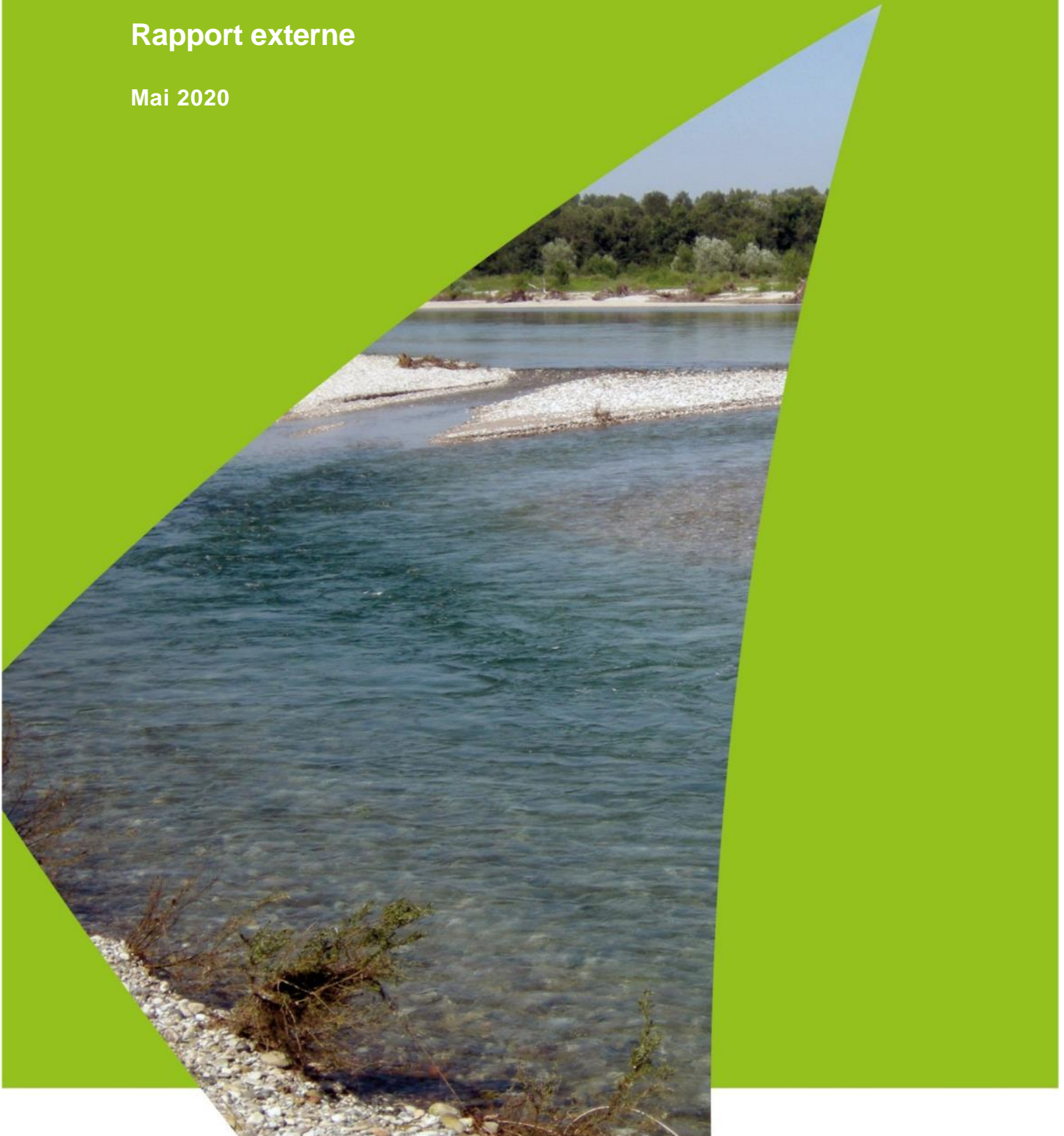




# Évaluation de la qualité des sédiments des canaux Stockalper, du Bras-Neuf et des îles (Valais, Suisse) basée sur une approche de type triade

Rapport externe

Mai 2020



## Mentions légales

### Editeur

Centre suisse d'écotoxicologie appliquée, 1015 Lausanne

### Sur mandat de

Marc Bernard, Canton du Valais, Département des transports, de l'équipement et de l'environnement, Service de l'environnement, Section protection des eaux, 1950 Sion

### Auteurs

Rébecca Beauvais, Régis Vivien,

Benoît J.D. Ferrari, Carmen Casado-Martinez

Centre suisse d'écotoxicologie appliquée

### Remerciements

Les auteurs remercient Sebastian Höss et Walter Traunspurger pour la réalisation des biotests sur *C. elegans* ainsi que pour l'étude des communautés de nématodes ; Sergio Santiago pour la réalisation des biotests sur *H. incongruens* ; le laboratoire Wessling et le Département F.-A. Forel de l'environnement et de l'eau de l'Université de Genève pour les analyses chimiques ; Christina Thiemann (Centre Ecotox) et Myriam Eggerschwiler (Service de l'environnement, État du Valais) pour leur aide pendant les échantillonnages.

### Contact

Rébecca Beauvais : [rebecca.beauvais@centrecotox.ch](mailto:rebecca.beauvais@centrecotox.ch)

### Citation

Beauvais, R., Vivien, R., Ferrari, B.J.D., Casado-Martinez, C. 2020 : Évaluation de la qualité des sédiments des canaux Stockalper, du Bras-Neuf et des îles (Valais, Suisse) basée sur une approche de type triade. Centre suisse d'écotoxicologie appliquée, Lausanne.

## Photo de couverture: Andri Bryner, Eawag

Oekotoxzentrum | Eawag | Überlandstrasse 133 | 8600 Dübendorf | Schweiz  
T +41 (0)58 765 55 62 | [info@oekotoxzentrum.ch](mailto:info@oekotoxzentrum.ch) | [www.oekotoxzentrum.ch](http://www.oekotoxzentrum.ch)

Centre Ecotox | EPFL-ENAC-IIE-GE | Station 2 | CH-1015 Lausanne | Suisse  
T +41 (0)21 693 62 58 | [info@centrecotox.ch](mailto:info@centrecotox.ch) | [www.centrecotox.ch](http://www.centrecotox.ch)



## Résumé

Sur mandat du Service de l'environnement de l'État du Valais, le Centre Ecotox a réalisé le suivi de la qualité des sédiments de dix sites le long de 15 km de canaux artificiels dans le Bas-Valais. L'évaluation de la qualité des sédiments était basée sur une approche de type triade. Sur chaque site, les sédiments ont été échantillonnés pour étudier (i) leur composition chimique (métaux, HAP et PCB), (ii) leur toxicité sur le nématode *Caenorhabditis elegans* (reproduction et croissance) et l'ostracode *Heterocypris incongruens* (mortalité et croissance) et (iii) leur composition en communautés d'oligochètes et de nématodes en utilisant les indices IOBS et NemaSPEAR, respectivement. Le canal du Bras-Neuf, qui traverse des zones urbaines, industrielles et agricoles a montré une contamination des sédiments en métaux, HAP et PCB importante soulignant qu'un effet sur les organismes benthiques est probable. Sept échantillons (sur 10) du canal du Bras-Neuf mais aussi du canal Stockalper ont induit une inhibition significativement toxique de la croissance de *H. incongruens*. Au niveau des communautés, sur chaque site, la diversité des taxons d'oligochètes était très faible et l'IOBS a indiqué une qualité médiocre à mauvaise. De plus, la diversité des taxons de nématodes était plutôt faible dans tous les échantillons et l'indice NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> a indiqué une qualité biologique moyenne à mauvaise des sédiments sur tous les sites. Les résultats obtenus sont complémentaires : les indices biologiques soutiennent les risques identifiés par les analyses chimiques. Les tests écotoxicologiques indiquent également un danger pour les organismes benthiques, soutenant les résultats des indices biologiques. Ce danger n'a cependant pas pu être lié à une substance chimique spécifique. Afin de répondre à cette question encore ouverte, des investigations supplémentaires visant à identifier les causes de la toxicité pourraient être mis en œuvre.







