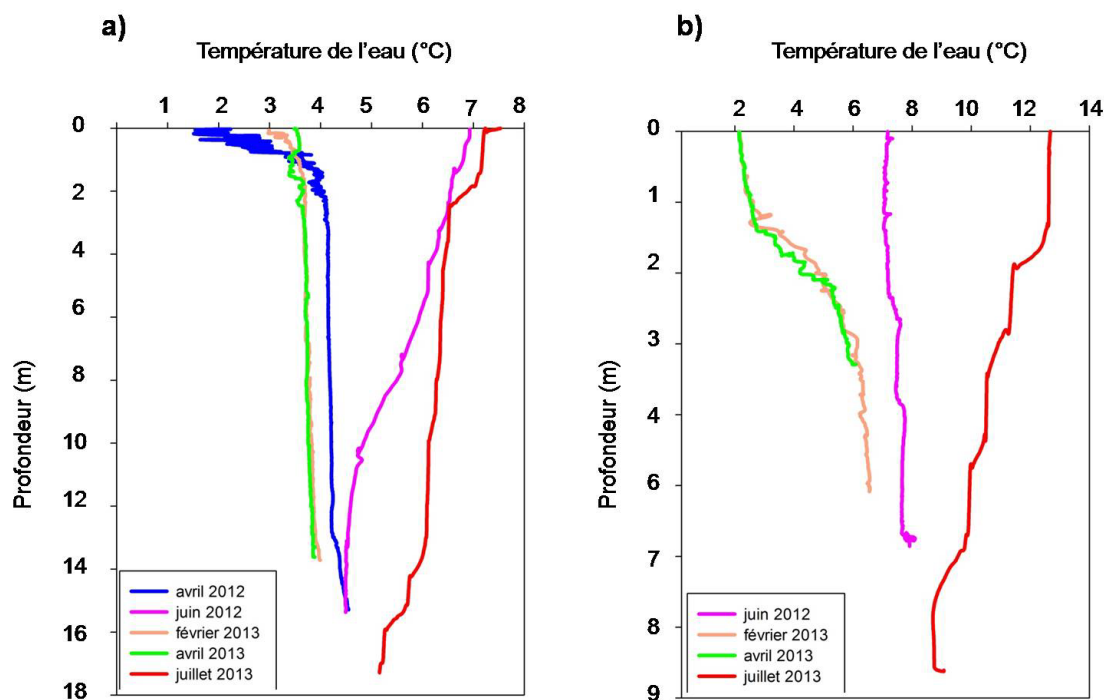


Figure 14 : profil thermique de la colonne d'eau à chaque campagne de prélèvements pour les lacs de a) la Muzelle et b) Plan Vianney.

En avril 2012, février et avril 2013 la colonne d'eau présente une stratification thermique inversée pour les deux lacs étudiés. En juin 2012, la colonne d'eau est thermiquement stratifiée dans le lac de la Muzelle à la différence du lac de Plan Vianney où le brassage printanier n'est pas terminé. Au contraire, en juillet 2013, la colonne d'eau des deux lacs est thermiquement stratifiée. Cette différence inter-annuelle de profil thermique en début de période estivale pour le lac de Plan Vianney résulte très probablement de la réalisation plus tardive de la mesure de la température (23 juillet 2013 vs. 27 juin 2012). L'existence d'une stratification de la colonne d'eau, pour certaines campagnes de prélèvements, nous a permis d'évaluer son influence sur la répartition verticale des PCB dans les lacs d'altitude.

b) Suivi de la concentration de Chlorophylle *a*

Les mesures de la concentration de Chlorophylle *a* effectuée deux mètres en-dessous de la surface dans le lac de la Muzelle sont présentées dans la Figure 15. La concentration de chlorophylle *a* est utilisée comme indicateur de la biomasse phytoplanctonique.

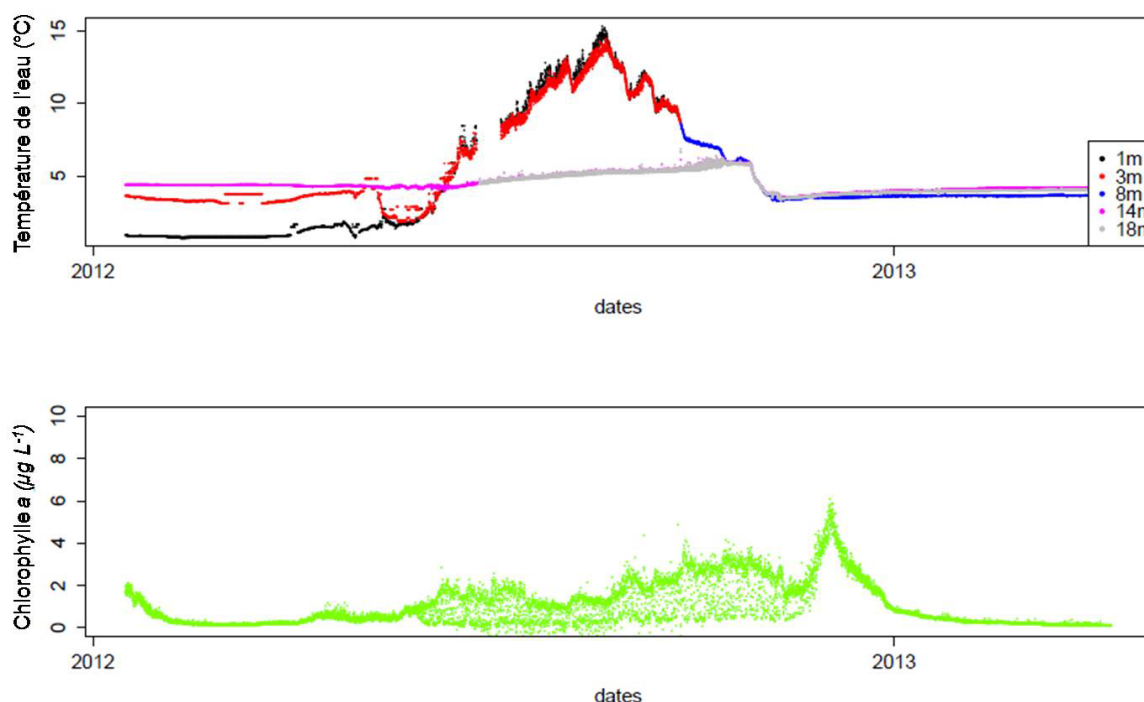
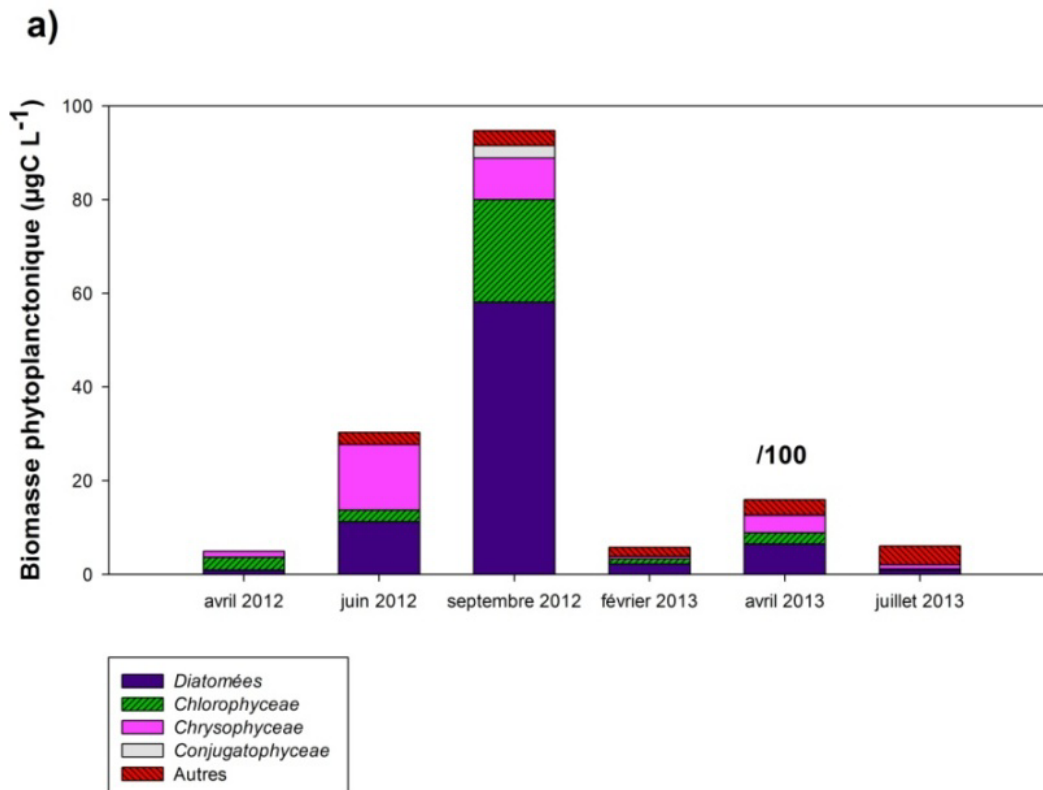


Figure 15 : évolution de la température de l'eau pour différentes profondeurs et de la concentration de Chlorophylle *a* mesurée deux mètres en dessous de la surface pour le lac de la Muzelle entre janvier 2012 et avril 2013

Les données recueillies mettent en évidence un démarrage de la production primaire avant la fonte complète de la couche de glace, lié vraisemblablement à la disparition de la couche de neige en surface qui permet l'exposition de la colonne d'eau à la lumière. Peu de temps avant le début du brassage printanier de la colonne d'eau (juin 2012), un pic de production primaire est observé. La mise en place de la stratification thermique durant la période estivale va entraîner l'augmentation progressive de la production primaire qui atteindra son maximum juste avant le brassage automnal (mi-octobre 2012).

3. Dénombrement et identification du phytoplancton

La méthode utilisée pour le dénombrement et l'identification des organismes phytoplanctoniques est détaillée dans le chapitre 4 (§ II.3., p 95). Les résultats de ces analyses sont présentés dans la Figure 16.



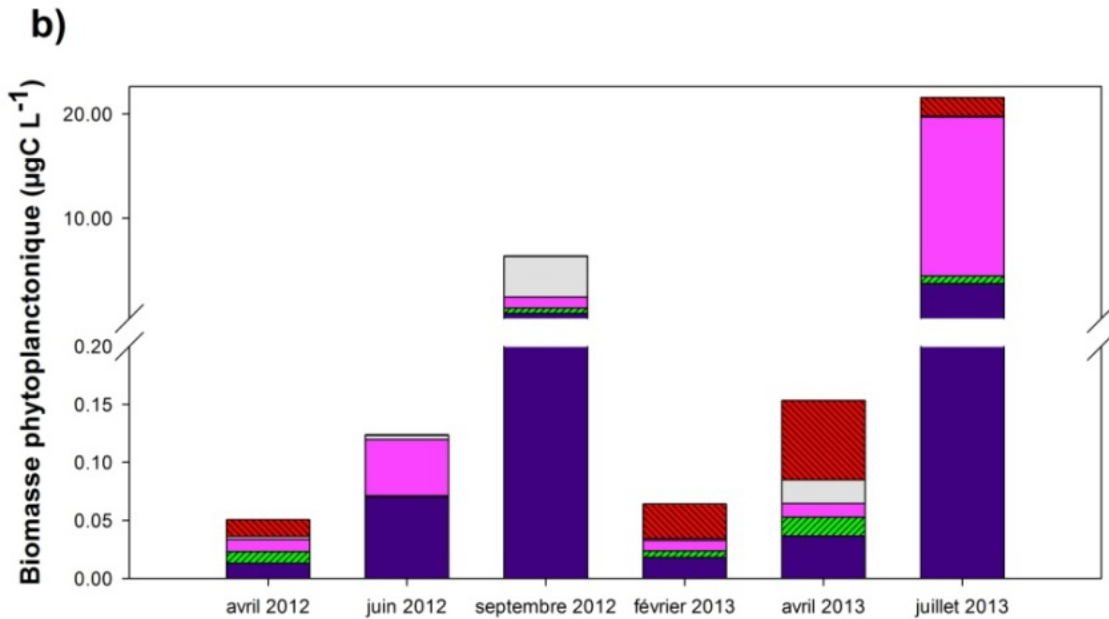


Figure 16 : biomasse moyenne (surface et fond) des différents groupes phytoplanctoniques présents dans la colonne d'eau des lacs de a) la Muzelle et b) Plan Vianney.

Les biomasses phytoplanctoniques mesurées dans les lacs de la Muzelle (0,15 à 95 µgC L⁻¹) et de Plan lac Vianney (0,05 à 6 µgC L⁻¹) sont comparables à celles obtenues dans d'autres lacs d'altitude (Felip et al., 1999; Fott et al., 1999) et attestent que les deux lacs sont oligotrophes (Lampert et al., 1997). La biomasse phytoplanctonique et sa composition spécifique présentes d'importantes variations saisonnières.

En 2012, un bloom phytoplanctonique a été observé pour les deux lacs au mois de septembre (94 µgC L⁻¹ pour le lac de la Muzelle et 6 µgC L⁻¹ pour le lac de Plan Vianney). Des résultats similaires ont déjà été observés dans d'autres lacs d'altitude européens (Catalan et al., 2002; Fott et al., 1999). Dans le lac de la Muzelle, ce bloom phytoplanctonique est dominé par les diatomées (51% de la biomasse totale), contrairement au lac de Plan Vianney où les *Conjugatophyceae* étaient les plus abondantes (61% de la biomasse totale).

En avril 2012, février et avril 2013, les biomasses phytoplanctoniques sont les plus faibles (0,15 à 5,7 µgC L⁻¹ et de 0,05 à 0,15 µgC L⁻¹, respectivement pour les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney) et aucune espèce n'est dominante. Pendant cette période, la couche neige présente à la surface du lac empêche toute exposition à la lumière de la colonne d'eau. Ce phénomène limite le développement des producteurs primaires, ce qui expliquerait les faibles biomasses phytoplanctoniques mesurées en avril 2012, février et avril 2013.

La disparition de la couche de glace et de neige lors de la fonte nivale permet le retour de la lumière dans la colonne d'eau, ce qui entraîne une augmentation de la biomasse phytoplanctonique en juin 2012 et juillet 2013. Des différences de composition spécifique du phytoplancton ont été enregistrées entre les mois de juin 2012 et juillet 2013 dans les deux lacs. Des études précédentes (Nauwerck, 1966; Trevisan et al., 2010), ont suggéré que cette variabilité inter-annuelle de la composition spécifique du phytoplancton pouvait être liée à des variations de la température de l'eau. Les mesures de la température de l'eau dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney sont conformes à cette hypothèse (*e.g.*, 5,8 °C en juin 2012 contre 7,7 °C en juillet 2013 pour le lac de Plan Vianney).

4. Dénombrement et identification du zooplancton

Le zooplancton a été prélevé en septembre 2012 et février 2013 par des traits verticaux réalisés à l'aide d'un filet de maille 200 µm. Les échantillons ont ensuite été fixés au formol (4%) auquel est ajouté une solution de sucrose. Au laboratoire, les échantillons ont été répartis de façon homogène dans une cuve de Dollfus. L'identification et le dénombrement des organismes zooplanctoniques ont été effectués sous loupe binoculaire. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 3.

Chapitre 2 : Démarche méthodologique

Tableau 3 : identification et dénombrement des organismes zooplanctoniques présents dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney. Les chiffres correspondent à un nombre d'individus par trait de filet.

	Septembre 2012		Février 2013	
	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney
Rotifères				
<i>Kellicottia longispina</i>	-	-	-	1
<i>Keratella cochlearis</i>	14	-	-	-
<i>Keratella sp.</i>	1	-	-	-
<i>Lecane sp.</i>	-	7	-	-
<i>Polyarthra sp.</i>	-	3	-	-
Indéterminé	-	5	-	-
Crustacés				
<i>Alona quadrangularis</i>	-	1	-	-
<i>Alona rectangula</i>	1	2	-	-
<i>Daphnia longispina</i>	-	5	1	-
Copépodes				
<i>Cyclops sp.</i>	1	-	1	-
<i>Cyclops tatricus</i>	1	86	-	35

La présence la plus importante de zooplancton est observée pour le lac de Plan Vianney quelque soit la date d'échantillonnage. Dans les deux lacs, le zooplancton est moins abondant en février 2013, vraisemblablement en raison d'un contrôle de type *bottom up*. En effet, l'analyse du phytoplancton a mis en évidence de biomasses de 10 à 150 fois moins importantes en février 2013 par rapport à celle de septembre 2012 (Figure 16). La composition du zooplancton diffère d'un lac à l'autre, les rotifères (*Keratella cochlearis*) dominant le peuplement zooplanctonique dans le lac de la Muzelle à la différence du lac de Plan Vianney où ce sont les copépodes (*Cyclops tatricus*) qui sont dominants. Par conséquent, ce résultat suggère que la structure du réseau trophique diffère d'un lac à l'autre.

5. Contenus stomacaux de la faune piscicole

Des analyses des contenus stomacaux ont été effectuées pour déterminer la composition du « bol alimentaire » de la faune piscicole des lacs de la Muzelle et de Plan Vianney. Pour ce faire, les contenus stomacaux des poissons capturés en juin 2012 au lac de la Muzelle et ceux capturés en septembre 2012 pour les deux lacs ont été analysés. Les estomacs ont été prélevés *in situ* et préservés dans de l'éthanol à 70% soit sur place, soit dès le retour au laboratoire. Les comptages ont été réalisés sous loupe binoculaire sur un sous-échantillon de 40 proies identifiables. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 17.

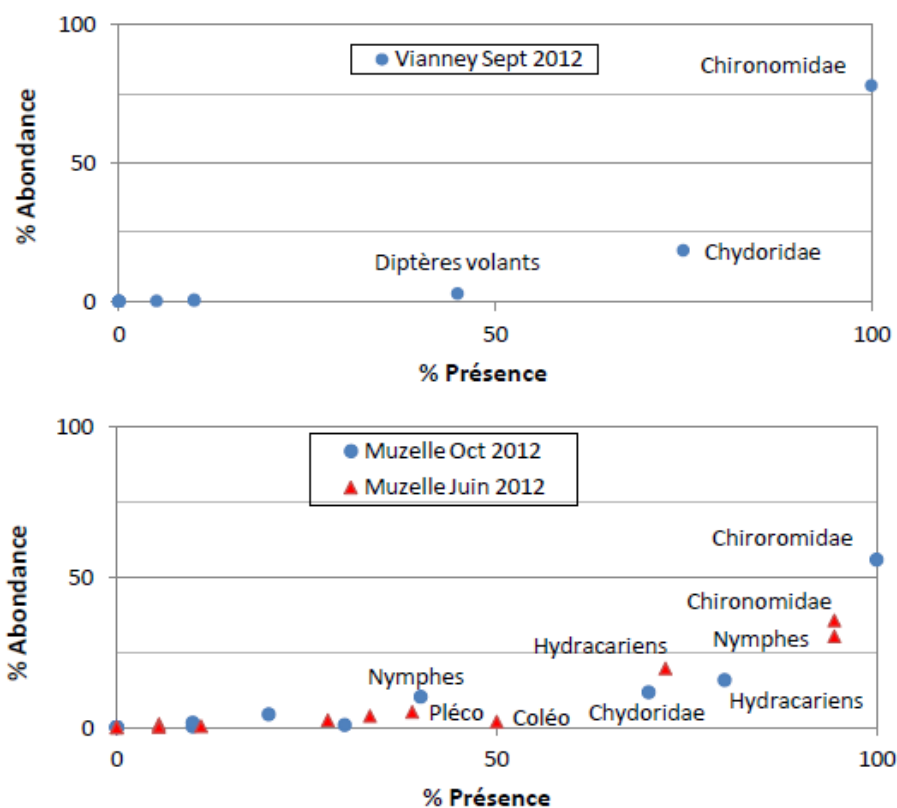


Figure 17 : abondance des proies vs. présence de ces proies dans les contenus stomacaux des poissons (d'après Armand, 2013).

Pléco : plécoptères ; Coléo : coléoptères. Les espèces rares n'ont pas été nommées par souci de lisibilité.

Les *Chironomideae* sous forme larvaire et nymphale sont les proies les plus abondantes et fréquentes dans les contenus stomacaux. De plus, les analyses révèlent la présence de trichoptères, d'hyménoptères, de coléoptères ainsi que de larves de diptères autres que des

Chapitre 2 : Démarche méthodologique

Chrionomideae. Ainsi, le régime alimentaire de la faune piscicole des lacs de la Muzelle et de Plan Vianney est essentiellement benthique mais la présence de beaucoup d'autres taxons terrestres à de faibles abondances suggère également un comportement opportuniste. Nos résultats diffèrent de ceux obtenus par Cavalli et al. (2002) où un grand nombre de copépodes avait été dénombrés dans les contenus stomacaux des poissons de ces lacs d'altitude. Ces différences pourraient résulter des différents protocoles d'échantillonnage et de conservation des contenus stomacaux entre cette étude et la nôtre. Néanmoins, les résultats obtenus pourront être utilisés en complément des analyses des isotopes stables du carbone pour identifier les proies des poissons.

Les échantillons collectés et les analyses effectuées dans le cadre de ce travail doctoral sont présentés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : description des échantillons collectés pour les différentes campagnes de prélèvements et leurs analyses respectives.

Campagne de prélèvements	Echantillons		Lac	Analyses
Octobre 2011	Poissons (n=4 et n=11)		Muzelle, Plan Vianney	Taille, âge, contenu lipidique, PCB, AIS
Avril 2012	Poissons (n=14) Eau (60 L en surface) Phytoplancton	Phase dissoute Seston	Plan Vianney Muzelle, Plan Vianney	Taille, âge, contenu lipidique, PCB, AIS PCB, température, physico-chimie PCB, AIS, MES Dénombrement, identification
Juin 2012	Poissons (n=18 et n=11) Eau (60 L par profondeur) Trappes à sédiments Phytoplancton	Phase dissoute Seston	Muzelle, Plan Vianney Muzelle Muzelle, Plan Vianney	Taille, âge ^π , contenu lipidique, PCB, AIS, AG, contenus stomacaux PCB, température, physico-chimie PCB, AIS, MES PCB Dénombrement, identification
Septembre 2012	Poissons (n=10 et n=21) Macro-invertébrés benthiques Eau (60 L par profondeur) Trappes à sédiments Phytoplancton Zooplancton Zooplancton	Phase dissoute Seston	Muzelle, Plan Vianney Muzelle Plan Vianney	Taille, âge, contenu lipidique, PCB, AIS, AG, contenus stomacaux PCB, AIS PCB, température, physico-chimie PCB, AIS, MES PCB Dénombrement, identification Dénombrement, identification Dénombrement, identification, AIS

Février 2013	Poissons (n=8 et n=6) Eau (60 L par profondeur) Zooplancton Phytoplancton	Phase dissoute Seston	Muzelle, Plan Vianney	Taille, âge, contenu lipidique, PCB, AIS PCB, température, physico-chimie PCB, AIS, MES Dénombrement, identification Dénombrement, identification
Avril 2013	Poissons (n=2 et n=19) Eau (60 L par profondeur) Phytoplancton	Phase dissoute Seston	Muzelle, Plan Vianney	Taille, âge ^π , contenu lipidique, PCB PCB, température, physico-chimie PCB, MES Dénombrement, identification
Juillet 2013	Poissons (n=18 et n=20) Eau (60 L par profondeur) Trappes à sédiments Phytoplancton	Phase dissoute Seston	Muzelle, Plan Vianney	Taille, âge, contenu lipidique, PCB PCB, température, physico-chimie PCB, MES PCB Dénombrement, identification
Septembre 2014	Algues benthiques filamenteuses		Muzelle	AIS*

Le seston fait référence au microplancton, nanoplancton et picoplancton. Les chiffres entre parenthèse correspondent respectivement au nombre de poissons capturés au lac de la Muzelle et au lac de Plan Vianney. ^π uniquement pour le lac de Plan Vianney ; PCB : dosage des 6 PCB indicateurs (congénères #28, #52, #101, #138, #153 et #180) ; AIS : analyse des isotopes stables du carbone et de l'azote ; * analyse des isotopes du carbone uniquement ; COT : dosage du carbone organique total ; COD : dosage du carbone organique dissous ; Pt : dosage du phosphore total ; MES : quantité de matières en suspension ; AG : analyse des biomarqueurs lipidiques.

Chapitre 3 : Les lacs d'altitude sont-ils des puits de PCB atmosphériques ?

Préambule

L'objectif de ce chapitre est de réaliser un bilan de masse des PCB pour les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney en vue d'identifier les principales voies de transfert des PCB atmosphériques et le rôle des milieux lenticques (puits ou source) dans l'éco-dynamique de ces POPen altitude. Pour cela, les flux entrants et sortants, et les stocks des 6 PCB indicateurs dans la colonne d'eau et les sédiments ont été identifiés et estimés. Les concentrations des six congénères ont été mesurées dans les différentes matrices (Figure 18).

Le bilan de masse réalisé pour l'année 2012 a permis d'évaluer les variabilités saisonnières des stocks de PCB dans la colonne d'eau ainsi que des flux de PCB entrants et sortants de ces écosystèmes lacustres d'altitude. L'englacement des lacs d'altitude pendant 6 à 9 mois isole la colonne d'eau de l'atmosphère, et supprime ainsi les échanges à l'interface air-eau (*i.e.*, dépôts, absorption ou volatilisation). Le manteau neigeux accumule quant à lui les dépôts atmosphériques de PCB durant 6 à 9 mois et constitue donc un stock temporaire de PCB. La fonte de ce manteau survient entre mai et juin et dure de 1 à 4 semaines, impliquant un transfert rapide d'une quantité potentiellement importante de PCB à un écosystème aquatique en phase de "réveil biologique".

La comparaison des flux entrants et sortant de PCB pour chaque lac étudié a révélé que les lacs d'altitude étaient des puits de PCB atmosphériques. De plus, l'étude comparée des concentrations et des distributions de PCB (*i.e.*, congénères) entre les différents compartiments lacustres (*e.g.*, sédiments), ou pour un même compartiment entre les deux lacs a mis en évidence d'importantes différences. Les lacs étant soumis aux mêmes apports de PCB atmosphériques, notre hypothèse est que ces différences résulteraient de l'existence de processus internes aux lacs distincts qui influencent le devenir de ces composés. Par conséquent, identifier les processus internes aux lacs à l'origine de cette variabilité de concentrations et de distribution des PCB intra- et inter-lacs apparaît comme un élément clé pour déterminer le devenir de ces composés dans les lacs d'altitude. A ce titre, le chapitre 4 a pour objectif d'identifier les paramètres influençant la distribution des PCB entre les phases particulières et dissoutes dans la colonne d'eau.

Chapitre 3 : Les lacs d'altitude sont-ils des puits de PCB atmosphériques?

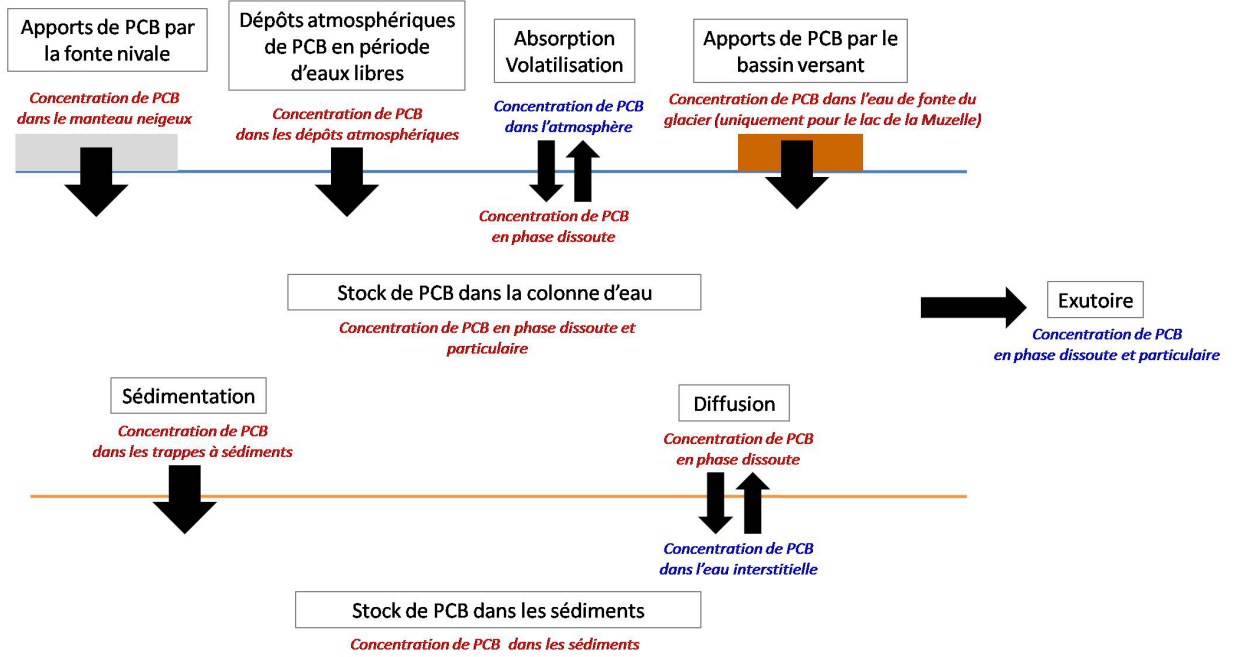


Figure 18 : stocks, flux entrants et sortants de PCB estimés dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney. Apparaissent en rouge les concentrations de PCB mesurées et en bleu les concentrations de PCB estimées.

Mass budget in two high altitude lakes reveals their role as atmospheric PCB sinks

Yann-Michel Nellier, Marie-Elodie Perga, Nathalie Cottin, Philippe Fanget, Emmanuel Malet, Emmanuel Naffrechoux

Publié dans Science of the Total Environment 511 : 203-213

ABSTRACT

A mass budget of polychlorinated biphenyls (PCBs) was constructed for two altitude lakes located in the French Alps to (i) quantify inward and outward PCB flux over the entire year of 2012, (ii) hierarchize the dominant pathways of PCB transfers, and (iii) evaluate to what extent these pathways vary between both lakes. The annual PCB inputs were similar, and the glacial runoff and sediment-to-water exchange were negligible sources of PCBs to the water column relative to atmospheric deposition. The annual inputs were primarily introduced by snow deposition and transferred into the lakes during the few weeks of spring thaw. While the dominant deposition pathways were similar, the main processes by which the water column lost pollutants differed between the two lakes. Despite these differences, the mass budget revealed that PCB inputs exceeded outputs for both studied lakes and that the lakes acted as atmospheric PCB sinks for the surrounding mountain environment. The differences in the PCB distribution between the key compartments (sediment and water column) are most likely due to differences in the lacustrine internal processes.

KEYWORDS: polychlorinated biphenyls, alpine lakes, mass budget, atmospheric deposition

HIGHLIGHTS

- A mass budget of PCBs covering the entire year 2012 is built for two altitude lakes.
- The relative importances of inputs and outputs of pollutants are assessed.
- Snow deposition is an important input of pollutants for these remote ecosystems.
- These altitude lakes act as sinks of PCBs for their surrounding environment.
- The PCB concentrations and congener distributions differ between key lacustrine compartments.

I. Introduction

Polychlorinated biphenyls (PCB) have physical and chemical properties that make them resistant to biotic and abiotic breakdown. Thus, high concentrations of PCBs are still found in the environment (Castro-Jimenez et al., 2008; Hornbuckle et al., 2006) despite their production and use having been banned for 30 years. Their semi-volatility is responsible for their long-range atmospheric transport (Wania and Mackay, 1993; Wania and Mackay, 1995; Wania and Westgate, 2008), widespread distribution, and accumulation in cold environments (Simonich and Hites, 1995). Like other persistent organic pollutants (POPs), they have been detected in remote and cold areas, such as arctic marine ecosystems (Braune et al., 2005; Muir et al., 1999), mountain snowpack (Blais et al., 1998; Carrera et al., 2000) and altitude lakes (Galassi et al., 1997; Grimalt et al., 2001; Vilanova et al., 2001a; Vilanova et al., 2001b).

In polluted aquatic ecosystems, volatilization contributes to PCB removal from the water column and decontamination of the whole system (Gevao et al., 1998; Totten et al., 2001). Consequently, the PCB concentrations in these lakes decrease (Jeremiason et al., 1994), making them act as PCB sources for their surrounding environments. In contrast, the long-range atmospheric transport of volatilized pollutants associated with cold condensation processes (Wania and Mackay, 1996) is expected to sustain significant PCB inputs to high altitude lakes. As PCB volatilization is limited by low temperatures, altitude lakes are expected to act as PCB sinks for their surrounding environment, although few investigations have documented the loadings and fates of pollutants in these ecosystems so far (Blais et al., 2001b; Meijer et al., 2006).

The fate of semi-volatile organic compounds, such as PCBs, in lakes depends on their interaction with the biogeochemical and biological compartments (Dachs et al., 2000; Jaward et al., 2004; Jeremiason et al., 1999). Exchanges across air-water-sediment interfaces, outflow and settling determine the overall fate of these pollutants (Achman et al., 1993; Blais et al., 2001b; Gevao et al., 2000; Jeremiason et al., 1994; Swackhamer et al., 1988). Because the fluxes to and from the lake depend on the relative contribution of the former processes, mass budgets are required to estimate whether lakes act as sources or sinks of PCBs for their surrounding environment (Bamford et al., 2002; Totten et al., 2001).

The present work examines PCB inputs and fate in two altitude lakes (Alps, France). The PCB concentrations in air, atmospheric deposition (rain or snow), dissolved and particulate matter and sediment were determined for five sampling campaigns conducted from

April 2012 to July 2013. A one-year mass budget was performed for both lakes for 2012, and insights are further discussed to assess the lakes' role within PCB mountain eco-dynamics.

II. **Materials**

1. **Study sites**

The present study is conducted on two high altitude lakes characterized by different hydrological characteristics (melting of a glacier for Lake Muzelle and diffuse water inlet for Lake Plan Vianney) and trophic functioning (*unpublished data, in preparation*) that could affect both the PCB inputs and fate in the lakes. Lake Muzelle and Lake Plan Vianney are located in the French Alps at 2115 and 2250 m asl, respectively. They are in the National Park of Ecrins (Figure 19) and 4.3 km distant from each other. Both lakes are ice covered from November to June. Lake Muzelle is approximately twice as large as Lake Plan Vianney (10 ha vs. 5 ha), and its watershed is 5.4 times greater (466 ha vs. 86 ha). For both lakes, the catchment soils are poorly developed with 40-70% rock cover. These two lakes are remote from the PCB sources that still exist in urban areas. Inputs of these pollutants are associated with bulk atmospheric depositions and result from mid to long-range atmospheric transport. Lake Muzelle, located downstream from the Muzelle glacier, could receive an additional source of PCB via glacial melting (Bogdal et al., 2009). The limnological characteristics of these ecosystems are described in Tableau 5.

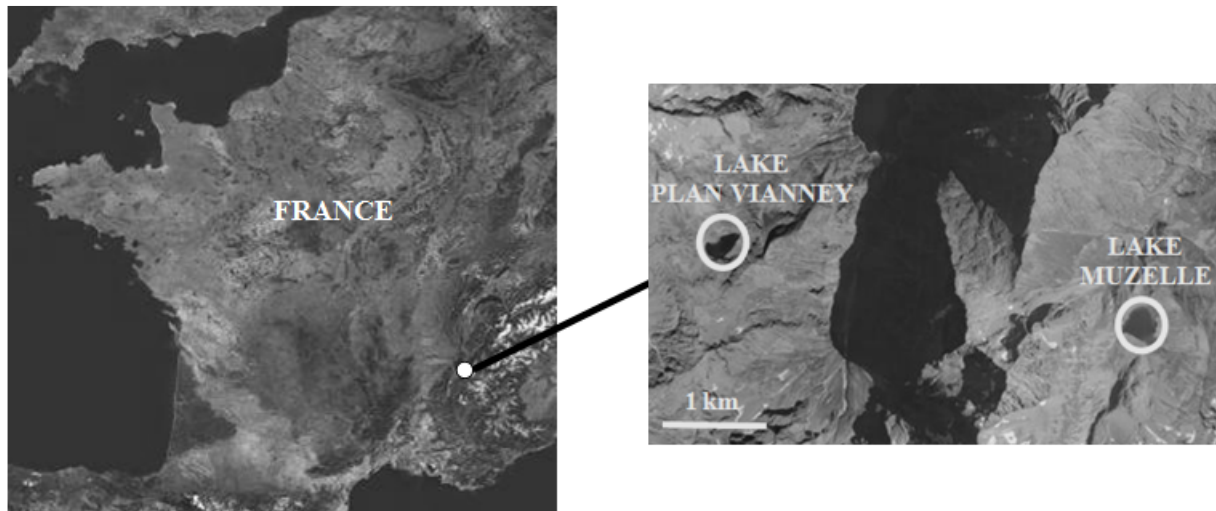


Figure 19: geographical localisation of the studied lakes. ©Geoportail

Tableau 5: limnological characteristics of the studied lakes.

[¶]annual value determined in 2012.

	Muzelle	Plan Vianney
Volume (m ³)	1.15 10 ⁵	3.9 10 ⁴
Estimated water outflow (m ³ s ⁻¹) [¶]	0.15	0.08
Catchment area/ lake area	48.1	15.9
Percentage of catchment covered by glacier (%)	6.2	
Area of the bottom of the lake (ha)	16.6	7.5
Maximum depth (m)	18.8	12.2
Mean depth (m)	11.5	7.8
Mean water temperature (°C) [¶]	6.7 ± 0.7	6.9 ± 0.5
Mean TOC (mgC L ⁻¹) [¶]	1.1 ± 0.3	1.4 ± 0.5
Mean total suspended matter (mg L ⁻¹) [¶]	4.9 ± 3.8	2.5 ± 2.2
Mean total phosphorous concentration (µgP L ⁻¹) [¶]	< 5	< 5

2. Sampling

Five sampling campaigns were conducted between April 2012 and July 2013 (1 winter sampling and 2 spring samplings under ice, before defrost, and 3 campaigns during the open lake surface period). Samplings focused on the water and sediment for each campaign. Atmospheric depositions (ice-cover and open lake surface depositions), settling fluxes and inflow by glacial stream were also integrated and conducted continuously over different time periods. Depositions to the ice-cover were estimated from snow collected during ice cover period (April 2012, February and April 2013). Depositions to the open lake surface were determined from bulk atmospheric depositions (wet + dry) collected during the open water period (June to October 2012).

Surface (4 m) and bottom (3 m above max depth) water was pumped into stainless steel barrels. Approximately 60 L of water were pumped from each depth. For snow sampling, a pit was carried, and the whole snowpack was excavated using a pre-rinsed coring polyethylene device and immediately transferred to stainless steel barrels. Snow barrels were kept at room temperature until complete thawing to obtain approximately 20 L of water. Immediately after complete melting, the samples were extracted as described hereafter.

Methanol was added (0.5 % final concentration) to the collected water to maintain the surface conditioning of the filters, and the samples were pumped at a flow-rate of 100 mL min⁻¹ through Resprep[®]-C18 Solid Phase Extraction disks (70 Å silica pore size, 47 mm diameter, Restek Corporation) previously cleaned using n-heptane and conditioned with methanol. In a previous study, SPE disks were shown to efficiently trap semi-volatile organic compounds, such as PCBs, in large volumes of snow or water (Usenko et al., 2005).

Lake water samples were filtered through glass fiber filters GF/F (0.7 µm nominal cutoff, 47 mm diameter, Whatman) for the collection of particulate matter. Filters were kiln-fired (400 °C) and pre-weighed prior to use. Thereafter, filtrates were recovered with Resprep[®]-C18 SPE disks (see above for details) to collect the PCBs from the dissolved fraction.

Due to the vicinity of the two lakes, the bulk atmospheric depositions were assumed to be similar for both lakes and were measured 100 m from the Lake Muzelle bank using an Owen gauge. This passive sampler consisted of a stainless steel funnel (0.5 m² of surface area) equipped with pre-cleaned polyurethane foam (PUF) (20 mm diameter, 100 mm length, Tish Environmental). The foam was collected and changed at each sampling campaign.

SPE disks, glass fiber filters and PUF were wrapped in aluminum foil and stored at -16°C until analysis.

Sediment cores were taken using a UWITEC gravity corer. The sediment was dated by Cesium Cs¹³⁷ and Lead Pb²¹⁰ analyses. The dating method is described in detail elsewhere (Wilhelm et al., 2012). Sediment samples were stored at 4°C until analysis. For each core, a half-core was preserved for long-term storage, and the other half was used to quantify PCBs.

To quantify settling fluxes, a stainless steel sediment trap (0.12 m² area) was placed at the deepest point of each lake, 1 m above the sediment. Samples were collected in June and September 2012 and July 2013. The trap content was stored in a stainless steel bottle at 4 °C, similar to the deep lake water temperature, to prevent physico-chemical changes that could disturb the PCB distribution between settling matter and pore water.

For Lake Muzelle, the inputs of PCBs by the glacial stream were measured using a stainless steel passive sampler equipped with a pre-cleaned PUF that was placed in the main stream bed during the 89 days of maximum water flow (June 2012 - September 2012). This passive sampler allowed sampling of dissolved PCBs and PCBs associated with suspended particulate matter. The extraction of organic pollutants from water with PUF has been widely used and presents efficient extraction recoveries (Choi et al., 2008; Musty and Nickless, 1974; Nguyen, 2009).

The mean annual outflow for Lake Muzelle (0.15 m³ s⁻¹) and for Lake Plan Vianney (0.08 m³ s⁻¹) were estimated with instantaneous measurements made in June (high flow rate) and October (low flow rate) with a portable in-stream current meter.

For both lakes, water temperature was continuously monitored (30 min frequency) using data loggers (Tinytag[®]) disposed near the water surface (2 m depth), at 4 m depth, and near the bottom of the lake (15 m and 10 m depth for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney, respectively).

An automatic weather station located at Lake Muzelle (100 m from the lake shore) provided hourly air temperature and precipitation data. Wind direction and speed were obtained from the closest meteorological station (2 km and 3 km away from Lake Plan Vianney and Lake Muzelle, respectively).

3. Organochlorine compounds analysis

Prior to extraction, the samples were spiked with known amounts of an isotope-labeled standard (PCB116-d5) to correct for extraction efficiency and instrumental variability. SPE disks were eluted with 15 mL of n-heptane pumped at 2 mL min⁻¹. Sediment samples and settling matter were dried out by the addition of sodium sulfate (Na₂SO₄). The PCBs for all matrices were extracted by Accelerated Solvent Extraction (ASE 200, Dionex) with a mixture of dichloromethane and acetone (1/1 or 70/30 for PUF, v/v). Prior to purification, water was eliminated by addition of Na₂SO₄. Extracts were thereafter transferred to an activated silica column (3 g) pre-rinsed with 20 mL of n-heptane and PCBs were eluted twice with 20 mL of n-heptane and dichloromethane mixtures (80/20 and 98/2, v/v). Following a stage of water removal by Na₂SO₄, the PCB extracts were filtrated with 0.2 µm PTFE filters (13 mm diameter, VWR International) to remove sodium sulfate. At the end of the extraction and purification steps, the extracts were reduced to 1 mL using a TurboVap® II concentrator, concentrated near to dryness under a gentle stream of nitrogen and resuspended in 100 µL of n-heptane.

The PCBs extract was analyzed using a Clarus 500 Gas Chromatograph coupled with a MS 560 Mass Selective detector (Perkin Elmer®). The sample (1 µL) was injected in splitless mode in an Optima 5 Accent column (Macherey-Nagel®). The column oven temperature program was as follows: 60 °C for 1 min, increase to 250 °C at 45 °C min⁻¹, and then to 320 °C at 5 °C min⁻¹, and finally 320 °C for 5 min. Selected-ion monitoring (SIM) was used for the quantification of 6 non-dioxin-like PCBs (congeners 28, 52, 101, 138, 153 and 180), and the calibration curves were established with pure standards and the PCB116-d5 internal standard (checked every fifth sample at 6 levels of concentration between 2.5 and 100 pg µL⁻¹). Field blanks were obtained by transporting the stainless steel barrels for lake water sampling and stainless bottles for snow or sediment sampling to the sites; these containers were exposed to air and filled with ultra-high quality water. Field blanks also included the PUF for atmospheric bulk deposition or glacial stream inputs sampling. The UHQ water and the PUF exposed to air were then treated as samples. The obtained values were therefore subtracted from the corresponding sample concentrations. Analytical recoveries for the sediment and particulates in traps were determined from certified reference material BCR-536. Average recoveries (mean ± standard deviation) were 72 ± 24%, 93 ± 6%, 132 ± 9%, 47 ± 6% and 53 ± 15% for PCB congeners #52, #101, #138, #153 and #180, respectively. The

high recovery of PCB 153 resulted from a co-elution with PCB 132. For water (dissolved and particulate phases), snow and PUF extracts, the analytical recoveries were evaluated using the PCB 116-d5 standard. The average recoveries (mean \pm standard deviation) were $56 \pm 8\%$, $51 \pm 6\%$, $48 \pm 4\%$ and $63 \pm 9\%$ for dissolved phase, particulate phase, snow and PUF extract, respectively. The reported values were corrected for blanks and recoveries. The method detection limit (MDL) and method quantitation limit (MQL) were derived from the field blanks and quantified as 6 and 10 times their standard deviations, respectively. MDLs ranged from 0.01 to 0.06 $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$, and MQLs were 0.02-0.12 $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$. The MDL and MQL values for each matrix are reported in the Supplementary material (Appendix A).

4. Mass budget calculations

This 1-year mass budget was based on a steady state hypothesis, *i.e.*, the amounts of PCBs in the lake were balanced by amounts out of this system over the whole year and was expressed as the following equation:

$$F_{\text{in}} = F_{\text{out}} \text{ Eq. (1)}$$

with F_{in} representing the flux of all PCB inputs (mg yr^{-1}) and F_{out} representing the flux of all PCB outputs (mg yr^{-1}) for the whole year.

F_{in} is the summation of depositions to the open lake surface, depositions to the ice cover (*i.e.*, snow), gas absorption, glacial melting (only for Lake Muzelle), resuspension and diffusion from sediments to the water column. F_{out} is the summation of volatilization, outflow (lake outlet), sedimentation and diffusion from the water column to the sediments. The PCB mass budget was determined as:

$$D_a + D_s + F_g + F_d + F_r = N_g + S_f + O_f \text{ Eq. (2)}$$

Details on previous parameters and calculations are described in detail below (Tableau 6).

Tableau 6: description of parameters used in mass budget.

	PARAMETER	EQUATION	CALCULATED PARAMETERS	ESTIMATED PARAMETERS
LOADINGS	Water column load	$W_l = C_{wt}V$	C_{wt}, V	
	Sediment load	$S_L = C_s D_m D_c A_B$	C_s, D_m, D_c, A_B	
INPUTS	Deposition to ice cover	$D_s = F_s A_L$	F_s, A_L	
	Deposition to open lake surface	$D_a = F_a A_L$	F_a, A_L	
	Inflow by glacial stream	$F_g = T_f \propto \left(\frac{M_{PUF}}{T_s}\right)$	$T_f, \alpha, M_{PUF}, T_s$	
	Sediment-water diffusion (see II.4.a)	$F_d = [-v_{diff}(C_{wb} - C_{wp})]A_B$	C_{wb}, A_B	$-v_{diff}, C_{wp}$
	Resuspension from sediment to water column	$F_r = S_f - S_s$	S_f, S_s	
OUTPUTS	Water-air exchange (see II.4.b)	$N_g = 2.208 \cdot 10^3 M A_L K_w \left(C_w - \frac{C_a}{H'}\right)$	M, A_L, C_w	K_w, C_a, H'
	Settling	$S_f = C_t S_r A_L$	C_t, S_r, A_L	
	Outflow	$O_F = D_s + D_a + F_g + F_d + F_r - N_g - S_f$	$D_s, D_a, F_g, F_d, W_l, N_g, S_f$	

C_{wt} is the mean bulk water concentration (*i.e.* particulate + dissolved phase) ($mg \cdot m^{-3}$)

V is the volume of lake (m^3)

C_s is the concentration of PCB measured in surface sediment ($mg \text{ gDW}^{-1}$)

D_m is the density of sediment ($gDW \text{ m}^{-3}$)

D_c is the depth of sediment core analyzed (m)

A_B is the surface area of the bottom of the lake (m^2)

F_s is the snow deposition flux ($mg \text{ m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$)

A_L is the surface area of lakes (m^2)

F_a is the annual bulk deposition flux ($mg \text{ m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$)

T_f is the annual time when the lake gets inflow by the glacial stream (365 days)

α is the bed stream section (0.2 to 0.5 m^2) / passive sampler section ($3.85 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$) ratio

M_{PUF} is the mass of PCB retained in the PUF (mg) during the sampling period

T_s is the duration of sampling (89 days)

$-v_{diff}$ is the sediment water exchange velocity ($m \text{ yr}^{-1}$)

C_{wb} is the dissolved concentration of PCB in water near the bottom ($mg \text{ m}^{-3}$)

C_{wp} is the concentration of PCB in the sediment pore water ($mg \text{ m}^{-3}$)

S_f is the settling flux recorded by sediment traps ($mg \text{ yr}^{-1}$)

S_s is the amount of sedimentary matter derived from sediments cores ($mg \text{ yr}^{-1}$)

$2.208 \cdot 10^3$ is the factor to convert unit of unit in year (*i.e.* when exchange between atmosphere and water can occur = 92 days in 2012)

K_w is an estimated overall mass transfer coefficient ($m \text{ h}^{-1}$)

C_w is the measured concentration of each compound in dissolved water near the surface ($mg \text{ m}^{-3}$)

C_a is the estimated concentration of each compound in gas phase ($mg \text{ m}^{-3}$)

H' is the dimensionless Henry's law constant corrected for temperature

C_t is the concentration of PCB measured in sediment trap material ($mg \text{ gDW}^{-1}$)

S_r is the sedimentation rate recorded in sediment traps ($gDW \text{ m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$)

a) Inputs

The PCB inputs by deposition to the open lake surface (D_a in mg yr^{-1}) were calculated from the concentrations determined from bulk atmospheric depositions during the three months sampling period (June - September 2012):

$$D_a = F_a A_L \text{ Eq. (3)}$$

where F_a is the measured bulk atmospheric deposition flux ($\text{mg m}^{-2} \text{yr}^{-1}$), and A_L is the surface area of the lake (m^2).

The atmospheric PCB deposition flux to the ice cover (D_s in mg yr^{-1}) was determined from the snow sampling conducted in April 2012, as described by the following equation:

$$D_s = F_s A_L \text{ Eq. (4)}$$

where F_s is the calculated PCBs snow deposition flux ($\text{mg m}^{-2} \text{yr}^{-1}$), and A_L is the surface area of the lake (m^2).

For Lake Muzelle, the PCB input by glacial melting (F_g in mg yr^{-1}) was estimated from PCB concentrations (dissolved and particulate phases) recorded with a PUF placed in the main bed stream during 89 days of maximum water flow (June – September 2012):

$$F_g = \alpha F_{ps} \text{ Eq. (5)}$$

where α is the ratio of the bed stream section ($0.2\text{-}0.5 \text{ m}^2$) to the passive sampler section ($3.85 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$). This ratio allows for the estimation of the PCB flux in the main bed stream measured by the passive sampler. F_{ps} is the annual PCBs flux through the passive sampler (mg yr^{-1}), calculated according to equation 6:

$$F_{ps} = m/\gamma \text{ Eq. (6)}$$

where γ is the percent period of the year during which PCB were sampled by the passive sampler (89 days) and m is the mass of PCBs measured on the PUF (mg).

According to Schwarzenbach et al. (2005), the molecular diffusion of the dissolved phase of a compound between the pore water sediment and water column can be estimated as:

$$F_d = [-v_{\text{diff}}(C_{\text{wb}} - C_{\text{wp}})]A_B \text{ Eq. (7)}$$

where F_d is the diffusion flux from the sediment to the water column (mg yr^{-1}), $-v_{\text{diff}}$ is the estimated sediment-water exchange velocity (m yr^{-1}), C_{wb} is the measured dissolved concentration of PCBs in water near the bottom (mg m^{-3}), C_{wp} is the estimated concentration of PCBs in the sediment pore water (mg m^{-3}) and A_B is the area of the lake bottom (m^2).

The sediment-water exchange velocity can be estimated by equation 8:

$$v_{\text{diff}} = 3.15 \cdot 10^7 \left(\frac{D_{\text{x'eau}}}{\delta_{\text{bl}}} \right) \text{ Eq. (8)}$$

where $D_{\text{x'eau}}$ is the calculated diffusivity of a compound in water corrected for temperature (Appendix C, Eq. C.9) ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), converted to $\text{m}^2 \text{yr}^{-1}$ using the $3.15 \cdot 10^7$ conversion factor, and δ_{bl} is the estimated thickness of the bottom boundary layer (m). Because it was not measured for the studied lakes, we used minimal ($5 \cdot 10^{-3}$ m) and maximal ($5 \cdot 10^{-2}$ m) values derived from previous studies conducted in another altitude lake (Meijer et al., 2006). As in this lake, these boundary layer values allowed the determination of sediment-water exchange velocity ($-v_{\text{diff}}$) values that were within the same range ($0.0024 - 0.05 \text{ m d}^{-1}$) as previously published papers (Dalla Valle et al., 2003; Mackay, 1989).

The concentration of a PCB in the sediment pore water (C_{wp}) in Eq. (7) was estimated from the sediment-water distribution ratio (K_{d}) and was expressed as the following equation:

$$C_{\text{wp}} = \frac{C_{\text{s}}}{K_{\text{d}}} \text{ Eq. (9)}$$

where C_{s} is the measured concentration of the compound in the sediment (mg kg DW^{-1}), and K_{d} is the partition coefficient of the compound between the sediment and water ($\text{m}^3 \text{kg DW}^{-1}$), which was defined by Delle Site (2001) as the following equation:

$$K_{\text{d}} = f_{\text{OM}} K_{\text{OM}} \text{ Eq. (10)}$$

Where f_{OM} is the measured fraction of organic matter in the solid (kg OM kg DW^{-1}), and K_{OM} is the partition coefficient between particulate organic matter and dissolved phase ($\text{m}^3 \text{kg OM}^{-1}$). This partition coefficient was derived from the octanol-water partition coefficient (K_{OW}) (Chiou et al., 1983) and was expressed in the following equation:

$$\log K_{\text{OM}} = 0.904 \log K_{\text{OW}} + 0.779 \text{ Eq. (11)}$$

Values of $\log K_{\text{OM}}$ and $\log K_{\text{OW}}$ for selected PCB congeners are presented in Appendix B, Tableau 9.

The resuspension flux from the sediment to the water column was calculated as the difference between the surficial sediment accumulation measured in the sediment cores and sedimentation obtained from the sediment traps:

$$F_{\text{r}} = S_{\text{f}} - S_{\text{s}} \text{ Eq. (12)}$$

where F_{r} is the resuspension flux (mg yr^{-1}), S_{f} is the PCB settling flux recorded by sediment traps (mg yr^{-1}) and S_{s} is the surficial sediment accumulation (mg yr^{-1}).

b) Outputs

During the 9 months of ice-cover, the water column of the two altitude lakes is physically isolated from the atmosphere, preventing any exchange between air and water. Thus, the PCB flux from water to air was obtained using the average values calculated for two sampling campaigns conducted during the open water period (June and September 2012). The water-air gas exchange was based on the two-resistance model (Liss and Slater, 1974) and reviewed by Mackay et al. (1986) as:

$$N_g = K_w(C_w - \frac{C_a}{H'}) \text{ Eq. (13)}$$

The PCB flux from water to air (N_g) for each lake (mg yr^{-1}) was calculated from equation 14:

$$N_g = 2.208 \cdot 10^3 A_L K_w (C_w - \frac{C_a}{H'}) \text{ Eq. (14)}$$

where $2.208 \cdot 10^3$ is the conversion factor for Eq. (13) in mg yr^{-1} (*i.e.*, when the exchange between the atmosphere and water can occur, which was 92 days in 2012), A_L is the lake area (m^2), K_w is an estimated overall mass transfer coefficient (m h^{-1}), and C_w and C_a are the concentrations of each compound in water and air, respectively (mg m^{-3}). Finally, H' is the dimensionless Henry's law constant corrected for temperature:

$$H' = \frac{H_T}{RT} \text{ Eq. (15)}$$

where R is the gas constant ($\text{Pa m}^3 \text{mol}^{-1} \text{K}^{-1}$), T is the measured water surface temperature (K), and H_T is the Henry's law constant at the water temperature ($\text{Pa m}^3 \text{mol}^{-1}$).

Due to the uncertainty of Henry's law constant (Bamford et al., 2002; Burkhard, 2000; Dunnivant and Elzerman, 1988; Gioia et al., 2010; Li et al., 2003; ten Hulscher et al., 2006), we used two Henry's law constant values for each PCB. The value proposed by Li and Wania (2003) and Bamford et al. (2002) were considered as, respectively, the lowest and highest bound of the range of values for Henry's constant (Appendix B, Tableau 9). Another important issue is the enthalpy of the phase change (ΔH) used to estimate the Henry's law constant corrected for temperature. We chose the values published by Bamford et al. (2002) (Appendix C, Tableau 10).

H_T was calculated as:

$$H_T = H_{298K} e^{[\left(-\frac{\Delta H}{R}\right)\left(\frac{1}{T}\right) - \left(-\frac{1}{298}\right)]} \quad \text{Eq. (16)}$$

where H_T is the Henry's law constant corrected for the water surface temperature ($\text{Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}$), H_{298K} is the Henry's law constant at 298 K, ΔH is the enthalpy of dissolution ($\text{Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}$), R is the gas constant ($\text{Pa m}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) and T is the measured water surface temperature (K).

The estimation of the overall mass transfer coefficient (K_w) is described in Appendix C.

Due to the limited access and environmental conditions of the lakes, PCBs concentration in the air could not be measured directly. Instead, the PCB air concentration during the open lake surface period was estimated from atmospheric bulk depositions and from published values obtained in other altitude lakes and background sites at mid-latitudes (Tableau 7). The former provided the maximum and the latter the minimum air gaseous phase concentrations.

The maximum concentration of PCBs in the air gaseous phase was thus estimated from the atmospheric PCBs bulk deposition measured during the ice-free cover period using a washout ratio determined by Atlas and Giam et al. (1988) and described below. Considering the equilibrium between the vapor pressure in air and precipitation, the atmospheric gas phase concentration during rainfall was determined by the following equations:

$$C_{ap} = 10^3 M (P_w/RT) \quad \text{Eq. (17)}$$

$$P_w = H_T C_{pd} \quad \text{Eq. (18)}$$

where C_{ap} is the estimated concentration in air during rainfall (mg m^{-3}), 10^3 is the factor to convert g m^{-3} to mg m^{-3} , M is the molecular weight of each PCB (g mol^{-1}), P_w is the vapor pressure of PCB in precipitation (Pa), R is the gas constant ($\text{Pa m}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T is the mean measured air temperature during rainfall (K), H_T is the Henry's law constant ($\text{Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}$) corrected for air temperature during precipitation and C_{pd} is the estimated PCB concentration for the dissolved phase of precipitation. That estimated PCB concentration was expressed by the following equation:

$$C_{pd} = (C_p/7800) \quad \text{Eq. (19)}$$

where C_p is the measured PCB concentration (mol m^{-3}) in bulk precipitation (dissolved + particulate) and 7800 is the washout ratio determined by Atlas and Giam et al. (1988).

Tableau 7: PCBs concentration in gas phase for remote lakes, background sites of mid-latitude and Lake Muzelle*

*estimated concentration derived from measured concentrations in bulk atmospheric depositions (see II.4.b for details).

Site	Location	Year	C _a (pgm ⁻³)							ΣPCB	Ref.
			PCB28	PCB52	PCB101	PCB138	PCB153	PCB180			
Lake Redo	Central Pyrenees	2000/2003	3.6	7.2	6.8	2.3	2.2	0.8	22.9	(van Drooge et al., 2004)	
Lake SkalnatePleso	High Tatras	2001/2002	4.9	8.5	9.0	3.3	4.3	1.5	31.5		
Schauinsland	Alps	2006/2007	2.69	2.49	1.80	1.23	1.38	0.45	10.04	(EMEP, 2011)	
Finokalia	Crete	1999/2001	5.01	4.36	3.74	0.72	1.47	0.41	15.71	(Mandalakis and Stephanou, 2002)	
Regional Park of Simbruini Mountains	Italy	2000	7.75	7.83	4.98	2.78	2.39	0.66	26.39	(Menichini et al., 2007)	
Lake Muzelle from bulk depositions	Alps, France	2012	13.7	32.5	6.9	7.5	11.2	ND	71.8	this study	

The settling flux was measured from the sediment traps disposed 1m above the bottom of the lake and calculated by the following equation:

$$S_f = C_t A_L S_r \text{ Eq. (20)}$$

where S_f is the PCB settling flux recorded by the sediment traps (mg yr^{-1}), C_t is the concentration of PCB measured in the sediment trap material (mg gDW^{-1}), S_r is the sedimentation rate recorded in the sediment traps ($\text{gDW m}^{-2} \text{yr}^{-1}$) and A_L is the lake area (m^2).

The outflow was estimated from previous parameters using Eq. (2):

$$O_F = D_{s,\max} + D_{a,\max} + F_{g,\max} + F_{d,\max} + F_{r,\max} - N_{g,\min} - S_{f,\min} \text{ Eq. (21)}$$

where O_F is the estimated outflow (dissolved + particulate) from the lake (mg), D_s is the total amount deposited by snow (mg), D_a is the total amount deposited by bulk deposition during ice-free cover period (mg), F_g is the annual inflow by glacial stream only for Lake Muzelle (mg), F_d is the diffusion from sediment to water column (mg), F_r is the resuspension from sediment to water (mg), N_g is the exchange from water to air (mg), S_f is the settling amount of PCBs measured in sediment traps (mg). In this equation, min and max indicate the minimum and maximum values of the concerned parameter, respectively.

c) Loadings

The water column load for 2012 was estimated as the average PCB concentrations in the bulk water samples over the year (April, June and September 2012):

$$W_L = C_{wt}V \text{ Eq. (22)}$$

where C_{wt} is the mean bulk water concentration (mg m^{-3}), and V is the volume of lake (m^3).

The sediment load was calculated from the content of the active sediment layer (the top 3 cm of sediment) after correcting for sediment focusing:

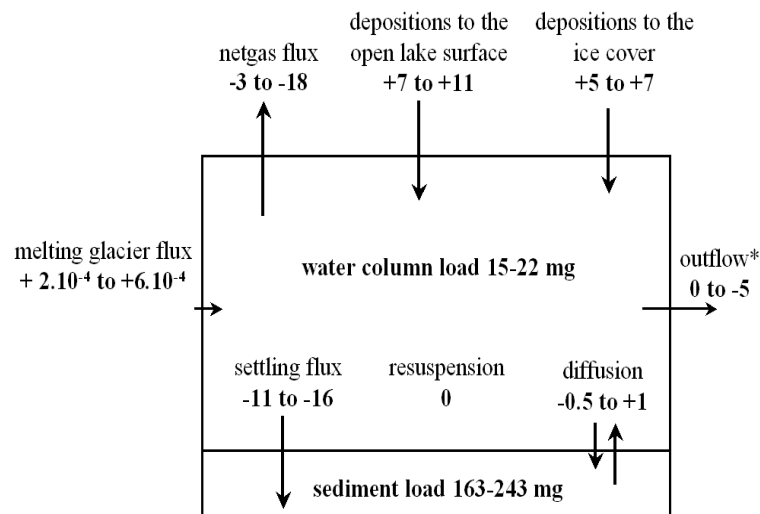
$$S_L = \beta S_s \text{ Eq. (23)}$$

where β is the number of years to obtain a 3 cm thickness (15 years for Lake Muzelle and 13 years for Lake Plan Vianney), and S_s is the surficial sediment accumulation of PCB corrected for sediment focusing (mg yr^{-1}).

III. Results

A mass budget was constructed only for the PCB congeners that were present in atmospheric deposition, exchanged at the air-water-sediment interfaces and present in settling matter (namely #52, #101, #138, #153 and #180). The results of this mass budget are presented in Figure 20 and described in detail below.

a) Muzelle



b) Plan Vianney

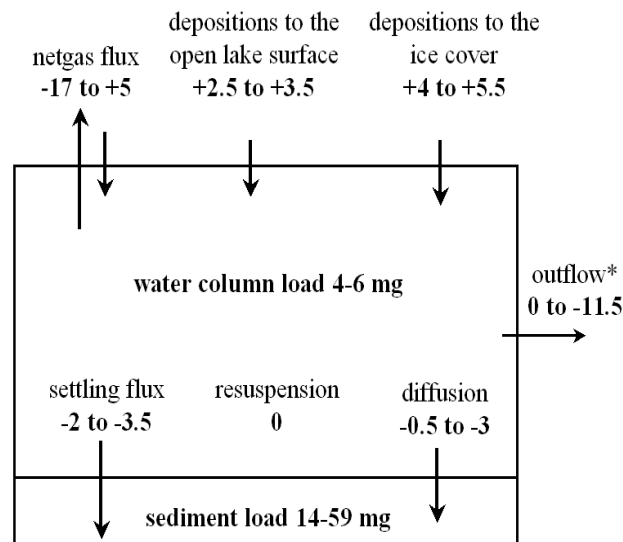


Figure 20: Σ PCBs mass budget (mg yr^{-1}) for year both studied lakes in 2012.

Positive and negative values indicated inputs and outputs to water column respectively.

Each flux is represented by a minimum value and a maximum value covering the whole uncertainty of measured or estimated variable.

Maximum outflow flux was estimated by: $O_F = D_{s,\max} + D_{a,\max} + F_{g,\max} + F_{d,\max} + F_{r,\max} - N_{g,\min} - S_{f,\min}$

1. Loadings

To avoid uncertainties due to the thermal stratification and mixing effects on PCB distribution and concentrations (Dueri et al., 2009), PCB concentrations were averaged between the top and bottom of the water column. The mean annual PCBs concentrations (\pm standard deviation) in the particulate and the dissolved phase did not significantly differed between lakes ($159 \pm 29 \text{ pg L}^{-1}$ and $132 \pm 24 \text{ pg L}^{-1}$ for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney, respectively) and consistent to those reported in remote lakes (Vilanova et al., 2001a). In Lake Muzelle, PCB congeners were evenly distributed in bulk water (surface + depth), but in Lake Plan Vianney, the most chlorinated congeners were dominant (32.5 % and 31.1 % of the total budget for #180 and #138, respectively) (Appendix D, Tableau 11 and Tableau 12). The dissolved water concentrations and partition of PCBs in surface waters varied significantly amongst seasons (Tableau 8). For both lakes, the bulk PCB concentrations (particulate + dissolved) increased after snowmelt. The same process occurred in 2013 when the PCB concentration in July was twice the value measured under ice in April (Figure 21).

The PCB concentrations in the surface sediment layer were $1.0 \pm 0.2 \text{ ng gDW}^{-1}$ and $0.6 \pm 0.1 \text{ ng gDW}^{-1}$ for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney, respectively. The PCB load potentially released by the sediments to the water column (approximately 3 cm of the uppermost layer) was estimated as $203 \pm 40 \text{ mg}$ and $36.5 \pm 22.5 \text{ mg}$ in 2012, respectively. For Lake Muzelle, PCB 52 dominated the distribution of ΣPCBs (approximately 47 %), contributing $95 \pm 20 \text{ mg yr}^{-1}$ of the ΣPCBs load. In Lake Plan Vianney, the less volatile congeners #180 and #153 (except for #138) were dominant (37 % and 32 % of the total amount, respectively) in the sediment as in the water column.

Tableau 8: PCBs congeners distribution and concentration in dissolved water near the surface of Lake Muzelle and Lake Plan Vianney.

–: not determined, ND: below detection limit, NQ: below quantitation limit.

Sampling date	June 2012		September 2012	
Lake	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney
Suspended matter (mgL ⁻¹)	0.95	0.12	0.71	0.54
DOC (mgL ⁻¹)	–	3.4	0.7	1.0
Relative content (% of the total)				
28	ND	ND	ND	ND
52	NQ	25	29	63
101	33	NQ	31	15
138	58	48	6	17
153	7	7	32	4
180	2	20	2	1
[ΣPCBs] in dissolved phase (pgL ⁻¹)	15	34	20	3

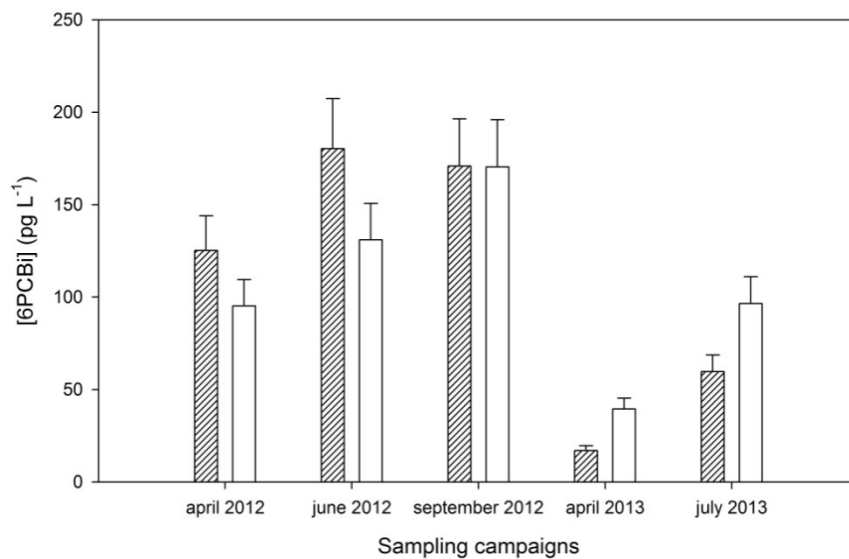


Figure 21: Mean PCBs concentration in bulk water (particulate + dissolved) to Lake Muzelle and Lake Plan Vianney.

Hatched bar corresponding to Lake Muzelle and white bar to Lake Plan Vianney.

2. Inputs

The estimated fluxes of Σ PCBs entering the lake via deposition to the ice cover (*i.e.*, snow) during the 2012 spring thaw were similar for both lakes ($71 \pm 8 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$). The less chlorinated congeners (#52 and #101) were the most abundant, varying from 15 % to 37 % of the total amount, which is consistent with previous studies conducted at remote areas (Blais et al., 1998; Gregor et al., 1996; Grimalt et al., 2009). During the open-water period, the inputs of PCBs to the lake by bulk depositions (wet + dry) represented $115 \pm 24 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ with a predominance of more volatile congeners (70 % of the total amount). In Lake Muzelle, the PCB inputs by glacial melting were negligible (less than $2 \cdot 10^{-3} \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$).

In both lakes, a comparative analysis of the Σ PCBs settling flux measured by the sediment traps and sedimentation rates recorded in dated cores highlighted the lack of resuspension flux of Σ PCBs from the sediment to the water column (data not shown). In Lake Muzelle, the molecular diffusion flux of Σ PCBs between the sediment and water fueled the water column in Σ PCBs ($5 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$) and the observed diffusion from the sediment to the water column was only due to PCB 52 (Appendix D, Tableau 11). PCB fluxes went in the opposite direction for Lake Plan Vianney ($10 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$).

3. Outputs

In Lake Muzelle, the net flux of Σ PCBs across the water-air interface for 2012 (*i.e.*, netgas flux) was volatilization ($10.5 \pm 7.3 \text{ mg yr}^{-1}$). However, for some congeners, fluxes were closed to equilibrium (#153 and #180 in June 2012, #52 and #138 in September 2012) or went outward (#180 in September 2012) (Appendix D, Tableau 11). The annual netgas flux in Lake Muzelle was dominated by PCB 101 (Figure 22), which accounted for up to 77 % of the total volatilization flux. In Lake Plan Vianney, exchanges across the water-air interface occurred through both volatilization and deposition ($6.2 \pm 11.0 \text{ mg yr}^{-1}$). An analysis of the fugacity ratios (Appendix E, Tableau 13) for 2012 revealed that all PCB congeners were close to equilibrium. Thus, the net flux of Σ PCBs across the water-air interface in Lake Plan Vianney was close to equilibrium.

The settling flux of Σ PCBs was estimated for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney at $0.7 \pm 0.1 \text{ } \mu\text{g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ and $0.6 \pm 0.2 \text{ } \mu\text{g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$, respectively. For Lake Muzelle, PCB

congeners were evenly distributed in the sediment trap samples, in contrast to Lake Plan Vianney where the most chlorinated congeners (#180 and #153) dominated (37 % and 43 % of the total amount, respectively) (Figure 22).

The PCB outflow (*i.e.*, the amount of PCBs leaving the lake by the outlet) was estimated by the balance of the mass budget. It reached a maximum of 5.0 mg for Lake Muzelle and 11.5 mg for Lake Plan Vianney in 2012. Considering only PCB congeners for which the estimated outflow was consistent (*i.e.*, positive results, Appendix D), PCB 52 dominated the outflow in both studied lakes with 83 % and 58 % of the total PCBs amount for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney, respectively (Figure 22).

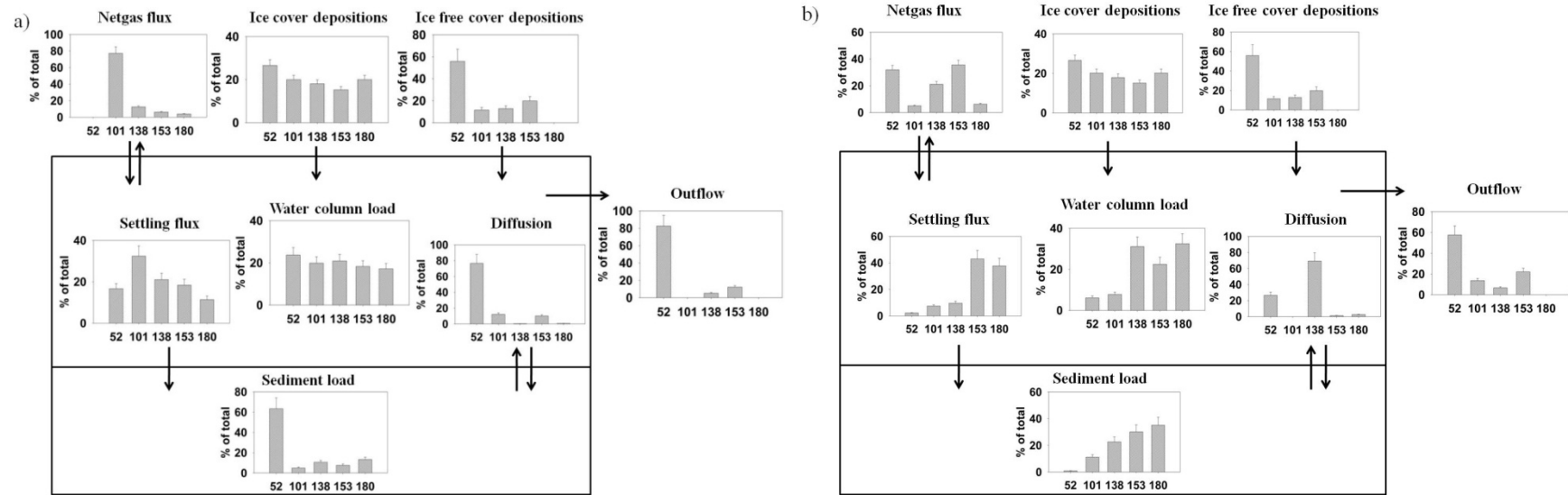


Figure 22: distribution of selected PCBs congeners (#52, #101, #138, #153 and #180) for calculated or estimated parameters of mass balance in 2012. a) Lake Muzelle and b) Lake Plan Vianney.

PCB congeners repartition in water column load corresponds to the average of measured PCB concentrations in the bulk water samples (April, June and September 2012).

IV. **Discussion**

Although the annual mass budget was mostly based on measurements, some parameters had to be indirectly estimated (air concentrations) or assessed by a balanced mass budget (outflow concentrations). The mass budget limits were therefore considered to evaluate the relevance of the estimated fluxes in spite of these uncertainties.

1. Evaluation of the mass budget

a) **Water-air exchange**

The estimation of the water-air exchange was performed from a concentration-based approach. The PCB concentrations in the dissolved phase near the surface (4m) were determined *in situ* during different seasons. The annual air concentration was estimated from derived literature values or wet depositions. Although the estimated annual air concentration gives a good insight of the annual average value, the results of the mass budget are an annual estimation and may not adequately represent the seasonal variations of the PCB gas phase concentrations. Therefore, the seasonal variability in the exchange across the water-air interface was not quantified. Estimated air concentrations varied from 21 pg m⁻³ to 72 pg m⁻³, *i.e.*, a range that is in accordance with documented seasonal variations of PCB air concentrations measured at background sites (Iacovidou et al., 2009) and remote lakes (van Drooge et al., 2004). Including such a range of PCB air concentrations guarantees that the annual estimates at least partially account for seasonal effects.

b) **Outflow**

PCB concentrations leaving the lake by outflow were estimated, not measured, through the balance of the mass budget (Tableau 6 and Appendix D). The obtained PCB concentrations are much lower than the ones measured in the lake bulk water. For Lake Muzelle, since the inlet and outlet are very close to each other (less than 50 meters) and the waters at the outlet are relatively shallow (less than 5 meters), the PCB content in the outlet is likely diluted by the water inlet (melting of the glacier). The same assumption was held for Lake Plan Vianney, where the mean lake depth is even lower and the inlet is mainly formed by diffuse water streaming.

c) Robustness of the mass budget

Water-air exchanges were computed and compared between June 2012 and July 2013 to evaluate the robustness of our conclusions between years. The exchange across the water-air interface in summer 2013 was, as for summer 2012, due to volatilization. For both lakes, the volatilization fluxes estimated in 2012 and 2013 are similar to those reported in the subalpine Bow Lake for the same PCB congeners (#52 and #101). For Plan Vianney, the summer net gas fluxes were highly comparable in 2012 and 2013 ($273 \pm 70 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ and $244 \pm 28 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$, respectively). They were approximately twice as high in 2013 than in 2012 for Lake Muzelle ($254 \pm 44 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ vs $128 \pm 22 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$) due to the higher PCB concentration in the dissolved surface water in July 2013 ($39 \pm 8 \text{ pg L}^{-1}$ vs $15 \pm 3 \text{ pg L}^{-1}$ in June 2012). Analysis of the suspended matter or dissolved organic carbon concentrations did not show any significant differences between these two sampling periods and consequently do not explain such a difference in the dissolved PCB concentrations. Most likely, the higher concentrations in July 2013 are due to a shorter time period between the spring thaw and the water sampling for July 2013 than June 2012 (30 days and 10 days, respectively).

The mass budget allowed for the estimation of reasonable and relevant PCB fluxes in and out the lakes over 2012. As a result, the main pathways by which PCBs entered the lake, as well as the seasonal variations of the water column load, could be addressed.

2. Inputs

In high altitude lakes, snowpack accumulates about 6 to 7 months of atmospheric depositions and adequately reflects potential differences of atmospheric PCB inputs over the year in these ecosystems. The flux of Σ PCBs entering the lake by snow deposition, as estimated from the measured concentration in snowpack in April 2012, February and April 2013 (Appendix F, Tableau 14) were comparable, attesting that both lakes have been subjected to similar atmospheric depositions. Analyses of PCB concentrations in bulk water (particulate + dissolved) for 2012 did not reveal any significant differences between the two lakes, justifying the assumption of similar PCB atmospheric inputs and excluding the role of the catchment area as a source of PCB to the lakes. Bogdal et al. (2009) suggested that glacial streams can be a major source of organic contaminants to mountain lakes. The passive

sampler set in the Muzelle glacial stream during the open-water period (*i.e.*, spring thaw and summer period) showed that glacial runoff is a negligible source of PCB for this specific lake. Flow models for glacier Muzelle have not been developed yet. Contrary to the Oberaar Glacier (Bogdal et al., 2009), the low PCB concentrations in the glacial stream could be explained by the actual melting of ice formed before the maximum release of PCB to the atmosphere.

3. Seasonal variations of water column load

Seasonal variations of Σ PCBs in bulk water (Figure 21) confirmed the significance of snow as an important source of PCB for high altitude lakes. Right after spring thaw (*i.e.*, June 2012 or July 2013), the Σ PCBs (dissolved + particulate) concentrations measured in the water column were up to two times higher than the ones measured during the ice cover period (*i.e.*, April 2012 or 2013). Snow depositions accounted for 40 % of annual Σ PCBs atmospheric depositions and were transferred to the lakes only during the few weeks of spring thaw (Figure 20). PCBs deposited by snow are of crucial functional importance because they generate an important and rather sudden incoming flux at a key period of the limnological cycle. In European altitude lakes, plankton growth (especially phytoplankton) starts during the ice-cover thaw, and the phytoplankton biomass reaches a peak before the waters are fully opened (Felip et al., 1999; Fott et al., 1999; Nedbalova et al., 2006; Ventura et al., 2000). The phytoplankton biomass plays an important role in the fate of organic contaminants, as it can absorb or adsorb PCBs. A previous study conducted on remote lakes by Jeremiason et al. (1999) has shown that an increase of phytoplankton biomass in a eutrophic lake was responsible for higher settling particle fluxes and consequently enhanced POP exportation to the sediments. In addition, Dachs et al. (1999, 2000) has shown that high phytoplankton biomass increases the air-water exchange of PCBs in remote aquatic ecosystems. In recent studies, this process was referred as to the phytoplankton biological pump (Jurado and Dachs, 2008; Lohmann et al., 2007). It would limit the exposure of the pelagic food web to PCBs by reducing the dissolved phase concentrations and increasing the exportation to deep waters and sediments, as shown for Lake Maggiore (Nizzetto et al., 2012). Others studies (Berglund et al., 2001a; Berglund et al., 2001b) suggested that the composition of primary producers (*i.e.*,

lipid content) can also greatly affect the PCB concentrations in the water column. Although the importance of phytoplankton biomass has been acknowledged, there is still a crucial knowledge gap. How PCBs released by spring thaw interact with primary producers in high altitude lakes is still relatively unknown.