## Table des matières

Résumé .....	i
1 Introduction.....	1
1.1 Objectifs de l'étude .....	1
1.2 Approche choisie .....	1
2 Matériel et méthodes.....	2
2.1 Sites d'études et échantillonnage.....	2
2.2 Analyses chimiques .....	3
2.3 Données chimiques et critères de qualité utilisés .....	4
2.3.1 Teneur en matière organique .....	4
2.3.2 Métaux, HAP et PCB.....	4
2.4 Tests écotoxicologiques .....	6
2.4.1 Test de reproduction et de croissance sur <i>C. elegans</i> .....	6
2.4.2 Test de mortalité et de croissance sur <i>H. incongruens</i> .....	6
2.4.3 Interprétation des effets observés sur <i>C. elegans</i> et <i>H. incongruens</i> .....	7
2.5 Indices biologiques .....	8
2.5.1 Examen des peuplements d'oligochètes.....	8
2.5.2 Examen des peuplements de nématodes.....	8
2.6 Analyses statistiques des résultats de la triade.....	9
3 Résultats et discussion.....	10
3.1 Analyses physico-chimiques et évaluation des risques .....	10
3.1.1 Teneur en matière organique .....	10
3.1.2 Métaux.....	10
3.1.3 Hydrocarbures aromatiques polycycliques .....	11
3.1.4 Polychlorobiphényles .....	13
3.1.5 Bilan de l'approche chimique .....	14
3.2 Tests écotoxicologiques .....	15
3.2.1 Test de toxicité sur le nématode <i>C. elegans</i> .....	15
3.2.2 Test de toxicité sur l'ostracode <i>H. incongruens</i> .....	16
3.2.3 Bilan des tests écotoxicologiques .....	17
3.3 Étude des communautés benthiques .....	18
3.3.1 Communautés d'oligochètes .....	18
3.3.2 Communautés de nématodes .....	18
4 Bilan de l'approche triade.....	20
5 Conclusion.....	24
6 Références bibliographiques.....	25
7 Listes des figures et tableaux.....	27
7.1 Liste des figures .....	27
7.2 Liste des tableaux.....	28
8 Annexes .....	30
8.1 A.1 : Tableaux et figures supplémentaires .....	30
8.2 A.2 : Rapport des analyses chimiques du laboratoire Wessling .....	35
8.3 A.3 : Résultats du biotest <i>C. elegans</i> et des indices NemaSPEAR d'EcoSSA (S. Höss) 41	
8.4 A.4 : Résultats du biotest <i>H. incongruens</i> de Soluval Santiago (S. Santiago).....	58





# 1 Introduction

## 1.1 Objectifs de l'étude

La présente étude porte sur l'évaluation de la qualité des sédiments de canaux dans le Bas-Valais (Fig. 1). Elle a été mandatée par la section protection des eaux (Service de l'environnement) de l'État du Valais. Les buts de cette étude sont les suivants :

- Dresser l'état actuel du niveau de pollution en métaux, polychlorobiphényles (PCB) et hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les sédiments superficiels des canaux artificiels.
- Calculer le risque écotoxicologique selon les concentrations en polluants mesurées et la comparaison des valeurs avec des critères de qualité pour les sédiments.
- Mesurer la toxicité des sédiments par la réalisation de biotests en laboratoire.
- Évaluer la qualité biologique des sédiments par l'étude des peuplements d'organismes représentatifs du compartiment benthique.
- Étudier la contamination des canaux dans l'espace et localiser des sites fortement impactés par les activités humaines (industrielles, urbaines et agricoles).



**Figure 1** : Illustration d'une partie de la zone d'étude. On remarque notamment l'ancienne raffinerie dans le Chablais valaisan (rive gauche du Rhône qui rejoint le Léman). Source : [www.vd.ch](http://www.vd.ch).

## 1.2 Approche choisie

Afin de répondre à ces objectifs, une approche de type « triade » a été appliquée faisant appel à de multiples éléments de preuve et livrant ainsi une évaluation globale de la toxicité des sédiments [1]. La triade comprend (i) des analyses chimiques (dosage des métaux, PCB et HAP) et une évaluation du risque écotoxicologique de ces substances en comparant leurs concentrations à des critères de qualité, (ii) une évaluation écotoxicologique à l'aide de tests en laboratoire sur le nématode *Caenorhabditis elegans* et l'ostracode *Heterocypris incongruens*, et (iii) une étude de la composition des communautés d'oligochètes (indice IOBS) et de nématodes (indices NemaSPEAR et NemaSPEAR<sub>genus</sub>). La stratégie d'échantillonnage et l'évaluation du risque écotoxicologique basée sur les résultats des analyses chimiques suivent les recommandations et les systèmes de classification du Centre Ecotox dans le cadre du projet « Module Sédiment », en partenariat avec l'Office fédéral de l'environnement et l'Eawag.



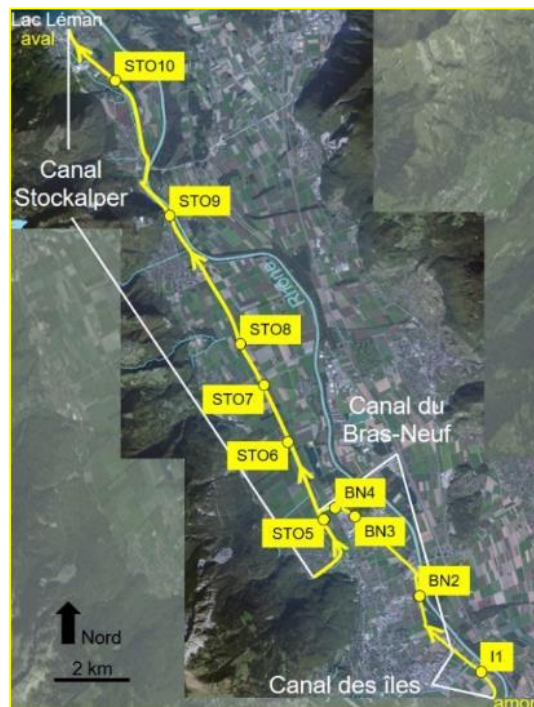
## 2 Matériel et méthodes

### 2.1 Sites d'études et échantillonnage

Dix sites ont été étudiés sur trois canaux : le canal des îles (site I1 sur la commune de Massongex), le canal du Bras-Neuf (sites BN2, BN3 et BN4 sur les communes de Monthey et Collombey-Muraz) et le canal Stockalper (sites STO5 à STO10 sur les communes de Collombey-Muraz, Vionnaz, Vouvry et Port-Valais) (Tab. 1). Le canal des îles se jette dans le canal du Bras-Neuf, qui à son tour rejoint le canal Stockalper (Fig. 1).