4. Within or between lakes differences

Although both studied lakes received comparable atmospheric PCB inputs, they differed in their surface sediment layer concentrations, suggesting differences in the sediment ability to adsorb PCBs. The PCB load in estuarine sediments has been observed to increase with organic matter content (Castro and Vale, 1995). The sediments of Lake Plan Vianney are slightly richer in organic carbon than Lake Muzelle (7.7 and 6.0 %, respectively), and the sediment organic matter itself may not explain the observed differences. Rather, the differences in sediment organic matter quality or small grain size content might account for these differences (Brannon et al., 1998; Karickhoff et al., 1979; Konat and Kowalewska, 2001; Pierard et al., 1996). Grain size distribution analysis shows that the mean particle size is higher in Lake Plan Vianney than Lake Muzelle (30 μm and 20 μm , respectively). Thus, the greater surface to volume ratio of the sediment particles in Lake Muzelle could enhance PCB adsorption.

PCB exchange at the sediment water interface essentially occurs through molecular diffusion between the sediment pore water and the water column. Contrary to Lake Plan Vianney, the flux goes out from the sediment in Lake Muzelle, resulting from an important exchange of PCB 52 due to the high concentration of this congener in the surficial sediment (Figure 22).

Exchanges across the water-air interface were different between both studied lakes in 2012 (Figure 20). The net gas flux for Lake Muzelle occurred by volatilization throughout the year, which was contrary to Plan Vianney where the net flux of PCBs across the water-air interface was closed to equilibrium (Appendix D, Tableau 11 et Tableau 12). Indeed, for Plan Vianney, the net gas flux occurred through volatilization in June 2012 ($14 \pm 3.5 \text{ mg yr}^{-1}$) and by deposition in September 2012 ($-2.5 \pm 2 \text{ mg yr}^{-1}$). These differences in the overall PCB fluxes between both studied lakes resulted from the differences in volatilization fluxes of some of the PCB congeners in Plan Vianney, mainly #101 in June/September 2012 and, to a

lesser extent, #52 and #138 in September 2012. A possible explanation involves differences in the internal lake processes controlling the air-water gas exchanges of PCB 52, 101 and 138, especially at the end of the summer period.

The distribution of PCB congeners in the surficial sediment was different between lakes (Figure 22). The dominance of PCB 52 in the Muzelle sediment implied that the relative PCB composition was directly governed by atmospheric deposition, in contrast to Lake Plan Vianney and others European lakes (Carrera et al., 2002; van Drooge et al., 2013). However, the congener distribution in the sediment trap for Lake Muzelle was not related to that in atmospheric depositions (Figure 22). It implied that some processes occurring in the sediment could discharge less volatile congeners (#180, #153 and #138). The high octanol-water partition coefficient (K_{ow}) of these chlorinated PCBs favored their accumulation in lipid-rich benthic organisms and could then contribute to their lower concentration in the sediment compared to the settling matter (Goutte et al., 2013; Kukkonen and Landrum, 1995; Neff, 1984). In contrast, the distribution of PCBs in the Plan Vianney sediment is strongly dominated by highly chlorinated congeners, as in the water column and settling matter (Figure 22). As discussed above, the nature of particles can affect the fate of each PCB, depending on their water solubility, and thus the congener distribution in the different lake compartments. Two Himalayan lakes submitted to the same atmospheric inputs also presented differences in congener repartition between key lacustrine compartments. However, Galassi et al. (1997) failed to explain the findings using only the physical-chemical properties of PCBs (Henry's law constant and K_{ow} values). The nature of lake suspended matter should be assessed to predict the transfer and distribution of hydrophobic contaminants into aquatic ecosystems.

Altogether, our results suggest that within and between lake differences in the concentration and distribution of PCB congeners likely depend on the biogeochemical processes. These internal processes control the fate of the different PCB congeners in the lake, according to their water solubility.

5. PCB mass budget

In both studied lakes, losses by volatilization or outflow are important pathways by which PCBs leave the water column (Figure 20). This result was similar to those reported in previous studies conducted on the Great Lakes (Jeremiason et al., 1994; Totten et al., 2001), a rural lake (Gevao et al., 2000) and subalpine lakes (Blais et al., 2001a). In Lake Muzelle, loss by sediment burial and volatilization were the main processes releasing PCBs from the water column (13 to 33 mg yr⁻¹) compared to outflow (0 to 5 mg yr⁻¹). Output by hydraulic transport was more important in Lake Plan Vianney (0 to 11.5 mg yr⁻¹), as the loss of PCBs by settling or diffusion to the sediment was of less importance (2.5 to 6.5 mg yr⁻¹). These differences between lakes are likely due to different internal processes in the water column. However, atmospheric depositions are equal or higher than the volatilization of PCBs; both studied lakes act as PCB sinks for their surrounding environment.

V. Conclusions

The present work examined the fate of atmospheric PCBs in two altitude lakes through a mass budget approach. Both studied lakes are subjected to the same PCB inputs (atmospheric depositions) and act as PCB sinks for their surrounding environment. However, the processes by which the water column discharges its PCB contents are different between lakes: volatilization and sediment burial for Lake Muzelle and outflow for Lake Plan Vianney. Although further research is needed, different internal lakes processes, such as biological processes, could explain these differences. In the context of climate change, the overall balance of PCBs is difficult to foresee. Comprehensive research efforts are urgently needed for modeling the effects of climate changes on the mass balance of high altitude lakes.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the staff from Parc National des Ecrins (Richard Bonet, Jérôme Forêt and Clotilde Sagot) and Jean-Christophe Hustache for their support during the field campaigns. Jean Guillard is acknowledged for his contribution to the hydro-acoustical measurements that allowed obtaining bathymetric characteristics of each lake. Gratitude is extended to Pierre Sabatier for dating of the sediment cores, Cécile Pignol for his help in the grain-size analysis and Joël Suptil for his technical support and his “small flying boat”. The authors would like to thank the anonymous reviewers for their valuable comments and for providing many helpful suggestions to improve the previous version of the manuscript. Y.-M. Nellier thanks the Region Rhône-Alpes for his PhD grant and the Fondation Eau, Neige & Glace for financial support.

Appendix A: Method detection limit and method quantitation limit values

MDLs and MQLs are given in $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$ of solvent extract injected in GC-MS. To obtain MDL and MQL for each matrix (*e.g.*, lake water, sediments) we converted these values using volume or mass of each sample (given in the section 2.2 “samplings”) and reported below:

- Lake water = 60 L for each depth
- Snow = 20 L
- Bulk atmospheric deposition = 100 L
- Settling matter = 9.5 gDW
- Sediments = 5.5 gDW
- Glacier stream water = a passive sampler equipped with a pre-cleaned PUF was placed in the main bed stream during 89 days. MDL and MQL (in $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$ of organic solvent) are calculated from a mass of PCB extracted from a non-exposed PUF.

Thus, MDL quantified as 6 times the standard deviation of field blanks were in the following range:

- 0.02-0.1 pg L^{-1} for lake water,
- 1-6 pg for PUF,
- 0.05-0.3 pg L^{-1} for melted snow,
- 0.01-0.06 pg L^{-1} for bulk (dry and wet) atmospheric deposition,
- 0.1-0.8 pg gDW^{-1} for settling matter,
- and 0.2-1.1 pg gDW^{-1} for sediment

MQL quantified as 10 times the standard deviation of field blanks were in the following range:

- 0.03-0.2 pg L^{-1} for lake water,
- 1.7-10 pg for PUF,
- 0.08-0.5 pg L^{-1} for snow,
- 0.02-0.1 pg L^{-1} for bulk atmospheric deposition
- 0.2-1.3 pg gDW^{-1} for settling matter
- and 0.3-1.8 pg gDW^{-1} for sediment.

Appendix B: Estimation of sediment-water diffusion

Tableau 9: values of log K_{OW} derived from literature (Mackay et al., 2006) and log K_{OM} calculated using its relationships with log K_{OW} (Chiou et al., 1983) for selected PCBs congeners.

PCB congeners	log K_{OW}	log K_{OM}
28	5.55	5.80
52	5.91	6.12
101	6.15	6.34
138	7.00	7.11
153	6.71	6.84
180	7.16	7.25

Appendix C: Estimation of air-water diffusive exchange of PCBs

The overall mass transfer coefficient (K_w) was estimated from Hornbuckle et al. (1994) and expressed as:

$$\frac{1}{K_w} = \frac{1}{k_a H'} + \frac{1}{k_w} \quad \text{Eq. (C.1)}$$

where k_a and K_w are the PCB mass transfer coefficients (m d^{-1}) respectively through a stagnant air and water films.

According to Hornbuckle et al., 1994, k_a and K_w were determined as follows:

$$k_a = [k_{a,H_2O} \left(\frac{D_{X_{\text{air}}}}{D_{H_2O_{\text{air}}}} \right)^{0.61}] \times 3600 \quad \text{Eq. (C.2)}$$

$$\text{with } k_{a,H_2O} = 0.2 U_{10} + 0.3 \quad \text{Eq. (C.3)}$$

$$D_{X_{\text{air}}} = 0.001 T^{1.75} \left(\frac{M_R^{0.5}}{\left[\left(PV_A^{\frac{1}{3}} \right) + V_X^{\frac{1}{3}} \right]^2} \right) \quad \text{Eq. (C.4)}$$

$$\text{and } M_R = \frac{(M_A + M_X)}{(M_A M_X)} \quad \text{Eq. (C.5)}$$

where 3600 is the coefficient to transfer k_a in (cm h^{-1}), k_{a,H_2O} is the mass transfer coefficient of water through the stagnant air layer (cm s^{-1}), U_{10} is the wind speed at 10 m height (m s^{-1}) measured on the closest meteorological station, $D_{X_{\text{air}}}$ and $D_{H_2O_{\text{air}}}$ are respectively the diffusivity of the compound X and the water in air corrected from temperature ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), T is the air temperature (K), V_A is the molar volume of air ($20.1 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$), V_X is the molar volume of compound X ($\text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}$), M_A and M_X are respectively the air and water molecular weight of air and compound X (g mol^{-1}).

$$K_w = k_{w,CO_2} \left(\frac{S_{X_{\text{eau}}}}{S_{CO_2, \text{eau}}} \right)^{-0.5} \quad \text{Eq. (C.6)}$$

$$\text{with } k_{w,CO_2} = 0.45 U_{10}^{1.64} \quad \text{Eq. (C.7)}$$

$$S_X = \frac{\nu_{\text{eau}}}{D_{X_{\text{eau}}}} \quad \text{Eq. (C.8)}$$

$$\text{and } D_{X_{\text{eau}}} = \frac{(7.4 \times 10^{-8} T \sqrt{\Phi M_w})}{(\mu_{\text{eau}} V_X^{0.6})} \quad \text{Eq. (C.9)}$$

where k_{w,CO_2} is the mass transfer coefficient of carbon dioxide through the stagnant water layer (cm h^{-1}), U_{10} is the wind speed at 10 m height (m s^{-1}) measured at the closest meteorological station, $S_{X_{\text{eau}}}$ and $S_{CO_2, \text{eau}}$ are respectively the Schmidt number of compound X and carbon dioxide in water (dimensionless), ν_{eau} is the cinematic viscosity of water corrected from temperature (Specialist Committee on Uncertainty Analysis, 2011) ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), $D_{X_{\text{eau}}}$ is the

Chapitre 3 : Les lacs d'altitude sont-ils des puits de PCB atmosphériques ?

diffusivity of compound in water corrected from temperature ($m^2 s^{-1}$), T is the water temperature (K), Φ is the association factor of the solvent (2.6 for water), M_w is the water molecular weight ($18.01 g mol^{-1}$), μ_{eau} is the dynamic viscosity of water corrected from temperature (Analysis, 2011) (cP) and V_x molar volume of compound X ($m^3 mol^{-1}$).

Tableau 10: values of Henry's law constant and enthalpy of phase change for selected PCBs congeners reported in the literature and used in this study.

PCB congeners	H_{min} ($Pa m^{-3} mol^{-1}$) [*]	H_{max} ($Pa m^{-3} mol^{-1}$) [¶]	ΔH ($kJ mol^{-1}$) [¶]
28	33.1	36.5	33
52	28.2	31.3	31
101	31.4	51.8	30
138	39.5	45.2	87
153	25.0	54.0	66
180	5.8	37.3	144

^{*} from Li and Wania (2003), [¶] from Bamford et al. (2002).

Appendix D: Determination of outflow

Equation derived from mass budget (see Tableau 6), allowed the estimation of the outflow for year 2012 as follows:

$$O_F = D_{s,max} + D_{a,max} + F_{g,max} + F_{d,max} + F_{r,max} - N_{g,min} - S_{f,min} \text{ Eq. (D.1)}$$

where O_F is the estimated outflow (dissolved + particulate) from the lake (mg), D_s is the total amount deposited by snow (mg), D_a is the total amount deposited by bulk deposition during ice-free cover period (mg), F_g is the annual inflow by glacial stream only for lake Muzelle (mg), F_d is the diffusion from sediment to water column (mg), F_r is the resuspension from sediment to water (mg), N_g is the exchange from water to air (mg), S_f is the settling amount of PCBs measured in sediment traps (mg). In the previous equation, min and max means respectively minimum and maximum values of the given parameter.

As the annual input of PCBs by glacier melting in Lake Muzelle was very low relative to other inputs, it was not considered in the outflow estimation. Resuspension is not used to estimate outflow in previous equations because this process led to null value in both lakes.

Results from mass budget for each PCB congeners are presented in the Tableau 11 and Tableau 12 below. For both lakes, outflow resulting from Eq. (D.1) gave realistic estimations of outflow for most PCB congeners except for #101 (- 2.8 mg) for Lake Muzelle. This outlier value resulted from error associated with other parameters determination.

Chapitre 3 : Les lacs d'altitude sont-ils des puits de PCB atmosphériques ?

Tableau 11: minimum and maximum values of calculated or estimated parameters of mass budget for Lake Muzelle.

Positive netgas and diffusion indicates net volatilization and net molecular diffusion from sediment to water, respectively. Σ PCB = sum of congeners #52, #101, #138, #153 and #180. ND = below detection limit.

	Loadings (mg) for year 2012					
	PCB52	PCB101	PCB138	PCB153	PCB180	Σ PCB
ice cover deposition	1.3/1.9	1.0/1.4	0.9/1.3	0.7/1.1	1.0/1.4	4.9/7.1
ice free cover deposition	4.1/6.2	0.9/1.3	0.9/1.4	1.5/2.2	ND	7.4/11.1
netgas	0.0/2.1	4.5/4.9	-0.7/8.2	-0.4/2.6	-0.2/0.0	3.2/17.8
settling	5.5/8.2	0.8/1.2	2.0/3.0	1.2/1.8	1.4/2.0	10.9/16.2
diffusion	0.4/1.1	-0.4/-0.2	-0.1/0.0	-0.2/-0.2	0.0/0.0	-0.3/0.7
outflow	3.7	-2.8	1.4	2.3	0.2	4.8

Tableau 12: minimum and maximum values of calculated or estimated parameters of mass budget for Lake Plan Vianney.

Positive netgas and diffusion indicates net volatilization and net molecular diffusion from sediment to water, respectively. Σ PCB = sum of congeners #52, #101, #138, #153 and #180. ND = below detection limit.

	Loadings (mg) for year 2012					
	PCB52	PCB101	PCB138	PCB153	PCB180	Σ PCB
ice cover deposition	0.6/1.0	0.5/0.7	0.4/0.6	0.4/0.5	0.5/0.7	2.4/3.5
ice free cover deposition	2.1/3.1	0.4/0.6	0.5/0.7	0.7/1.1	ND	3.7/5.5
netgas	-1.5/4.5	-0.2/0.0	-1.0/8.5	-1.7/1.2	-0.3/3.0	-4.7/17.2
settling	ND	0.5/0.8	ND	0.9/1.4	0.8/1.2	2.2/3.4
diffusion	-1.0/-0.2	-0.8/0.00	-0.6/-0.5	-0.3/0.0	-0.5/0.0	-3.2/-0.7
outflow	5.4	1.0	1.8	2.4	0.2	10.8

Appendix E: Determination of fugacity ratios

For each compound, fugacity in water was expressed as:

$$f_w = C_w H_T \text{ Eq. (E.1)}$$

where f_w (Pa), C_w is the concentration of PCB in dissolved phase near the water surface (mol m^{-3}), and H_T is the Henry's law constant corrected from water temperature ($\text{Pa m}^3 \text{mol}^{-1}$).

Fugacity in air was calculated as follows:

$$f_a = C_a R T \text{ Eq. (E.2.)}$$

where f_a (Pa), C_a is the concentration of PCB in air gas phase (mol m^{-3}), R is the gas constant ($\text{Pa m}^3 \text{mol}^{-1} \text{K}^{-1}$) and T is the water surface temperature (K).

According to Galban-Malagon et al. (2012), due to uncertainties of Henry's law constant, we used a factor 3 as the uncertainty of the fugacity ratios:

$\log (f_a / f_w) < \log (0.3)$ indicates net volatilization,

$\log (f_a / f_w) > \log (3)$ indicates net deposition,

$\log (0.3) < \log (f_a / f_w) < \log (3)$ indicates that air and water concentrations are close to equilibrium.

Tableau 13 presents fugacity ratios for each compound in June 2012, September 2012, year 2012 and July 2013 for both lakes.

Tableau 13: air-water fugacity ratios for selected PCB congeners.
 -: impossibility to calculate the value due to the lack of concentrations in one (or two) phase.

Sampling date	June 2012		September 2012		Year 2012		July 2013		
	Lake	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney
$\log (f_a/f_w)$									
28		-	-	-	-	-	-	-	-
52		-	-0.69	-0.4	0.09	-0.40	-0.30	-1.01	-0.81
101		-0.95	-	-0.94	0.19	-0.95	0.19	-	-1.44
138		-1.08	-1.36	0.19	0.52	-0.45	-0.42	-0.82	-0.44
153		-0.11	-0.47	-0.6	1.13	-0.36	0.33	-0.84	-
180		-0.03	-1.31	0.58	1.53	0.28	0.11	-0.39	0.39

Appendix F: PCB congeners concentration and distribution in snow for the year 2013

Tableau 14: PCB congeners concentration and distribution in snow for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (brackets: relative content of each congener, *i.e.*, percentage of the total).

Sampling campaigns	February 2013		April 2013	
Lake	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney
PCB congeners concentration (pg L ⁻¹)				
52	39 ± 4 (27)	36 ± 4 (26)	42 ± 4 (27)	41 ± 4 (26)
101	29 ± 3 (20)	31 ± 3 (22)	31 ± 3 (20)	33 ± 3 (20)
138	22 ± 2 (15)	24 ± 2 (17)	24 ± 2 (15)	25 ± 3 (16)
153	23 ± 3 (16)	21 ± 3 (15)	28 ± 3 (18)	28 ± 3 (17)
180	32 ± 3 (22)	28 ± 3 (20)	32 ± 3 (20)	33 ± 3 (21)

Chapitre 4 : Influence des processus internes au lac sur le devenir des PCB

Préambule

La variabilité intra- et inter-lacs de la distribution et de la concentration des PCB dans les sédiments de nos deux écosystèmes (lieu de stockage quasi-définitif des POP) pose question. Le profil des PCB dans les sédiments de surface (0 à 3cm) du lac de la Muzelle est directement lié à leur distribution dans les dépôts atmosphériques (dominance du PCB 52) contrairement au lac de Plan Vianney où les PCB les plus chlorés sont les plus abondants (PCB 153 et PCB 180). De plus, des concentrations plus importantes de PCB sont mesurées dans les sédiments du lac de la Muzelle. Les dépôts atmosphériques de PCB étant identiques pour les deux lacs, seuls des processus internes aux lacs peuvent expliquer ces variabilités de concentration et de distribution des PCB. Ces processus internes pourraient influencer la répartition des PCB entre les phases particulaires et dissoute, considérée comme l'un des paramètres clé déterminant le devenir des POP dans les milieux aquatiques (Hamelink et al., 1994). L'augmentation des concentrations en PCB dans la colonne d'eau lors de l'apport rapide des polluants atmosphériques stockés dans le manteau neigeux recouvrant l'étendue d'eau, couplée au démarrage de la production algale pourrait entraîner un transfert des PCB depuis la phase dissoute vers la phase particulaire. En effet, le phytoplancton est connu pour sa capacité à absorber ou adsorber rapidement et efficacement les molécules hydrophobes, telles que les PCB. La production algale étant à la base du réseau trophique, les PCB associés au phytoplancton seraient donc intégrés au réseau trophique lacustre et pourraient être transférés jusqu'à la faune piscicole. D'autre part, la sénescence de la biomasse phytoplanctonique non exploitée par les consommateurs primaires pourrait également conduire aux transferts des PCB depuis la colonne d'eau vers les sédiments.

Ce deuxième chapitre identifie les paramètres physico-chimiques et biologiques déterminant la répartition des PCB dans la colonne d'eau entre la phase particulaire et la phase dissoute, afin de mieux comprendre leur devenir dans l'écosystème lacustre. Les concentrations de PCB en fraction dissoute et associées aux particules en suspension ont été déterminées pour les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney au cours de suivis saisonniers en 2012 et 2013. La température de l'eau, la concentration de matière en suspension et la biomasse algale ont été mesurées. La composition spécifique du phytoplancton a aussi été déterminée.

La répartition des PCB a été identifiée entre les différents compartiments trophiques (microplancton, nanoplancton et picoplancton) définis selon un critère de taille (Sieburth et al., 1978). Ceci nous a permis d'évaluer l'importance respective de chaque classe planctonique comme stock de PCB, éventuellement transférable dans les réseaux trophiques. Le microplancton apparaît comme un réservoir important de PCB dans les réseaux trophiques des lacs d'altitude.

Les paramètres influençant la répartition des PCB entre ces phases particulaires et la phase dissoute ont été déterminés : en période d'englacement du lac, l'hydrophobie du composé est le seul facteur d'influence prépondérant. En revanche, aucun facteur d'influence n'a pu être identifié en période d'eaux libres. Ainsi, la répartition des PCB dans la colonne d'eau varie à la fois entre lacs et entre saisons, selon une succession d'équilibre et de non-équilibre thermodynamique. En effet, la couche de glace en hiver isole les lacs de l'atmosphère et donc des sources de polluants, permettant aux PCB d'atteindre l'équilibre thermodynamique de partition entre les phases particulaire et dissoute. A l'opposé, en périodes d'eaux libres, les paramètres influençant l'adsorption et/ou l'absorption des PCB sur la matière particulaire (température, concentration et nature des particules, concentration de PCB) répondent à la variabilité environnementale, empêchant l'atteinte de l'état d'équilibre. Selon la structure du réseau trophique, ces variations saisonnières et interannuelles de répartition des PCB dans la colonne d'eau pourraient modifier l'intensité des transferts par voie trophique des PCB à la faune piscicole. Le chapitre 5 permettra d'apprécier l'influence de la structure du réseau trophique sur les niveaux de contamination aux PCB des poissons.

Particle-dissolved phase partition of polychlorinated biphenyls in high altitude alpine lakes

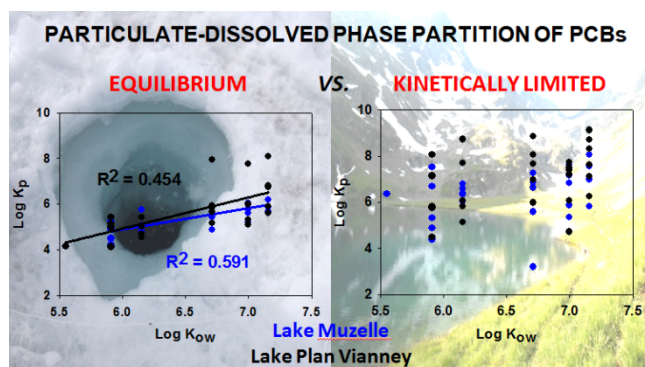
Yann-Michel Neller, Marie-Elodie Perga, Nathalie Cottin, Philippe Fanget, Emmanuel Naffrechoux

Publié dans Environmental Science and Technology 49 (16) : 9620-9628

ABSTRACT

We investigated whether polychlorinated biphenyls (PCBs) partitioning between the dissolved and particulate phases in two high altitude alpine lakes was determined by the quantity, size structure or composition of suspended particles. Within- and between-lakes differences in water-particulate phase partition coefficient (K_p) were not related to total suspended matter, phytoplankton biomass or taxonomic composition. Yet, a seasonal relationship between K_p and K_{ow} was detected for both lakes, revealing equilibrium of PCBs partition when lakes were ice-covered. On the contrary, PCBs partitioning between particles and water appeared kinetically limited during the open-water season. Partition is therefore mainly governed by thermodynamic laws during the ice-covered period, while none of the tested physical or biological parameters seemed to explain the distribution of these particle-reactive contaminants in the open water period. PCBs were always mainly associated with particulate matter but partitioning within different particulate size-fractions varied between seasons and between years during open water periods. When ice cover is absent, PCBs were mainly adsorbed on microplankton, the largest phytoplanktonic size fraction, which is the least likely to get grazed by pelagic micro-consumers.

GRAPHICAL ABSTRACT



I. Introduction

Resistance to breakdown and semi-volatility of polychlorinated biphenyls (PCBs) lead to contamination of numerous ecosystems even far from human activities such as alpine lakes (Grimalt et al., 2001; Naffrechoux et al., 2015b; Schmid et al., 2007; Vilanova et al., 2001a). Recent studies have focused on PCBs export to high altitude lakes and highlighted that snowpack was the primary source of annual inputs (Grimalt et al., 2009; Nellier et al., 2015a). If most attention has been given so far to the dominant pathways by which PCBs are deposited in these remote ecosystems, the processes governing their fate (storage, export or integration within the food webs) remain to be scaled.

The fate of organic chemicals in aquatic systems is controlled by their partition between particulate matter and water (Hamelink et al., 1994). In rivers, several physical-chemical factors such as concentrations of total suspended matter, colloids or particulate organic carbon affect particulate-dissolved phase partition of PCBs (Butcher et al., 1998; Chen et al., 2011; Chevreuil et al., 1987; Chevreuil et al., 1988; Fox et al., 1983; Yan et al., 2008). PCBs partition has further consequences on their exchange at the air-water interface that was considered as an important loss process of such chemicals in aquatic ecosystems (Rowe et al., 2007b; Totten et al., 2001). Besides, previous studies have shown that phytoplankton biomass plays an important role in the fate of organic contaminants in lakes, both enhancing their exchanges across air-water interface (Dachs et al., 1999; Dachs et al., 2000) and their export to deep waters or sediments (Jurado and Dachs, 2008; Lohmann et al., 2007). Furthermore, the size fraction on which PCBs are preferentially adsorbed shall determine their uptake by organisms, further transfer into food webs and final contamination of fish resources (Asher et al., 2007; Farrington, 1991; Hudson et al., 2005; Wallberg et al., 1997; Wallberg et al., 2001). If such processes are important in aquatic systems contaminated by local sources, it is unknown whether they contribute at the same scales on the fate of PCBs in high altitude lakes where inputs are lower. It is however crucial to better understand processes governing PCBs accumulation, volatilization and sedimentation in these remote ecosystems since they are doomed to get even more contaminated in a near future because of re-volatilization of previously deposited pollutants from contaminated surface reservoirs (soil, snow, ice surfaces, etc) (Bogdal et al., 2009; Ma et al., 2011; Nizzetto et al., 2010).

In high altitude lakes, PCBs partitioning in water appeared to be influenced in part by physical-chemical parameters such as water temperature and octanol-water coefficient (K_{ow})

(Galassi et al., 1997; Vilanova et al., 2001a; Vilanova et al., 2001b). However, field evidence for the influence of biological parameters such as phytoplankton biomass on the partition of PCBs in these lakes has not been previously investigated.

The main objectives of this work were: (i) to depict PCBs partition between particulate and dissolved phase in high altitude lakes, (ii) to test which physical-chemical or biological processes regulate this phase partition. For this purpose, PCB concentrations in particulate and dissolved phases were measured in two high altitude lakes (Alps, France) in 2012 and 2013.

II. **Material and methods**

1. Site description

The study was carried out in two lakes located in the French North Alps (Isère) and situated 4.3 km apart. Lake Muzelle is located at 2115 m above sea level (asl), has a maximum depth of 18.2 m and a surface area of 10 ha. The catchment area of Lake Muzelle is 466 ha. Corresponding values for Lake Plan Vianney are 2250 m asl, 12.2 m and 5 ha. Lake Plan Vianney has a catchment area of 86 ha. Both lakes are oligotrophic ($< 5 \mu\text{gP L}^{-1}$). Water temperature, concentrations of total suspended matter (TSM), total organic carbon (TOC) and particulate organic carbon (POC) were measured for each sampling campaign (Table 1). Our previous study (Nellier et al., 2015a) has shown that both lakes are subjected to similar PCB atmospheric inputs ($115 \pm 24 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ in 2012) and the catchment area does not act as a source of PCBs.

Tableau 15: seasonal variations of water temperature, and of concentrations in total suspended matter (TSM), total organic carbon (TOC) and particulate organic carbon (POC) in 2012 and 2013 for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney.

NQ: not quantifiable. ND: no data. DW: dry weight.

Sampling campaign	April 2012		June 2012		September 2012		February 2013		April 2013		July 2013	
Lake	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney
Surface (4m depth)												
Water temperature (°C)	4.0	4.1	6.2	5.7	7.9	7.7	3.7	4.2	3.7	3.3	6.4	8.5
TSM (mgDW L ⁻¹)	9.3	5.0	2.9	1.5	2.1	1.4	1.7	2.8	2.7	0.6	2.8	0.4
TOC (mgC L ⁻¹)	0.6	0.3	ND	4.9	1.0	1.3	2.6	0.9	2.6	1.0	0.7	0.9
POC (mgC L ⁻¹)	0.3	NQ	ND	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Bottom (3m above max depth)												
Water temperature (°C)	ND	ND	4.5	5.9	5.4	3.7	4.0	4.5	3.9	4.3	5.2	6.8
TSM (mgDW L ⁻¹)	ND	ND	2.1	1.6	4.0	0.9	1.2	1.1	2.5	0.4	1.7	0.4
TOC (mgC L ⁻¹)	ND	ND	ND	5.6	1.6	2.5	0.7	1.0	0.7	1.0	0.7	0.7
POC (mgC L ⁻¹)	ND	ND	ND	1.1	0.7	0.1	0.1	0.4	0.1	0.3	NQ	NQ

2. Sampling method

Six sampling campaigns were carried out in 2012 and 2013 (April, June and September 2012, February, April and July 2013). Thereafter, ice-cover period referred as to April 2012, February 2013 and April 2013 (spring thaw occurs in June) and ice-free period referred as to June 2012, September 2012 and July 2013. At a single location (corresponding to maximum depth of the lake), surface (4 m below surface) and bottom (3 m above maximum depth) water was pumped into stainless steel barrels (approximately 60 L for each depth). Water samples were filtered *in situ*, through two nylon filter cups connected in series (200 μm and 20 μm). The $> 200\mu\text{m}$ size fraction was excluded from this study because PCBs analysis revealed concentrations below quantitation limit for all congeners. According to Sieburth et al. (1978), the 20-200 μm size fraction contains the microplankton and is then further referenced "microplankton fraction". In the laboratory, the 2.7-20 μm and 0.7-2.7 μm size fractions (respectively referenced nanoplankton and picoplankton fractions (Sieburth et al., 1978) were collected using filtration on glass fiber filters of the corresponding nominal cut-off (GF/D and GF/F Whatman). TSM was quantified (mgDW/L) according to the standard method for the examination of natural waters as the mass retained after filtration of 1L of bulk water. Total suspended matter (TSM) was made of particulate organic matter (quantified as POC) and of mineral particles. Indeed, as for most alpine lakes, the total suspended solids in the water column are made of living and senescent biomass, detrital particles from soil erosion of the catchment area and snowpack during thaw. Then, each size fraction (referenced pico, nano or micro-plankton fraction) contained mineral particles, planktonic biomass, and other organic suspended matter. Sub-samples of bulk water were carried out to determine TOC by using a Shimadzu TOC-5000 analyzer. Dissolved organic carbon (DOC) was analyzed from water samples filtered through AP40 glass fiber filters (Millipore®). POC value is the difference between TOC and DOC. PCBs were quantified in each particulate phases. PCBs from the dissolved and colloidal fractions were obtained by adding methanol to the final filtrate (0.5% final concentration) and pumping at a flow-rate of 100 mL min⁻¹ through Resprep®-C18 Solid Phase Extraction disks (70 Å silica pore size, 47 mm diameter, Restek Corporation) previously cleaned using n-heptane and conditioned with methanol.

3. Phytoplankton biomass and composition

Sub-samples were processed for identification and quantification of phytoplanktonic organisms. Nano- (2.7-20 μm size class) and micro-phytoplankton (20-200 μm size class) were fixed with an alkaline solution of Lugol (1% v/v). Cells were counted and identified according to the Utermöhl method (Utermöhl, 1931) using an inverted microscope. Bio-volumes were estimated for each sample by measuring the linear dimension of cells and equating shapes to standard geometric forms. Carbon biomass was calculated using a conversion factor of 0.11 $\text{pgC } \mu\text{m}^{-3}$ to 0.22 $\text{pgC } \mu\text{m}^{-3}$ depending on phytoplankton classes (Wetzel and Likens, 2000). Such methods are not adequate to address picoplankton taxonomic structure, explaining the absence of similar data for that size fraction.

Phytoplankton dry weight was determined from cell bio-volumes using the equation (Reynolds et al., 2006):

$$W_c = 0.47 \times v^{0.99} \quad (1)$$

where W_c is the cell dry weight (pg) and v the cell bio-volume (μm^3).

4. PCBs extraction and quantification

Sample treatment and analytical methods have been described elsewhere (Nellier et al., 2015a) in details and as such, only summaries are provided herein. Prior to extraction, samples were spiked with a known amount of isotope-labeled standard (PCB116-d5) to correct for extraction efficiency and instrumental variability. SPE disks were eluted with 15 mL of n-heptane pumped at 2 mL min^{-1} . PCBs in particulate phases were extracted by Accelerated Solvent Extraction (ASE 200, Dionex[®]) with a mixture of dichloromethane and acetone (1/1, v/v). After purification on activated silica column, each extract was concentrated and resuspended in 100 μL of n-heptane for analysis. The PCBs were analyzed with a Clarus500 Gas Chromatograph coupled with a MS 560 Mass Selective detector (Perkin Elmer[®]) using splitless injection on a Optima 5 Accent column (Macherey-Nagel[®]). Selected-ion monitoring (SIM) was used for the quantification of 6 non-dioxin-like PCBs (congeners 28, 52, 101, 138, 153 and 180), and the calibration curves were established with pure standards and the PCB116-d5 internal standard (checked every fifth sample at 6 levels of concentration between 2.5 and 100 $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$). Quality assurance efforts were performed by field and laboratory blanks (blank values are reported in the Supporting Information Tableau 17). The analytes present in the appropriate blanks were subtracted from those in the sample extracts. Analytical recoveries were evaluated using the PCB 116-d5 standard. The average

recoveries (mean \pm standard deviation) were $56 \pm 8\%$, $51 \pm 6\%$ for dissolved phase and particulate phase, respectively. The reported values were corrected for blanks and recoveries. The method detection limit (MDL) and method quantitation limit (MQL) were derived from the field blanks and quantified as 6 and 10 times their standard deviation, respectively. MDLs ranged from 0.02-0.1 pg L^{-1} of lake water, MQL were 0.03-0.2 pg L^{-1} of lake water. In accordance with previous papers (Kateman and Buydens, 1993; Neuilly and CETAMA, 1998), the reproducibility of the method was assessed as a \pm standard deviation of PCB 116-d5 concentrations obtained from all analyzed samples, thus leading to a precision of $\pm 21\%$ for dissolved fractions (22 samples) and $\pm 18\%$ for particulate matter (66 samples).

5. Partitioning

Partitioning of PCBs between the dissolved ($< 0.7 \mu\text{m}$) and particulate phase (from $0.7 \mu\text{m}$ to $200 \mu\text{m}$, *i.e.*, from picoplankton to microplankton) was determined by calculating the water-particle phase partition coefficient (K_p) as:

$$K_p = \frac{C_p/\text{TSM}}{C_d} \quad (2)$$

where C_p is the particulate PCBs concentration (*i.e.* sum of PCBs concentration associated with the particles of the different size fractions; pg L^{-1}), TSM is the total suspended matter concentration (*i.e.* sum of particles of size $> 200 \mu\text{m}$, $20\text{-}200 \mu\text{m}$, $2.7\text{-}20 \mu\text{m}$, and $0.7\text{-}2.7 \mu\text{m}$; kgDW L^{-1}) and C_d is the dissolved PCBs concentration (pg L^{-1}).

The water-particle phase partition coefficient K_p was also calculated by using the total phytoplankton biomass instead of TSM. The statistical analysis of the relation between the K_p values and the other parameters led to the same conclusions (data not shown).

6. Statistical analyses

Pearson's product moment correlation coefficient (R^2), simple linear regression, analysis of covariance (ANCOVA), Student's test (t-test) and Fisher's exact test were carried out using R2.15.2 statistical software (R Development Core Team, 2012). Variables that were not normally distributed as detected by Fisher's test were log10-transformed.

III. Results and discussion

1. PCBs concentration

The concentration of PCBs in particulate and dissolved phases measured at each depth (surface and bottom) for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney are listed in the Supporting Information (Tableau 18 and Tableau 19). Total PCBs concentration in water, *i.e.* sum of concentrations associated with particulate and dissolved phases, did not significantly vary between both depths for each sampling campaign (t-test, Supporting Information Tableau 20) except in September 2012, when higher PCB concentrations were recorded in surface samples (*e.g.*, $207 \pm 37 \text{ pg L}^{-1}$ in bulk (particulate + dissolved) surface water vs. $127 \pm 23 \text{ pg L}^{-1}$ in bulk water collected near the bottom for Lake Plan Vianney). At this period, the air-water exchange flux ($2.5 \pm 2 \text{ mg yr}^{-1}$) occurred through deposition⁶ and enhanced PCBs content in the surface water. According to Dueri et al. (2009), PCBs were not transferred to deep water because of the thermal stratification of the water column (*data not shown*). Thus, PCBs concentration in surface water increased. The mean annual PCBs bulk concentration (particulate + dissolved) was not significantly different between Lake Muzelle and Lake Plan Vianney for a same year (Figure 23; in 2012: $159 \pm 29 \text{ pg L}^{-1}$ and $134 \pm 24 \text{ pg L}^{-1}$; t-test $T = 1.25$, p-value = 0.22; in 2013: $28 \pm 14 \text{ pg L}^{-1}$ and $42 \pm 21 \text{ pg L}^{-1}$; $T = -1.48$, p-value = 0.15) and was consistent with recently reported values in remote lakes (Vilanova et al., 2001a). PCB concentrations differed between years, mainly because of different PCBs input through snowmelt, *i.e.* $71 \pm 8 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ in 2012 vs. $42 \pm 5 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ in 2013 (Nellier et al., 2015). Though PCB concentrations were higher in 2012 than in 2013 for both lakes, their seasonal variation was reproducible over years. PCBs concentrations were lower when lakes were ice-covered (April 2012, February and April 2013) than in ice-free cover periods (June and September 2012, July 2013). PCBs concentration probably increased during the spring as a consequence of PCBs input by snowmelt (40% of annual input to the lake (Nellier et al., 2015a)). As described in detail in our previous paper (Nellier et al., 2015a), the phytoplankton biological pump could be responsible for these seasonal patterns. In ice-covered periods, the frozen surface of the lake and the snowpack on top of the ice limited light admission and prevented any phytoplankton production. A high settlement of senescent planktonic biomass therefore induced a higher PCBs flux to the sediments.

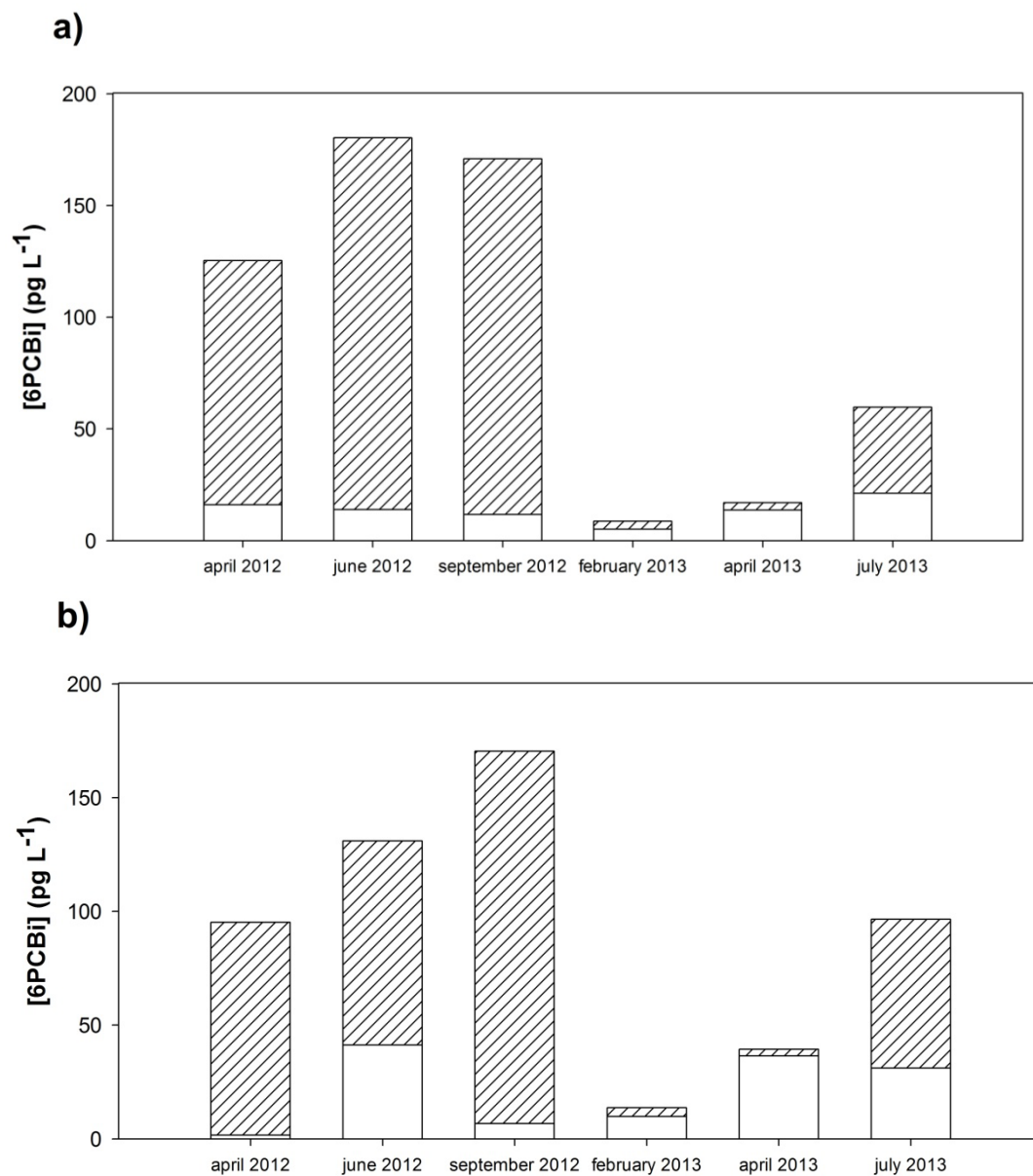


Figure 23: mean PCBs concentration associated with particulate matter (hatched bar) and in dissolved phase (white bar) to a) Lake Muzelle and b) Lake Plan Vianney.

2. Particulate-dissolved phase partition of PCBs

PCBs were mainly associated with particulate matter for all seasons in 2012 (Figure 23; $90 \pm 2\%$ and $88 \pm 8\%$ of the bulk PCBs concentration (*i.e.*, particulate + dissolved), respectively for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney) and during open waters in 2013 ($65 \pm 7\%$ in Lake Muzelle and $68 \pm 7\%$ in Lake Plan Vianney). During the 2013 ice-covered period (February and April) on the contrary, dissolved PCBs concentration was higher than the concentration of particles bound PCBs ($31 \pm 11\%$ and $19 \pm 11\%$ of the bulk concentration, respectively for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney). The global partitioning of PCBs could change between years because of a modified congeners distribution, according to the respective hydrophobicity of each molecule. However, the PCB distribution (% of the total PCBs concentration for each congener) were similar between April 2012 and April 2013 for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney, both in the particulate and dissolved phases (see supporting information Tableau 18 and Tableau 19 for details). Therefore, differences in PCBs partitioning between years could be only a consequence of the lower content of total suspended matter in 2013 (*e.g.*, 9.3 mgDW L^{-1} in April 2012 vs. 2.6 mgDW L^{-1} in April 2013 for Lake Muzelle) and the lower PCBs concentration in bulk water in 2013 (*e.g.*, $125 \pm 23 \text{ pg L}^{-1}$ in April 2012 vs. $17 \pm 3 \text{ pg L}^{-1}$ in April 2013 for Lake Muzelle), responsible for changes in the interaction between PCB congeners and suspended solids. Moreover, higher PCBs content in the dissolved phase in 2013 promoted PCBs volatilization as compared to 2012, especially in Lake Muzelle (Nellier et al., 2015a) where larger changes of PCBs partition between particulate and dissolved phase were recorded. Particulate matter accounted for $84 \pm 7\%$ of bulk PCBs concentration during open lake water (*i.e.*, June and September 2012, July 2013) that was consistent with previous study conducted at comparable depths (6.5 m and 14 m depth) and sampling period (September) in the European altitude lake Ladove Pleso (Fernandez et al., 2005). Thus, particulate matter appears as an important reservoir of PCBs that could determine their fate in lakes. For instance, at higher concentrations of particles, especially when made up of phytoplankton biomass, PCBs settling flux could be enhanced (Jeremiason et al., 1999), therefore limiting the exposure of the pelagic food web to PCBs as observed in Lake Maggiore (Nizzetto et al., 2012).

PCBs partition between the different particulate phases (*i.e.*, of the pico-, nano- and microplankton fraction) and the dissolved phase (Supporting Information Tableau 18 and Tableau 19) did not differ between sampling depths for a same campaign (Fisher's exact test, Supporting Information Tableau 20). Therefore, results were pooled. Even when PCBs were

mainly bound to particles (for the whole year 2012 and for 2013 open water period), the size-fraction to which they were associated differed. In 2012, microplankton fraction contained $72 \pm 4\%$ of the bulk water PCBs in Lake Muzelle and $84 \pm 4\%$ in Lake Plan Vianney. In contrast, right after the 2013 thaw, PCBs were rather uniformly distributed amongst fractions as shown in Figure 24. Observed differences of PCBs partition between 2012 and 2013 for both lakes could arise from differences in organic matter quantity (*i.e.*, concentrations of organic particles or dissolved organic carbon) or quality (*i.e.*, relative proportion of phytoplankton), which values are presented in the Supporting Information (Tableau 22). In Lake Plan Vianney, PCBs partition amongst size fractions was not affected by the above-mentioned parameters (*e.g.*, relative proportion of PCBs associated to the particles of the micro-plankton fraction (20-200 μm), Supporting Information Tableau 23). Laboratory experiments or field surveys (Baker et al., 1986; Eadie et al., 1990; Gschwend and Wu, 1985; Kukkonen and Oikari, 1991) reported that dissolved organic matter (DOM) or colloids content of the $< 0.7 \mu\text{m}$ fraction might account for these differences. In contrast, the concentration of particles of the microplankton fraction in Lake Muzelle was higher in 2012 than 2013 ($1.49 \pm 0.54 \text{ mgDW L}^{-1}$ and $0.24 \pm 0.07 \text{ mgDW L}^{-1}$, respectively) and could explained such partition differences between years. Altogether, observed within-lake differences in the PCBs partition highlighted the role of organic matter quantity as a driving factor for the fate of PCBs in high altitude lakes.

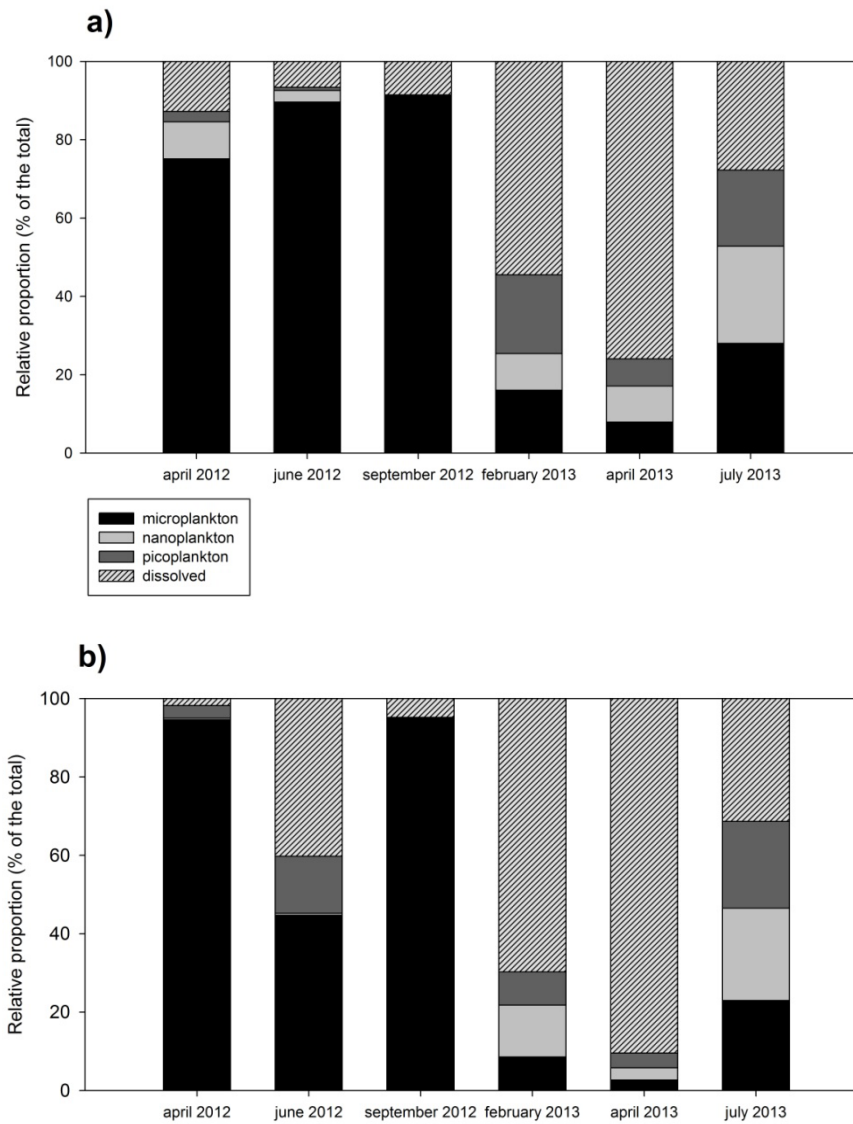


Figure 24: mean PCBs partitioning (average of samples collected at 4 m depth and 3 m above max depth) between dissolved phase, micro-, nano- and picoplankton for a) Lake Muzelle and b) Lake Plan Vianney.

3. Factors affecting PCBs partitioning

Several parameters including water temperature, K_{ow} , TSM and POC can affect phase partitioning of PCBs and consequently their fate in aquatic ecosystems (Bergen et al., 1993; Pearson et al., 1996; Rowe et al., 2007b; Totten et al., 2001; Vilanova et al., 2001a). We evaluated the respective influence of phytoplankton biomass and taxonomic composition, in addition to previous parameters, on particulate-dissolved phase partition of PCBs. The observed water-particle phase partition coefficient ($\log K_p$) were comparable to previous values reported for lake or sea waters (Bergen et al., 1993; Vilanova et al., 2001b) (3.2 to 9.1 vs. 4.6 to 7.9).

a) Particulate matter

TSM and POC values are given in Tableau 15. POC is the quantitation of phytoplankton, detrital organic particles and heterotrophic organisms. As phytoplankton biomass is low in these rather unproductive lakes, POC value is mainly explained by the water content of detrital organic particles, especially right after thaw probably because of the accumulation of particles in the snowpack. For both studied lakes, K_p was not correlated with TSM and POC. Thus, PCBs partitioning in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney is not governed by the “particle concentration effect” (PCE) (*i.e.*, higher particles concentration involving lower PCBs concentration in the particulate phase) in contrast to what had been observed in other studies (Bergen et al., 1993; Turner et al., 1999; Van Hoof and Andren, 1991; Vilanova et al., 2001a). Precise cause of PCE classically admitted in literature referred mainly to the existence of a third colloidal phase which acts as an additional sorbent (Baker et al., 1986; Eadie et al., 1990; Gschwend and Wu, 1985; Kukkonen and Oikari, 1991). According to the model proposed by Baker et al. (1986), amounts of DOC in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney ($1.1 \pm 0.8 \text{ mgC L}^{-1}$ and $0.9 \pm 0.6 \text{ mgC L}^{-1}$, respectively) and TSM ($4.9 \pm 3.8 \text{ mg L}^{-1}$ and $2.5 \pm 2.2 \text{ mg L}^{-1}$, respectively) suggest that PCBs binding to colloids only account for about 15% of bulk (particulate + dissolved) PCBs concentration. Besides, PCB concentrations were close to MQL values that might cause the lack of relationship between K_p and TSM or POC. Yet, a study conducted on European high altitude Lake Redo (Vilanova et al., 2001b) end up to similar conclusions regarding the K_p - TSM relationship ($R^2 = 0.02$) although PCB concentrations were above MQL values. As the statistical analysis led to the same conclusions when using a K_p value calculated with the phytoplankton biomass

concentration instead of TSM, we hypothesized that the relation between K_p and POC was mainly influenced by the quality of organic matter (detrital versus algal) rather than by the quantity of particles.

b) Phytoplankton

Phytoplankton biomass (Supporting Information Tableau 24) measured in Lake Muzelle ($0.15 - 157 \mu\text{gC L}^{-1}$) and Lake Plan Vianney ($0.05 - 6 \mu\text{gC L}^{-1}$) were comparable to those obtained in other high altitude lakes (Felip et al., 1999; Fott et al., 1999). The abundances were typical for low productivity lakes (Lampert et al., 1997). Phytoplankton biomass and species showed large seasonal variations (Figure 25) with maximum biomasses ($157 \mu\text{gC L}^{-1}$ and $6 \mu\text{gC L}^{-1}$, respectively for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney) occurring in late summer/early autumn (*i.e.*, September 2012), consistent to other European altitude lakes (Catalan et al., 2002; Fott et al., 1999). In Lake Muzelle, algal communities were dominated by diatoms (51% of the total biomass) while *Conjugatophyceae* were the most abundant (61 % of the total biomass) in Lake Plan Vianney. These differences in algal species could affect the transfer of PCBs from primary producers to consumers (*i.e.*, zooplankton) and therefore, their accumulation into the fish compartment within food web. As mentioned above, when lakes were ice-covered, the development of primary producers was limited. Accordingly, phytoplankton biomasses were low ($0.15 - 5.7 \mu\text{gC L}^{-1}$ and $0.05 - 0.15 \mu\text{gC L}^{-1}$, respectively for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney) with no specific dominance.

No relationship was found between $\log K_p$ and phytoplankton biomass (expressed in $\mu\text{gC L}^{-1}$ or $\mu\text{gDW L}^{-1}$) for none of the lakes (Supporting Information Tableau 25). Species-specific differences in accumulation of PCBs by phytoplankton have been reported in literature (Swackhamer and Skoglund, 1991). Numerous contributing parameters have been suggested such as cell size (Hiraizumi et al., 1979) (*i.e.*, surface area), surface type (Lederman and Rhee, 1982) (*e.g.*, gelatinous) or algal growth (Skoglund et al., 1996; Stange and Swackhamer, 1994; Swackhamer and Skoglund, 1993). However, no correlation were found between the taxonomic composition of phytoplankton and K_p (Supporting Information Tableau 26) in accordance with a recent study conducted on the open Baltic Sea (Sobek et al., 2004). Thus, phytoplankton biomass and composition cannot explain the phase partition of PCBs in the two lakes we studied.

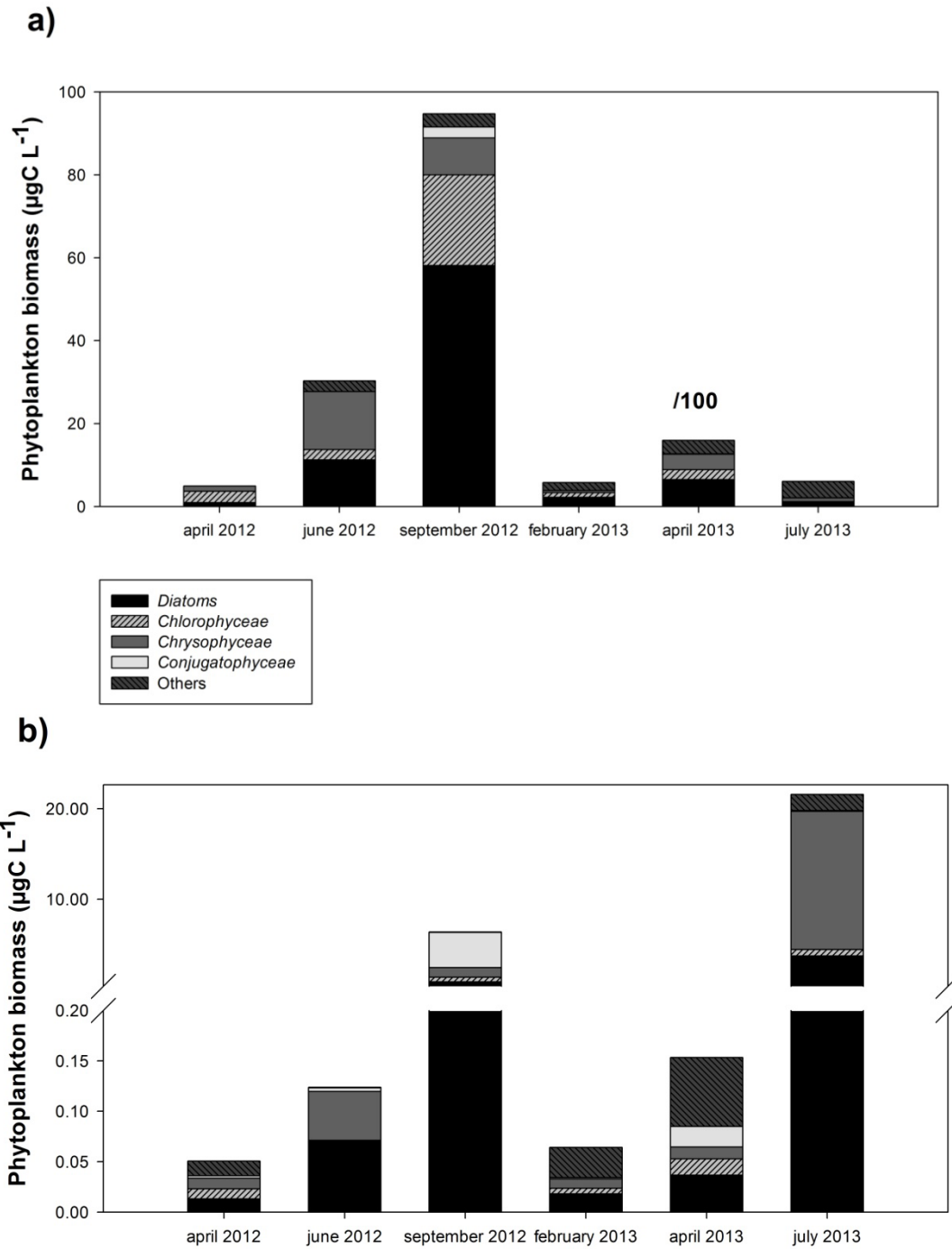


Figure 25: biomass of different phytoplankton groups ($\mu\text{gC L}^{-1}$, average surface and bottom) at a) Lake Muzelle and b) Lake Plan Vianney for each sampling campaign.

c) Temperature

Previous studies conducted on altitude lakes or seawater (Bergen et al., 1993; Vilanova et al., 2001b) highlighted a consistent negative relationship for different PCB congeners. No relationship between K_p and water temperature could be detected in this study, except for the most chlorinated PCB (#180). Analysis of correlation between particulate phase concentration and water temperature (Supporting Information Tableau 27) revealed a significant inverse relationship for this congener (p-value = 0.045 for Lake Muzelle and p-value = 0.006 for Lake Plan Vianney). Higher water temperature involved lower concentration of particles bound #180 maybe related to an exothermic particles' sorption. Regression coefficients indicated that water temperature could explain 37% and 42% of the variability of K_p , respectively for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney, suggesting a seasonal dependence of K_p for PCB 180.

d) Octanol-water coefficient

The log K_p and log K_{ow} relationships in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney are presented in Tableau 16. Combination of all sampling campaigns data highlighted a positive dependence of these two parameters for both lakes, consistent with previous observations (Achman et al., 1993; Baker et al., 1986; Bergen et al., 1993; Lara and Ernst, 1989). The linear regression slopes were statistically analogous (ANCOVA, p-value = $1.5 \cdot 10^{-5}$) for the two studied lakes. The correlation between K_p and K_{ow} was also examined for each sampling campaign and presented in the Supporting Information Tableau 28. A significant correlation was observed for April 2012, February 2013 and April 2013. Data were then sorted into two categories (ice-covered period for April 2012, February 2013 and April 2013 data, and open water period for June 2012, September 2012 and July 2013 data; Figure 26) to test for a seasonal trend in the log K_p - log K_{ow} dependence. The positive relationship between K_p and K_{ow} was only significant when the lakes were ice-covered (Table 2). In this case, the dependence was similar between both lakes (ANCOVA, p-value = $2.5 \cdot 10^{-7}$), highlighting that PCBs partition between particulate and dissolved phases was partially controlled by the hydrophobicity, as observed in adsorption studies (Chiou et al., 1983; Karickhoff et al., 1979; Lara and Ernst, 1990; Paya-Perez et al., 1991). During open water period, PCBs partition was in a thermodynamic non-equilibrium state. Particle associated PCBs are supposed to be non-negligible in snowpack. During the thaw, the high input of these particulate PCBs to the lake water could then deviate the partitioning from equilibrium. However, we have not determined whether PCBs were dissolved or associated with particles in snow-melt water right after thaw

(in June 2012 or in July 2013). Thus the way by which PCBs were transferred into the water column remained undisclosed. However, when the snow and ice cover was fully melted, a peak of phytoplankton biomass, resulting from higher light exposition that promoted phytoplankton growth, was observed in both lakes (Figure 25). The weak relationship between K_p and K_{ow} could then be due to this substantial temporal variability in particulate organic matter content. Historically, PCBs uptake by phytoplankton was considered as a fast equilibrium process (from few minutes or hours) (Geyer et al., 1984; Harding Jr and Phillips Jr, 1978; Wang et al., 1982) but this got challenged by more recent results (Koelmans et al., 1999; Skoglund et al., 1996; Stange and Swackhamer, 1994; Swackhamer and Skoglund, 1993) highlighting that the time required to approach equilibrium is much longer (several days or weeks) and that equilibrium was, most of the time, not even reached. Authors suggested that under intense phytoplankton growth, partitioning of PCBs between the algae and the dissolved phase occurred at much longer time scales than algal growth, and that therefore non-equilibrium was observed. Further reasons for disequilibrium were a co-excretion of PCBs with algal exudates or PCBs binding to these exudates during algae blooms (Koelmans and Heugens, 1998; Sijm et al., 1998; Sijm et al., 1995). The relative proportion of exudates in DOC was not determined. However, no significant difference of DOC concentration was observed between ice-covered and open water periods in Lake Muzelle (t-test, $T = 1.55$, p-value = 0.220) and Lake Plan Vianney (t-test, $T = -1.31$, p-value = 0.261) for year 2013, suggesting no increase of exudation during intense algal growth. Other possible explanation include insufficient phytoplankton biomass and DOC values in high altitude lakes (ranging from $8.8 \cdot 10^2$ cells L^{-1} to $6.43 \cdot 10^5$ cells L^{-1} and from 0.5 mgC L^{-1} to 2.5 mgC L^{-1} , respectively) compared to batch cultures (Koelmans and Heugens, 1998; Sijm et al., 1998; Sijm et al., 1995) (ranging from $2.8 \cdot 10^8$ cells L^{-1} to $2.14 \cdot 10^{10}$ cells L^{-1} and from 6 mgC L^{-1} to 14 mgC L^{-1} , respectively) in which the algal exudates effect could be quantified. Then, the lack of relationship between K_p and K_{ow} might result from a slower rate of PCBs uptake by phytoplankton than algal growth rates. These data challenge the results of a recent study (Sobek et al., 2004) that suggested situation of equilibrium of PCBs partitioning to phytoplankton. Thus, kinetics model describing particulate-dissolved phase partition of PCBs should include phytoplankton growth to accurately predict the repartition – and therefore aquatic behavior - of these persistent particle-reactive contaminants (*i.e.*, export to sediments, volatilization to the air or transfer into food web). Moreover, the food web structure of the aquatic ecosystem should also be evaluated because the fate of phytoplankton might also greatly affect the fate of PCBs in freshwaters.

Tableau 16: linear regression of $\log K_p$ vs $\log K_{ow}$ for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (surface and bottom water were considered).

* significant correlation (p-value < 0.05), N = number of PCBs concentration used.

Sampling campaigns	Lake	N	R ²	p-value	Slope	Intercept
All sampling campaigns	Muzelle	52	0.136	0.007*	0.732	1.149
	Plan Vianney	52	0.206	7.0 10 ⁻⁴ *	1.219	-1.663
Ice-cover periods	Muzelle	23	0.591	1.8 10 ⁻⁵ *	0.935	- 0.725
	Plan Vianney	25	0.454	2.2 10 ⁻⁴ *	1.368	- 3.281
Open water periods	Muzelle	29	0.097	0.099	0.641	2.164
	Plan Vianney	27	0.129	0.065	0.938	0.817

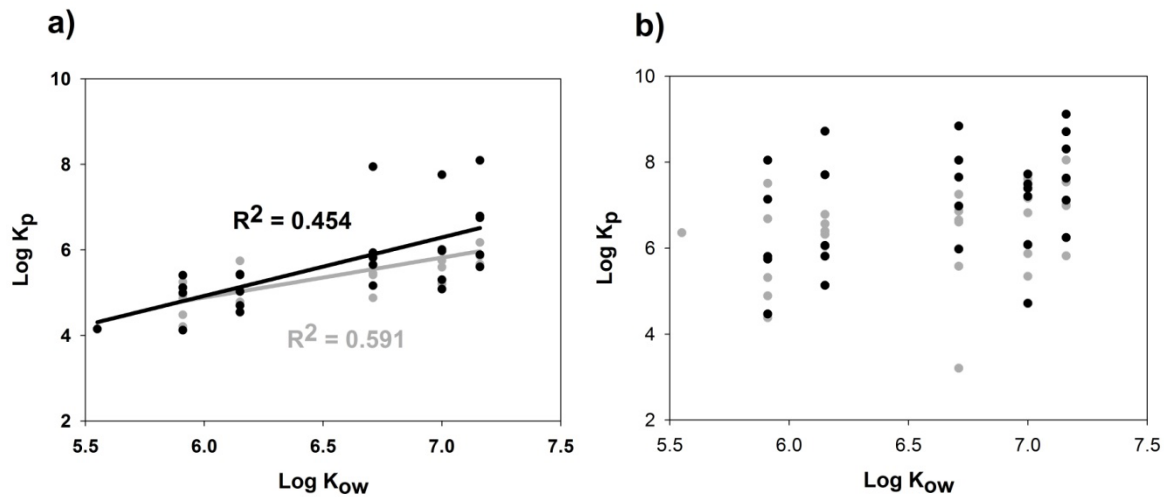


Figure 26: $\log K_p$ vs $\log K_{ow}$ in Lake Muzelle (grey) and Lake Plan Vianney (black) when lakes were a) ice-covered and b) ice-free. Surface and bottom water were considered.

In summary, the parameters affecting the partition of PCBs in the water of two high altitude lakes differ between ice-covered and ice-free periods. When the lakes were ice-covered, from November to May, the water column was isolated from the atmosphere, preventing large modification of the parameters governing PCBs partitioning (water temperature, PCBs and POC inputs). Particulate-dissolved phase partition coefficient is then related to the octanol-water partition coefficient of PCBs, reflecting a thermodynamic equilibrium between the water and the particles. When lakes were ice-free, the lack of relationship between K_p and K_{ow} highlights a kinetically limited partition of PCBs between dissolved and particulate phases. In that case, a high algal growth rate due to efficient photosynthesis and a slower uptake rate of PCBs by phytoplankton might explain this disequilibrium. However, no correlation was found between K_p and other biogeochemical parameters (*e.g.*, TSM, phytoplankton biomass). Allogenic perturbations, such as wind or precipitation, generating large variations of water temperature or TSM concentration on weekly or even daily scales, or a huge particles bound PCB input during snowpack melting, could also explain the absence of partition equilibrium. Therefore, a "high frequency" monitoring survey (every two weeks sampling) from May to July (*i.e.*, before, during and after spring thaw) as well as during the phytoplankton growth phase (from August to October) could disentangle the two hypotheses and accurately evaluate factors governing the aquatic fate of PCBs in high altitude lakes during ice-free period.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Emmanuel Malet, Joel Suptil, Jean-Christophe Hustache, staff of Parc National des Ecrins and Chantal Durdan of the mountain hut of Lake Muzelle, for technical support and assistance during sampling period. Gratitude is extended to David Pobel for phytoplankton analyses. Y.-M. Nellier thanks the Region Rhône-Alpes for his PhD grant and the Fondation Eau, Neige & Glace for financial support. The authors would also thank the three anonymous reviewers for their contribution to the improvement of the early version of this manuscript.

Supporting information

Thirteen pages (including cover page) containing:

Tableau 17: blank values for PCB analyses

Tableau 17 : blank values in UHQ water (n=6) for each type of filter used. SD: standard deviation

congener	Size fractions							
	Microplankton		Nanoplankton		Picoplankton		Dissolved	
	mean (pg L ⁻¹)	SD (pg L ⁻¹)	mean (pg L ⁻¹)	SD (pg L ⁻¹)	mean (pg L ⁻¹)	SD (pg L ⁻¹)	mean (pg L ⁻¹)	SD (pg L ⁻¹)
PCB 28	0.021	0.003	0.035	0.004	0.017	0.003	0.225	0.022
PCB 52	0.025	0.006	0.272	0.007	0.026	0.004	0.184	0.031
PCB 101	0.091	0.004	0.074	0.006	0.037	0.006	0.066	0.005
PCB 138	0.098	0.005	0.121	0.005	0.016	0.007	0.062	0.007
PCB 153	0.165	0.009	0.136	0.008	0.158	0.008	0.143	0.004
PCB 180	0.104	0.007	0.101	0.008	0.426	0.009	0.157	0.008

Blank values were determined as the content of analytes measured from filters used to obtain PCBs associated with microplankton (20 µm nylon filter), nanoplankton (GF/D glass fiber filter) or picoplankton (GF/F glass fiber filter) and dissolved phase (Resprep[®] - C18 Solid Phase Extraction disk) after the filtration of UHQ water.

Tableau 18: PCB congeners concentration range associated with dissolved phase, micro-, nano- and picoplankton in water near the surface (4m) and the bottom (3m above max depth) of Lake Muzelle

Tableau 19: PCB congeners concentration range associated with dissolved phase, micro-, nano- and picoplankton in water near the surface and the bottom of Lake Plan Vianney

Tableau 20: results of Student's test testing the difference of PCBs concentration in particulate matter (pico-, nano- and microplankton) and dissolved phase between both depths

Tableau 21: results of Fisher's exact test testing the difference of PCBs repartition between particulate phases (*i.e.*, pico-, nano- and microplankton) and dissolved phase amongst sampled depths for a same campaign

Tableau 22: seasonal variations of microplankton concentration, dissolved organic carbon and microphytoplankton biomass for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney in 2012 and 2013

Tableau 23: relationship between organic matter quantity (*i.e.*, concentrations of microplankton or dissolved organic carbon) or quality (*i.e.*, relative proportion of phytoplankton) and the relative proportion of PCBs associated with microplankton for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney

Tableau 24: biomass of mean phytoplankton species and total phytoplankton biomass for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney

Tableau 25: linear regression of $\log K_p$ vs. total phytoplankton biomass for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney

Tableau 26: linear regression of $\log K_p$ vs. main phytoplankton species biomass for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney

Tableau 27: linear regression of particulate phase concentration vs. mean water temperature (surface and bottom) for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney

Tableau 29: linear regression of $\log K_p$ vs $\log K_{ow}$ for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney for each sampling campaign

Tableau 17 : blank values in UHQ water (n=6) for each type of filter used. SD: standard deviation

congener	Size fractions							
	Microplankton		Nanoplankton		Picoplankton		Dissolved	
	mean (pg L ⁻¹)	SD (pg L ⁻¹)	mean (pg L ⁻¹)	SD (pg L ⁻¹)	mean (pg L ⁻¹)	SD (pg L ⁻¹)	mean (pg L ⁻¹)	SD (pg L ⁻¹)
PCB 28	0.021	0.003	0.035	0.004	0.017	0.003	0.225	0.022
PCB 52	0.025	0.006	0.272	0.007	0.026	0.004	0.184	0.031
PCB 101	0.091	0.004	0.074	0.006	0.037	0.006	0.066	0.005
PCB 138	0.098	0.005	0.121	0.005	0.016	0.007	0.062	0.007
PCB 153	0.165	0.009	0.136	0.008	0.158	0.008	0.143	0.004
PCB 180	0.104	0.007	0.101	0.008	0.426	0.009	0.157	0.008

Blank values were determined as the content of analytes measured from filters used to obtain PCBs associated with microplankton (20 µm nylon filter), nanoplankton (GF/D glass fiber filter) or picoplankton (GF/F glass fiber filter) and dissolved phase (Resprep[®]- C18 Solid Phase Extraction disk) after the filtration of UHQ water.

Tableau 18: PCB congeners concentration range associated with dissolved phase, micro-, nano- and picoplankton in water near the surface (4m) and the bottom (3m above max depth) of Lake Muzelle. ND: below detection limit, NQ: below quantitation limit.

Sampling date	April 2012	June 2012	September 2012		February 2013		April 2013		July 2013		
Depth	surface	surface	bottom	surface	bottom	surface	bottom	surface	bottom	surface	bottom
Dissolved phase (pg L ⁻¹)											
28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.3 - 1.9
52	3.7 - 5.6	NQ	3.1 - 4.8	4.5 - 6.9	0.8 - 1.2	1.4 - 2.2	4.1 - 6.3	2.8 - 4.3	7.9 - 12.1	16.4 - 25.2	0.8 - 1.2
101	3.2 - 4.8	3.8 - 5.8	2.2 - 3.4	4.9 - 7.5	1.1 - 1.7	NQ	NQ	0.8 - 1.2	2.6 - 4.0	NQ	0.7 - 1.0
138	2.7 - 4.1	6.8 - 10.3	0.4 - 0.7	0.9 - 1.3	0.3 - 0.5	0.3 - 0.4	0.6 - 1.0	0.6 - 0.9	2.1 - 3.3	6.1 - 9.3	4.1 - 5.9
153	2.1 - 3.2	0.8 - 1.3	1.2 - 1.8	4.9 - 7.5	0.8 - 1.2	0.7 - 1.0	1.0 - 2.0	0.7 - 1.0	3.4 - 5.1	6.4 - 9.8	2.9 - 4.2
180	1.1 - 1.6	0.3 - 0.4	0.1 - 0.2	0.3 - 0.4	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.5 - 0.8	1.5 - 2.3	3.6 - 5.2
sum	12.8 - 19.3	11.7 - 17.8	7.0 - 10.9	15.5 - 23.6	3.1 - 4.8	2.5 - 3.8	5.8 - 9.5	5.1 - 7.7	16.5 - 25.3	30.4 - 46.6	13.4 - 19.4
Microplankton (pg L ⁻¹)											
28	6.1 - 8.7	5.9 - 8.5	0.5 - 0.7	ND	ND	0.5 - 0.7	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.1 - 0.2	1.4 - 2.0	0.8 - 1.2
52	6.3 - 9.0	66.3 - 95.4	1.3 - 1.8	48.0 - 69.1	NQ	0.1 - 0.1	NQ	0.1 - 0.2	NQ	0.7 - 1.0	NQ
101	13.9 - 19.9	11.0 - 15.9	11.3 - 16.3	65.4 - 94.1	16.7 - 24.1	0.5 - 0.8	0.2 - 0.2	0.0 - 0.1	0.1 - 0.2	0.4 - 0.5	0.7 - 1.0
138	24.7 - 35.5	2.1 - 3.0	38.6 - 55.5	27.6 - 39.8	1.6 - 2.2	0.1 - 0.1	0.0 - 0.1	0.3 - 0.4	0.1 - 0.2	2.0 - 2.9	0.6 - 1.0
153	12.8 - 18.4	15.9 - 22.9	44.5 - 64.0	NQ	12.7 - 18.3	0.5 - 0.8	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.1 - 0.2	1.6 - 2.2	0.9 - 1.3
180	13.5 - 19.4	32.0 - 46.0	31.8 - 45.8	22.2 - 32.0	5.7 - 8.2	0.1 - 0.1	0.1 - 0.2	0.3 - 0.4	0.2 - 0.3	1.5 - 2.1	0.3 - 0.4
sum	77.3 - 110.9	133.2 - 191.7	128.0 - 184.1	163.2 - 235.0	36.7 - 52.8	1.8 - 2.6	0.5 - 0.9	1.1 - 1.7	0.6 - 1.1	7.6 - 10.7	3.3 - 4.9
Nanoplankton (pg L ⁻¹)											
28	2.4 - 3.4	ND	ND	ND	ND	0.2 - 0.3	0.2 - 0.3	0.0 - 0.1	0.3 - 0.5	2.0 - 2.8	0.9 - 1.3
52	NQ	0.7 - 1.0	0.1 - 0.2	NQ	NQ	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	2.4 - 3.4	0.6 - 0.9
101	2.3 - 3.3	1.4 - 2.1	0.3 - 0.4	NQ	NQ	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	2.8 - 3.9	0.9 - 1.3
138	2.5 - 3.5	1.8 - 2.6	0.3 - 0.4	NQ	NQ	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.3 - 0.4	0.4 - 0.6	5.1 - 7.4	2.8 - 4.0
153	0.8 - 1.1	2.0 - 2.8	0.3 - 0.4	NQ	NQ	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.3 - 0.4	0.4 - 0.5	1.6 - 2.3	3.0 - 4.3
180	1.8 - 2.6	2.0 - 2.9	0.2 - 0.3	NQ	NQ	0.1 - 0.4	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.2 - 0.2	0.4 - 0.5	0.6 - 0.9
sum	9.8 - 13.9	7.9 - 11.4	1.2 - 1.7	NQ	NQ	0.7 - 1.5	0.9 - 1.5	0.9 - 1.5	1.6 - 2.3	14.3 - 20.3	8.8 - 12.7
Picoplankton (pg L ⁻¹)											
28	NQ	NQ	NQ	ND	ND	0.4 - 0.6	0.1 - 0.2	ND	ND	4.9 - 7.1	1.0 - 1.4
52	NQ	NQ	NQ	NQ	0.0 - 0.1	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.0 - 0.1	0.1 - 0.2	0.6 - 0.9	NQ
101	0.8 - 1.1	NQ	NQ	NQ	NQ	0.4 - 0.5	0.4 - 0.6	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	1.8 - 2.6	0.8 - 1.2
138	NQ	0.6 - 0.8	0.2 - 0.3	0.0 - 0.1	NQ	0.3 - 0.4	0.3 - 0.5	0.1 - 0.2	0.4 - 0.6	5.8 - 8.4	0.8 - 1.2
153	1.8 - 2.6	NQ	0.3 - 0.5	NQ	NQ	0.3 - 0.5	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	3.8 - 5.4	1.1 - 1.5
180	0.2 - 0.3	0.9 - 1.3	0.4 - 0.6	NQ	NQ	0.1 - 0.2	0.3 - 0.4	0.1 - 0.2	0.3 - 0.4	1.0 - 1.4	0.3 - 0.5
sum	2.8 - 4.0	1.5 - 2.1	0.9 - 1.4	0.0 - 0.1	0.0 - 0.1	1.6 - 2.4	1.4 - 2.2	0.4 - 0.9	1.2 - 1.8	17.9 - 25.8	4.0 - 5.8

Tableau 19 : PCB congeners concentration range associated with dissolved phase, micro-, nano- and picoplankton in water near the surface (4m) and the bottom (3m above max depth) of Lake Plan Vianney. ND: below detection limit, NQ: below quantitation limit.