**Tableau 1** : Sites d'étude : localisation et dates d'échantillonnage.

ID	Canal	Nom	Commune	Date
I1	des îles	Amont La Vièze	Massongex	18.11.19
BN2	Bras-Neuf	Amont eaux Tamoil	Monthey	18.11.19
BN3	"	Amont STEP Collombey	Collombey-Muraz	01.11.19
BN4	"	Aval STEP Collombey	"	01.11.19
STO5	Stockalper	Amont confluence BN	"	31.10.19
STO6	"	Amont Fossé des talons	"	21.11.19
STO7	"	Amont STEP de Vionnaz	Vionnaz	19.11.19
STO8	"	Amont Torrent de l'Avançon	Vouvry	19.11.19
STO9	"	Porte du Scex	"	21.11.19
STO10	"	Amont STEP Port-Valais	Port-Valais	31.10.19



**Figure 2** : Plan de situation des sites d'échantillonnage (source des géodonnées : [www.vs.ch/web/egeo/environnement](http://www.vs.ch/web/egeo/environnement)). Les flèches jaunes indiquent le sens du courant.

Sur chaque site, les sédiments ont été prélevés à 3 emplacements distants de 10 à 15 m. Les sédiments (5-10 premiers centimètres) destinés aux analyses chimiques, aux tests écotoxicologiques et aux indices NemaSPEAR ont été prélevés à l'aide d'une pelle en plastique alors que



ceux destinés à l'indice IOBS ont été récoltés au moyen d'un filet de type Surber. Pour les analyses chimiques, les tests écotoxicologiques et l'étude des communautés d'oligochètes, les sédiments des 3 emplacements par site ont été mélangés, alors que pour l'étude des communautés de nématodes, un réplicat par emplacement a été récolté (3 récipients par site). Pour les analyses chimiques et les tests écotoxicologiques, les sédiments ont été tamisés sur le terrain, à l'aide d'un tamis de vide de maille de 2 mm, alors qu'aucun tamisage n'a été effectué pour les sédiments destinés à l'analyse des communautés benthiques. Ces derniers ont été fixés sur le terrain avec du formol 37 % (concentration finale de formaldéhyde de 4 %). Par site, environ 4 L de sédiments ont ainsi été prélevés pour les analyses chimiques, 50 mL pour le test *C. elegans*, 100 mL pour le test *H incongruens*, 450 mL pour l'étude des communautés de nématodes (150 mL par emplacement) et 3 L pour l'étude des communautés d'oligochètes.

De retour au laboratoire, les sédiments ont été homogénéisés avant d'être stockés. Les échantillons destinés aux biotests et aux indices biologiques ont été préservés en chambre froide à 4 °C alors que les sédiments destinés aux analyses chimiques ont été congelés (-20 °C). Les sédiments destinés aux tests écotoxicologiques ont été envoyés à S. Höss (Ecosa, Allemagne) et S. Santiago (Solval Santiago, Suisse) dans les 4 semaines suivant l'échantillonnage et conservés à 4 °C jusqu'à la réalisation des biotests.

Pour chaque site, les observations sur la couleur, l'odeur du sédiment, la présence ou non d'organismes vivants ainsi que les paramètres de l'eau superficielle (pH, température, oxygène dissous, conductivité) ont été notés. Ces informations, ainsi que les coordonnées GPS des lieux de prélèvements sont disponibles en annexe (Tab. A1.1).

## 2.2 Analyses chimiques

Les analyses suivantes ont été réalisées, par mandat du canton, par le laboratoire accrédité (ISO 17025) Wessling (Lyss, CH) :

- Teneur en matière organique, contenue dans la matière sèche, dosée par perte au feu selon la norme DIN EN 12879 [2].
- Concentrations en métaux : dosage des éléments As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn par spectrométrie à plasma à couplage inductif selon les normes ISO 11885 [3] et ISO 17294-2 [4], après minéralisation des sédiments à l'eau régale selon la norme ISO 11466 [5]. Les résultats des dosages d'éléments supplémentaires (Co, Fe, Mn et Mo), dont l'absence de valeurs TEC (voir ci-dessous) ne permet pas l'évaluation du risque seront présentés en annexe et ne seront pas discutés (Fig. A1.1).
- Concentrations en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) : dosage de 16 substances individuelles<sup>1</sup> par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse selon la norme ISO 18287 [6]. La somme des concentrations des 16 HAP est calculée en considérant la concentration de chaque HAP non détecté comme égale à 0.5 x la limite de détection.
- Concentrations en polychlorobiphényles (PCB) : dosage des congénères 28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180 par chromatographie en phase gazeuse, selon la norme ISO 10382 [7].

En complément de ces analyses, le Hg total a été dosé, dans les sédiments lyophilisés, par spectrophotométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS) avec un analyseur automatique de Hg, AMA-254 (Altec, République tchèque) par le groupe de recherche Limnologie et géologie environnementale du Département F.-A. Forel de l'environnement et de l'eau de l'Université de Genève.

---

<sup>1</sup> Acénaphène, acénaphylène, anthracène, benz(a)anthracène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(g,h,i)pérylène, benzo(a)pyrène, chrysène, dibenzo(a,h)anthracène, fluoranthène, fluorène, indéno(123-c,d)pyrène, naphthalène, phénanthrène et pyrène.



## 2.3 Données chimiques et critères de qualité utilisés

### 2.3.1 Teneur en matière organique

En l'absence de valeurs d'interprétation établies, les teneurs en matière organique (MO) pour ce projet ont été comparées à des seuils statistiques dérivés à partir de mesures sur 63 sites de cours d'eau suisses présentant des degrés de pollution divers, de préservés à fortement pollués [8] (Tab. 2). Un premier seuil correspondant au 10<sup>e</sup> centile de l'ensemble de ces données indique la concentration de fond, au-dessus de laquelle un apport anthropique de MO est supposé possible. Deux autres seuils, correspondant aux 50<sup>e</sup> et 90<sup>e</sup> centiles permettent de distinguer les sites avec une teneur en MO moyenne et excessive, respectivement. Ces seuils arbitraires sont provisoires et pourront varier à l'avenir après un examen approfondi de la méthode de développement.

**Tableau 2** : Classification des sédiments selon la teneur en matière organique (% MO) à partir des valeurs des 10<sup>e</sup>, 50<sup>e</sup> et 90<sup>e</sup> centiles des données sur 63 sites de cours d'eau en Suisse.

Seuils (% MO)	Classification
10 <sup>e</sup> centile : 1,3	
50 <sup>e</sup> centile : 2,5	
90 <sup>e</sup> centile : 7,8	

### 2.3.2 Métaux, HAP et PCB

En comparant les concentrations mesurées dans les sédiments à des critères de qualité, un risque écotoxique peut être calculé.