Sampling date	April 2012	June 2012		September 2012		February 2013		April 2013		July 2013	
Depth	surface	surface	bottom	surface	bottom	surface	bottom	surface	bottom	surface	bottom
Dissolved phase (pg.L ⁻¹)											
28	1.0 - 1.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.3 - 0.4
52	NQ	6.6 - 10.1	NQ	1.5 - 2.2	1.6 - 2.5	0.6 - 1.0	1.8 - 2.7	20.9 - 32.0	8.3 - 12.7	10.4 - 15.9	0.7 - 1.0
101	0.1 - 0.2	NQ	1.8 - 2.6	0.4 - 0.5	0.6 - 0.9	4.2 - 6.5	3.7 - 5.7	9.9 - 15.2	4.0 - 6.1	13.7 - 21.0	1.4 - 2.0
138	0.1 - 0.2	12.7 - 19.5	7.4 - 10.6	0.4 - 0.6	5.5 - 8.5	0.1 - 0.2	2.3 - 3.5	3.5 - 5.4	2.4 - 3.7	2.6 - 3.9	10.7 - 15.4
153	NQ	1.9 - 2.9	5.8 - 8.4	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.3 - 0.4	1.6 - 2.4	4.8 - 7.4	2.2 - 3.4	NQ	7.5 - 10.9
180	NQ	5.4 - 8.2	4.3 - 6.2	NQ	0.3 - 0.4	NQ	0.9 - 1.3	1.2 - 1.8	0.3 - 0.5	0.2 - 0.4	7.3 - 10.5
sum	1.2 - 1.9	26.6 - 40.7	19.3 - 27.8	2.4 - 3.5	8.2 - 12.6	5.2 - 8.1	10.0 - 15.6	40.3 - 61.8	17.2 - 26.4	26.9 - 41.2	27.9 - 40.2
Microplankton (pg.L ⁻¹)											
28	ND	ND	ND	5.1 - 7.4	ND	0.2 - 0.3	0.2 - 0.4	0.1 - 0.2	0.3 - 0.4	1.0 - 1.4	1.2 - 1.7
52	NQ	NQ	9.1 - 13.9	29.0 - 41.7	18.5 - 26.6	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.0 - 0.1	NQ	0.5 - 0.7	0.5 - 0.7
101	NQ	NQ	7.7 - 11.8	26.0 - 37.4	33.7 - 48.4	0.2 - 0.3	0.2 - 0.3	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.6 - 0.8	1.4 - 2.1
138	35.8 - 51.5	NQ	8.2 - 12.4	30.7 - 44.2	17.8 - 25.6	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.2 - 0.4	2.8 - 4.0	6.9 - 9.9
153	18.6 - 26.7	31.3 - 45.0	3.6 - 5.6	14.3 - 20.6	12.2 - 17.5	0.2 - 0.3	0.3 - 0.5	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	2.7 - 3.8	2.4 - 3.5
180	19.5 - 28.1	26.2 - 37.9	17.2 - 25.3	61.9 - 89.1	13.5 - 19.4	NQ	0.2 - 0.3	0.2 - 0.3	0.1 - 0.2	3.1 - 4.5	0.8 - 1.2
sum	73.9 - 106.3	57.5 - 82.9	45.8 - 69.0	167.0 - 240.4	95.7 - 137.5	0.8 - 1.3	1.1 - 1.9	0.6 - 1.2	0.8 - 1.4	10.7 - 15.2	13.2 - 19.1
Nanoplankton (pg.L ⁻¹)											
28	0.1 - 0.2	ND	ND	ND	ND	0.6 - 0.9	0.2 - 0.3	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	1.1 - 1.7	ND
52	NQ	0.1 - 0.2	NQ	0.1 - 0.2	NQ	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	1.3 - 1.8	5.2 - 7.9
101	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	NQ	0.2 - 0.3	0.0 - 0.1	0.3 - 0.5	0.2 - 0.3	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	1.3 - 1.9	6.8 - 10.4
138	0.0 - 0.1	0.2 - 0.4	NQ	NQ	NQ	0.2 - 0.3	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.2 - 0.3	3.5 - 5.0	2.7 - 4.1
153	0.0 - 0.1	0.2 - 0.3	NQ	NQ	0.0 - 0.1	0.4 - 0.5	0.2 - 0.3	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	2.2 - 3.1	3.8 - 5.8
180	NQ	0.2 - 0.3	NQ	NQ	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.2 - 0.3	0.9 - 1.4	0.2 - 0.3
sum	0.2 - 0.6	0.9 - 1.5	NQ	0.3 - 0.5	0.1 - 0.4	1.8 - 2.7	0.9 - 1.5	0.8 - 1.4	0.9 - 1.5	10.3 - 14.9	18.7 - 28.5
Picoplankton (pg.L ⁻¹)											
28	ND	ND	ND	ND	ND	0.3 - 0.5	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.3 - 0.5	1.2 - 1.7	0.2 - 0.3
52	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	0.1 - 0.2	0.3 - 0.5	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	1.1 - 1.5	0.1 - 0.2
101	0.1 - 0.2	NQ	NQ	NQ	NQ	0.1 - 0.2	NQ	0.0 - 0.1	0.1 - 0.2	1.9 - 2.7	0.6 - 0.9
138	0.8 - 1.1	NQ	NQ	NQ	0.0 - 0.1	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.2 - 0.3	11.2 - 16.2	11.9 - 17.1
153	0.5 - 0.8	NQ	NQ	NQ	NQ	0.2 - 0.3	0.3 - 0.4	0.5 - 0.7	0.2 - 0.3	4.1 - 5.9	6.1 - 8.7
180	1.1 - 1.6	NQ	NQ	0.0 - 0.1	NQ	0.1 - 0.2	0.0 - 0.1	0.6 - 0.7	0.2 - 0.3	0.4 - 0.6	7.6 - 11.0
sum	2.5 - 3.7	NQ	NQ	0.0 - 0.1	0.0 - 0.1	0.9 - 1.6	0.8 - 1.4	1.5 - 2.2	1.1 - 1.8	19.9 - 28.6	26.5 - 38.2

Tableau 20: results of Student's test testing the difference of PCBs concentration in particulate matter (pico-, nano- and microplankton) and dissolved phase between both depths.

* significant difference (p-value < 0.05).

Lake	Muzelle		Plan Vianney	
	T	p-value	T	p-value
Sampling date				
June 2012	0.80	0.470	2.13	0.179
September 2012	7.18	0.018*	3.15	0.035*
February 2013	- 1.79	0.147	- 2.52	0.065
April 2013	-2.51	0.066	2.68	0.055
July 2013	2.43	0.072	-1.49	0.209

Tableau 21: results of Fisher's exact test testing the difference of PCBs repartition between particulate phases (*i.e.*, pico-, nano- and microplankton) and dissolved phase amongst sampled depths for a same campaign.

* significant difference (p-value < 0.05).

Lake	Muzelle	Plan Vianney
	p-value	p-value
Sampling date		
June 2012	0.273	0.859
September 2012	0.856	0.060
February 2013	0.693	0.730
April 2013	0.698	0.350
July 2013	0.401	0.589

Tableau 22: seasonal variations of microplankton concentration, dissolved organic carbon (DOC) and microphytoplankton biomass for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney in 2012 and 2013.

-: no data. [†] mean values \pm standard deviation obtained from surface (4 m depth) and bottom (3 m above max depth) water excepted for April 2012 where only surface water was considered. * mean values \pm standard deviation (% of total microplankton concentration) obtained from both studied depths excepted for April 2012 where only surface water was considered.

Sampling campaign	April 2012		June 2012		September 2012		February 2013		April 2013		July 2013	
Lake	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney
Microplankton concentration (mgDW L ⁻¹) [†]	2.11	0.67	1.21 \pm 0.01	0.08 \pm 0.02	1.15 \pm 0.23	0.50 \pm 0.33	0.31 \pm 0.13	1.43 \pm 0.80	0.17 \pm 0.04	0.12 \pm 0.05	0.24 \pm 0.01	0.10 \pm 0.07
DOC (mgC L ⁻¹) [†]	0.3	0.3	-	2.0 \pm 0.6	1.3 \pm 0.3	0.8 \pm 0.1	1.5 \pm 0.9	0.6 \pm 0.1	1.5 \pm 1.0	0.7 \pm 0.1	0.7 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0
Microphytoplankton biomass (μ gDW L ⁻¹) [*]	4.8 (0.2)	0.5 (0.1)	7.6 \pm 5.2 (0.6)	0.4 \pm 0.1 (0.6)	261.6 \pm 245.5 (22.7)	1.1 \pm 0.0 (0.2)	9.7 \pm 4.9 (3.1)	0.1 \pm 0.1 (0.0)	0.3 \pm 0.1 (0.2)	1.0 \pm 0.9 (0.8)	14.3 \pm 13.1 (5.9)	49.6 \pm 46.6 (49.6)

Tableau 23: relationship between organic matter quantity (i.e., concentrations of microplankton or dissolved organic carbon) or quality (i.e., relative proportion of phytoplankton) and the relative proportion of PCBs associated with microplankton for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (surface and bottom water were considered).

R² correspond to Pearson's product moment correlation coefficient. *p-value < 0.05 give a significant correlation.

Lake	Muzelle		Plan Vianney	
	R ²	p-value	R ²	p-value
Organic matter quantity				
Microplankton concentration	0.700	8.10 ^{-4*}	-0.099	0.769
Dissolved organic carbon	-0.097	0.606	0.059	0.234
Organic matter quality				
Relative proportion of phytoplankton	-0.026	0.410	-0.042	0.461

Tableau 24: biomass of main phytoplankton species and total phytoplankton biomass for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney.

Sampling campaign	April 2012		June 2012		September 2012		February 2013		April 2013		July 2013	
Lake	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney
Surface (4m depth)												
<i>Diatoms</i> biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$)	0.92	0.01	4.73	0.13	104.59	0.38	1.91	0.01	0.09	0.04	0.04	4.23
<i>Conjugatophyceae</i> biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$)	0.01	0.00	0.08	0.00	5.3	4.25	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.11
<i>Chlorophyceae</i> biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$)	2.73	0.01	0.96	0.00	29.72	0.78	0.86	0.00	0.03	0.01	0.01	0.04
<i>Chrysophyceae</i> biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$)	1.26	0.01	24.01	0.01	17.33	0.96	0.72	0.01	0.03	0.01	0.04	1.16
Total phytoplankton biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$)	4.92	0.05	29.78	0.15	156.92	6.35	3.58	0.08	0.15	0.24	0.30	5.65
Bottom (3m above max depth)												
<i>Diatoms</i> biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$)	ND	ND	17.69	0.01	11.61	1.39	2.41	0.03	0.04	0.03	1.73	3.26
<i>Conjugatophyceae</i> biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$)	ND	ND	0.00	0.00	0.00	3.54	0.01	0.00	0.00	0.00	0.06	0.08
<i>Chlorophyceae</i> biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$)	ND	ND	4.07	0.00	14.02	0.26	1.37	0.01	0.02	0.02	0.52	1.38
<i>Chrysophyceae</i> biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$)	ND	ND	3.87	0.09	0.48	1.16	0.37	0.01	0.04	0.01	1.74	29.33
Total phytoplankton biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$)	ND	ND	30.83	0.10	32.52	6.43	7.89	0.05	0.17	0.07	11.77	37.49

Tableau 25: linear regression of log K_p vs. total phytoplankton biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$) for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (surface and bottom water were considered).
p-value < 0.05 give a significant correlation.

PCB congener	Lake	R^2	p-value
52	Muzelle	0.231	0.129
	Plan Vianney	0.079	0.432
101	Muzelle	0.245	0.213
	Plan Vianney	0.070	0.459
138	Muzelle	0.233	0.133
	Plan Vianney	0.194	0.176
153	Muzelle	0.240	0.195
	Plan Vianney	0.042	0.568
180	Muzelle	0.150	0.240
	Plan Vianney	0.214	0.152

Tableau 26: linear regression of log K_p vs. main phytoplankton species biomass ($\mu\text{gC L}^{-1}$) for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (surface and bottom water were considered).
p-value < 0.05 give a significant correlation.

Phytoplankton species		<i>Diatoms</i>		<i>Conjugatophyceae</i>		<i>Chlorophyceae</i>		<i>Chrysophyceae</i>	
PCB congener	Lake	R ²	p-value	R ²	p-value	R ²	p-value	R ²	p-value
52	Muzelle	0.214	0.178	0.236	0.155	0.116	0.335	0.312	0.093
	Plan Vianney	0.115	0.337	0.243	0.065	0.177	0.226	0.013	0.754
101	Muzelle	0.313	0.150	0.215	0.248	0.416	0.084	0.143	0.355
	Plan Vianney	0.622	0.453	0.205	0.201	0.184	0.216	0.009	0.786
138	Muzelle	0.309	0.076	0.203	0.164	0.247	0.120	0.007	0.797
	Plan Vianney	0.230	0.135	0.280	0.094	0.269	0.188	0.102	0.338
153	Muzelle	0.22	0.050	0.199	0.151	0.322	0.069	0.016	0.711
	Plan Vianney	0.106	0.359	0.225	0.167	0.103	0.365	0.07	0.820
180	Muzelle	0.221	0.143	0.123	0.291	0.206	0.161	0.193	0.264
	Plan Vianney	0.170	0.207	0.243	0.169	0.364	0.059	0.106	0.329

Tableau 27: linear regression of particulate phase concentration vs. mean water temperature (surface and bottom) for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney.

* significant relationship (p-value < 0.05).

PCB congener	Lake	R ²	p-value
52	Muzelle	0.742	0.061
	Plan Vianney	0.268	0.293
101	Muzelle	0.569	0.140
	Plan Vianney	0.332	0.231
138	Muzelle	0.273	0.367
	Plan Vianney	0.630	0.059
153	Muzelle	0.765	0.052
	Plan Vianney	0.620	0.063
180	Muzelle	0.786	0.045*
	Plan Vianney	0.872	0.006*

Tableau 28: linear regression of log K_p vs. log K_{ow} for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney for each sampling campaign (surface and bottom water were considered).

* significant relationship (p-value < 0.05).

Sampling campaigns	Lake	R²	p-value
April 2012	Muzelle	0.872	0.020*
	Plan Vianney	0.939	0.006*
June 2012	Muzelle	0.467	0.052
	Plan Vianney	0.295	0.163
September 2012	Muzelle	0.078	0.434
	Plan Vianney	0.158	0.255
February 2013	Muzelle	0.756	0.004*
	Plan Vianney	0.411	0.045*
April 2013	Muzelle	0.808	4.0 10 ⁻⁴ *
	Plan Vianney	0.643	0.005*
July 2013	Muzelle	0.001	0.905
	Plan Vianney	0.162	0.269

**Chapitre 5 : Influence de la structure des réseaux
trophiques sur les niveaux de contamination aux
PCB des poissons**

Préambule

Dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney, il existe donc une variabilité saisonnière des concentrations de PCB dans la colonne d'eau (*e.g.*, $95 \pm 14 \text{ pg L}^{-1}$ en juin 2012 et $170 \pm 26 \text{ pg L}^{-1}$ en septembre 2012 pour le lac de Plan Vianney), liée aux variations temporelles des flux entrants de PCB atmosphériques (40% des apports de PCB annuels transférés au lac en 2 semaines lors de la fonte nivale) et une variabilité interannuelle de répartition des PCB entre les différents compartiments trophiques et la fraction dissoute. De plus, le microplancton est un compartiment de stockage conséquent des PCB. En raison de sa classe de taille (20 μm à 200 μm), ce compartiment trophique constitue une source de carbone non exploitable par les organismes zooplanctoniques présents dans ces lacs d'altitude (copépodes calanoïdes et rotifères dont le spectre de taille des particules ingérés est typiquement inférieur à 10 μm ; Burns, 1968). La sédimentation des particules microplanctoniques non exploitées par le zooplancton, entraînera un transfert important des PCB depuis la colonne d'eau vers les sédiments lacustres. Ces PCB devraient ensuite être transférés, principalement par voie trophique, aux macro-invertébrés benthiques. Dans les lacs d'altitude, ces organismes peuvent constituer une part importante du régime alimentaire de la faune piscicole (Catalan et al., 2004). Ainsi, les PCB seraient transférés aux poissons par le benthos via la voie détritique. Si tel est le cas, la structure du réseau trophique limnique influence le transfert des PCB, et par extension de tous les POP présentant des propriétés physico-chimiques comparables (hydrophobie, volatilité, solubilité lipidique) jusqu'aux poissons.

Il nous est donc apparu nécessaire de tester cette hypothèse dans ces écosystèmes d'altitude. Le problème à résoudre est de savoir si la structure du réseau trophique, en présence des variations saisonnières et interannuelles de concentration et de répartition des PCB dans la colonne d'eau, peut modifier le transfert de ces micropolluants organiques à la faune piscicole. Les niveaux de contamination des espèces piscicoles ont été déterminés au cours de suivis saisonniers conduits en 2012 et 2013. Ces mesures ont été complétées par l'analyse isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de biomarqueurs lipidiques en vue d'identifier la ou les principale(s) source(s) de carbone soutenant la croissance piscicole.

Les mesures des concentrations des PCB dans la chair des poissons mettent en évidence des niveaux de contamination aux PCB plus élevés chez les individus capturés après

Chapitre 5 : Influence de la structure des réseaux trophiques sur les niveaux de contamination aux PCB des poissons

la fonte nivale (juin 2012 et juillet 2013) dans le lac de Plan Vianney. Les analyses isotopiques du carbone et de biomarqueurs lipidiques montrent que la principale source de carbone soutenant la croissance des poissons est d'origine benthique pour les deux lacs. Néanmoins, une variabilité plus importante de la composition isotopique du carbone est observée pour les poissons capturés au lac de la Muzelle. Les variabilités saisonnières et inter-lacs de niveaux de contamination aux PCB de la faune piscicole ne résultent donc pas de différence de structure du réseau trophique. Une analyse multi-variée (analyse en composante principale) réalisée à partir des concentrations de PCB dans la chair des poissons, la phase dissoute, la phase particulaire ou associées au microplancton a mis en évidence une relation entre niveaux de contamination aux PCB des poissons et concentration des PCB en phase dissoute. Ces résultats suggèrent que le transfert des PCB à la faune piscicole dans les lacs d'altitude s'effectue par voie dissoute, c'est-à-dire par un mécanisme de bioconcentration. Ainsi, dans ces écosystèmes lacustres d'altitude, les voies de transfert du carbone et des POP à la faune piscicole sont dissociées.

En conclusion, notre étude a montré que la structure des réseaux trophiques n'influence pas le transfert des POP, tels que les PCB, jusqu'aux poissons. Seules, les variabilités saisonnières et interannuelles de concentration de ces composés en phase dissoute déterminent les niveaux de contamination de la faune piscicole des lacs d'altitude.

Assessment of seasonal variation of PCB levels in fish from high altitude lakes highlights the importance of bioconcentration process

Yann-Michel Nellier, Emmanuel Naffrechoux, Nathalie Cottin, Philippe Fanget, Marie-Elodie Perga

En préparation

ABSTRACT

Benthic filamentous algae, benthic invertebrates, zooplankton, seston and fish were sampled in two high altitude lakes (Alps, France) between October 2011 and July 2013 (i) to examine seasonal variations of fish PCBs concentration and (ii) to identify which biogeochemical parameter affects PCB levels in fish. Seasonal variation of PCBs concentration in fish has been observed in one of both studied lakes. Carbon stable isotope signature and fatty acids were analyzed in fish and used to establish the feeding habit and source of carbon sustaining fish growth in both lakes and to determine their importance on inter-lakes differences. In addition, the roles of phytoplankton biomass and PCBs concentration in water were encompassed. Seasonal variation as well as inter-lakes differences of PCB levels in fish can be explained by the variability of dissolved phase PCBs concentration rather than food web structure. We conclude that PCBs are absorbed by fish mainly through its respiratory and dermal exchanges, *i.e.*, bioconcentration. On the other hand, seasonal variation of PCBs concentration in fish highlights the fast elimination of PCBs congeners even the most chlorinated congeners (#153 and #180) during summer period, most probably resulting from an increase of metabolic functioning such as growth rates.

I. Introduction

Semi-volatility of persistent organic pollutants (POPs) such as polychlorinated biphenyls (PCBs) is responsible for their atmospheric long-range transport (Wania and Mackay, 1993b; Wania and Mackay, 1995; Wania and Westgate, 2008), widespread distribution, even in remote ecosystems such as Arctic area (DeWit et al., 2004; Jiao et al., 2009; Wilson et al., 1995) or high altitude lakes (Grimalt et al., 2001; Nellier et al., 2015a; Vilanova et al., 2001a). Their hydrophobicity promotes their transfer and bioaccumulation in food webs, up to fish compartment (Borgå et al., 2001; Metcalfe and Metcalfe, 1997; Schmid et al., 2007).

In high altitude lakes, PCBs concentration in fish has been related to cold condensation effect (Gallego et al., 2007; Grimalt et al., 2001) and fish biology parameters such as age or lipid content (Vives et al., 2004; Vives et al., 2005). Studies conducted in freshwater ecosystems suggested that PCB levels in fish could be also influenced by trophic position (Kidd et al., 1995; Rasmussen et al., 1990; Walters et al., 2008), habitat use (Guildford et al., 2008; Lopes et al., 2011), lake trophy (Söderström et al., 2000) or concentrations of these chemicals in water and sediments (Bremle et al., 1995). If such parameters have been documented in low-altitude freshwater ecosystems, few investigations have been conducted in remote lacustrine environments (Catalan et al., 2004; Kidd et al., 1998). Nevertheless, identify parameters governing PCB levels in fish from high altitude lakes appears crucial to accurately explain substantial differences of PCBs fish contamination between lakes and improve bioaccumulation model of PCBs in food web from remote aquatic environments.

Recently, seasonal variations of PCBs fish contamination due to metabolic functioning have been reported in field and laboratory studies (Drouillard et al., 2009; Greenfield et al., 2005; Paterson et al., 2007). Because of high altitude lakes are not easily reachable in winter, fish level of PCBs in these ecosystems have been determined only when lakes were ice-free (Schmid et al., 2007; Vives et al., 2004). However, a recent study (Nellier et al., 2015b) has shown that parameters affecting PCBs partition in the water of two high altitude lakes differs between seasons that could modify their transfer within the food web to the fish compartment. Thus, difference of PCB levels in fish between ice-cover and ice-free periods might be observed in these remote aquatic ecosystems and therefore should be assessed to plan monitoring programs, especially the time of fish's collection.

In the present paper, (i) we examined seasonal variation of PCB fish levels in the high altitude Lake Plan Vianney (Alps) and, (ii) we compared them with those obtained in the nearby Lake Muzelle to identify primary variables influencing PCBs concentration in fish from remote lakes. In this respect, the role of PCBs partition between particulate and dissolved phase, fish characteristics (*i.e.*, lipid content, age), origin(s) of carbon sources sustaining fish growth (*i.e.*, terrestrial, benthic or pelagic) in PCB levels in fish have been assessed from a two years study (2012 and 2013).

II. **Materials and methods**

1. **Study sites**

Lake Muzelle and Lake Plan Vianney in French Alps (Isère), are high altitude lakes (2115 m and 2250 m, respectively) located in the National Park of Ecrins. Both lakes are close to each other (4.3 km apart) and therefore submitted to same atmospheric PCBs inputs (Nellier et al., 2015a). They have a surface area of 10 ha and 5 ha and a total catchment area of 466 ha and 86 ha with poorly developed soils (40 % to 70 % rock cover), respectively for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney. These catchment areas do not act as a source of PCBs for both studied lakes (Nellier et al., 2015a). Lake Muzelle and Lake Plan Vianney are ice covered from November to June. These lakes are oligotrophic ($< 5 \mu\text{gP L}^{-1}$) with a phytoplankton biomass ($0.15 - 95 \mu\text{gC L}^{-1}$ for Lake Muzelle and $0.05 - 6 \mu\text{gC L}^{-1}$ for Lake Plan Vianney) comparable than those obtained in European high altitude lakes (Felip et al., 1999; Fott et al., 1999). Both lakes contain fish, *Salvelinus alpinus* in Lake Muzelle and a multi-specific assemblage of *S. alpinus* and *Salvelinus fontinalis* in Lake Plan Vianney. No fish were introduced into these lakes since 1989 (Géraldine Bourlet, *personal communication*). The steep slope of the lakes outflow makes any colonization from downstream impossible. In Lake Muzelle, filamentous benthic algae (*Spirogyra sp.* and *Zygnema sp.*) cover about 4.3% of the bottom surface mainly in the littoral zone (Julie Toury and Florent Arthaud, *personal communication*). The concentration and distribution of PCBs in the waters of these lakes has been previously described in details (Nellier et al., 2015a; Nellier et al., 2015b).

2. Sample collection

Samples of seston (*i.e.*, suspended particulate matter), filamentous benthic algae, benthic invertebrates, zooplankton and fish were analyzed in this study. Seston was collected on 6 sampling campaigns (April, June and September 2012, February and April 2013 and July 2013) and was done by pumping approximately 5 L of water for each studied depth (4 m below surface and 3 m above max depth). Filamentous benthic algae were collected in September 2014 by scraping shallow rocks and handpicking from floating clumps. Benthic invertebrates were sampled in sediment with an Ekman grab at two depths, one at the littoral zone (2 m depth) and the other in deep zone in September 2012. Zooplankton was sampled by vertical hauls with a 200 µm mesh net in June 2012 in Lake Plan Vianney. Fish were caught by line fishing through the ice in April 2012, February and April 2013, and from the bank of lake in October 2011, June and September 2012, and July 2013. All fish were measured and weighted on site. Samples were transported in ice to the laboratory and processed immediately.

3. Sample processing

In the laboratory, water samples were filtered through two nylon filter cups connected in series (200 µm and 20 µm) to collect microplankton. The > 200µm size fraction was excluded from this study because PCBs analysis revealed concentrations below quantitation limit for all congeners. Microplankton was filtered on kiln-fired (550 °C) glass fiber filters. Filtrate were used to obtain the nanoplanktonic (2.7 - 20 µm) and picoplanktonic (0.7 - 2.7 µm) size fractions through pre-combusted glass fiber filters of the corresponding nominal cut-off (GF/D and GF/F Whatman). After sieving the sediment through a 250 µm mesh net, benthic invertebrates were sorted with forceps under a binocular microscope. Benthic invertebrates, zooplankton and filamentous benthic algae were placed on pre-combusted GF/D Whatman fiberglass. Fishes were dissected, muscle fillets were wrapped in pre-cleaned aluminum foil. Scales were kept for age determination. All samples were freeze-dried until analysis. The percentage of water content in fish muscle (49.1 ± 2.9 %) was estimated by drying at 60°C until constant weight. Fishes' lipid content was determined gravimetrically after extraction with chloroform: methanol (2/1, v/v) (Folch et al., 1957). Information on collected samples and respective analyses are summarized in Tableau 29.

Chapitre 5 : Influence de la structure des réseaux trophiques sur les niveaux de contamination aux PCB des poissons

Tableau 29 : summary informations on collected samples and respective analyses.
Numbers in brackets correspond to the number of fish collected in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney, respectively. Seston refers to micro-, nano- and picoplanktonic fractions. SI: carbon stable isotope analysis ($\delta^{13}\text{C}$). FA: fatty acids analysis. * only for fish collected in Lake Plan Vianney. ¹Nellier et al. (2015b).

Sampling campaign	Sample type	Lake	Analyses
October 2011	Fish (n=4; n=11)	Muzelle, Plan Vianney	Size, age*, lipid content, PCBs, SI
April 2012	Fish (n=14)	Plan Vianney	Size, age, lipid content, PCBs, SI
	Seston	Muzelle, Plan Vianney	SI, PCBs ¹
	Dissolved phase (< 0.7 μm)		PCBs ¹
June 2012	Fish (n=18; n=11)	Muzelle, Plan Vianney	Size, age*, lipid content, PCBs, SI, FA
	Seston		SI, PCBs ¹
	Dissolved phase (< 0.7 μm)		PCBs ¹
September 2012	Fish (n=10; n=21)	Muzelle, Plan Vianney	Size, age, lipid content, PCBs, SI, FA
	Benthic invertebrates		PCBs, SI
	Seston		SI, PCBs ¹
	Dissolved phase (< 0.7 μm)		PCBs ¹
	Zooplankton	Plan Vianney	SI
February 2013	Fish (n=8; n=6)	Muzelle, Plan Vianney	Size, age, lipid content, PCBs, SI
	Seston		SI, PCBs ¹
	Dissolved phase (< 0.7 μm)		PCBs ¹
April 2013	Fish (n=2; n=19)	Muzelle, Plan Vianney	Size, age*, lipid content, PCBs
	Seston		PCBs ¹
	Dissolved phase (< 0.7 μm)		PCBs ¹
July 2013	Fish (n=18; n=20)	Muzelle, Plan Vianney	Size, age, lipid content, PCBs
	Seston		PCBs ¹
	Dissolved phase (< 0.7 μm)		PCBs ¹
September 2014	Benthic filamentous algae	Muzelle	SI

4. PCBs analysis

Prior to extraction, the samples were spiked with known amounts of an isotope-labeled standard (PCB 116-d5) to correct for extraction efficiency and instrumental variability. Brook trout and arctic charr fillets (without skin) were accurately weighted in a 50 mL glass vial, a 20 mL of extraction solvent (mixture of dichloromethane and acetone; 75/25, v/v), 2.5 g anhydrous Na₂SO₄, were added and mixed using an Ultra-Turrax[®]. The resulting mixture was immersed into an ultrasonic bath for 60 min at 45°C (50 kHz, 1000 W). The mixture was centrifuged at 3000 rpm for 5 min to separate the solvent from the fish muscle. This procedure was repeated once. The solvent was concentrated by TurboVap[®] II concentrator to 1 mL. The samples were thereafter transferred to an activated silica column (7 g) pre-rinsed with 20 mL of n-heptane and PCBs were eluted twice with 20 mL of n-heptane and dichloromethane mixtures (80/20 and 98/2, v/v). Following a stage of water removal by Na₂SO₄, the PCBs extracts were filtrated with 0.2 µm PTFE filters (13 mm diameter, VWR International) to remove sodium sulfate. Later, the extracts were reduced to 1 mL using a TurboVap[®] II concentrator, concentrated near to dryness under a gentle stream of nitrogen and resuspended in 100 µL of n-heptane. The GC/MS analysis of samples was performed using a Clarus 500 Gas Chromatograph coupled with a MS 560 Mass Selective detector (Perkin Elmer[®]) using splitless injection on a Optima 5 Accent column (Macherey-Nagel[®]). Selected-ion monitoring (SIM) was used for the quantification of 6 non-dioxin-like PCBs (congeners 28, 52, 101, 138, 153 and 180), and the calibration curves were established with pure standards and the PCB 116-d5 internal standard (checked every fifth sample at 6 levels of concentration between 25 and 500 pg µL⁻¹). Quality assurance efforts were performed by blanks. The analytes present in blanks were subtracted from those in the sample extracts. Analytical recoveries were evaluated using the PCB 116-d5 standard. The average recoveries (mean ± standard deviation) were 81 ± 12 %. The reported values were corrected for blanks and recoveries. The method detection limit (MDL) and method quantitation limit (MQL) were derived from blanks and quantified as 6 and 10 times their standard deviation, respectively. MDLs ranged from 3 to 9 pg WW⁻¹ of fish muscle, MQL were 5 to 15 pg WW⁻¹ of fish muscle.

5. Stable isotope analysis

Benthic invertebrates, zooplankton, seston size fractions (*i.e.*, micro-, nano- and picoplankton) and filamentous algae were pretreated with HCl (10 %, < 5 min) to remove inorganic carbon (Jacob et al., 2005). Then, all samples (including fish) were dried at 60°C and ground to a fine powder with a pestle and mortar. Stable nitrogen and carbon isotope compositions were measured in the SINLAB (New Brunswick, Canada) on a Finnigan Delta Plus mass spectrometer interfaced via a ConFlo II to NC2500 Elemental Analyzer and ECS4010 Elemental Analyzer (only for size fractionated seston). Internal laboratory standards (Acetanilide, Nicotilamide and Bovine liver) were run every 10 samples. Precision of the carbon isotope analysis were < 0.2 ‰ (1 SD).

6. Fatty acid analysis

Lipids were extracted from freeze-dried fish fillets using a mixture of chloroform and methanol (2/1, v/v) (Folch et al., 1957). Total lipid extract was fractionated with Phenomenex[®] Strata-NH₂[™] columns. Two fractions were collected. The first involved elution with methanol to obtain polar lipids (PL). The second was obtained by elution with chloroform/2-propanol (2/1, v/v) to provide neutral lipids (NL). Only fatty acids (FAs) composition of storage lipid (*i.e.*, NL) analysis was performed in this study. FAs from NL were converted into FA methyl-esters (FAME) by trans-esterification (BF₃-CH₃OH at 85 °C for 1 h). Analyses were carried out on gas chromatography (Varian[®]), using a ZB waxplus capillary Column (Phenomenex[®]) and measured by a flame ionization detector. FAME were identified by comparison of their retention times with known standards (37-component FAME mix, Supelco 47885-U) and quantified with reference calibration curves derived from 2.5, 50, 100, 250, 500, 1000 and 2000 ng mL⁻¹ solutions of the FAME standard. In this study, FAs were used as biomarkers to the identification of carbon (C) sources sustaining the growth of fish. Essential FA (EFA; *i.e.*, the sum of linoleic, LIN (C18:2n-6); *α*-linolenic, ALA (C18:3n-3); arachidonic, ARA (C20:4n-6); eicosapentaenoic, EPA (C20:5n-3) and docosahexaenoic, DHA (C22:6n-3), acids) were used as algal-derived FA compounds, palmitoleic acid (C16:1) was used as diatom-derived FA compounds, and lignoceric acid (C24:0) as terrestrial-derived FA compounds (Perga et al., 2006). According to Perga et al.

(2009), the (C24:0) : (C16:0) ratio was used to track terrestrial-derived C transfer and the bacterial FA (BAFA; sum of C15:0 and C17:0 and their iso-series and anteiso-series) : (C16:0) ratio of the microbial loop transfer of C from primary producers to zooplankton and, finally, fish.

7. Data analysis

All statistical tests were performed using R 2.15.2 statistical software (R Development Core Team, 2012). Prior to one-way (ANOVA1) and two-ways (ANOVA2) variance analysis, variables that were not normally distributed as detected by Fisher's test have been log10-transformed. Normalized principal components analysis (PCA) was carried out using the package ade4 (Dray and Dufour, 2007). Prior to PCA, percentage values (*e.g.*, fatty acids) were arcsine of the square root transformed (Sokal and Rohlf, 1981).

III. Results

1. Fish PCB levels

Mean PCBs concentrations and standard deviation for fish are presented in Figure 27. Fish contaminations recorded straight after spring thaw (June 2012 and July 2013) in Lake Plan Vianney were higher than those measured in Lake Muzelle (Wilcoxon's test, $W = 162$, $p = 7.3 \times 10^{-4}$ in 2012 and $W = 331$, $p = 1.34 \times 10^{-6}$ in 2013). PCB levels determined in Lake Plan Vianney fish in June 2012 and July 2013 corresponded to the most important PCBs concentrations recorded in lakes for each year (ANOVA2, $F_{1,2} = 16.8$, $p = 1.2 \times 10^{-6}$ in 2012 and $F_{1,2} = 9.1$, $p = 3.1 \times 10^{-4}$ in 2013). For all sampling campaigns, PCB congener distribution in fish muscle was similar between Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (Fisher's exact test, $p = 0.940$). The more chlorinated PCB congeners (#138, #153 and #180) were most abundant than the less chlorinated (#28, #52 and #101) congeners in fish muscle (75% vs. 25% of the total amount, respectively).

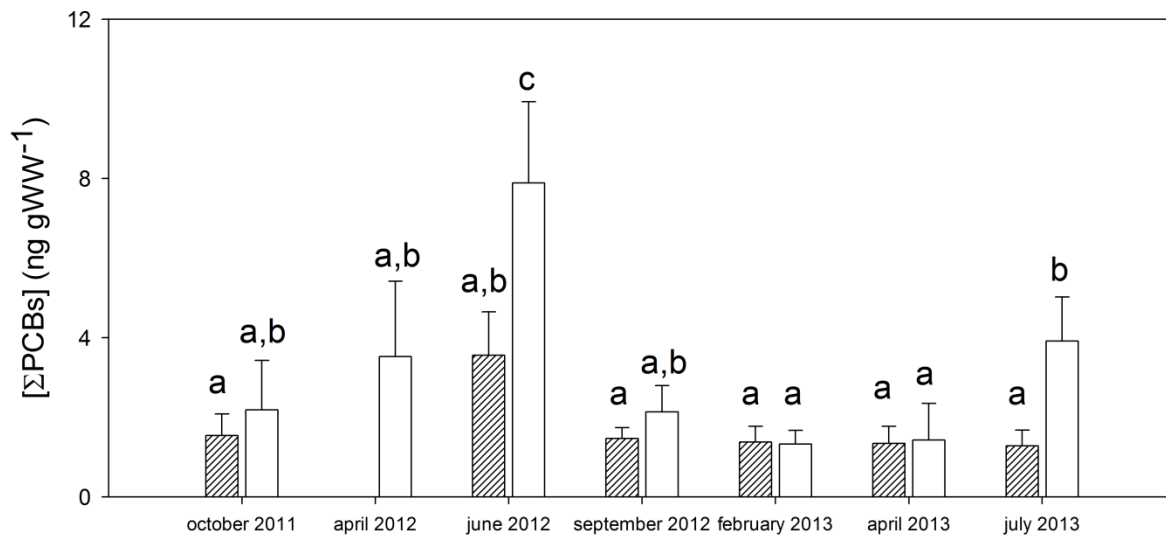


Figure 27 : mean PCBs concentration \pm standard deviation for fish at each sampling campaign. Hatched bar corresponding to Lake Muzelle and white bar to Lake Plan Vianney. Distinct letters for the comparisons of each PCB concentration indicate a significant difference (two-ways ANOVA with a Tukey's HSD tests at $\alpha = 0.05$). Σ PCBs corresponds to sum of #28, #52, #101, #138, #153 and #180 congeners' concentrations. WW means wet weight.

2. Fish characteristics

Lowest fish lengths were recorded in Lake Muzelle compare to Lake Plan Vianney (149 ± 15 mm vs. 189 ± 15 mm; t-test, $t = -6.38$, $p = 3.6 \times 10^{-9}$). Indeed, fish growth was most important in Lake Plan Vianney compare to Lake Muzelle (ANCOVA, $p = 0.821$). However, no relationship between PCBs concentrations and length was observed for Lake Muzelle ($r^2 = 0.049$, $t = 1.705$, $p = 0.094$) and Lake Plan Vianney ($r^2 = 0.018$, $t = -1.232$, $p = 0.221$).

The age of collected fish varied significantly amongst sampling campaign for Lake Muzelle (Kruskal-Wallis' test, $\chi^2 = 14.85$, $p = 6.0 \times 10^{-4}$) and Lake Plan Vianney (Kruskal-Wallis' test, $\chi^2 = 20.30$, $p = 2.5 \times 10^{-3}$). However, PCBs concentrations in fish were not correlated with age classes for Lake Muzelle ($r^2 = 0.007$, $t = 0.47$, $p = 0.641$) and Lake Plan Vianney ($r^2 = 0.028$, $t = 1.516$, $p = 0.133$).

Considering all sampling campaigns, mean of lipid content in fish muscle in Lake Muzelle ($2.9 \pm 0.8\%$ of wet weight) and Lake Plan Vianney ($2.8 \pm 1.0\%$ of wet weight) was similar (Wilcoxon's test, $W = 2858$, $p = 0.139$). For a same sampling campaign, no difference of lipid content was recorded between both studied lakes (ANOVA2, $F_{1,6} = 0.293$, $p = 0.916$).

In addition, lipid content in fish muscle for a lake was analogous between sampling campaigns (ANOVA2, $F_{1,6} = 0.714$, $p = 0.400$). Finally, no correlation were found between lipid content and PCBs concentrations in fish for Lake Muzelle ($r^2 = 0.014$, $t = -0.892$, $p = 0.376$) and Lake Plan Vianney ($r^2 = 0.002$, $t = 0.398$, $p = 0.692$).

3. Food web structure

Average carbon isotope values (\pm standard deviation) of fish and seston size fractions are presented in Tableau 30. No significant differences in the $\delta^{13}\text{C}$ values were found between seston size fractions in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (Kruskal-Wallis' test, $\chi^2 = 0.962$, $p = 0.618$ and $\chi^2 = 1.689$, $p = 0.430$, respectively). Fish in Lake Plan Vianney had $\delta^{13}\text{C}$ ($-18.7 \pm 0.4\text{‰}$) that were between zooplankton (-20.4‰) and benthic invertebrates ($-17.7 \pm 0.4\text{‰}$). In Lake Muzelle, carbon isotope signatures of fish ($-18.4 \pm 1.4\text{‰}$) were close to benthic invertebrates ($-18.5 \pm 0.2\text{‰}$) and benthic filamentous algae ($-21.6 \pm 3.9\text{‰}$). In addition, carbon isotope signatures were similar between sampling campaign and lakes excepted for fish caught in Lake Muzelle in June 2012 and those collected in Lake Plan Vianney in February 2013 (Kruskal-Wallis' test, $\chi^2 = 22.903$, $p = 3.5 \times 10^{-3}$, Dunett's test $p = 0.021$).

Chapitre 5 : Influence de la structure des réseaux trophiques sur les niveaux de contamination aux PCB des poissons

Tableau 30 : carbon isotope signature \pm standard deviation (‰) of fish, micro-, pico- and nanoplankton in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney.

-: no data.