Pour cela, un quotient de risque (QR<sub>i</sub>) est calculé pour chaque substance individuelle (i) [9]. Il correspond au rapport entre la concentration du contaminant mesurée (concentration environnementale mesurée CEM) et le critère de qualité (CQ) attribué au contaminant i, selon l'équation suivante :

$$QR_i = \frac{CEM_i}{CQ_i}$$

Selon la valeur du QR, les sédiments sont classés dans 5 catégories de qualité (Tab. 3).

**Tableau 3** : Classification des échantillons de sédiments en 5 catégories de qualité basée sur la comparaison avec les critères de qualité selon les recommandations du Centre Ecotox (Module Sédiment).

Qualité	Définition de la classe (QR = CEM / CQ)		Signification
Très bonne	La concentration mesurée dans le sédiment est au moins 10 fois inférieure au critère de qualité.	QR < 0,1	Critère de qualité (CQ) respecté
Bonne	La concentration mesurée dans le sédiment est de 1 à 10 fois inférieure au critère de qualité.	0,1 ≤ QR < 1	
Moyenne	La concentration mesurée dans le sédiment est inférieure au double du critère de qualité.	1 ≤ QR < 2	Critère de qualité (CQ) non respecté (seuil dépassé)
Médiocre	La concentration mesurée dans le sédiment est inférieure à 10 fois le critère de qualité.	2 ≤ QR < 10	
Mauvaise	La concentration mesurée dans le sédiment est égale ou supérieure à 10 fois le critère de qualité.	QR ≥ 10	





Lorsque la concentration des HAP et PCB est inférieure à la limite de détection (LD), l'évaluation du risque se base sur les deux cas de figures suivants :

- Si  $LD < QC$ , on considère que le critère de qualité est respecté. La qualité sera alors jugée bonne (couleur verte). Elle sera très bonne (couleur bleue) pour une substance, uniquement si le CQ est plus de 10 fois supérieur à la LD.
- Si  $LD > QC$ , la qualité du sédiment ne peut pas être évaluée (couleur grise).

### 2.3.2.1 Critères de qualité pour les métaux

Les critères de qualité appliqués ici pour les métaux As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn sont les seuils d'effets TEC (Threshold Effect Concentration) publiés par MacDonald *et al.* [10]. Il s'agit de guides consensuels dérivés de résultats de tests écotoxicologiques principalement, d'études sur la composition des communautés de macroinvertébrés et d'analyses chimiques effectués sur les mêmes sédiments. Une concentration inférieure à la TEC indique une faible probabilité d'effets pour les organismes benthiques.

Les valeurs TEC n'ayant pas été entièrement validées pour une utilisation en Suisse, les résultats obtenus ont également été comparés aux concentrations mesurées dans d'autres études récentes en Suisse :

- Concentrations mesurées dans de petits cours d'eau avec différents niveaux et différentes sources de contamination. Elles sont basées sur les mêmes méthodes de tamisage (sédiment tamisé à 2 mm) et d'extraction (à l'eau régale) (campagne NAWA-SPEZ 2018, N = 18 sites dont deux sites de référence NAWA-SPEZ 2015) (Centre Ecotox, données non publiées).
- Concentrations de fond (estimées au 10<sup>e</sup> centile des valeurs) mesurées dans des endroits éloignés des sources ponctuelles de contamination dans des petits cours d'eaux. Elles sont basées sur la même méthode de tamisage (sédiment tamisé à 2 mm) et une extraction plus douce, à l'acide nitrique 2 M (N = 63 sites) [8].

Concernant le Hg, le risque a été évalué dans un premier temps en utilisant la valeur TEC, comme les autres métaux. Les concentrations mesurées en Hg ont aussi été comparées au critère de qualité EQS<sub>sed</sub> dérivé par le Centre Ecotox [11] selon la méthodologie de la directive cadre sur l'eau de l'UE [12], ainsi qu'aux concentrations mesurées dans les études citées ci-dessous, pour lesquelles les méthodes d'analyse furent identiques à celle utilisée ici (analyseur AMA-254).

### 2.3.2.2 Critères de qualité pour les HAP et les PCB

Pour les HAP et les PCB, le risque est évalué en utilisant les critères de qualité EQS<sub>sed</sub> proposés par le Centre Ecotox, reposant sur la revue des différents critères existants [13, 14]. Les critères de qualité pour les PCB tiennent notamment compte du risque de l'empoisonnement secondaire dans les écosystèmes aquatiques. Le critère de qualité EQS<sub>sed</sub> proposé par le Centre Ecotox pour le PCB118 protège contre les effets de tous les PCB de type dioxine. Les critères de qualité PAH et PCB ont été normalisés par la teneur en carbone organique total (COT) calculée pour chaque site à partir du % MO (Annexe A1). Le carbone organique est considéré comme un facteur clé qui détermine la biodisponibilité des contaminants. Enfin, pour les HAP, considérant que les substances ont un mode d'action commun, le quotient de risque pour le mélange,  $QR_{HAP}$  est déterminé selon :

$$QR_{HAP} = \sum_i QR_i \quad [15]$$

Les résultats obtenus ont également été comparés aux concentrations mesurées dans d'autres études récentes en Suisse :

- Somme des concentrations de 16 HAP, somme des concentrations de 6 PCB indicateurs et concentrations du PCB 118 de la campagne NAWA-SPEZ 2018 (N = 18 sites dont deux sites de référence NAWA-SPEZ 2015) (Centre Ecotox, données non publiées).
- Concentrations des substances individuelles et de leurs sommes mesurées de 2015 à 2018 dans 24 sites de niveaux de pollution variés (Centre Ecotox, données non publiées).





## 2.4 Tests écotoxicologiques

Le bureau d'études Ecosa (Sebastian Höss, Allemagne) a effectué les tests de reproduction et de croissance sur le nématode *Caenorhabditis elegans* selon la norme ISO 10872 [16], alors que le laboratoire Soluval Santiago (Sergio Santiago, Suisse) a réalisé le test de mortalité et de croissance sur le crustacé *Heterocypris incongruens* selon la norme ISO 14371 [17].

### 2.4.1 Test de reproduction et de croissance sur *C. elegans*

Le nématode *C. elegans* a été cultivé selon la norme ISO 10872. Des larves d'adultes développées en une population mixte d'adultes et de juvéniles du premier et deuxième stade (J1 et J2) ont été rincées des plaques de culture avec du milieu artificiel et récupérées dans un filtre (5 µm-gaze) déposé dans une boîte de Pétri. La filtration a permis de retenir les plus grands vers, c'est-à-dire les stades juvéniles J1, utilisés pour le test.

Pour les tests, des microplaques à 12 puits ont été remplies avec 0,5 g de sédiment à tester humide (4 puits = 4 réplicats test) ou 0,3 g de sédiment artificiel (contrôle) sec additionné de 0,2 mL d'eau distillée (8 puits = 8 réplicats contrôle). Pour le conditionnement des sédiments, les plaques ont été stockées 24 h à 8 °C avant de lancer le test. Pour lancer le test, 0,5 mL de suspension bactérienne (*Escherichia coli* OP50) a été ajouté comme source de nourriture, et mélangé au sédiment avec une spatule ; 10 nématodes juvéniles (premier stade) ont ensuite été introduits dans chaque puits.