	Fish	Microplankton	Picoplankton	Nanoplankton
October 2011				
Lake Muzelle	-	-	-	-
Lake Plan Vianney	-18.4 \pm 0.3	-	-	-
April 2012				
Lake Muzelle	-	-	-31.2 \pm 0.2	-29.9 \pm 0.2
Lake Plan Vianney	-18.6 \pm 0.3	-	-27.6 \pm 0.2	-29.0 \pm 0.2
June 2012				
Lake Muzelle	-17.6 \pm 1.0	-28.1 \pm 2.7	-31.6 \pm 0.2	-29.0 \pm 2.0
Lake Plan Vianney	-18.2 \pm 0.2	-27.9 \pm 0.8	-29.1 \pm 1.1	-28.1 \pm 0.8
September 2012				
Lake Muzelle	-19.0 \pm 1.1	-26.5 \pm 1.9	-27.1 \pm 0.5	-26.1 \pm 0.2
Lake Plan Vianney	-18.4 \pm 0.4	-26.6 \pm 0.2	-27.0 \pm 1.0	-28.0 \pm 0.5
February 2013				
Lake Muzelle	-18.8 \pm 2.4	-31.3 \pm 3.4	-27.9 \pm 0.4	-28.7 \pm 1.7
Lake Plan Vianney	-20.3 \pm 0.6	-25.0 \pm 0.6	-28.5 \pm 0.6	-27.4 \pm 0.2

The amounts of the main FAs identified for each sampling campaigns and lakes are given in Tableau 1. Major FAs were C18:1n-9, C16:0, C16:1, C18:2n-6 and C20:5n-3 (EPA). FAs included in the PCA were targeted for their potential role as trophic markers (EPA, DHA, BAFA, C16:1 and C24:0). The two first components of the PCA accounted of 77.1% of total variability (Figure 28). EPA, BAFA, C16:1 and DHA had the highest loadings on the first principal component (PC) and C24:0 on the second PC. Samples scores on the first PC made it possible to distinguish fish with the most positive scores (*i.e.*, Lake Muzelle, September 2012), indicating that they were depleted in EPA and DHA. The first PC essentially accounted for the variability in FAs composition amongst fish collected in Lake Muzelle (Figure 28). Fish collected in June 2012 had negative scores on the second PC, illustrating a lower content in the terrestrial biomarker C24:0 relatively to fish caught in September 2012. However, analysis of targeted FA [algal (EFA), diatom (C16:1) and terrestrial (C24:0)] and indexes (terrestrial and microbial loop transfers of C) of fish had shown no significant difference between and within studied lakes (Tableau 32). In Lake Muzelle and Lake Plan Vianney, major FA compounds were derived from algae (Tableau 32; 23.87% - 33.70% and 24.23% - 36.07% of total FA weight, respectively) and diatom (Tableau 32; 7.98% - 14.46% and 7.03% - 16.25% of total FA weight, respectively).

Tableau 31 : mean \pm standard deviation percentages of identified fatty acids (FA) in fish from Lake Muzelle and Lake Plan Vianney.
BAFA: bacterial fatty acids.

	C16:0	C16:1	C18:1n-9	C18:2n-6	C18:3n-3	C20:4n-6	C20:5n-3	C22:6n-3	C24:0	BAFA
June 2012										
Lake Muzelle	15.79 \pm 1.36	15.49 \pm 1.09	19.71 \pm 2.33	9.78 \pm 0.94	4.21 \pm 0.59	0.38 \pm 0.06	9.91 \pm 2.03	3.20 \pm 0.96	0.02 \pm 0.01	0.79 \pm 0.14
Lake Plan Vianney	12.60 \pm 0.50	14.23 \pm 1.60	18.00 \pm 2.07	8.97 \pm 1.00	2.76 \pm 0.56	0.27 \pm 0.15	7.12 \pm 0.86	3.88 \pm 0.95	0.02 \pm 0.02	0.96 \pm 0.20
September 2012										
Lake Muzelle	19.83 \pm 9.33	13.00 \pm 3.91	10.00 \pm 3.21	8.57 \pm 2.51	4.59 \pm 1.63	0.36 \pm 0.11	6.71 \pm 1.95	1.03 \pm 0.38	0.04 \pm 0.02	0.70 \pm 0.20
Lake Plan Vianney	17.42 \pm 3.05	16.77 \pm 2.96	16.86 \pm 3.11	9.42 \pm 1.75	2.59 \pm 0.46	0.12 \pm 0.02	5.53 \pm 1.04	2.81 \pm 0.55	0.05 \pm 0.01	1.01 \pm 0.13

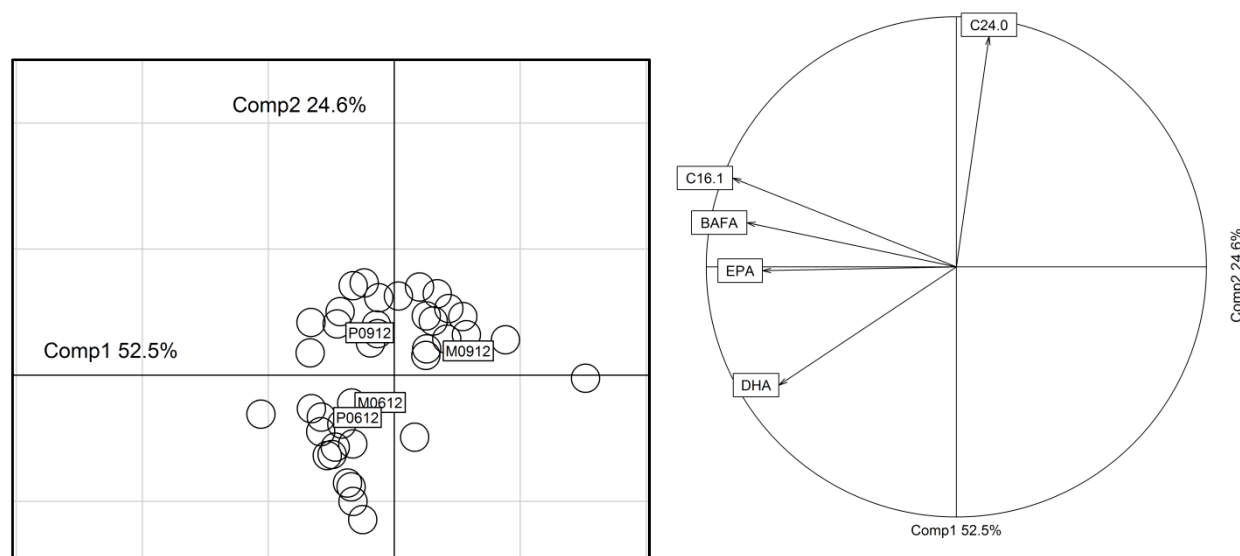


Figure 28 : results from the principal component analyses on fatty acids composition of fish for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney. M and P mean respectively Lake Muzelle and Lake Plan Vianney follow-up by sampling date. EPA: eicosapentaenoic acid, DHA: docosahexaenoic acid, BAFA: bacterial fatty acids.

Chapitre 5 : Influence de la structure des réseaux trophiques sur les niveaux de contamination aux PCB des poissons

Tableau 32 : means of targeted fatty acid (FA) and indexes \pm standard deviation per cent amount in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney.

¹ refers to the essential fatty acids (EFA), ² refers to palmitoleic acid (C16:1), ³ refers to lignoceric acid (C24:0), ⁴ refers to the (C24:0) : (C16:0) ratio, ⁵ refers to the sum of bacterial fatty acids (BAFA) : (C16:0) ratio.
* p < 0.05 mean significant differences.

Sampling campaigns	June 2012		September 2012		ANOVA 2		
	Lake	Muzelle	Plan Vianney	Muzelle	Plan Vianney	$F_{1,3}$	p^*
Algal-derived FA compounds ¹		30.72 \pm 2.98	31.74 \pm 4.33	29.24 \pm 5.37	27.47 \pm 3.24	0.576	0.450
Diatom-derived FA compounds ²		11.33 \pm 2.68	10.02 \pm 2.99	11.22 \pm 3.24	13.00 \pm 3.25	2.029	0.159
Terrestrial-derived FA compounds ³		0.03 \pm 0.03	0.01 \pm 0.01	0.03 \pm 0.02	0.03 \pm 0.02	0.352	0.557
Terrestrial-derived C transfer ⁴		0.69 \pm 0.20	0.66 \pm 0.24	0.55 \pm 0.19	0.63 \pm 0.19	1.011	0.318
Microbial loop transfer of C ⁵		0.04 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.22 \pm 0.14	0.04 \pm 0.01	0.559	0.457

4. PCBs and phytoplankton in water

Seston size fractions and dissolved phase were both collected as part of this study and analyzed for PCBs and phytoplankton biomass (Nellier et al., 2015b). In both studied lakes, PCBs concentration in bulk water (particulate + dissolved) increased in spring (June 2012 and July 2013) as a consequence of PCBs input by snowmelt (Nellier et al., 2015a).

In spring 2012 and 2013, PCBs concentrations measured in dissolved phase in Lake Muzelle were lower than those obtained in Lake Plan Vianney (in June 2012: 14 \pm 3 pg L⁻¹ vs. 29 \pm 5 pg L⁻¹; in July 2013: 21 \pm 5 pg L⁻¹ vs. 34 \pm 7 pg L⁻¹). In late summer/autumn (September 2012), dissolved PCBs concentration was similar to this measured in spring for Lake Muzelle (14 \pm 3 pg L⁻¹ vs. 12 \pm 3 pg L⁻¹) contrary to Lake Plan Vianney where a significant decrease was observed (29 \pm 5 pg L⁻¹ vs. 7 \pm 1 pg L⁻¹).

In June 2012, PCBs concentration associated with particulate matter (*i.e.*, seston size fractions) were higher in Lake Muzelle (166 \pm 30 pg L⁻¹) than Lake Plan Vianney (89 \pm 16 pg L⁻¹). In contrast, in July 2013, highest seston's PCBs concentration was measured in Lake Plan Vianney compare to Lake Muzelle (65 \pm 12 pg L⁻¹ and 39 \pm 7 pg L⁻¹, respectively). When lakes were ice free, PCBs were mainly adsorbed on microplankton (2.7 μ m to 20 μ m size class). Yet, differences in PCBs concentration have been observed between both studied

lakes especially in June 2012 ($159 \pm 29 \text{ pg L}^{-1}$ in Lake Muzelle and $64 \pm 11 \text{ pg L}^{-1}$ in Lake Plan Vianney).

Analysis of phytoplankton biomass highlighted substantial differences between both studied lakes (Nellier et al., 2015b). Phytoplankton biomass was higher in Lake Muzelle compare to Lake Plan Vianney for all sampling periods excepted in July 2013 (*e.g.*, in June 2012: $30.28 \text{ } \mu\text{gC L}^{-1}$ vs. $0.08 \text{ } \mu\text{gC L}^{-1}$; in July 2013: $6.01 \text{ } \mu\text{gC L}^{-1}$ vs. $21.46 \text{ } \mu\text{gC L}^{-1}$, respectively).

Bulk water PCB concentrations, particulate-dissolved phase PCBs partition and phytoplankton biomass were included in the PCA to identify main(s) parameter(s) influencing fish's PCB levels in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney (Figure 29). The retained PC explained 80.3% of the total variance and the first PC accounted for 54.5% of the variance, correlating significantly with PCBs concentration associated with seston (*i.e.*, particulate matter) or microplankton, bulk water PCBs loads (particulate + dissolved) and phytoplankton biomass. PCBs concentration in fish and dissolved phase were positively correlated with the second PC. Samples scores of the first PC made it possible to distinguish fish sampled in 2012 that had more negative scores relatively to those caught in 2013. Moreover, inspection of the corresponding score plot revealed discrimination of samples into two major clusters along the second PC: the "bottom" cluster corresponding to all fish collected in Lake Muzelle and those caught in Lake Plan Vianney in winter (April 2012, February and April 2013) and late summer/autumn (September 2012); the "top" cluster formed by fish caught in Lake Plan Vianney right after spring thaw (June 2012 and July 2013). Analysis of relationship, highlighted positive correlation between fish PCB levels and PCBs concentration in dissolved phase ($r^2 = 0.517$, $t = 7.222$, $p < 0.01$). In contrast, no relationship was found between PCBs concentration in fish and others parameters (data not shown).

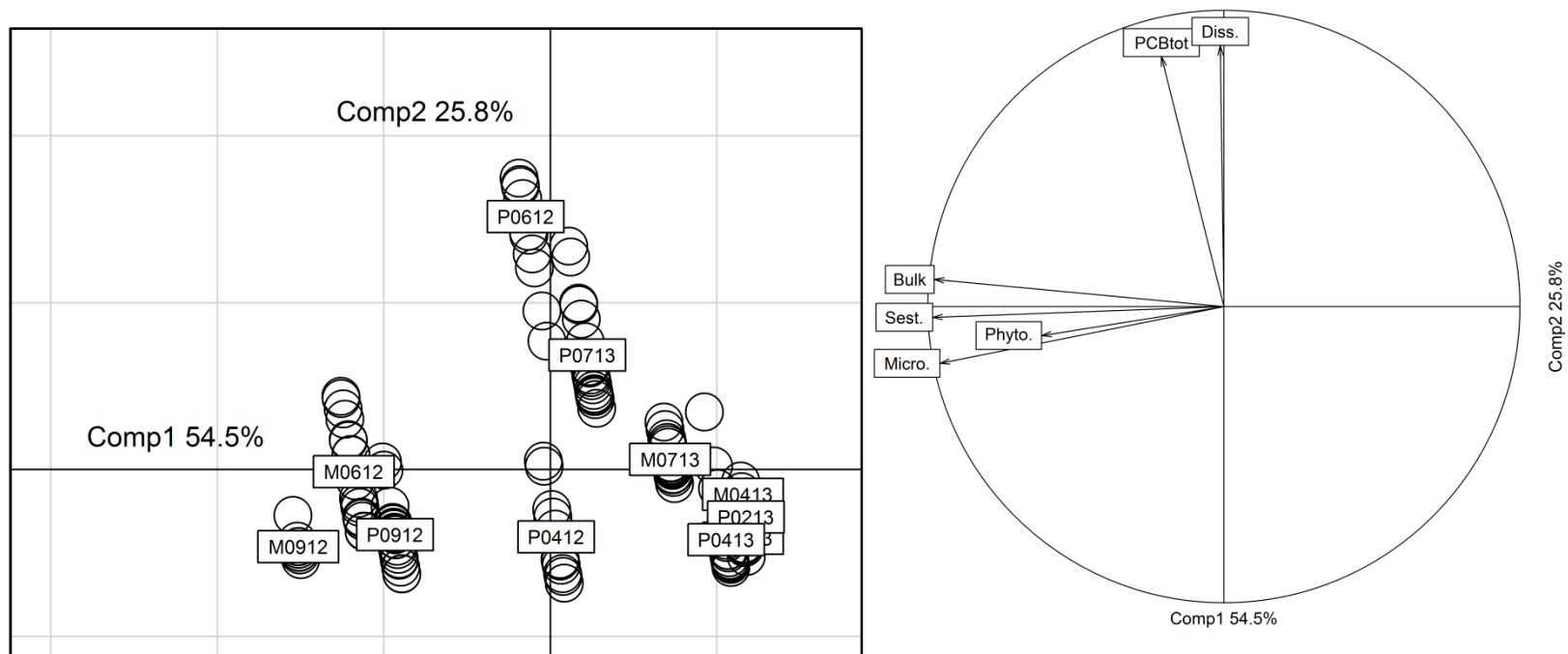


Figure 29 : results from the principal component analyses consisting of PCBs fish contamination for each sampling campaign and both studied lakes using particulate-dissolved phase partition, phytoplankton biomass and PCBs fish concentration parameters.

M and P mean respectively Lake Muzelle and Lake Plan Vianney follow-up by sampling date.

Bulk: mean (surface and bottom water) PCBs in bulk water (particulate + dissolved)*, Sest.: mean (surface and bottom water) PCBs concentration associated with seston size fractions (micro-, nano- and picoplankton)*, Micro.: mean (surface and bottom water) PCBs concentration associated with microplankton (20 to 2.7 μm size class)*, Diss.: mean (surface and bottom water) PCBs in dissolved phase*, PCBtot: PCBs concentration in fish muscle and Phyto.: mean (surface and bottom water) phytoplankton biomass*.

PCBs refer to sum of congeners #28, #52, #101, #138, #153 and #180.

* data from Nellier et al. (2015b).

IV. Discussion

Fish PCB levels in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney were in the same range of those found in European remote lakes (Schmid et al., 2007; Vives et al., 2004). The dominance of more chlorinated congeners #138, #153 and #180 was most probably due to their highest hydrophobicity compare to less chlorinated congeners #28, #52 and #101 (Mackay et al., 2006; $\log K_{ow} = 6.71$ to 7.16 vs. $\log K_{ow} = 5.55$ to 6.15 , respectively). Analysis of PCBs concentration in fish over the years 2012 and 2013 highlighted a seasonal trend in Lake Plan Vianney in contrast to Lake Muzelle. The fish level of PCBs were therefore firstly discussed in Lake Plan Vianney to identify main(s) parameter(s) responsible of such seasonal variation. Then, a comparison with the vicinal Lake Muzelle was performed to assess the role of internal biogeochemical lake process (habitat use and phytoplankton biomass) on inter-lakes differences of PCBs concentration in fish.

1. Seasonal variations of fish PCB levels in Lake Plan Vianney

Straight after spring thaw (*i.e.*, June 2012 and July 2013), PCBs concentration in fish was higher than those measured in winter or in late summer/autumn (Figure 27). In literature, annual cycles of PCBs contamination have been previously reported for fish (Drouillard et al., 2009; Greenfield et al., 2005; Paterson et al., 2007) and seston (Hargrave et al., 2000; McCusker et al., 1999). In these studies, primary variables affecting PCBs concentration in aquatic organisms over the year were correlated to their metabolic functioning, especially their lipid content and PCBs depuration rates.

Generally, POPs concentration in freshwater organisms is positively correlated with their lipid content (Deribe et al., 2011; Kidd et al., 1998). Moreover, fish usually acquire most lipid in tissue - and lipophilic pollutants such as PCBs - with increasing age and therefore a positive correlation is observed between PCB levels and fish's age (Larsson et al., 1996). However, no significant difference in PCBs concentration between age classes has been found in Lake Plan Vianney. In addition, the seasonal variation of PCBs concentration in fish did not corresponded with similar variation in lipid concentration. Although PCBs are lipophilic, tissue lipid content would not be the main factor governing PCBs accumulation by fish from high altitude lakes in agreement with previous investigations conducted on Lake Michigan

(Manchester-Neesvig et al., 2001; Stow, 1995; Stow et al., 1997) and remote Lake Redo (Vives et al., 2005).

In northern latitude, highest PCB depuration rates have been observed in summer period resulting from an increase of elimination rates (fecal egestion and respiration) and growth dilution (Drouillard et al., 2009; Paterson et al., 2007). Actually, elimination kinetics of PCBs by fish are positively correlated with water temperature (Buckman et al., 2004). In high altitude lakes, water temperature is maximal from August to mid-September that might enhance fish activity and therefore PCBs depuration rates. In fact, fish from September 2012 were sampled 92 days later 2012 than those from June 2012. This time passing was greater (or quite similar) than the depuration half life for studied PCBs congeners (Buckman et al., 2006; Gobas and MacKay, 1987; Goerke and Weber, 2001; Hawker and Connell, 1985). Thus, increase of fish activity in summer could explain the decrease of PCB levels measured at the end of September 2012 in Lake Plan Vianney. During fall and winter, the cool water (approximately 4°C) and the darkness resulting from ice layer on lakes surface reduce fish activity. It would limit the PCBs depuration by fish and contribute to maintain a constant fish PCB levels until the summer period.

In spite of this PCBs elimination kinetic, an increase of fish PCBs has been found in June 2012 and July 2013. Bulk water (particulate + dissolved) shown same PCBs concentration dynamic (Nellier et al., 2015b). Straight after spring thaw, PCBs were mainly associated with particulate matter especially microplankton (2.7 to 20 µm size class), the preferred size class for filter-feeding consumers (*e.g.*, crustacean zooplankton). This result suggest that PCBs - and overall POPs - might be mainly transferred to the fish compartment from high altitude lakes by bioaccumulation process as observed in others studies (Catalan et al., 2004; Kidd et al., 2001; Kidd et al., 1998). Nevertheless, PCA (Figure 29) highlighted the lack of relationship between PCBs concentration in fish and microplankton PCB levels. In contrast, a positive correlation was found between PCBs concentration associated with dissolved phase (< 0.7 µm) and fish contamination. Thus, bioconcentration appears to be the main pathway by which fish absorbed PCBs in Lake Plan Vianney.

2. Inter-lakes differences

In contrast to Lake Plan Vianney, fish PCB levels were similar over the year in Lake Muzelle though they are submitted to same PCBs inputs (Nellier et al., 2015a). In addition, lipid content of sampled fish was similar between both studied lakes. Therefore, these substantial differences might result from different biogeochemical lake processes. According to previous studies (Guildford et al., 2008; Lopes et al., 2011; Wilson et al., 1995), feeding habits could explain such differences between both studied lakes. Stable carbon isotope signature highlighted that all fish collected in Lake Muzelle ($-18.4 \pm 1.4\text{‰}$) and Lake Plan Vianney ($-18.7 \pm 0.4\text{‰}$) fed on littoral/benthic zones. Indeed, investigations of the gut content (data not shown) revealed that *Chironomidae* represented about 60 to 75% of total prey in September 2012, respectively for Lake Muzelle and Lake Plan Vianney. In addition, FA analysis has shown that algal- and diatom-derived C supported fish growth for both lakes. Thus, inter-lake differences of PCBs concentration in brown trout and arctic charr did not appear to be correlated both to the habitat use and the carbon source sustaining fish growth.

Other possible explanation includes a difference of phytoplankton biomass between Lake Muzelle and Lake Plan Vianney straight after spring thaw. As shown for Lake Maggiore (Nizzetto et al., 2012), highest phytoplankton biomass might reduce the dissolved phase concentration and increase PCBs export to sediments that would limit the exposure of the pelagic food web. However, no correlation was found between fish PCB levels and phytoplankton biomass (Figure 29). Therefore, this process referred as the phytoplankton biological pump (Jurado and Dachs, 2008; Lohmann et al., 2007) would not seem to occur in Lake Muzelle and Lake Plan Vianney. This result was in accordance with Nellier et al. (2015b) highlighting that phytoplankton biomass would not affect the partitioning and consequently fate of PCBs in these high altitude lakes.

Contrary to Lake Plan Vianney, dissolved phase PCBs concentrations in Lake Muzelle as well as fish PCB levels not differed over the year. It would suggest that fish absorbed PCBs from the dissolved phase only through its respiratory and dermal surfaces rather than diet exposure. Even though the increase of water temperature in summer period enhance depuration rates (Buckman et al., 2004), analogous dissolved phase PCBs concentration along the year in Lake Muzelle might allow to maintain an equilibrium between PCBs uptake at the respiratory surface (*i.e.*, gills) and their elimination by respiration, fecal egestion and growth dilution. As a consequence, this process could explain the lack of seasonal variation of PCB

levels in fish from Lake Muzelle. Based on the result of the 1-year mass budget (Nellier et al., 2015a), difference of PCBs concentration in dissolved phase between both studied lakes in late summer/autumn resulted from higher water to air exchange flux (*i.e.*, volatilization) of PCBs in Lake Plan Vianney ($273 \pm 70 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$) compare to Lake Muzelle ($128 \pm 22 \text{ ng m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$). Altogether our result suggests that factor affecting PCBs concentration in dissolved phase (*e.g.* air to water exchange, atmospheric deposition) could modify very quickly fish contamination in remote lacustrine ecosystems. In context of global warming, re-volatilization of PCBs from contaminated surface reservoirs and increase of ambient temperature might affect PCBs inputs and outputs in remote aquatic ecosystems. Therefore, levels of PCB in dissolved phase and fish could be modified. In some remote area (*e.g.*, Canadian Arctic), fish can form an important part of people's diets. Modeling the effect of climate changes on fish PCBs concentration in these ecosystems appears as an important issue in order to protect these at-risk populations.

V. **Conclusion**

One of the original aims of this investigation was to compare fish PCB levels from two nearby lakes submitted to same PCBs inputs throughout two years. This study shows that fish characteristics (age, size and lipid content) and food web structure (phytoplankton biomass, habitat use and carbon sources) do not affect PCB levels of fish in these remote aquatic ecosystems. Finally, this investigation highlights the importance of bioconcentration process, which has been largely ignored until now, as primary source of contaminants for fish in high altitude lakes. Thus, parameters governing PCBs concentration in dissolved phase (water-air interface exchange and atmospheric deposition) appear as key parameters influencing PCBs concentration in fish from these remote ecosystems. In addition, this study is the first to assess the seasonal variation of the PCBs concentration in fish from high altitude lakes. This investigation shows a seasonal variation of fish PCB levels in one of two studied lakes resulting from a variability of PCBs concentration in dissolved phase. This result implies that further monitoring programs of fish PCBs contamination between high altitude lakes should be planned when it is isolated from allogenic perturbations, namely when surface of lakes was ice-covered.

ACKNOWLEDGMENTS

Many people have contributed to this study. In particular, we would thank Martial Armand for the fatty acid analysis and age determination of fish; Valerie Hamelet for age determination of fish; Joel Subtil, Emmanuel Malet, Jean-Christophe Hustache and staff of Parc National des Ecrins for technical support and assistance during sampling period. This research was supported by the Region Rhône-Alpes and the Fondation Eau, Neige & Glace.

Chapitre 6 : Discussion générale et perspectives

L'objectif de ces travaux de thèse était d'évaluer l'influence des processus biogéochimiques sur le transfert des PCB atmosphériques des lacs d'altitude jusqu'à la faune piscicole. Pour cela, il était nécessaire d'identifier d'une part les voies de transfert des PCB atmosphériques aux lacs d'altitude puis, d'évaluer l'influence des processus internes au lac sur le devenir des PCB dans ces écosystèmes. Le dernier enjeu consistait à quantifier plus spécifiquement la capacité d'un de ces processus internes, c'est à dire la structure du réseau trophique, à intégrer puis transférer les PCB atmosphériques jusqu'aux consommateurs supérieurs. Ce travail repose essentiellement sur des mesures des concentrations de PCB dans les différentes matrices environnementales (dépôts atmosphériques, poissons, colonne d'eau, etc) couplées à celles de paramètres physiques et biologiques (température, biomasse phytoplanctonique, etc) et des analyses de biomarqueurs trophiques. Ce dernier chapitre a pour objectif de discuter les verrous levés et de mettre en perspective les connaissances scientifiques apportées par l'ensemble de ce travail.

Le bilan de masse de PCB dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney conclut au rôle de puits de PCB atmosphériques que jouent ces lacs pour les milieux montagnards. Bien que les flux de PCB entrants aux lacs soient supérieurs aux flux sortants, les investigations réalisées mettent en évidence des différences concernant les processus responsables de la diminution des concentrations de PCB dans la colonne d'eau : export par l'exutoire pour le lac de Plan Vianney, volatilisation et stockage dans les sédiments pour le lac de la Muzelle. Ces différences entre lacs ont des enjeux considérables puisqu'elles déterminent le devenir des PCB intégrés dans ces milieux, *i.e.* immobilisation au moins temporaire en altitude ou au contraire, leur transfert vers d'autres milieux aquatiques y compris ceux de plaine. Néanmoins, comme pour les études du même genre précédemment relevées dans la littérature (*e.g.*, Blais et al., 2001b; Meijer et al., 2006), le bilan de masse des PCB a été réalisé à partir des flux de PCB entrants et sortants calculés à partir des seules concentrations de PCB des compartiments abiotiques (colonne d'eau, atmosphère), excluant la composante biologique (poissons, macro-invertébrés benthiques), même si elle représente probablement des "réservoirs" non négligeables de PCB dans ces écosystèmes lacustres d'altitude. Par exemple, en estimant que les bergers et pêcheurs sportifs capturent 200 poissons, de poids moyen 200 g, par an au lac de la Muzelle, la pêche seule exporterait $0,2 \text{ mg PCB}\cdot\text{an}^{-1}$, c'est à dire, d'un ordre de grandeur comparable au flux de diffusion des PCB depuis la colonne d'eau vers les

sédiments. De même, l'émergence des adultes d'insectes (*e.g.*, diptères) des lacs d'altitude peut être un vecteur d'export de PCB des lacs d'altitude. Les formes larvaires de ces insectes se développent dans les sédiments lacustres (*i.e.*, macro-invertébrés benthiques) desquels ils accumulent les POP stockés selon des valeurs importantes de facteurs de bioaccumulation (*i.e.*, 10 ; Ciborowski and Corkum, 1988; Larsson, 1984; Steingraeber et al., 1994). Leur migration verticale du sédiment à la surface durant la nymphose, puis leur émergence, remobilisent les PCB du sédiment lacustre à la colonne d'eau, où les nymphes peuvent être la proie des poissons, voire aux réseaux trophiques terrestre lorsque les adultes prennent leur envol et sont capturés par des prédateurs invertébrés (araignées) ou vertébrés (oiseaux). L'estimation du flux de PCB remobilisé et exporté nécessite de connaître la densité de macro-invertébrés dans les sédiments (disponibles uniquement pour d'autres milieux aquatiques de plaine : jusqu'à 9 000 larves de *Chironomideae* par m² en rivière ; Berg and Hellenthal, 1992) ainsi que l'efficacité de transfert des PCB du sédiment aux macro-invertébrés benthiques (fonction de la granulométrie ou de la composition de la matière organique du sédiment (Granberg and Forbes, 2006; Granberg and Selck, 2007; Gunnarsson et al., 1999; Hecht et al., 2004; Neff, 1984). A ce titre, des expériences *in situ* de mise en contact de macro-invertébrés benthiques (*e.g.*, *Chironomideae*) avec les sédiments (Ferrari et al., 2013) devront être réalisées pour évaluer la biodisponibilité des PCB pour les organismes benthiques. Dans le cadre d'une collaboration avec Benoît Ferrari, une expérience préliminaire de mise en contact de *Chironomideae* avec les sédiments des lacs de la Muzelle et de Plan Vianney a déjà été réalisée. Les concentrations de PCB mesurées dans les chironomes après 7 jours d'exposition ont mis en évidence une bioaccumulation de ces polluants par ces organismes benthiques. Les facteurs de bioaccumulation obtenus sont de 1,3 pour le lac de la Muzelle et de 1,4 pour le lac de Plan Vianney. La Figure 30 présente les différents flux de PCB envisagés dans le lac de la Muzelle.

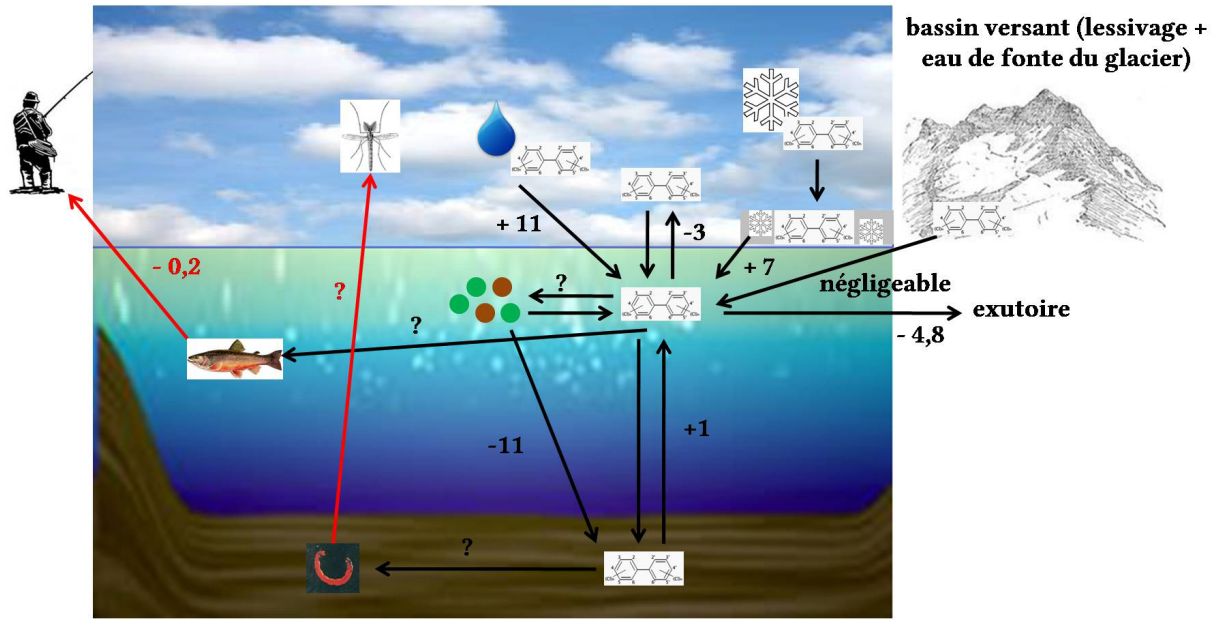


Figure 30 : flux de PCB envisagés dans le lac de la Muzelle (mg PCB an⁻¹).
En noir, les flux mesurés dans cette étude et en rouge les flux de PCB évalués.

Comme pour les flux, les bilans de masse établis reposaient sur des hypothèses quand aux sources les plus probables : lessivage du bassin versant par les précipitations, dépôts atmosphériques directs à la surface du lac ou eaux de fonte du glacier pour le lac de la Muzelle. Les modèles obtenus identifient les dépôts atmosphériques directs à la surface du lac comme la principale voie de transfert des PCB atmosphériques pour les deux lacs étudiés (de 64% à environ 100% des intrants). De plus, la contribution des dépôts neigeux dans le stockage et le vecteur de transfert des PCB atmosphériques (40% des dépôts atmosphériques annuels aux lacs d'altitude) à ces écosystèmes lacustres d'altitude, confirme les hypothèses formulées précédemment dans la littérature (Daly and Wania, 2004; Grimalt et al., 2009; Herbert et al., 2006). Au moment de la fonte nivale, le transfert des PCB atmosphériques stockés dans le manteau neigeux aux lacs est, de plus, un phénomène très rapide (1 à 2 semaines) qui entraîne une augmentation des concentrations de PCB dans la colonne d'eau. Ce phénomène coïncide avec le redémarrage de la production primaire liée à la disparition de la couche de neige en surface qui permet l'exposition à la lumière (chapitre 2, § III.2.b, p 37-38). Dans la littérature (Hamelink et al., 1994), il est classiquement admis que la répartition des PCB entre les phases particulaires et dissoutes dans la colonne d'eau est un paramètre clé déterminant le devenir de ces composés dans les milieux aquatiques. Ainsi,

nous attendions que cette coïncidence temporelle entre les deux phénomènes génère des interactions fortes entre matières particulaires lacustres, plus spécifiquement le phytoplancton, et les PCB libérés lors de la fonte du manteau neigeux, conditionnant leur transfert dans le réseau trophique, leur export vers les sédiments ou leur volatilisation. Contre toute attente, nos résultats n'ont pas pu confirmer l'influence du phytoplancton sur la répartition des PCB dans la colonne d'eau. L'interprétation de ce résultat contre-intuitif repose sur l'analyse de la relation entre coefficient de partage (eau/particules) des PCB dans la colonne d'eau et coefficient de partage octanol-eau (lié à l'hydrophobie des composés). En période d'eaux libres, la répartition des PCB dans la colonne d'eau ne dépend pas de l'hydrophobie des composés, mettant en évidence l'existence d'un état de non-équilibre thermodynamique de répartition des PCB entre les phases particulaires et dissoutes. Cette absence d'équilibre thermodynamique résulte vraisemblablement de variations, au cours du temps, de certains paramètres d'influence soumis à la variabilité environnementale (température, matières en suspension). Selon des études précédentes (Dachs et al., 1999; Dachs et al., 2000), l'accumulation des PCB par le phytoplancton serait plus lente que la croissance algale (très rapide en période d'eaux libres), entraînant une dilution des PCB par la croissance, première raison pour laquelle l'état d'équilibre ne pourrait être atteint. Le suivi haute-fréquence de la concentration en Chlorophylle *a* (chapitre 2, Figure 15) a souligné d'importantes variations de la biomasse phytoplanctonique au début du printemps : la production primaire redémarre avant la débâcle mais reste faible tant que le lac reste isolé physiquement de l'atmosphère. Ainsi, c'est seulement pour cette période de temps courte que la répartition des PCB entre les phases particulaires et dissoutes peut atteindre l'état d'équilibre thermodynamique. Les périodes de production maximale suivent la mise en place de la stratification thermique de la colonne d'eau, alors la variabilité environnementale limite l'atteinte de l'équilibre et donc la prédiction des concentrations de PCB particulaires à partir des concentrations dissoutes. Ces limites soulèvent le problème des échelles de temps dans la compréhension du devenir des PCB, qui impliquent des réactions rapides et plus lentes en fonction de l'état d'isolement du système et qui impose d'adapter notamment la fréquence des mesures. Des limites comparables pourraient notamment expliquer en partie nos conclusions quant aux processus responsables des différences saisonnières de niveaux de contamination aux PCB de la faune piscicole.

En effet, notre hypothèse initiale (*i.e.*, cette variabilité de contamination aux PCB des poissons observés résulterait de différences de structure du réseau trophique) n'a pu être confirmée (chapitre 5). Au regard de nos résultats, les voies de transfert du carbone et des PCB dans les réseaux trophiques des écosystèmes lacustres d'altitude semblent donc dissociées, à la différence des écosystèmes marins (Dachs et al., 2002; Jurado et al., 2007). Néanmoins, les marqueurs trophiques utilisés ont un temps de renouvellement assez lents (de quelques semaines pour les acides gras des lipides neutres (Koussoroplis et al., 2010) à quelques mois pour les isotopes du tissu musculaire (Perga and Gerdeaux, 2005), ce qui pourrait fortement limiter leur capacité à détecter des interactions trophiques intenses mais courtes (O'Reilly et al., 2002), comme celles susceptibles de se produire dès le redémarrage de la production phytoplanctonique, sous glace, ou lors d'un changement transitoire d'habitat alimentaire. Ainsi, l'augmentation des concentrations de PCB pour les poissons capturés dans le lac de Plan Vianney après la fonte nivale pourrait être provoquée par un changement d'habitat alimentaire. Notre hypothèse est que la source de carbone soutenant la croissance piscicole à cette période serait pélagique, favorisant un transfert trophique direct des PCB accumulés par le phytoplancton au zooplancton puis aux poissons. Nos résultats pourraient ainsi partiellement sous estimer le rôle des transferts trophiques à ces périodes particulièrement actives de transition d'état des systèmes lacustres. Bien que la conclusion principale, *i.e.* les différences saisonnières et inter-lacs de niveaux de contamination aux PCB de la faune piscicole dépendent essentiellement de la variabilité des concentrations en PCB dans la phase dissoute, ne soit pas fondamentalement bouleversée par ces limites, elles encouragent là encore à approcher la question du transfert des PCB avec une meilleure résolution temporelle, notamment pour évaluer l'importance respective des voies dissoutes et trophiques dans le phénomène de bioaccumulation des PCB par les poissons dans ces écosystèmes lacustres d'altitude

Un message majeur de ce travail est celui du rôle prépondérant des conditions environnementales (hydrologie, température, saisonnalité) sur le devenir des PCB dans ces lacs d'altitude, suggérant de fait que le changement climatique, qui exerce un impact majeur sur l'ensemble de ces caractéristiques en lacs d'altitude, pourrait profondément affecter l'écodynamique des PCB en milieu de montagne (chapitre 4) et les niveaux de contamination aux

PCB de la faune piscicole (chapitre 5), dans les prochaines décennies. A ce titre, j'ai tenté d'explorer les effets attendus du changement climatique sur le devenir des PCB dans les lacs d'altitude et d'établir une démarche stratégique à mettre en place pour valider ces hypothèses.

Pour estimer au mieux l'impact du réchauffement climatique sur le devenir des PCB, nous pouvons envisager trois des scénarii de l'IPCC (<http://www.ipcc.ch>) : (i) le scénario B1, le plus optimiste, où la variation moyenne de température sera de + 1,8°C sur un siècle, (ii) le scénario intermédiaire B2 avec une augmentation de température de + 2,4°C pour le siècle à venir, et (iii) le scénario A1F, le plus alarmiste, où la variation moyenne de température sera de + 4,0°C sur un siècle.

La hausse des températures de l'air pourrait favoriser la volatilisation des PCB stockés dans les masses d'eau ou les sols (*e.g.*, Dalla Valle et al., 2007), entraînant l'augmentation de leur concentration dans l'atmosphère. A l'aide du modèle BETR-Global (Lamon et al., 2009; MacLeod et al., 2005), les concentrations de PCB dans l'atmosphère pourront être déterminées pour chaque scénarii de changement climatique. En effet, ce modèle prend en compte l'influence de la hausse de la température sur l'intensité des flux de PCB émis par les sources primaires et secondaires. Dans un contexte de changement global, les précipitations dans les milieux alpins vont également varier en intensité et en temporalité. Gobiet et al. (2014) suggèrent que les précipitations de neige augmenteront, à la différence des précipitations estivales qui diminueront (Figure 31).

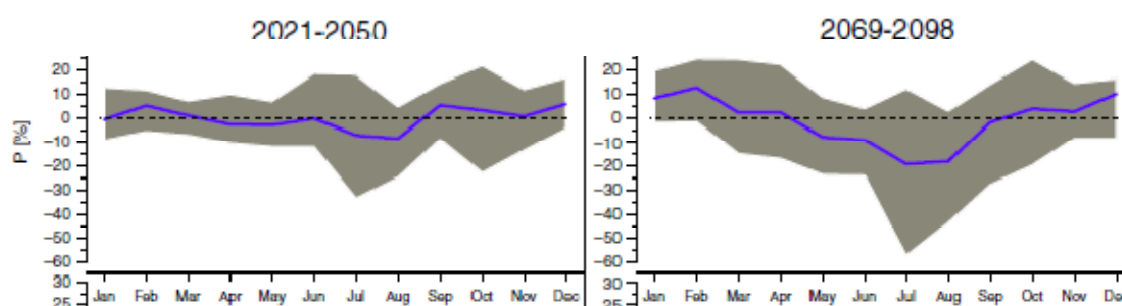


Figure 31 : prédiction du changement d'intensité des précipitations dans les régions alpines pour les prochaines décennies par rapport à la période de référence 1961-1990 (modifié d'après Gobiet et al., 2014)

La ligne bleue indique la médiane et la zone grisée représente les 90 centiles.

Puisque le manteau neigeux constitue à la fois un stock temporaire et un vecteur important de PCB pour les écosystèmes lacustres d'altitude (chapitre 3), les concentrations de PCB dans la colonne d'eau devraient être plus importantes que celles mesurées actuellement au début de la période estivale. Toutefois, il est difficile de prévoir le devenir des PCB ainsi libérés dans ces écosystèmes car ces changements de la température de l'eau vont également modifier certains processus biogéochimiques internes au lac tels que les échanges de PCB à l'interface air-eau ou les flux sédimentaires de PCB. Il apparaît donc indispensable d'évaluer l'effet du changement climatique sur ces différents processus biogéochimiques.

Les échanges de PCB à l'interface air-eau dépendent à la fois de la température de l'air et de l'eau, de la durée d'englacement des lacs mais aussi de la biomasse phytoplanctonique. Kettle et al. (2004) et Livingstone et al. (2005) ont construit un modèle permettant d'estimer la température de l'eau à partir de la température de l'air. Ce modèle, testé dans 15 lacs d'altitude des Tatras (Šporka et al., 2006), s'est révélé tout à fait adéquat pour prédire la variation de la température de l'eau dans un contexte de changement climatique. Par ailleurs, l'augmentation de la température de l'air devrait également réduire la période d'englacement des lacs. Une modélisation réalisée par Thompson et al. (2005) sur 45 lacs d'altitude situés dans les Alpes a permis d'évaluer l'effet conjugué de la diminution de la durée d'englacement des lacs et de la hausse de la température de l'air sur la température de la colonne d'eau. Les résultats obtenus sont plutôt alarmants car, en 2100, la température de l'eau de ces écosystèmes lacustres pourrait augmenter d'environ + 10°C pour la période estivale. En considérant que la température de l'eau des lacs de la Muzelle et de Plan Vianney suive la même évolution, le flux de PCB volatilisés en 2100 sera environ 1,5 fois plus important qu'en 2012 (chapitre 3). Cependant, ce résultat ne prend pas en considération l'influence du phytoplancton sur les flux de polluants à l'interface air-eau. En effet, des changements de la biomasse phytoplanctonique pourraient modifier le flux d'absorption des PCB à l'interface air-eau via le mécanisme de « biological pump » (chapitre 1, § II.4.b, p 15-18). La hausse de la température de l'eau devrait favoriser le développement du phytoplancton. Ainsi, les flux d'absorption de PCB à l'interface air-eau et leur transfert vers les sédiments seront amplifiés. Néanmoins, le développement des producteurs primaires pourrait être limité car il dépend également des concentrations des principaux nutriments (phosphore total, nitrate) dans la colonne d'eau. Contrairement aux lacs de plaine, l'absence ou le peu d'activités humaines sur le bassin versant de ces lacs n'a pas conduit à un stockage important de phosphore dans les

sédiments lacustres. La hausse de la température de l'eau ne devrait donc pas entraîner une remobilisation importante de phosphore depuis les sédiments vers la colonne d'eau. Ainsi, même dans un contexte de changement climatique, l'augmentation de la biomasse phytoplanctonique dans ces écosystèmes lacustres d'altitude pourrait être limitée, sauf s'ils sont limités par l'azote, plutôt que par le phosphore (Lepori and Keck, 2012). L'absorption des PCB à l'interface air-eau et leur transfert vers les sédiments par le mécanisme de « biological pump » ne devraient pas s'amplifier dans les prochaines décennies. Le flux de PCB depuis l'atmosphère vers la colonne d'eau devrait donc être négligeable devant les flux de volatilisation et de transfert de ces composés au lacs sous forme de dépôts atmosphériques directs. Par conséquent, l'étude comparée de l'intensité des flux de volatilisation et de dépôts directs permettra d'évaluer le rôle de puits ou de sources de PCB pour l'atmosphère des lacs d'altitude. Selon les projections de Gobiet et al. (2014), les dépôts neigeux et estivaux seront (en moyenne) respectivement 10% plus important et 15% plus faible en 2100 que ceux enregistrés aujourd'hui (Figure 31). D'après les résultats des bilans de masse des PCB dans les lacs de la Muzelle et de Plan Vianney (chapitre 3), les intrants de PCB atmosphériques de PCB seront respectivement de 17 mg an^{-1} et de 9 mg an^{-1} . Les flux de PCB volatilisés, estimés à partir des projections de Thompson et al. (2005), seront plus faibles ($4,5 \text{ mg an}^{-1}$ pour le lac de la Muzelle et $7,5 \text{ mg an}^{-1}$ pour le lac de Plan Vianney). Malgré le changement climatique, les lacs d'altitude devraient donc encore jouer le rôle de puits de PCB atmosphériques dans les prochaines décennies.

Les résultats obtenus dans le chapitre 5 suggèrent que la voie dissoute serait la principale voie de transfert des PCB à la faune piscicole des lacs d'altitude. D'importantes variations saisonnières des niveaux de contamination aux PCB des poissons ont également été observées dans le lac de Plan Vianney. Cette variabilité saisonnière a été attribuée aux variations de concentration des PCB en phase dissoute liée à la dynamique temporelle des intrants de PCB atmosphériques. Les projections de Gobiet et al. (2014) suggère une augmentation de 10% des précipitations neigeuses en 2100 ce qui amplifiera le flux de PCB transférés au lacs d'altitudes lors de la fonte nivale. Les concentrations de PCB en phase dissoute devraient donc augmenter au début de la période estivale (juin ou juillet), ce qui entraînera une augmentation des niveaux de contamination aux PCB des poissons comparativement à ceux mesurés aujourd'hui. Néanmoins, le changement climatique pourrait également influencer sur la répartition des PCB, dans la colonne d'eau, entre les phases

particulaires et dissoute. La biomasse phytoplanctonique devrait augmenter sensiblement dans les prochaines décennies. La capacité du phytoplancton à absorber ou adsorber rapidement et efficacement les PCB pourrait entraîner un transfert de ces composés depuis la phase dissoute vers la phase particulaire. Ainsi, l'augmentation des niveaux de contamination aux PCB de la faune piscicole, suite à la fonte nivale, pourrait être faible voir nulle.

En conclusion, ce travail exploratoire suggère que le réchauffement climatique ne devrait pas modifier le rôle des lacs d'altitude (puits de PCB atmosphériques) dans l'écodynamique des PCB en milieu montagnard. Toutefois, ces résultats de modélisation méritent d'être confirmés par des expériences conduites en mésocosmes qui permettront d'évaluer l'impact du changement climatique sur les processus biogéochimiques. Concernant les niveaux de contamination aux PCB de la faune piscicole, les incertitudes sur la répartition des PCB entre les phases particulaires et dissoute ne permettent pas d'envisager leur évolution pour les prochaines décennies. Ce dernier résultat met en évidence la nécessité d'identifier l'impact du réchauffement climatique sur la répartition des PCB dans la colonne d'eau, considéré comme l'un des principaux paramètres influençant le devenir des PCB dans les milieux aquatiques.

Références bibliographiques

- Achman DR, Hornbuckle KC, Eisenreich SJ. Volatilization of polychlorinated biphenyls from Green Bay, Lake Michigan. *Environmental Science & Technology* 1993; 27: 75-87.
- AMAP. AMAP Assessment 2002: Persistent Organic Pollutants in the Arctic. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), 2004, pp. xvi + 310 pp.
- Analysis SCoU. ITTC-Recommended Procedures Fresh Water and Seawater Properties 7.5-02-01-03. 26th International Towing Tank Conference, Fukuoka, Japan, 2011.
- Anderson C, Cabana G. $\delta^{15}\text{N}$ in riverine food webs: effects of N inputs from agricultural watersheds. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 2005; 62: 333-340.
- Arellano L, Fernandez P, Fonts R, Rose NL, Nickus U, Thies H, et al. Increasing and decreasing trends of the atmospheric deposition of organochlorine compounds in European remote areas during the last decade. *Atmospheric Chemistry and Physics* 2015; 15: 6069-6085.
- Arellano L, Fernandez P, Tatosova J, Stuchlik E, Grimalt JO. Long-Range Transported Atmospheric Pollutants in Snowpacks Accumulated at Different Altitudes in the Tatra Mountains (Slovakia). *Environmental Science & Technology* 2011; 45: 9268-9275.
- Armand M. Rôle du comportement trophique des poissons sur leur contamination aux PCB en lacs d'altitude, 2013.
- Asher BJ, Wong CS, Rodenburg LA. Chiral Source Apportionment of Polychlorinated Biphenyls to the Hudson River Estuary Atmosphere and Food Web. *Environmental Science & Technology* 2007; 41: 6163-6169.
- Atlas E, Giam CS. Ambient concentration and precipitation scavenging of atmospheric organic pollutants. *Water, Air, and Soil Pollution* 1988; 38: 19-36.
- Baker JE, Capel PD, Eisenreich SJ. Influence of colloids on sediment-water partition coefficients of polychlorobiphenyl congeners in natural waters. *Environmental Science & Technology* 1986; 20: 1136-1143.
- Ballschmiter K, Zell M. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography. *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie* 1980; 302: 20-31.
- Bamford HA, Ko FC, Baker JE. Seasonal and Annual Air-Water Exchange of Polychlorinated Biphenyls across Baltimore Harbor and the Northern Chesapeake Bay. *Environmental Science & Technology* 2002; 36: 4245-4252.
- Barra R, Popp P, Quiroz R, Bauer C, Cid H, Tumpling Wv. Persistent toxic substances in soils and waters along an altitudinal gradient in the Laja River Basin, Central Southern Chile. *Chemosphere* 2005; 58: 905-915.
- Berg M, Hellenthal R. The role of Chironomidae in energy flow of a lotic ecosystem. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 1992; 26: 471-476.
- Bergen BJ, Nelson WG, Pruell RJ. Partitioning of polychlorinated biphenyl congeners in the seawater of New Bedford Harbor, Massachusetts. *Environmental Science & Technology* 1993; 27: 938-942.
- Berglund O, Larsson P, Ewald G, Okla L. The effect of lake trophicity on lipid content and PCB concentrations in planktonic food webs. *Ecology* 2001a; 82: 1078-1088.
- Bettinetti R, Quadroni S, Galassi S, Bacchetta R, Bonardi L, Vailati G. Is meltwater from Alpine glaciers a secondary DDT source for lakes? *Chemosphere* 2008; 73: 1027-1031.
- Blais JM, Schindler DW, Muir DCG, Kimpe LE, Donald DB, Rosenberg B. Accumulation of persistent organochlorine compounds in mountains of western Canada. *Nature* 1998; 395: 585-588.
- Blais JM, Schindler DW, Muir DCG, Sharp M, Donald D, Lafrenière M, et al. Melting Glaciers: A Major Source of Persistent Organochlorines to Subalpine Bow Lake in

- Banff National Park, Canada. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* 2001a; 30: 410-415.
- Blais JM, Schindler DW, Sharp M, Braekevelt E, Lafreniere M, McDonald K, et al. Fluxes of semivolatile organochlorine compounds in Bow Lake, a high-altitude, glacier-fed, subalpine lake in the Canadian Rocky Mountains. *Limnology and Oceanography* 2001b; 46: 2019-2031.
- Bogdal C, Nikolic D, Lüthi MP, Schenker U, Scheringer M, Hungerbühler K. Release of Legacy Pollutants from Melting Glaciers: Model Evidence and Conceptual Understanding. *Environmental Science & Technology* 2010; 44: 4063-4069.
- Bogdal C, Schmid P, Zennegg M, Anselmetti FS, Scheringer M, Hungerbühler K. Blast from the Past: Melting Glaciers as a Relevant Source for Persistent Organic Pollutants. *Environmental Science & Technology* 2009; 43: 8173-8177.
- Borgå K, Gabrielsen GW, Skaare JU. Biomagnification of organochlorines along a Barents Sea food chain. *Environmental Pollution* 2001; 113: 187-198.
- Borghini F, Grimalt JO, Sanchez-Hernandez JC, Barra R, García CJT, Focardi S. Organochlorine compounds in soils and sediments of the mountain Andean Lakes. *Environmental Pollution* 2005; 136: 253-266.
- Brannon JM, Davis WM, McFarland VA, Hayes C. Organic Matter Quality and Partitioning of PCB. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1998; 61: 333-338.
- Braune BM, Outridge PM, Fisk AT, Muir DCG, Helm PA, Hobbs K, et al. Persistent organic pollutants and mercury in marine biota of the Canadian Arctic: An overview of spatial and temporal trends. *Science of The Total Environment* 2005; 351-52: 4-56.
- Breivik K, Sweetman A, Pacyna JM, Jones KC. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners — a mass balance approach: 1. Global production and consumption. *Science of The Total Environment* 2002; 290: 181-198.
- Bremle G, Okla L, Larsson P. Uptake of PCBs in Fish in a Contaminated River System: Bioconcentration Factors Measured in the Field. *Environmental Science & Technology* 1995; 29: 2010-2015.
- Buckman AH, Brown SB, Hoekstra PF, Fisk AT. Toxicokinetics of three polychlorinated biphenyl technical mixtures in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 2004; 23: 1725-1736.
- Buckman AH, Wong CS, Chow EA, Brown SB, Solomon KR, Fisk AT. Biotransformation of polychlorinated biphenyls (PCBs) and bioformation of hydroxylated PCBs in fish. *Aquatic Toxicology* 2006; 78: 176-185.
- Burkhard LP. Estimating Dissolved Organic Carbon Partition Coefficients for Nonionic Organic Chemicals. *Environmental Science & Technology* 2000; 34: 4663-4668.
- Burniston DA, Strachan WJM, Hoff JT, Wania F. Changes in Surface Area and Concentrations of Semivolatile Organic Contaminants in Aging Snow. *Environmental Science & Technology* 2007; 41: 4932-4937.
- Burns CW. The Relationship between body size of filter-feeding cladocera and the maximum size of particle ingested. *Limnology and Oceanography* 1968; 13: 675-678.
- Butcher JB, Garvey EA, Bierman Jr VJ. Equilibrium partitioning of PCB congeners in the water column: Field measurements from the Hudson River. *Chemosphere* 1998; 36: 3149-3166.
- Cade TJ, White CM, Haugh JR. Peregrines and pesticides in Alaska. *Condor* 1968: 170-178.
- Carrera G, Fernández P, Grimalt JO, Ventura M, Camarero L, Catalan J, et al. Atmospheric Deposition of Organochlorine Compounds to Remote High Mountain Lakes of Europe. *Environmental Science & Technology* 2002; 36: 2581-2588.

- Carrera G, Fernandez P, Vilanova RM, Grimalt JO. Persistent organic pollutants in snow from European high mountain areas. *Atmospheric Environment* 2000; 35: 245-254.
- Carson R, Darling L, Darling L. *Silent spring*. Boston; Cambridge, Mass.: Houghton Mifflin ; Riverside Press, 1962.
- Castro-Jimenez J, Mariani G, Eisenreich SJ, Christoph EH, Hanke G, Canuti E, et al. Atmospheric input of POPs into Lake Maggiore (Northern Italy): PCDD/F and dioxin-like PCB profiles and fluxes in the atmosphere and aquatic system. *Chemosphere* 2008; 73: S122-S130.
- Castro OG, Vale C. Total PCB-organic matter correlation in sediments from three estuarine areas of Portugal. *Aquatic Ecology* 1995; 29: 297-302.
- Catalan J, Ventura M, Brancelj A, Granados I, Thies H, Nickus U, et al. Seasonal ecosystem variability in remote mountain lakes: implications for detecting climatic signals in sediment records. *Journal of Paleolimnology* 2002; 28: 25-46.
- Catalan J, Ventura M, Vives I, Grimalt JO. The Roles of Food and Water in the Bioaccumulation of Organochlorine Compounds in High Mountain Lake Fish. *Environmental Science & Technology* 2004; 38: 4269-4275.
- Cavalli L, Chappaz R, Bouchard P, Brun G. Food availability and growth of the brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), in a French Alpine lake. *Fisheries Management and Ecology* 1997; 4: 167-177.
- Cavalli L, Miquelís A, Chappaz R. Combined effects of environmental factors and predator-prey interactions on zooplankton assemblages in five high alpine lakes. *Hydrobiologia* 2001; 455: 127-135.
- Cavalli L, Pech N, Tron L, Chappaz R. Growth patterns of Arctic charr in five high altitude lakes in a French Alpine massif. *Journal of Fish Biology* 2002; 60: 453-465.
- Chen M-Y, Yu M, Luo X-J, Chen S-J, Mai B-X. The factors controlling the partitioning of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in the water-column of the Pearl River Estuary in South China. *Marine Pollution Bulletin* 2011; 62: 29-35.
- Chevreuil M, Chesterikoff A, Létolle R. PCB pollution behaviour in the River Seine. *Water Research* 1987; 21: 427-434.
- Chevreuil M, Chesterikoff A, Létolle R. Modalités du transport des PCB dans la rivière Seine (France). *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science* 1988; 1: 321-337.
- Chiou CT, Porter PE, Schmedding DW. Partition equilibriums of nonionic organic compounds between soil organic matter and water. *Environmental Science & Technology* 1983; 17: 227-231.
- Choi JW, Lee JH, Moon BS, Kannan K. Simplification and validation of a large volume polyurethane foam sampler for the analysis of persistent hydrophobic compounds in drinking water. *Journal of Environmental Monitoring* 2008; 10: 961-965.
- Ciborowski JJH, Corkum LD. Organic Contaminants in Adult Aquatic Insects of the St. Clair and Detroit Rivers, Ontario, Canada. *Journal of Great Lakes Research* 1988; 14: 148-156.
- Cleemann M, Riget F, Paulsen GB, de Boer J, Klungsjyr J, Aastrup P. Organochlorines in Greenland lake sediments and landlocked Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Science of The Total Environment* 2000; 245: 173-185.
- Cory L, Fjeld P, Serat W. Distribution patterns of DDT residues in the Sierra Nevada Mountains. *Pesticide Monitoring Journal* 1970; 3: 204-211.
- Dachs J, Bayona JM, Fowler SW, Miquel J-C, Albaigés J. Vertical fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine compounds in the western Alboran Sea (southwestern Mediterranean). *Marine Chemistry* 1996; 52: 75-86.

- Dachs J, Eisenreich SJ, Baker JE, Ko F-C, Jeremiason JD. Coupling of Phytoplankton Uptake and Air–Water Exchange of Persistent Organic Pollutants. *Environmental Science & Technology* 1999; 33: 3653-3660.
- Dachs J, Eisenreich SJ, Hoff RM. Influence of Eutrophication on Air–Water Exchange, Vertical Fluxes, and Phytoplankton Concentrations of Persistent Organic Pollutants. *Environmental Science & Technology* 2000; 34: 1095-1102.
- Dachs J, Lohmann R, Ockenden WA, Mejanelle L, Eisenreich SJ, Jones KC. Oceanic Biogeochemical Controls on Global Dynamics of Persistent Organic Pollutants. *Environmental Science & Technology* 2002; 36: 4229-4237.
- Dalla Valle M, Marcomini A, Sfriso A, Sweetman AJ, Jones KC. Estimation of PCDD/F distribution and fluxes in the Venice Lagoon, Italy: combining measurement and modelling approaches. *Chemosphere* 2003; 51: 603-616.
- Daly GL, Wania F. Organic Contaminants in Mountains. *Environmental Science & Technology* 2004; 39: 385-398.
- Delle Site A. Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants. A review. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 2001; 30: 187-439.
- Deribe E, Rosseland BO, Borgstrøm R, Salbu B, Gebremariam Z, Dadebo E, et al. Bioaccumulation of persistent organic pollutants (POPs) in fish species from Lake Koka, Ethiopia: the influence of lipid content and trophic position. *Science of The Total Environment* 2011; 410: 136-145.
- DeWit C, Fisk AT, Hobbs KE, Muir DCG, Gabrielsen GW, Kallenborn R, et al. AMAP Assessment 2002: Persistent Organic Pollutants in the Arctic. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, 2004, pp. 310.
- Dray S, Dufour A-B. The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software* 2007; 22.
- Drouillard KG, Paterson G, Haffner GD. A Combined Food Web Toxicokinetic and Species Bioenergetic Model for Predicting Seasonal PCB Elimination by Yellow Perch (*Perca flavescens*). *Environmental Science & Technology* 2009; 43: 2858-2864.
- Dueri S, Castro-Jimenez J, Zaldavar J-M. Modelling the influence of thermal stratification and complete mixing on the distribution and fluxes of polychlorinated biphenyls in the water column of Ispra Bay (Lake Maggiore). *Chemosphere* 2009; 75: 1266-1272.
- Dunnivant FM, Elzerman AW. Aqueous solubility and Henry's law constant data for PCB congeners for evaluation of quantitative structure-property relationships (QSPRs). *Chemosphere* 1988; 17: 525-541.
- Eadie BJ, Morehead NR, Landrum PF. Three-phase partitioning of hydrophobic organic compounds in Great Lakes waters. *Chemosphere* 1990; 20: 161-178.
- Eckhardt S, Breivik K, Manó S, Stohl A. Record high peaks in PCB concentrations in the Arctic atmosphere due to long-range transport of biomass burning emissions. *Atmos. Chem. Phys.* 2007; 7: 4527-4536.
- Eggleton J, Thomas KV. A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. *Environment International* 2004; 30: 973-980.
- EMEP. European Monitoring and Evaluation Programme. 2014, 2011.
- Evenset A, Christensen GN, Skotvold T, Fjeld E, Schlabach M, Wartena E, et al. A comparison of organic contaminants in two high Arctic lake ecosystems, Björnsjøen (Bear Island), Norway. *Science of The Total Environment* 2004; 318: 125-141.

- Farrington JW. Biogeochemical processes governing exposure and uptake of organic pollutant compounds in aquatic organisms. *Environmental health perspectives* 1991; 90: 75.
- Felip M, Bartumeus F, Halac S, Catalan J. Microbial plankton assemblages, composition and biomass, during two ice-free periods in a deep high mountain lake (Estany Redó, Pyrenees). *Journal of Limnology*; Vol 58, No 2 1999: 193-202.
- Fernandez P, Carrera G, Grimalt J. Persistent organic pollutants in remote freshwater ecosystems. *Aquatic Sciences* 2005; 67: 263-273.
- Ferrari BJD, Vignati DAL, Dominik J. Bioaccumulation kinetics and effects of sediment-bound contaminants on chironomids in deep waters: new insights using a low-disturbance in situ system. *Environmental Technology* 2013; 35: 456-469.
- Fisk A, Hoekstra P, Borgå K, Muir D. Biomagnification. *Marine Pollution Bulletin* 2003; 46: 522-4; author reply 525-6.
- Fitzgerald EF, Hwang S-A, Bush B, Cook K, Worswick P. Fish Consumption and Breast Milk PCB Concentrations among Mohawk Women at Akwesasne. *American Journal of Epidemiology* 1998; 148: 164-172.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J biol chem* 1957; 226: 497-509.
- Fott J, Blazo M, Stuchlik E, Strunecky O. Phytoplankton in three Tatra Mountain lakes of different acidification status. *Journal of Limnology* 1999; 58: 107-116.
- Fox ME, Carey JH, Oliver BG. Compartmental Distribution of Organochlorine Contaminants in the Niagara River and the Western Basin of Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research* 1983; 9: 287-294.
- Franz TP, Eisenreich SJ. Snow Scavenging of Polychlorinated Biphenyls and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Minnesota. *Environmental Science & Technology* 1998; 32: 1771-1778.
- Freitas H, Diamond M, Semkin R, Gregor D. Contaminant fate in high arctic lakes: development and application of a mass balance model. *Science of The Total Environment* 1997; 201: 171-187.
- Galassi S, Valescchi S, Tartari G. The distribution of PCB's and chlorinated pesticides in two connected Himalayan lakes. *Water, Air, & Soil Pollution* 1997; 99: 717-725.
- Galban-Malagon C, Berrojalbiz N, Ojeda M-J, Dachs J. The oceanic biological pump modulates the atmospheric transport of persistent organic pollutants to the Arctic. *Nature communications* 2012; 3: 862.
- Gallego E, Grimalt JO, Bartrons M, Lopez JF, Camarero L, Catalan J, et al. Altitudinal Gradients of PBDEs and PCBs in Fish from European High Mountain Lakes. *Environmental Science & Technology* 2007; 41: 2196-2202.
- Gevao B, Hamilton-Taylor J, Murdoch C, Jones KC, Kelly M, Tabner BJ. Depositional Time Trends and Remobilization of PCBs in Lake Sediments. *Environmental Science & Technology* 1997; 31: 3274-3280.
- Gevao B, Hamilton-Taylor J, Jones KC. Polychlorinated biphenyl and polycyclic aromatic hydrocarbon deposition to and exchange at the air-water interface of Esthwaite Water, a small lake in Cumbria, UK. *Environmental Pollution* 1998; 102: 63-75.
- Gevao B, Hamilton-Taylor J, Jones KC. Towards a complete mass balance and model for PCBs and PAHs in a small rural lake, Cumbria UK. *Limnology and Oceanography* 2000: 881-894.

- Geyer H, Politzki G, Freitag D. Prediction of ecotoxicological behaviour of chemicals: Relationship between n-octanol/water partition coefficient and bioaccumulation of organic chemicals by alga *Chlorella*. *Chemosphere* 1984; 13: 269-284.
- Gioia R, Jones KC, Lohmann R, Nizzetto L, Dachs J. Field-derived Henry's law constants for polychlorinated biphenyls in oceanic waters. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 2010; 115: C05024.
- Gobas FAPC, MacKay D. Dynamics of hydrophobic organic chemical bioconcentration in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1987; 6: 495-504.
- Goerke H, Weber K. Species-specific elimination of polychlorinated biphenyls in estuarine animals and its impact on residue patterns. *Marine Environmental Research* 2001; 51: 131-149.
- Gouin T, Mackay D, Jones KC, Harner T, Meijer SN. Evidence for the "grasshopper" effect and fractionation during long-range atmospheric transport of organic contaminants. *Environmental Pollution* 2004; 128: 139-148.
- Goutte A, Chevreuril M, Alliot F, Chastel O, Cherel Y, Eléaume M, et al. Persistent organic pollutants in benthic and pelagic organisms off Adélie Land, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin* 2013; 77: 82-89.
- Granberg ME, Forbes TL. Role of sediment organic matter quality and feeding history in dietary absorption and accumulation of pyrene in the mud snail (*Hydrobia ulvae*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 2006; 25: 995-1006.
- Granberg ME, Gunnarsson JS, Hedman JE, Rosenberg R, Jonsson P. Bioturbation-Driven Release of Organic Contaminants from Baltic Sea Sediments Mediated by the Invading Polychaete *Marenzelleria neglecta*. *Environmental Science & Technology* 2008; 42: 1058-1065.
- Granberg ME, Selck H. Effects of sediment organic matter quality on bioaccumulation, degradation, and distribution of pyrene in two macrofaunal species and their surrounding sediment. *Marine Environmental Research* 2007; 64: 313-335.
- Grannas AM, Bogdal C, Hageman KJ, Halsall C, Harner T, Hung H, et al. The role of the global cryosphere in the fate of organic contaminants. *Atmospheric Chemistry and Physics* 2013; 13: 3271-3305.
- Gray JS. Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. *Marine Pollution Bulletin* 2002; 45: 46-52.
- Gray JS. Reply to Fisk et al. *Marine Pollution Bulletin* 2003; 46: 525-526.
- Greenfield BK, Davis JA, Fairey R, Roberts C, Crane D, Ichikawa G. Seasonal, interannual, and long-term variation in sport fish contamination, San Francisco Bay. *Science of The Total Environment* 2005; 336: 25-43.
- Gregor D, Teixeira C, Rowsell R. Deposition of atmospherically transported polychlorinated biphenyls in the Canadian arctic. *Chemosphere* 1996; 33: 227-244.
- Grimalt JO, Fernandez P, Berdie L, Vilanova RM, Catalan J, Psenner R, et al. Selective Trapping of Organochlorine Compounds in Mountain Lakes of Temperate Areas. *Environmental Science & Technology* 2001; 35: 2690-2697.
- Grimalt JO, Fernandez P, Quiroz R. Input of organochlorine compounds by snow to European high mountain lakes. *Freshwater Biology* 2009; 54: 2533-2542.
- Grimalt JO, van Drooge BL, Ribes A, Vilanova RM, Fernandez P, Appleby P. Persistent organochlorine compounds in soils and sediments of European high altitude mountain lakes. *Chemosphere* 2004; 54: 1549-61.

- Gschwend PM, Wu S. On the constancy of sediment-water partition coefficients of hydrophobic organic pollutants. *Environmental Science & Technology* 1985; 19: 90-96.
- Guildford SJ, Muir DCG, Houde M, Evans MS, Kidd KA, Whittle DM, et al. PCB Concentrations in Lake Trout (*Salvelinus namaycush*) Are Correlated to Habitat Use and Lake Characteristics. *Environmental Science & Technology* 2008; 42: 8239-8244.
- Gunnarsson JS, Granberg ME, Nilsson HC, Rosenberg R, Hellman B. Influence of sediment-organic matter quality on growth and polychlorobiphenyl bioavailability in echinodermata (*Amphiura filiformis*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 1999; 18: 1534-1543.
- Gustafsson Ö, Gschwend PM, Buessler KO. Settling removal rates of PCBs into the Northwestern Atlantic derived from ²³⁸U-²³⁴Th disequilibria. *Environmental Science & Technology* 1997a; 31: 3544-3550.
- Gustafsson Ö, Gschwend PM, Buessler KO. Using ²³⁴Th disequilibria to estimate the vertical removal rates of polycyclic aromatic hydrocarbons from the surface ocean. *Marine Chemistry* 1997b; 57: 11-23.
- Hageman KJ, Simonich SL, Campbell DH, Wilson GR, Landers DH. Atmospheric Deposition of Current-Use and Historic-Use Pesticides in Snow at National Parks in the Western United States. *Environmental Science & Technology* 2006; 40: 3174-3180.
- Hamelink J, Landrum PF, Bergman H, Benson WH. Bioavailability: physical, chemical, and biological interactions: CRC Press, 1994.
- Hammar J, Dempson JB, Verspoor E. Natural Hybridization between Arctic Char (*Salvelinus alpinus*) and Brook Trout (*S. fontinalis*): Evidence from Northern Labrador. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 1991; 48: 1437-1445.
- Harding Jr L, Phillips Jr J. Polychlorinated biphenyl (PCB) uptake by marine phytoplankton. *Marine Biology* 1978; 49: 103-111.
- Hargrave B, Vass W, Erickson P, Fowler B. Atmospheric transport of organochlorines to the Arctic Ocean. *Tellus B* 1988; 40: 480-493.
- Hargrave BT, Phillips GA, Vass WP, Bruecker P, Welch HE, Siferd TD. Seasonality in Bioaccumulation of Organochlorines in Lower Trophic Level Arctic Marine Biota. *Environmental Science & Technology* 2000; 34: 980-987.
- Hawker DW, Connell DW. Relationships between partition coefficient, uptake rate constant, clearance rate constant and time to equilibrium for bioaccumulation. *Chemosphere* 1985; 14: 1205-1219.
- Hecht SA, Gunnarsson JS, Boese BL, Lamberson JO, Schaffner C, Giger W, et al. Influences of sedimentary organic matter quality on the bioaccumulation of 4-nonylphenol by estuarine amphipods. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2004; 23: 865-873.
- Helm PA, Diamond ML, Semkin R, Strachan WMJ, Teixeira C, Gregor D. A Mass Balance Model Describing Multiyear Fate of Organochlorine Compounds in a High Arctic Lake. *Environmental Science & Technology* 2002; 36: 996-1003.
- Herbert BMJ, Halsall CJ, Villa S, Jones KC, Kallenborn R. Rapid Changes in PCB and OC Pesticide Concentrations in Arctic Snow. *Environmental Science & Technology* 2005; 39: 2998-3005.
- Herbert BMJ, Villa S, Halsall CJ. Chemical interactions with snow: Understanding the behavior and fate of semi-volatile organic compounds in snow. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2006; 63: 3-16.

- Hiraizumi Y, Takahashi M, Nishimura H. Adsorption of polychlorinated biphenyl onto sea bed sediment, marine plankton, and other adsorbing agents. *Environmental Science & Technology* 1979; 13: 580-584.
- Hoff JT, Wania F, Mackay D, Gillham R. Sorption of Nonpolar Organic Vapors by Ice and Snow. *Environmental Science & Technology* 1995; 29: 1982-1989.
- Hornbuckle K, Carlson D, Swackhamer D, Baker J, Eisenreich S. Polychlorinated Biphenyls in the Great Lakes. *Persistent Organic Pollutants in the Great Lakes*. 5N. Springer Berlin Heidelberg, 2006, pp. 13-70.
- Hornbuckle KC, Jeremiason JD, Sweet CW, Eisenreich SJ. Seasonal Variations in Air-Water Exchange of Polychlorinated Biphenyls in Lake Superior. *Environmental Science & Technology* 1994; 28: 1491-1501.
- Horstmann M, McLachlan MS. Atmospheric deposition of semivolatile organic compounds to two forest canopies. *Atmospheric Environment* 1998; 32: 1799-1809.
- Hudson MJ, Swackhamer DL, Cotner JB. Effect of Microbes on Contaminant Transfer in the Lake Superior Food Web. *Environmental Science & Technology* 2005; 39: 9500-9508.
- Hung H, Kallenborn R, Breivik K, Su Y, Brorström-Lundén E, Olafsdottir K, et al. Atmospheric monitoring of organic pollutants in the Arctic under the Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP): 1993–2006. *Science of The Total Environment* 2010; 408: 2854-2873.
- Iacovidou E, Mandalakis M, Stephanou EG. Occurrence and diurnal variation of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in the background atmosphere of Eastern Mediterranean. *Chemosphere* 2009; 77: 1161-1167.
- Jacob U, Mintenbeck K, Brey T, Knust R, Beyer K. Stable isotope food web studies: a case for standardized sample treatment. *Marine Ecology-Progress Series* 2005; 287: 251-253.
- Jacques G, Saugier B. *Les puits de carbone: Tec & Doc*, 2008.
- Jaffrezo JL, Clain MP, Masclet P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the polar ice of greenland. Geochemical use of these atmospheric tracers. *Atmospheric Environment* 1994; 28: 1139-1145.
- Jaward FM, Barber JL, Booij K, Dachs J, Lohmann R, Jones KC. Evidence for Dynamic Air-Water Coupling and Cycling of Persistent Organic Pollutants over the Open Atlantic Ocean. *Environmental Science & Technology* 2004; 38: 2617-2625.
- Jensen S, Johnels AG, Olsson M, Otterlind G. DDT and PCB in marine animals from Swedish waters. *Nature* 1969; 224: 247-250.
- Jeremiason JD, Eisenreich SJ, Paterson MJ, Beaty KG, Hecky R, Elser JJ. Biogeochemical cycling of PCBs in lakes of variable trophic status: A paired-lake experiment. *Limnology and Oceanography* 1999; 44: 889-902.
- Jeremiason JD, Hornbuckle KC, Eisenreich SJ. PCBs in Lake Superior, 1978-1992: Decreases in Water Concentrations Reflect Loss by Volatilization. *Environmental Science & Technology* 1994; 28: 903-914.
- Jiao L, Zheng GJ, Minh TB, Richardson B, Chen L, Zhang Y, et al. Persistent toxic substances in remote lake and coastal sediments from Svalbard, Norwegian Arctic: Levels, sources and fluxes. *Environmental Pollution* 2009; 157: 1342-1351.
- Josefsson S, Leonardsson K, Gunnarsson JS, Wiberg K. Bioturbation-Driven Release of Buried PCBs and PBDEs from Different Depths in Contaminated Sediments. *Environmental Science & Technology* 2010; 44: 7456-7464.

Références bibliographiques

- Jurado E, Dachs J. Seasonality in the “grasshopping” and atmospheric residence times of persistent organic pollutants over the oceans. *Geophysical Research Letters* 2008; 35: L17805.
- Jurado E, Zaldívar J-M, Marinov D, Dachs J. Fate of persistent organic pollutants in the water column: Does turbulent mixing matter? *Marine Pollution Bulletin* 2007; 54: 441-451.
- Karickhoff SW, Brown DS, Scott TA. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Research* 1979; 13: 241-248.
- Kateman G, Buydens L. *Quality control in analytical chemistry*. Vol 60: John Wiley & Sons, 1993.
- Kidd KA, Bootsma HA, Hesslein RH, Muir DCG, Hecky RE. Biomagnification of DDT through the Benthic and Pelagic Food Webs of Lake Malawi, East Africa: Importance of Trophic Level and Carbon Source. *Environmental Science & Technology* 2001; 35: 14-20.
- Kidd KA, Hesslein RH, Ross BJ, Koczanski K, Stephens GR, Muir DCG. Bioaccumulation of organochlorines through a remote freshwater food web in the Canadian Arctic. *Environmental Pollution* 1998a; 102: 91-103.
- Kidd KA, Schindler DW, Hesslein RH, Muir DC. Effects of trophic position and lipid on organochlorine concentrations in fishes from subarctic lakes in Yukon Territory. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 1998b; 55: 869-881.
- Kidd KA, Schindler DW, Hesslein RH, Muir DCG. Correlation between stable nitrogen isotope ratios and concentrations of organochlorines in biota from a freshwater food web. *Science of The Total Environment* 1995; 160-161: 381-390.
- Koelmans AA, Heugens EHW. Binding constants of chlorobenzenes and polychlorobiphenyls for algal exudates. *Water Science and Technology* 1998; 37: 67-73.
- Koelmans AA, van der Woude H, Hattink J, Niesten DJM. Long-term bioconcentration kinetics of hydrophobic chemicals in *Selenastrum capricornutum* and *Microcystis aeruginosa*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1999; 18: 1164-1172.
- Konat J, Kowalewska G. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in sediments of the southern Baltic Sea — trends and fate. *Science of The Total Environment* 2001; 280: 1-15.
- Koussoroplis A-M, Bec A, Perga M-E, Koutrakis E, Desvillettes C, Bourdier G. Nutritional importance of minor dietary sources for leaping grey mullet *Liza saliens* (Mugilidae) during settlement: insights from fatty acid $\delta^{13}C$ analysis. *Marine Ecology Progress Series* 2010; 404: 207-217.
- Kucklick JR, Baker JE. Organochlorines in Lake Superior's food web. *Environmental Science & Technology* 1998; 32: 1192-1198.
- Kukkonen J, Oikari A. Bioavailability of organic pollutants in boreal waters with varying levels of dissolved organic material. *Water Research* 1991; 25: 455-463.
- Laird BD, Goncharov AB, Chan HM. Body burden of metals and persistent organic pollutants among Inuit in the Canadian Arctic. *Environment International* 2013; 59: 33-40.
- Lamon L, Dalla Valle M, Critto Ad, Marcomini A. Introducing an integrated climate change perspective in POPs modelling, monitoring and regulation. *Environmental Pollution* 2009; 157: 1971-1980.
- Lampert W, Sommer U, Haney JF. *Limnology: the ecology of lakes and streams*: Oxford university press New York, 1997.
- Landrum P, Fisher S. Influence of Lipids on the Bioaccumulation and Trophic Transfer of Organic Contaminants in Aquatic Organisms. In: Arts M, Wainman B, editors. *Lipids in Freshwater Ecosystems*. Springer New York, 1999, pp. 203-234.

Références bibliographiques

- Lara R, Ernst W. Interaction between polychlorinated biphenyls and marine humic substances. Determination of association coefficients. *Chemosphere* 1989; 19: 1655-1664.
- Lara R, Ernst W. Sorption of polychlorinated biphenyls on marine sediments: I. The role of the organic carbon content. *Environmental Technology* 1990; 11: 83-92.
- Larsson P. Transport of PCBs from aquatic to terrestrial environments by emerging chironomids. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological* 1984; 34: 283-289.
- Larsson P, Backe C, Bremle G, Eklöv A, Okla L. Persistent pollutants in a salmon population (*Salmo salar*) of the southern Baltic Sea. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 1996; 53: 62-69.
- Larsson P, Okla L, Collvin L. Reproductive status and lipid content as factors in PCB, DDT and HCH contamination of a population of pike (*Esox lucius* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry* 1993; 12: 855-861.
- Larsson P, Okla L, Cronberg G. Turnover of polychlorinated biphenyls in an oligotrophic and a eutrophic lake in relation to internal lake processes and atmospheric fallout. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 1998; 55: 1926-1937.
- Lederman TC, Rhee G-Y. Bioconcentration of a hexachlorobiphenyl in Great Lakes planktonic algae. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 1982; 39: 380-387.
- Lee K-T, Tanabe S, Koh C-H. Contamination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Sediments from Kyeonggi Bay and Nearby Areas, Korea. *Marine Pollution Bulletin* 2001; 42: 273-279.
- Lei YD, Wania F. Is rain or snow a more efficient scavenger of organic chemicals? *Atmospheric Environment* 2004; 38: 3557-3571.
- Lepori F, Keck F. Effects of Atmospheric Nitrogen Deposition on Remote Freshwater Ecosystems. *Ambio* 2012; 41: 235-246.
- Li N, Wania F, Lei YD, Daly GL. A Comprehensive and Critical Compilation, Evaluation, and Selection of Physical-Chemical Property Data for Selected Polychlorinated Biphenyls. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 2003; 32: 1545-1590.
- Liss PS, Slater PG. Flux of Gases across the Air-Sea Interface. *Nature* 1974; 247: 181-184.
- Ljunggren SA, Helmfrid I, Salihovic S, van Bavel B, Wingren G, Lindahl M, et al. Persistent organic pollutants distribution in lipoprotein fractions in relation to cardiovascular disease and cancer. *Environment International* 2014; 65: 93-99.
- Lohmann R, Breivik K, Dachs J, Muir D. Global fate of POPs: Current and future research directions. *Environmental Pollution* 2007; 150: 150-165.
- Lopes C, Perga ME, Peretti A, Roger MC, Persat H, Babut M. Is PCBs concentration variability between and within freshwater fish species explained by their contamination pathways? *Chemosphere* 2011; 85: 502-508.
- Ma J, Hung H, Tian C, Kallenborn R. Revolatilization of persistent organic pollutants in the Arctic induced by climate change. *Nature Climate Change* 2011; 1: 255-260.
- Mackay D. Finding fugacity feasible. *Environmental Science & Technology* 1979; 13: 1218-1223.
- Mackay D. Modeling the Long-Term Behavior of an Organic Contaminant in a Large Lake: Application to PCBs in Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research* 1989; 15: 283-297.
- Mackay D, Fraser A. Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. *Environmental Pollution* 2000; 110: 375-391.