Les microplaques ont été incubées à 20 °C pendant 4 jours. À la fin de la période d'exposition, un colorant (rose de Bengale) a été ajouté dans les puits et les plaques ont été incubées à 80 °C pendant 15 minutes, puis stockées à 8 °C en attendant l'extraction des organismes. Les organismes d'essai et leurs progénitures ont été séparés du sédiment par extraction au Ludox TM-50 (Sigma-Aldrich), une suspension de silice colloïdale ajustée à une densité de 1,13 g/mL avec de l'eau déminéralisée. Après mélange du sédiment avec la suspension Ludox et centrifugation, les nématodes ont été retrouvés dans le surnageant. L'extraction a été répétée deux fois.

La reproduction a été calculée en divisant le nombre de descendants (progéniture) par le nombre d'organismes introduits au début du test (= 10) pour chaque réplicat. La longueur, mesurée sous microscope, a été convertie en croissance (différence entre la longueur à la fin et la longueur moyenne de 30 organismes au début de l'exposition).

### 2.4.2 Test de mortalité et de croissance sur *H. incongruens*

Le test de toxicité avec les ostracodes *H. incongruens* a été réalisé en utilisant l'Ostracodtoxkit F™ (MicroBioTests, Gand, Belgique). En bref, l'incubation des kystes d'ostracodes a commencé 52 h avant le test. Ils ont été placés dans une boîte de Pétri contenant 10 mL d'eau douce standard (dureté moyenne) et incubés à 25 °C sous éclairage continu. Après 48 h, les kystes éclos ont été nourris avec une solution de spiruline et incubés pendant 4 h supplémentaires.

Pour les tests, des microplaques à 6 puits (1 microplaque de 6 puits par échantillon/contrôle) ont été remplies avec 2 mL d'eau douce standard et 1 mL de sédiment par puits. Ensuite, 2 mL d'algues ont été ajoutés (*Scenedesmus* spp., également préparé dans de l'eau douce standard). Comme sédiment témoin, le sédiment de référence fourni avec le kit a été utilisé. Enfin, 10 ostracodes fraîchement éclos ont été transférés dans chaque puits de la microplaque.

Les microplaques ont été incubées dans l'obscurité à 25 °C pendant 6 jours. À la fin de la période d'exposition, les ostracodes survivants ont été récupérés et immobilisés avec une solution de Lugol. Ensuite, ils ont été comptés pour chaque puits (calcul du taux de mortalité) et transférés sur une lame de verre pour mesurer leur longueur à l'aide d'une loupe binoculaire (logiciel CellID, Olympus, Hambourg). La longueur a été convertie en croissance (différence entre la longueur à la fin et la longueur moyenne de 10 organismes au début de l'exposition).



### 2.4.3 Interprétation des effets observés sur *C. elegans* et *H. incongruens*

Le pourcentage d'inhibition (I) de croissance ou de reproduction, pour chaque organisme et chaque échantillon de sédiment a été calculé par rapport au sédiment témoin selon :

$$I (\%) = 100 - \frac{L_s \text{ ou } R_s}{L_c \text{ ou } R_c} \times 100$$

où  $L_s / R_s$  et  $L_c / R_c$  sont les valeurs moyennes de la croissance des ostracodes ou des nématodes et du nombre de descendants pour les nématodes, dans respectivement les sédiments testés (S) et le sédiment témoin (C).

Les différences significatives des sédiments naturels avec le sédiment contrôle ont été testées par des analyses de variance (one-way Anova) suivies par des tests de comparaison 2 à 2 (test post-hoc Tukey) dans le logiciel Origin 2020 (Softonic, Barcelone, Espagne). Une différence significative avec le sédiment contrôle signifie que le sédiment a un effet sur les organismes mais ne signifie pas forcément que le sédiment représente un risque toxique. Pour représenter un risque toxique, l'effet observé (inhibition de croissance / de reproduction ou taux de mortalité) doit dépasser un seuil de toxicité (Tab. 4) qui a été défini pour chaque marqueur d'effet et pour chaque organisme test, en tenant compte de la variabilité naturelle des réponses des organismes aux caractéristiques intrinsèques des sédiments (granulométrie, contenu en carbone organique, etc.).

**Tableau 4 :** Seuils de toxicité pour les tests écotoxicologiques sur *C. elegans* et *H. incongruens*.

Espèce test	Groupe	Critère d'effet	Seuil de toxicité (%)	Références
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Ver, nématode	Croissance	25	Höss <i>et al.</i> [18]
		Reproduction	50	
<i>Heterocypris incongruens</i>	Crustacé, ostracode	Mortalité	20	Casado-Martinez <i>et al.</i> [19]
		Croissance	35	

Avec ce seuil de toxicité, un quotient d'effet QE a été calculé selon l'équation :

$$QE = \frac{\text{effet} (\%)}{\text{seuil de toxicité} (\%)}$$




Si la valeur de QE dépasse 1 alors le sédiment est toxique et l'est d'autant plus que la valeur est grande. Les effets mesurés peuvent alors être classés en 3 catégories [20] (Tab. 5).

**Tableau 5 :** Catégorisation des effets mesurés chez *C. elegans* et *H. incongruens*. \*pour la reproduction chez *C. elegans*, le seuil d'effet significatif est à 80 %, soit  $QE = 1.6$ .

Catégorie	QE	<i>C. elegans</i>		<i>H. incongruens</i>		
		Croissance	Reproduction	Mortalité	Croissance	
1	Pas d'effet significatif	< 1	< 25 %	< 50 %	< 20 %	< 35 %
2	Effet modéré	1 – 2*	25 – 50 %	50 – 80 %	20 – 40 %	35 – 70 %
3	Effet sévère	> 2*	> 50 %	> 80 %	> 40 %	> 70 %

Enfin, les échantillons ont été classés en qualité « bonne », « moyenne » ou « mauvaise » selon le bilan écotoxicologique (Tab. 6).

**Tableau 6 :** Classification des sédiments selon les résultats des tests écotoxicologiques.

Qualité	Définition de la classe
 Bonne	Tous les effets mesurés sont en catégorie 1
 Moyenne	Au moins un effet mesuré en catégorie 2 et aucun en catégorie 3
 Mauvaise	Au moins un effet mesuré en catégorie 3 ou tous les effets en catégorie 2



## 2.5 Indices biologiques

### 2.5.1 Examen des peuplements d'oligochètes

L'étude des communautés d'oligochètes a été effectuée par Régis Vivien (Centre Ecotox, Suisse) selon la norme AFNOR de l'indice oligochètes de bioindication des sédiments, IOBS [21]. Au laboratoire, le tamisage des sédiments a été effectué sur une colonne de 2 tamis (5 mm et 0,5 mm de vide de maille). Le refus du tamis de 0,5 mm de vide de maille a été transféré dans une cuve de sous-échantillonnage compartimentée en 25 cases carrées de surface égale. Le contenu de cases choisies au hasard a été transféré dans des boîtes de Pétri et examiné avec une loupe binoculaire. Des cases successives ont été examinées jusqu'à l'obtention de 100 oligochètes identifiables. Les oligochètes ont été montés entre lame et lamelle dans une solution d'enrobage. Les spécimens ont été identifiés à l'espèce (si possible), au genre, à la famille ou au groupe. L'IOBS est calculé selon la formule suivante :

$$IOBS = 10ST^{-1}$$

où S est le nombre total de taxons identifiés parmi 100 oligochètes d'un relevé de sédiment et T le pourcentage de tubificidés avec ou sans soies capillaires (comprenant les sous-familles Tubificinae, Rhyacodrilinae et Phallogrilinae), matures et immatures confondus, qui prédomine dans le même relevé de sédiment. Cet indice décrit la qualité biologique des sédiments en cinq classes (Tab. 7).

**Tableau 7 : Classes de qualité des sédiments selon l'indice IOBS.**

IOBS	≥ 6	5,9 – 3	2,9 – 2	1,9 – 1	< 1
Qualité	Très bonne	Bonne	Moyenne	Médiocre	Mauvaise

L'étude de la densité d'oligochètes et des pourcentages de tubificidés sans et avec soies capillaires permet de compléter le diagnostic [21]. Dans le cas où l'IOBS est < 2 (classes médiocre et mauvaise), un pourcentage de tubificidés sans soies capillaires nettement dominant indique une pollution par les métaux et/ou PCB et un pourcentage nettement dominant de tubificidés avec soies capillaires, une pollution par la matière organique (et/ou PAH). Une densité élevée des oligochètes (> 3000 individus par 0,1 m<sup>2</sup>) associée à un IOBS faible (IOBS < 3) indique une pollution par la matière organique.

### 2.5.2 Examen des peuplements de nématodes

L'étude des communautés de nématodes a été effectuée par Sebastian Höss (EcoSsa, Allemagne) et Walter Traunspurger (Université de Bielefeld, Allemagne). L'analyse de ces communautés a été effectuée selon les méthodologies décrites dans Heininger *et al.* [22], Höss *et al.* [23, 24] et Traunspurger *et al.* [25]. Au laboratoire, les sédiments de chaque répliquat (3 répliquats par site) ont été centrifugés pendant 5 min à 800 g. Après avoir jeté le surnageant (formaldéhyde 4 %), les sédiments ont été mélangés à une suspension de silice colloïdale (Ludox TM-50, Sigma-Aldrich) ajustée à une densité de 1,13 g/mL avec de l'eau déminéralisée. Après centrifugation de ce mélange pendant 15 min à 800 g, le surnageant a tout d'abord été tamisé avec un tamis de vide de maille de 1 mm. Puis le matériel passé à travers les mailles du tamis (organismes <1 mm) a été filtré au moyen d'une bande de gaze (10 µm de vide de maille) pour retenir les nématodes. Les étapes depuis la centrifugation avec la suspension de silice colloïdale ont été répétées deux fois, donc au total 3 centrifugations par répliquat ont été effectuées. Les organismes retenus sur la gaze ont été transférés dans des boîtes de Pétri et comptés à l'aide d'une loupe binoculaire (grossissement 25 à 40 fois). Entre 53 et 63 individus par répliquat ont été montés entre lame et lamelle dans une solution d'enrobage (glycérol) et identifiés à l'espèce (si possible) au moyen d'un microscope.



Au total, 167 à 183 spécimens ont été identifiés par site. Les indices nématodes NemaSPEAR[%] et NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> ont été calculés à partir des données des abondances relatives des taxons de nématodes selon Höss *et al.* [24]. L'indice NemaSPEAR[%] tient compte des identifications des spécimens à l'espèce alors que le NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> prend en considération les identifications au genre uniquement. Il est à noter que le NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> ne prend pas en considération le genre *Eumonhystera*. En effet, ce genre inclus des espèces présentant différents degrés de résistance aux pollutions et aucun statut écologique ne peut donc lui être attribué [24]. Ces deux indices ont été validés comme outils pour évaluer le risque écologique des sédiments contaminés [24].

Les indices NemaSPEAR[%] ou NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> décrivent la qualité biologique des sédiments en cinq classes (Tab. 8).

**Tableau 8** : Classes de qualité des sédiments selon l'indice NemaSPEAR[%] et NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub>.

NemaSPEAR	> 54	54 – 30	29 – 20	19 – 10	< 10
Qualité	Très bonne	Bonne	Moyenne	Médiocre	Mauvaise

Sur chaque site, les densités de nématodes ont été déterminées par réplicat et les indices nématodes ont été appliqués à partir des données de chaque réplicat ainsi qu'à partir des données des 3 réplicats regroupées. Dans le présent rapport, nous ne présentons que les résultats des indices nématodes obtenus en utilisant les données des 3 réplicats regroupés.

## 2.6 Analyses statistiques des résultats de la triade

Les corrélations entre les quotients de risque, les teneurs en matière organique, les scores des indices biologiques et les quotients d'effets écotoxicologiques ont été étudiées. Les données n'étant pas distribuées de façon normale, des analyses de corrélation non paramétriques de Spearman ont été effectuées à l'aide du logiciel Origin 2020 (Softonic, Barcelone, Espagne). Une carte de synthèse a été préparée à l'aide du logiciel Microsoft PowerPoint. Enfin, afin d'intégrer les résultats des multiples éléments de preuve (chimie, tests écotoxicologiques et indices biologiques), une classification ascendante hiérarchique (analyse de cluster) des 10 échantillons de sédiment a été exécutée dans le logiciel Origin 2020. L'analyse de cluster a permis de classer les échantillons en minimisant les différences à l'intérieur des clusters et maximisant les différences entre les clusters. Les résultats sont présentés en fonction de leur % de similarité, selon la mesure de la distance euclidienne des résultats des 10 échantillons de sédiment.



## 3 Résultats et discussion

### 3.1 Analyses chimiques et évaluation des risques

L'annexe A2 comprend le rapport complet des résultats des analyses chimiques effectuées par le laboratoire Wessling. Ces résultats ont été validés par le Secteur de protection des eaux (État du Valais) et n'avons donc pas procédé à une évaluation de la qualité des données.

#### 3.1.1 Teneur en matière organique

Les résultats des teneurs en matière organique (% MO) obtenues par perte au feu sont présentés en annexe (Tab. A1. 2). Le site BN2 présente le plus fort taux de MO (11,0 %) alors que le site juste en aval BN3 présente le taux le plus faible (4,8 %). Dans le canal Stockalper les valeurs varient de 5,4 à 8,5 %. Le contenu en MO sur tous les sites est élevé puisqu'il dépasse très nettement le 50<sup>e</sup> centile des taux de MO mesurés en Suisse, qui est de 2,5 % (Tab. 2). Le % de MO dépasse même le 90<sup>e</sup> centile des taux de MO mesurés en Suisse (7,8 %) sur les sites BN2, BN4, STO5 et STO8 à STO10.