- Mackay D, Shiu W-Y, Ma K-C, Lee SC. Handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals: CRC press, 2006.
- MacLeod M, Riley WJ, McKone TE. Assessing the Influence of Climate Variability on Atmospheric Concentrations of Polychlorinated Biphenyls Using a Global-Scale Mass Balance Model (BETR-Global). *Environmental Science & Technology* 2005; 39: 6749-6756.
- Madenjian CP. Sex effect on polychlorinated biphenyl concentrations in fish: a synthesis. *Fish and Fisheries* 2011; 12: 451-460.
- Madenjian CP, Hanchin PA, Chernyak SM, Begnoche LJ. Sexual difference in PCB concentrations of walleyes (*Sander vitreus*) from a pristine lake. *Science of The Total Environment* 2009; 407: 4526-4532.
- Madenjian CP, Yule DL, Chernyak SM, Begnoche LJ, Berglund EK, Isaac EJ. Males exceed females in PCB concentrations of cisco (*Coregonus artedii*) from Lake Superior. *Science of The Total Environment* 2014; 493: 377-383.
- Manchester-Neesvig JB, Valters K, Sonzogni WC. Comparison of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Lake Michigan Salmonids. *Environmental Science & Technology* 2001; 35: 1072-1077.
- Mandalakis M, Stephanou EG. Study of atmospheric PCB concentrations over the eastern Mediterranean Sea. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 2002; 107: 4716.
- McCusker EM, Ostrom PH, Ostrom NE, Jeremiason JD, Baker JE. Seasonal variation in the biogeochemical cycling of seston in Grand Traverse Bay, Lake Michigan. *Organic Geochemistry* 1999; 30: 1543-1557.
- Meijer SN, Dachs J, Fernandez P, Camarero L, Catalan J, Del Vento S, et al. Modelling the dynamic air–water–sediment coupled fluxes and occurrence of polychlorinated biphenyls in a high altitude lake. *Environmental Pollution* 2006; 140: 546-560.
- Meijer SN, Grimalt JO, Fernandez P, Dachs J. Seasonal fluxes and temperature-dependent accumulation of persistent organic pollutants in lakes: The role of internal biogeochemical cycling. *Environmental Pollution* 2009; 157: 1815-1822.
- Meijer SN, Ockenden WA, Sweetman A, Breivik K, Grimalt JO, Jones KC. Global Distribution and Budget of PCBs and HCB in Background Surface Soils: Implications for Sources and Environmental Processes. *Environmental Science & Technology* 2003; 37: 667-672.
- Melnikov S, Carroll J, Gorshkov A, Vlasov S, Dahle S. Snow and ice concentrations of selected persistent pollutants in the Ob–Yenisey River watershed. *Science of The Total Environment* 2003; 306: 27-37.
- Menichini E, Iacovella N, Monfredini F, Turrio-Baldassarri L. Atmospheric pollution by PAHs, PCDD/Fs and PCBs simultaneously collected at a regional background site in central Italy and at an urban site in Rome. *Chemosphere* 2007; 69: 422-434.
- Metcalf TL, Metcalfe CD. The trophodynamics of PCBs, including mono- and non-ortho congeners, in the food web of North-Central Lake Ontario. *Science of The Total Environment* 1997; 201: 245-272.
- Muir D, Braune B, DeMarch B, Norstrom R, Wagemann R, Lockhart L, et al. Spatial and temporal trends and effects of contaminants in the Canadian Arctic marine ecosystem: a review. *Science of The Total Environment* 1999; 230: 83-144.
- Muir DCG, Howard PH. Are There Other Persistent Organic Pollutants? A Challenge for Environmental Chemists. *Environmental Science & Technology* 2006; 40: 7157-7166.

Références bibliographiques

- Musty PR, Nickless G. The extraction and recovery of chlorinated insecticides and polychlorinated biphenyls from water using porous polyurethane foams. *Journal of Chromatography A* 1974; 100: 83-93.
- Naffrechoux E, Cottin N, Pignol C, Arnaud F, Jenny J-P, Perga M-E. Historical Profiles of PCB in Dated Sediment Cores Suggest Recent Lake Contamination through the “Halo Effect”. *Environmental Science & Technology* 2015a.
- Naffrechoux E. Incidence de l'exposition pré- et périnatale aux PCBs sur les capacités intellectuelles des enfants. *Bulletin de Veille Scientifique*. 26. ANSES, 2015b.
- Nash RG, Woolson EA. Persistence of chlorinated hydrocarbon insecticides in soils. *Science* 1967; 157: 924-927.
- Nauwerck A. Beobachtungen über das Phytoplankton klarer Hochgebirgsseen. *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie* 1966; 28: 4-28.
- Nedbalova L, Stuchlik E, Strunecky O. Phytoplankton of a mountain lake (Ladove pleso, the Tatra Mountains, Slovakia): Seasonal development and first indications of a response to decreased acid deposition. *Biologia* 2006; 61: S91-S100.
- Neff J. Bioaccumulation of organic micropollutants from sediments and suspended particulates by aquatic animals. *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie* 1984; 319: 132-136.
- Nellier Y-M, Perga M-E, Cottin N, Fanget P, Malet E, Naffrechoux E. Mass budget in two high altitude lakes reveals their role as atmospheric PCB sinks. *Science of The Total Environment* 2015; 511: 203-213.
- Neuilly M, CETAMA. Modélisation et estimation des erreurs de mesure, Seconde édition. Paris: Lavoisier TEC & DOC, 1998.
- Nguyen M. Comparison of various sampling methods for determination of PCBs, PBDEs and HCB in water. Master's Level. Umea Universitet, 2009, pp. 43.
- Nizzetto L, Gioia R, Li J, Borga K, Pomati F, Bettinetti R, et al. Biological Pump Control of the Fate and Distribution of Hydrophobic Organic Pollutants in Water and Plankton. *Environmental Science & Technology* 2012; 46: 3204-3211.
- Nizzetto L, Macleod M, Borgå K, Cabrerizo A, Dachs J, Guardo AD, et al. Past, Present, and Future Controls on Levels of Persistent Organic Pollutants in the Global Environment. *Environmental Science & Technology* 2010; 44: 6526-6531.
- O'Reilly CM, Hecky RE, Cohen AS, Plisnier PD. Interpreting stable isotopes in food webs: Recognizing the role of time averaging at different trophic levels. *Limnology and Oceanography* 2002; 47: 306-309.
- Paterson G, Drouillard KG, Haffner GD. PCB Elimination by Yellow Perch (*Perca flavescens*) during an Annual Temperature Cycle. *Environmental Science & Technology* 2007; 41: 824-829.
- Paya-Perez AB, Riaz M, Larsen BR. Soil sorption of 20 PCB congeners and six chlorobenzenes. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1991; 21: 1-17.
- Pearson RF, Hornbuckle KC, Eisenreich SJ, Swackhamer DL. PCBs in Lake Michigan Water Revisited. *Environmental Science & Technology* 1996; 30: 1429-1436.
- Perga M-E, Kainz M, Matthews B, Mazumder A. Carbon pathways to zooplankton: insights from the combined use of stable isotope and fatty acid biomarkers. *Freshwater Biology* 2006; 51: 2041-2051.
- Perga ME, Bec A, Anneville O. Origins of carbon sustaining the growth of whitefish *Coregonus lavaretus* early larval stages in Lake Annecy: insights from fatty-acid biomarkers. *Journal of Fish Biology* 2009; 74: 2-17.

- Perga ME, Gerdeaux D. 'Are fish what they eat' all year round? *Oecologia* 2005; 144: 598-606.
- Pierard C, Budzinski H, Garrigues P. Grain-Size Distribution of Polychlorobiphenyls in Coastal Sediments. *Environmental Science & Technology* 1996; 30: 2776-2783.
- Provini A, Galassi S, Guzzella L, Valli G. PCB profiles in sediments of lakes Maggiore, Como and Garda (Italy). *Marine and freshwater research* 1995; 46: 129-136.
- Rasmussen JB, Rowan DJ, Lean DRS, Carey JH. Food Chain Structure in Ontario Lakes Determines PCB Levels in Lake Trout (*Salvelinus namaycush*) and Other Pelagic Fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 1990; 47: 2030-2038.
- Reynolds CS, Usher M, Saunders D, Dobson A, Peet R, Adam P, et al. Ecology of phytoplankton. Vol 535: Cambridge University Press Cambridge, 2006.
- Rodriguez L, Perga ME. LAKE MUZELLE - NETLAKE SITE IN FRANCE. NETworking Lake observatories in Europe: COST Action ES 1201, 2014.
- Rognerud S, Grimalt JO, Rosseland BO, Fernandez P, Hofer R, Lackner R, et al. Mercury and Organochlorine Contamination in Brown Trout (*Salmo Trutta*) and Arctic Charr (*Salvelinus Alpinus*) from High Mountain Lakes in Europe and the Svalbard Archipelago. *Water, Air and Soil Pollution: Focus* 2002; 2: 209-232.
- Rowe AA, Totten LA, Cavallo GJ, Yagecic JR. Watershed Processing of Atmospheric Polychlorinated Biphenyl Inputs. *Environmental Science & Technology* 2007a; 41: 2331-2337.
- Rowe AA, Totten LA, Xie M, Fikslin TJ, Eisenreich SJ. Air-Water Exchange of Polychlorinated Biphenyls in the Delaware River. *Environmental Science & Technology* 2007b; 41: 1152-1158.
- Sanders G, Hamilton-Taylor J, Jones KC. PCB and PAH Dynamics in a Small Rural Lake. *Environmental Science & Technology* 1996; 30: 2958-2966.
- SCERCL. Assainissement non collectif et alimentation en eau potable des refuges, restaurants et toilettes publiques d'altitude sur le bassin versant de la Romanche - Refuge de la Muzelle. Groupement de commande comité rivière Romanche, 2009.
- Scheringer M, Salzmann M, Stroebe M, Wegmann F, Fenner K, Hungerbühler K. Long-range transport and global fractionation of POPs: insights from multimedia modeling studies. *Environmental Pollution* 2004; 128: 177-188.
- Scheringer M, Wegmann F, Fenner K, Hungerbühler K. Investigation of the Cold Condensation of Persistent Organic Pollutants with a Global Multimedia Fate Model. *Environmental Science & Technology* 2000; 34: 1842-1850.
- Schmid P, Bogdal C, Blüthgen N, Anselmetti FS, Zwysig A, Hungerbühler K. The Missing Piece: Sediment Records in Remote Mountain Lakes Confirm Glaciers Being Secondary Sources of Persistent Organic Pollutants. *Environmental Science & Technology* 2010; 45: 203-208.
- Schmid P, Kohler M, Gujer E, Zennegg M, Lanfranchi M. Persistent organic pollutants, brominated flame retardants and synthetic musks in fish from remote alpine lakes in Switzerland. *Chemosphere* 2007; 67: S16-S21.
- Schulz-Bull DE, Petrick G, Kannan N, Duinker JC. Distribution of individual chlorobiphenyls (PCB) in solution and suspension in the Baltic Sea. *Marine Chemistry* 1995; 48: 245-270.
- Schwartz PM, Jacobson SW, Fein G, Jacobson JL, Price HA. Lake Michigan fish consumption as a source of polychlorinated biphenyls in human cord serum, maternal serum, and milk. *American Journal of Public Health* 1983; 73: 293-296.

- Schwarzenbach RP, Gschwend PM, Imboden DM. Environmental organic chemistry: John Wiley & Sons, 2005.
- Sieburth JM, Smetacek V, Lenz J. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology & Oceanography* 1978; 23: 1256-1263.
- Sijm DTHM, Broersen KW, de Roode DF, Mayer P. Bioconcentration kinetics of hydrophobic chemicals in different densities of *Chlorella pyrenoidosa*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1998; 17: 1695-1704.
- Sijm DTHM, Middelkoop J, Vrisekoop K. Algal density dependent bioconcentration factors of hydrophobic chemicals. *Chemosphere* 1995; 31: 4001-4012.
- Simonich SL, Hites RA. Global distribution of persistent organochlorine compounds. *Science* 1995; 269: 1851-1854.
- Skoglund RS, Stange K, Swackhamer DL. A Kinetics Model for Predicting the Accumulation of PCBs in Phytoplankton. *Environmental Science & Technology* 1996; 30: 2113-2120.
- Sobek A, Gustafsson O, Hajdu S, Larsson U. Particle-Water Partitioning of PCBs in the Photic Zone: A 25-Month Study in the Open Baltic Sea. *Environmental Science & Technology* 2004; 38: 1375-1382.
- Söderström M, Nylund K, Järnberg U, Lithner G, Rosén G, Kylin H. Seasonal Variations of DDT Compounds and PCB in a Eutrophic and an Oligotrophic Lake in Relation to Algal Biomass. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* 2000; 29: 230-237.
- Sokal RR, Rohlf FJ. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research* 2nd edition. 1981.
- Spanò M, Toft G, Hagmar L, Eleuteri P, Rescia M, Rignell-Hydbom A, et al. Exposure to PCB and p, p'-DDE in European and Inuit populations: impact on human sperm chromatin integrity. *Human Reproduction* 2005; 20: 3488-3499.
- Šporka F, Livingstone DM, Stuchlík E, Turek J, Galas J. Water temperatures and ice cover in lakes of the Tatra Mountains. *Biologia* 2006; 61: S77-S90.
- Stange K, Swackhamer DL. Factors affecting phytoplankton species-specific differences in accumulation of 40 polychlorinated biphenyls (PCBs). *Environmental Toxicology and Chemistry* 1994; 13: 1849-1860.
- Stapleton HM, Masterson C, Skubinna J, Ostrom P, Ostrom NE, Baker JE. Accumulation of Atmospheric and Sedimentary PCBs and Toxaphene in a Lake Michigan Food Web. *Environmental Science & Technology* 2001; 35: 3287-3293.
- State of New York. PCB contamination of the Hudson river ecosystem compilation of contamination data through 2008. U.S. Department of Commerce and U.S. Department of the Interior, 2013, pp. 31.
- Steingraeber MT, Schwartz TR, Wiener JG, Lebo JA. Polychlorinated Biphenyl Congeners in Emergent Mayflies from the Upper Mississippi River. *Environmental Science & Technology* 1994; 28: 707-714.
- Stow CA. Factors Associated with PCB Concentrations in Lake Michigan Fish. *Environmental Science & Technology* 1995; 29: 522-527.
- Stow CA, Jackson LJ, Amrhein JF. An examination of the PCB: lipid relationship among individual fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 1997; 54: 1031-1038.
- Strachan WMJ, Burniston DA, Williamson M, Bohdanowicz H. Spatial Differences in Persistent Organochlorine Pollutant Concentrations between the Bering and Chukchi Seas (1993). *Marine Pollution Bulletin* 2001; 43: 132-142.

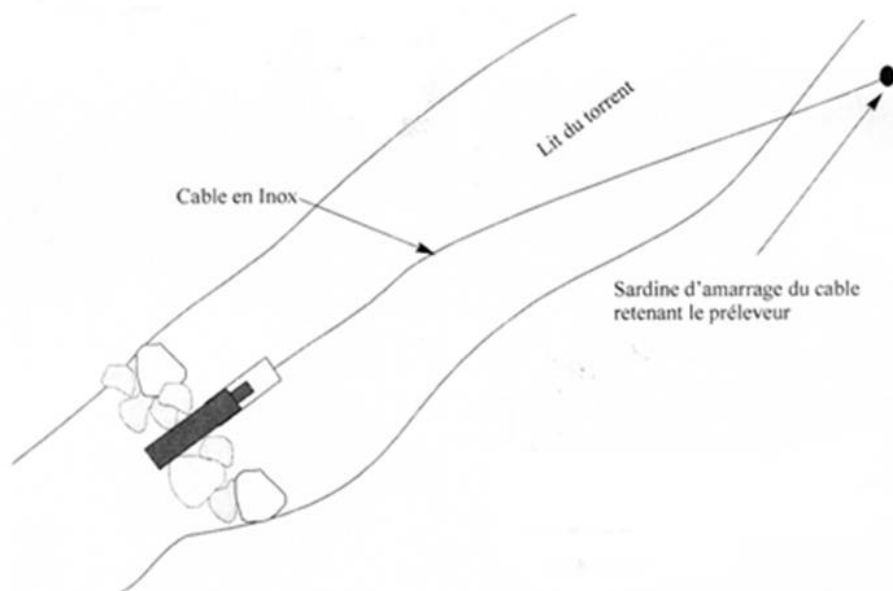
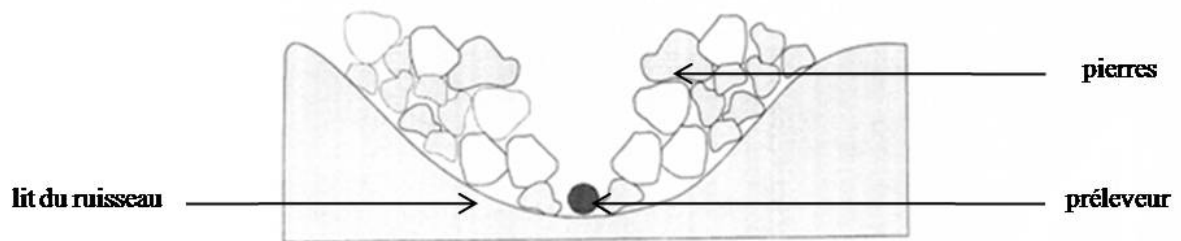
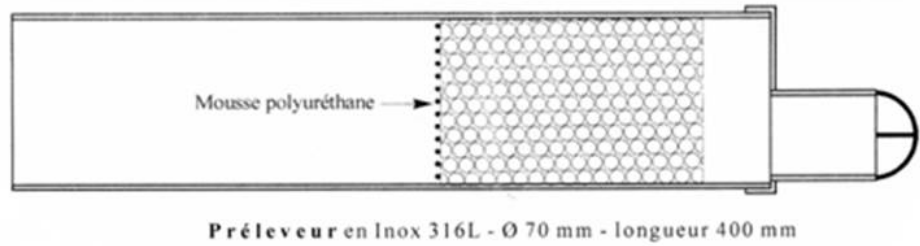
- Swackhamer DL, McVeety BD, Hites RA. Deposition and evaporation of polychlorobiphenyl congeners to and from Siskiwit Lake, Isle Royale, Lake Superior. *Environmental Science & Technology* 1988; 22: 664-672.
- Swackhamer DL, Skoglund RS. The role of phytoplankton in the partitioning of hydrophobic organic contaminants in water. *Organic Substances and Sediments in Water* 1991; 2: 91-105.
- Swackhamer DL, Skoglund RS. Bioaccumulation of PCBs by algae: Kinetics versus equilibrium. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1993; 12: 831-838.
- Tanabe S. PCB problems in the future: Foresight from current knowledge. *Environmental Pollution* 1988; 50: 5-28.
- Ten Hulscher TEM, Van den Heuvel H, Van Noort PCM, Govers HAJ. Henry's Law Constants for Eleven Polychlorinated Biphenyls at 20 °C. *Journal of Chemical & Engineering Data* 2006; 51: 347-351.
- Thevenon F, Alencastro LFD, Loizeau J-L, Adatte T, Grandjean D, Wildi W, et al. A high-resolution historical sediment record of nutrients, trace elements and organochlorines (DDT and PCB) deposition in a drinking water reservoir (Lake Brêt, Switzerland) points at local and regional pollutant sources. *Chemosphere* 2013; 90: 2444-2452.
- Totten LA, Brunciak PA, Gigliotti CL, Dachs J, Glenn, Nelson ED, et al. Dynamic Air-Water Exchange of Polychlorinated Biphenyls in the New York-New Jersey Harbor Estuary. *Environmental Science & Technology* 2001; 35: 3834-3840.
- Totten LA, Gigliotti CL, Offenbergh JH, Baker JE, Eisenreich SJ. Reevaluation of Air-Water Exchange Fluxes of PCBs in Green Bay and Southern Lake Michigan. *Environmental Science & Technology* 2002; 37: 1739-1743.
- Trevisan R, Poggi C, Squartini A. Factors affecting diatom dynamics in the alpine lakes of Colbricon (Northern Italy): a 10-year survey. *2010* 2010; 69: 10.
- Turner A, Hyde TL, Rawling MC. Transport and Retention of Hydrophobic Organic Micropollutants in Estuaries: Implications of the Particle Concentration Effect. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 1999; 49: 733-746.
- Turyk ME, Bhavsar SP, Bowerman W, Boysen E, Clark M, Diamond M, et al. Risks and Benefits of Consumption of Great Lakes Fish. *Environmental health perspectives* 2012; 120: 11-18.
- Usenko S, Hageman KJ, Schmedding DW, Wilson GR, Simonich SL. Trace Analysis of Semivolatile Organic Compounds in Large Volume Samples of Snow, Lake Water, and Groundwater. *Environmental Science & Technology* 2005; 39: 6006-6015.
- Utermohl vH. Neue Wege in der quantitativen Erfassung des Planktons. *Verh. int. Verein. theor. angew. Limnol* 1931; 5: 567-596.
- Van Drooge B, Grimalt J, Stuchlik E. Spatial distribution of polychlorinated biphenyls in High Tatras lake sediments. *Environmental Science and Pollution Research* 2013; 20: 6594-6600.
- Van Drooge BL, Grimalt JO, Camarero L, Catalan J, Stuchlik E, Torres Garcia CJ. Atmospheric Semivolatile Organochlorine Compounds in European High-Mountain Areas (Central Pyrenees and High Tatras). *Environmental Science & Technology* 2004; 38: 3525-3532.
- Van Hoof PL, Andren AW. Partitioning and sorption kinetics of a PCB in aqueous suspensions of model particles: Solids concentration effect. *Organic Substances and Sediments in Water* 1991; 2: 149-167.

- Vander Zanden MJ, Rasmussen JB. A Trophic Position Model of Pelagic Food Webs: Impact on Contaminant Bioaccumulation in Lake Trout. *Ecological Monographs* 1996; 66: 451-477.
- Ventura M, Camarero L, Buchaca T, Bartumeus F, Livingstone DM, Catalan J. The main features of seasonal variability in the external forcing and dynamics of a deep mountain lake (Redo, Pyrenees). *Journal of Limnology* 2000; 59: 97-108.
- Vilanova R, Fernandez P, Martinez C, Grimalt JO. Organochlorine pollutants in remote mountain lake waters. *Journal of Environmental Quality* 2001a; 30: 1286-1295.
- Vilanova RM, Fernandez P, Grimalt JO. Polychlorinated biphenyl partitioning in the waters of a remote mountain lake. *Science of The Total Environment* 2001b; 279: 51-62.
- Villa S, Negrelli C, Maggi V, Finizio A, Vighi M. Analysis of a firm core for assessing POP seasonal accumulation on an Alpine glacier. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2006; 63: 17-24.
- Villa S, Vighi M, Maggi V, Finizio A, Bolzacchini E. Historical Trends of Organochlorine Pesticides in an Alpine Glacier. *Journal of Atmospheric Chemistry* 2003; 46: 295-311.
- Vives I, Grimalt JO, Catalan J, Rosseland BO, Battarbee RW. Influence of Altitude and Age in the Accumulation of Organochlorine Compounds in Fish from High Mountain Lakes. *Environmental Science & Technology* 2004; 38: 690-698.
- Vives I, Grimalt JO, Catalan J, Rosseland BrO, Battarbee RW. Influence of Altitude and Age in the Accumulation of Organochlorine Compounds in Fish from High Mountain Lakes. *Environmental Science & Technology* 2003; 38: 690-698.
- Vives I, Grimalt JO, Ventura M, Catalan J, Rosseland BO. Age dependence of the accumulation of organochlorine pollutants in brown trout (*Salmo trutta*) from a remote high mountain lake (Redó, Pyrenees). *Environmental Pollution* 2005; 133: 343-350.
- Wallberg P, Bergqvist P-A, Andersson A. Potential importance of protozoan grazing on the accumulation of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the pelagic food web. *Hydrobiologia* 1997; 357: 53-62.
- Wallberg P, Jonsson PR, Andersson A. Trophic transfer and passive uptake of a polychlorinated biphenyl in experimental marine microbial communities. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2001; 20: 2158-2164.
- Walters DM, Fritz KM, Johnson BR, Lazorchak JM, McCormick FH. Influence of Trophic Position and Spatial Location on Polychlorinated Biphenyl (PCB) Bioaccumulation in a Stream Food Web. *Environmental Science & Technology* 2008; 42: 2316-2322.
- Wang K, Rott B, Korte F. Uptake and bioaccumulation of three PCBs by *Chlorella fusca*. *Chemosphere* 1982; 11: 525-530.
- Wang X-p, Yao T-d, Wang P-l, Wei Y, Tian L-d. The recent deposition of persistent organic pollutants and mercury to the Dasuopu glacier, Mt. Xixiabangma, central Himalayas. *Science of The Total Environment* 2008; 394: 134-143.
- Wania F, Hoff JT, Jia CQ, Mackay D. The effects of snow and ice on the environmental behaviour of hydrophobic organic chemicals. *Environmental Pollution* 1998; 102: 25-41.
- Wania F, Mackay D. Global Fractionation and Cold Condensation of Low Volatility Organochlorine Compounds in Polar Regions. *Ambio* 1993a; 22: 10-18.
- Wania F, Mackay D. Global fractionation and cold condensation of low volatility organochlorine compounds in polar regions. *Ambio* 1993b; 10-18.
- Wania F, Mackay D. A global distribution model for persistent organic chemicals. *Science of The Total Environment* 1995; 160-161: 211-232.

Références bibliographiques

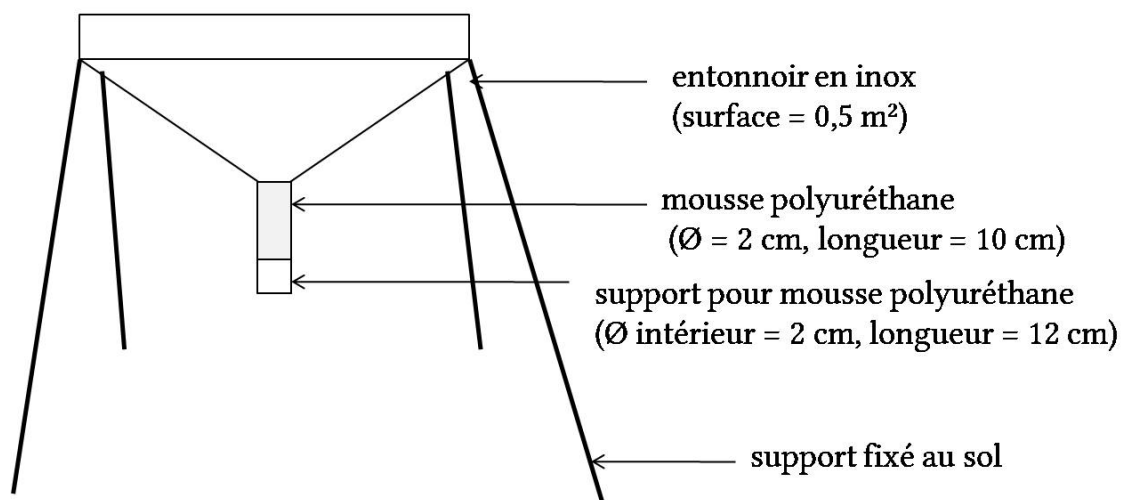
- Wania F, Mackay D. Peer Reviewed: Tracking the Distribution of Persistent Organic Pollutants. *Environmental Science & Technology* 1996; 30: 390A-396A.
- Wania F, McLachlan MS. Estimating the Influence of Forests on the Overall Fate of Semivolatile Organic Compounds Using a Multimedia Fate Model. *Environmental Science & Technology* 2001; 35: 582-590.
- Wania F, Westgate JN. On the Mechanism of Mountain Cold-Trapping of Organic Chemicals. *Environmental Science & Technology* 2008; 42: 9092-9098.
- Wegmann F, Scheringer M, Hungerbühler K. First investigations of mountainous cold condensation effects with the CliMoChem model. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2006; 63: 42-51.
- Wetzel R, Likens G. *Composition and Biomass of Phytoplankton. Limnological Analyses.* Springer New York, 2000, pp. 147-174.
- Wilhelm B, Arnaud F, Sabatier P, Crouzet C, Brisset E, Chaumillon E, et al. 1400 years of extreme precipitation patterns over the Mediterranean French Alps and possible forcing mechanisms. *Quaternary Research* 2012; 78: 1-12.
- Wilson R, Allen-Gil S, Griffin D, Landers D. Organochlorine contaminants in fish from an Arctic lake in Alaska, USA. *Science of The Total Environment* 1995; 160: 511-519.
- Yan S, Rodenburg LA, Dachs J, Eisenreich SJ. Seasonal air-water exchange fluxes of polychlorinated biphenyls in the Hudson River Estuary. *Environmental Pollution* 2008; 152: 443-451.

Annexe 1 : Description du préleveur passif installé dans le lit du ruisseau du glacier de la Muzelle

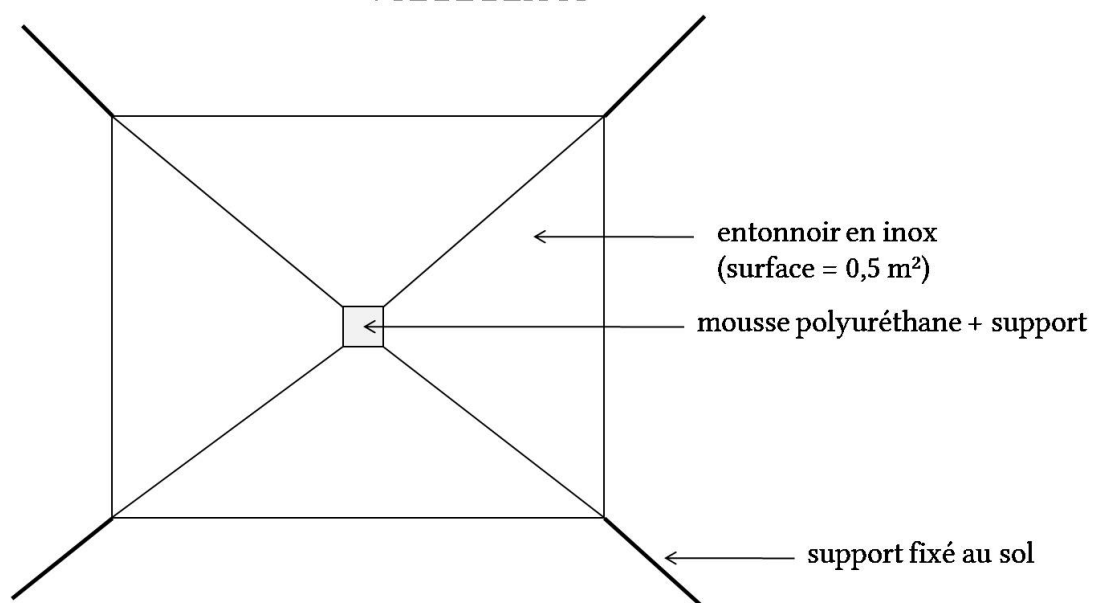


Annexe 2 : Description de la jauge Owen utilisée pour le prélèvement des dépôts atmosphériques de PCB

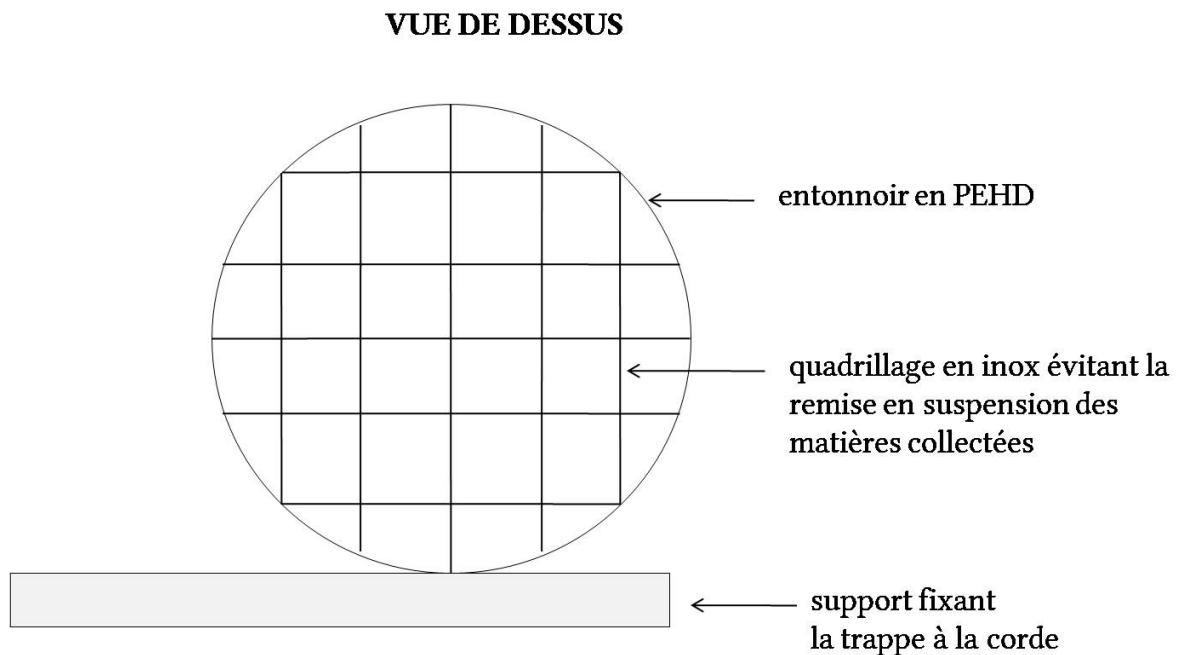
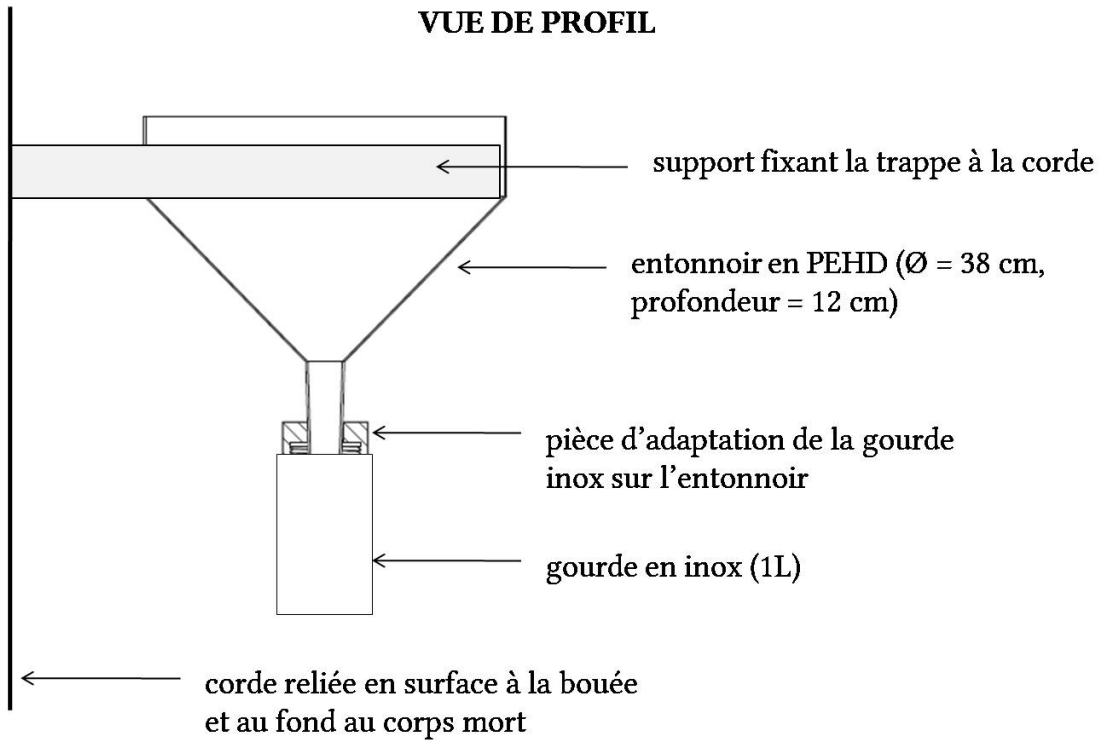
VUE DE PROFIL



VUE DE DESSUS



Annexe 3 : Description des trappes à sédiments



Annexe 4 : Valorisation des travaux de thèse

Publications scientifiques acceptées

Nellier Y.-M., Perga M.-E., Cottin N., Fanget P and Naffrechoux E.
Particle-dissolved phase partition of polychlorinated biphenyls in high altitude alpine lakes. *Environment Science and Technology*, **49 (16) : 9620-9628. 2015b.**

Nellier Y.-M., Perga M.-E., Cottin N., Fanget P., Malet E. and Naffrechoux E.
Mass budget in two high altitude lakes reveals their role as atmospheric PCB sinks. *Science of the Total Environment*, **511 : 203-213. 2015a.**

Publications scientifiques soumises ou en préparation

Nellier Y.-M., Naffrechoux E., Cottin N., Fanget P and Perga M.-E.
Assessment of seasonal variation of PCBs level in fish from high altitude lakes highlights the importance of bioconcentration process. *En preparation pour soumission à Limnology and Oceanography.*

Projet scientifique

Nellier Y.-M.
Neige et contamination des lacs d'altitude par les Polychlorobiphényles : la neige constitue-t-elle à la fois le stock et le vecteur des PCB d'origine atmosphérique pour les lacs d'altitude?
Fondation Eau Neige et Glace.

Article de vulgarisation scientifique

Nellier Y.-M., Barbet D., Perga M.-E., Naffrechoux E.
La neige, stock et vecteur de PCB pour les lacs d'altitude? <http://www.fondation-eng.org/laureats.php?lg=fr>

Birck, C., I. Epailard, M.-F. Leccia, C. Crassous, A. Morand, C. Miaud, C. Bertrand, L. Cavalli, S. Jacquet, P. Moullec, R. Bonnet, C. Sagot, E. Franquet, **Y.M. Nellier**, M.E. Perga, N. Cottin, C. Pignol, E. Malet, E. Naffrechoux, C. Giguët-Covex, I. Jouffroy-Bapicot, D. Etienne, L. Millet, P. Sabatier, B. Wilhelm, B. Perren and F. Arnaud.
Sentinel lakes: a network for the study and management of mountain lakes in the French Alps and in Corsica *eco.mont volume 5 number 1, June 2013.*

Communications orales internationales

Nellier Y.-M., Perga M.-E., Cottin N., Fanget P., and Naffrechoux E.

PCB fate in alpine lakes: How do they get out? **9th SEFS, Genève, 5-10 juillet 2015**

Nellier Y.-M., Perga M.-E., Cottin N., Fanget P., Malet E. and Naffrechoux E.

Altitude lakes: source or sink of PCBs for mountain environment? **JILO 2014, Marseille, France, 23 mai 2014.**

Communications orales nationales

Nellier Y.-M., Perga M.-E., Cottin N., Fanget P., and Naffrechoux E.

Le lac de la Muzelle : un cas d'étude pour la compréhension du devenir des PCB atmosphériques dans les lacs d'altitude. **5^{èmes} rencontres scientifiques et techniques Réseau Lacs Sentinelles, Le Tholonet, 27 novembre 2014.**

Nellier Y.-M., Perga M.-E., Cottin N., Fanget P., and Naffrechoux E.

Distribution des PCB dans les lacs d'altitude : influence de la matière organique. **FROG 2014, Le Bourget du lac, France, 4 Juillet 2014.**

Nellier Y.-M., Perga M.-E. and Naffrechoux E.

Contamination aux PCB des lacs de la Muzelle et Plan Vianney. **Rencontres Scientifiques du Parc National des Ecrins, Gap, France, 11 février 2014.**

Nellier Y.-M., Perga M.-E., Cottin N., Malet E. and Naffrechoux E.

Les poissons des lacs de la Muzelle et de Plan Vianney, contaminés par les PCB ? **Conférence Lacs de montagne, Bourg d'Oisans, France, 22 janvier 2013.**

Séminaire invité

Nellier Y.-M. Polychlorinated biphenyls fate in high altitude lakes. University of Vienna, **WasserKluster Lunz, Austria, 18 août 2015.**