#### 3.1.2 Métaux

Tous les sites comprennent au moins trois métaux dont la concentration est supérieure au critère de qualité TEC (Tab. 9). Le site BN2 présente une qualité médiocre de ses sédiments pour trois métaux (Cu, Ni, Zn), les sites BN3, BN4 et STO5 pour deux métaux (BN3 : Ni, Zn ; BN4 : Cu, Zn ; STO5 : Cu, Ni) et les sites STO6, STO8 et STO10 pour un métal (STO6 : Zn ; STO8 : Ni ; STO10 : Ni). Le Ni est le métal dont la concentration dépasse, le plus souvent, deux fois le CQ (dans la moitié des sites le QR est  $\geq 2$ , indiquant une qualité médiocre). Alors que la qualité pour le Hg et le Cd est bonne pour quasi tous les sites (8 et 10 sites, respectivement), le Cr et le Pb présentent une qualité moyenne dans le canal du Bras-Neuf, et l'As dans le canal Stockalper (sites STO6-8 et STO10). Pour l'As et Cr, cependant, les concentrations ne sont que légèrement supérieures à la valeur TEC. Les sites I1, STO7 et STO9 sont les moins à risque avec trois ou quatre métaux classant le sédiment en qualité moyenne.

**Tableau 9** : Concentrations mesurées pour les métaux (mg/kg poids sec) dans les sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) et évaluation de la qualité des sédiments selon les valeurs TEC (voir Tab. 3 pour l'échelle des couleurs).

[Métal] (mg/kg p.s.)	Sites										TEC
	I1	BN2	BN3	BN4	STO5	STO6	STO7	STO8	STO9	STO10	
As	3,0	4,2	5,3	5,2	6,9	11	10	12	8,4	11	9,79
Cd	0,4	0,5	0,6	0,8	0,4	0,5	0,5	0,6	0,5	0,6	0,99
Cr	45	53	53	50	44	35	40	45	38	45	43,40
Cu	45	93	54	90	81	47	53	60	55	63	31,60
Hg	0,04	0,13	0,27	0,33	0,09	0,17	0,12	0,11	0,11	0,11	0,18
Ni	34	48	47	41	54	34	42	49	41	50	22,70
Pb	30	47	41	44	40	27	29	30	28	32	35,80
Zn	180	260	280	400	240	250	220	220	190	220	121,00

Il apparaît intéressant ici de comparer les concentrations mesurées dans les sédiments de ces 3 canaux avec les concentrations habituellement mesurées en Suisse (Tab. A1. 3). Cette comparaison suggère une contamination importante en **Cu** et **Zn** dans tous les sédiments des 3 canaux, avec des concentrations supérieures aux concentrations dans les sites de références, en cohérence avec l'interprétation du risque selon la valeur TEC. Parfois, les concentrations excèdent même les concentrations maximales des sites d'étude NAWA-SPEZ 2018 (BN2, BN4 et STO5





pour le Cu, sites BN2 à STO6 pour le Zn). Les concentrations de ces deux métaux sont entre 9 et 20 fois supérieures aux concentrations de fond dérivées par Vivien *et al.* (2020). La concentration maximale en **Pb** des sites d'étude NAWA-SPEZ 2018 de 37,3 mg/kg poids sec est dépassée dans les 3 sites du canal du BN et le site STO5. La concentration de fond en Pb est estimée à 5,2 mg/kg poids sec. Les concentrations dans les sites BN2 à STO5 (sédiments de qualité moyenne) sont donc de 8 à 9 fois supérieures aux concentrations de fond. Les concentrations en **Cr** et **Ni** pour les 10 sites de ce projet sont supérieures aux concentrations mesurées dans les 2 sites de référence du programme NAWA-SPEZ 2015 et similaires aux concentrations maximales des sites NAWA-SPEZ 2018. Comparées aux concentrations de fond, les sédiments des sites de ce projet sont contaminés dans une moindre mesure en Cr et Ni par rapport aux autres métaux, avec des rapports de 2,3 x (STO6) à 3,5 x (BN2-3) et de 3 x (I1 et STO6) à 4,7 x (STO5) pour le Cr et le Ni, respectivement (Tab. A1. 3). Pour le Ni, la valeur TEC semble un peu trop conservatrice par rapport aux concentrations de fond mesurées en Suisse : les sédiments sont classés de qualité médiocre pour des concentrations relativement peu excessives par rapport au Cu et Zn, par exemple. Enfin, pour l'**As** et le **Cd**, seules des valeurs de fond sont disponibles (Tab. A1. 3) : les sédiments de tous les sites montrent une concentration d'As supérieure à la concentration de fond (< 5 x pour I1 et BN2-4 jusqu'à 10 x pour STO8) ; les concentrations en Cd mesurées sont de 4,4 x (I1 et STO5) à 9 x (BN4) supérieures aux concentrations de fond.

Concernant le **Hg**, les concentrations mesurées dans les sédiments des sites BN2, STO6, STO7, STO8, STO9 et STO10 (entre 0,11 et 0,17 mg/kg poids sec) étaient inférieures, mais proches du seuil TEC (0,18 mg/kg poids sec). MacDonald *et al.* (2000) [10] ont montré que l'incidence de toxicité sur divers organismes benthiques à des concentrations de Hg inférieures à ce seuil TEC était de 65% (le taux le plus élevé parmi tous les métaux) et par la suite l'utilisation d'un tel seuil pour le Hg a été jugée discutable pour diverses raisons [26]. Une toxicité liée au Hg ne peut donc pas être exclue au niveau des sites BN2 et STO6 à STO10. Le Centre Ecotox propose un critère de qualité  $QS_{sed}$  de 0,016 mg/kg poids sec (pour 1% de COT, dérivé à partir de données de tests écotoxicologiques) comme concentration maximale admissible à ajouter à la concentration de fond locale en Hg total dans les sédiments. La concentration de fond en Hg dans les sédiments des petits cours d'eau en Suisse a été estimée à 0,009 mg/kg poids sec (Tab. A1. 3) [8]. Les concentrations sur les 10 sites de la présente étude sont donc de 4 à 40 fois plus élevées que la concentration de fond, ce qui montre un niveau de contamination élevé du Hg sur l'ensemble des sites. En ajoutant cette concentration de fond, l' $EQS_{sed}$  est alors de 0,025 mg/kg poids sec. Si l'on utilise ce critère de qualité normalisé avec la COT de chaque site, les sites BN3, BN4 et STO6 ont des sédiments de qualité médiocre (au lieu de bonne ou moyenne en utilisant la TEC). De plus, les concentrations mesurées ici dépassent la concentration maximale mesurée lors de la campagne NAWA-SPEZ 2018 pour tous les sites et dépassent de 2 x à 7 x la concentration des sites de référence (I1 : concentration égale).

### 3.1.3 Hydrocarbures aromatiques polycycliques

Les concentrations en HAP sont présentées dans le Tableau 10 et la Figure A1.2. Seize HAP ont été analysés, mais plusieurs d'entre eux n'ont pas été détectés dans cette campagne de novembre 2019 (limite de détection 0,05 mg/kg, poids sec) alors qu'elles l'avaient été lors de la campagne de juillet 2019 (limite de détection entre 0,01 et 0,03 mg/kg, poids sec, selon la substance). Il s'agit des substances suivantes : acénaphène, acénaphylène, anthracène, dibenzo(ah)anthracène, fluorène et naphthalène.

Si l'on considère les substances individuellement, les concentrations les plus élevées sont toujours observées dans les sédiments des sites BN2 (9 sur 10 HAP détectés dans au moins 1 site) et STO9 (3 sur 10 HAP détectés dans au moins 1 site). Seul le benz(a)anthracène montre la plus forte concentration au site STO9 uniquement, alors que le chrysène et le phénanthrène ont été dosés à des concentrations égales aux sites BN2 et STO9. Aucun HAP ne dépasse cependant le critère de qualité individuel. Si l'on évalue le mélange d'HAP, considérant que ces substances ont des modes d'action similaires, selon le  $QR_{HAP}$  (somme des QR des substances individuelles),



les sites I1, STO7 et STO8 sont de bonne qualité, BN4, STO6 et STO10 de qualité moyenne et les sites BN2, BN3 et STO5 et STO9 de qualité médiocre.

**Tableau 10 :** Concentrations mesurées (mg/kg, poids sec) pour les HAP (individuelles et calculées pour la somme des 16 HAP) dans les sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) (LD = 0,05 mg/kg, poids sec). Évaluation du risque selon les critères de qualité EQS<sub>sed</sub> (Centre Ecotox) dont la valeur a été normalisée par le COT de chaque site et selon le QR<sub>HAP</sub> pour la somme des HAP (voir Tableau 3 pour l'échelle des couleurs). Les valeurs EQS<sub>sed</sub> pour le COT moyen sur les 10 sites sont données à titre indicatif.

[HAP] (mg/kg, p.s.)	Sites										EQS <sub>sed</sub> (3,4 % COT)
	I1	BN2	BN3	BN4	STO5	STO6	STO7	STO8	STO9	STO10	
Acénaphène	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,33
Acénaphthylène	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,10
Anthracène	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,02
Benz(a)anthracène	< LD	0,10	0,06	0,05	0,10	0,06	< LD	0,06	0,14	0,08	0,20
Benzo(a)pyrène	0,05	0,12	0,06	< LD	0,08	0,07	< LD	< LD	0,10	0,07	0,62
Benzo(b)fluoranthène	0,07	0,16	0,08	0,07	0,11	0,07	< LD	0,06	0,12	0,08	0,47
Benzo(g,h,i)pérylène	0,05	0,12	0,06	0,05	0,07	0,05	< LD	< LD	0,07	< LD	0,29
Benzo(k)fluoranthène	0,06	0,14	0,07	0,06	0,10	0,08	< LD	0,06	0,12	0,08	0,46
Chrysène	0,06	0,15	0,08	0,08	0,12	0,07	< LD	0,07	0,15	0,10	0,95
Dibenzo(a,h)ant.	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,09
Fluoranthène	0,08	0,22	0,13	0,10	0,18	0,11	0,07	0,10	0,19	0,11	1,39
Fluorène	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,48
Indéno(1,2,3-c,d)p.	< LD	0,09	< LD	< LD	0,05	< LD	< LD	< LD	0,06	< LD	0,22
Naphtalène	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,10
Phénanthrène	< LD	0,09	0,07	0,06	0,08	0,05	< LD	< LD	0,09	0,05	0,27
Pyrène	0,07	0,18	0,13	0,11	0,15	0,11	0,07	0,09	0,17	0,11	0,57
Somme 16 HAP	0,67	1,52	0,92	0,78	1,19	0,85	0,49	0,69	1,36	0,88	-
QR <sub>HAP</sub>	0,98	2,37	2,35	1,14	2,23	1,88	0,19	0,79	2,66	1,30	-

Dans les ruisseaux et les petites rivières en Suisse, les concentrations totales pour les 16 HAP varient entre 0,02 et 10,3 mg/kg poids sec dans la fraction < 2 mm, avec des valeurs de 0,10 et 0,13 mg/kg poids sec dans les sites de référence (campagne NAWA-SPEZ 2018, N = 18 sites dont deux sites de référence NAWA-SPEZ 2015) (Centre Ecotox, données non publiées) (Tab. A1. 3). Les concentrations totales calculées dans ce projet (Tab. 10) sont donc entre 5 et 15 fois supérieures aux concentrations des sites de référence. Comparées aux concentrations de fond estimée selon le 10<sup>e</sup> centile des mesures de 24 sites entre 2015 et 2016 (Centre Ecotox, données non publiées), les concentrations totales en HAP sont 6,5 x (STO7) à 18 x (STO9) et 20 x (BN2) supérieures. Aucune valeur ne dépasse cependant la concentration maximale mesurée (10,3 mg/kg poids sec) dans la campagne NAWA-SPEZ 2018 (Centre Ecotox, données non publiées). Pour les substances individuelles, les concentrations en fluoranthène, benzo(k)fluoranthène et benzo(a)pyrène sont entre 35 et 46 fois plus élevées que les 10<sup>e</sup> centiles (Tab. A1. 3) dans les sédiments du site BN2 et la concentration du benz(a)anthracène, 35 fois plus élevée au site STO9. Les sites BN2 et STO9, sont donc clairement les plus pollués en HAP.





### 3.1.4 Polychlorobiphényles

Les concentrations en PCB sont présentées dans le Tableau 11 et la Figure A1.3. Sept congénères indicateurs ont été analysés. Le PCB 52 qui avait été détecté en juillet 2019 au site STO9 ne l'a été dans aucun des sites en novembre (LD = 2 µg/kg, poids sec). En revanche, lors des deux campagnes, le PCB 28 n'a été détecté dans aucun des sites (LD = 10 - 200 µg/kg, poids sec, selon le site et l'échantillonnage).

Les sites BN2 et BN4 présentent les plus fortes concentrations en PCB parmi les sites étudiés avec 4 ou 5 congénères détectés, suivis de STO5, I1, BN3 et STO6 avec 2 ou 3 congénères détectés, respectivement (Tab. 11, Figure A1.3). Les concentrations des PCB sont inférieures aux seuils de limite de détection aux sites STO7 à STO10. Le risque toxique est particulièrement élevé au site BN2, au niveau duquel 4 congénères classent les sédiments comme de qualité médiocre et le PCB 118, utilisé comme indicateur pour tous les congénères de type dioxine, est présent à une concentration supérieure à 10x le EQS<sub>sed</sub>, ce qui classe les sédiments en mauvaise qualité. L'évaluation du risque indique que les autres sites, à l'exception des sites STO7 à STO10, dont le risque ne peut pas être évalué, sont également de qualité médiocre, avec quatre (BN4), trois (STO5) ou deux (I1, BN3 et STO6) congénères avec des QR ≥ 2 (couleur orange).

**Tableau 11** : Concentrations mesurées (µg/kg, poids sec) pour les PCB dans les sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) (LD = 10 - 100 µg/kg poids sec pour PCB 28 ; 2 µg/kg poids sec pour les autres congénères) et évaluation du risque selon les critères de qualité EQS<sub>sed</sub> (Centre Ecotox) dont la valeur a été normalisée par le COT de chaque site (voir Tableau 3 pour l'échelle des couleurs). Les valeurs EQS<sub>sed</sub> pour le COT moyen sur les 10 sites sont données à titre indicatif. Lorsque les substances ne sont pas détectées, une évaluation du risque ne peut pas être faite (couleur gris) du fait que LD > CQ.

[PCB] (µg/kg, p.s.)	Sites										EQS <sub>sed</sub> (3.4 % COT)
	I1	BN2	BN3	BN4	STO5	STO6	STO7	STO8	STO9	STO10	
PCB 28	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,07
PCB 52	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,07
PCB 101	< LD	4,3	< LD	2,4	2,9	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,37
PCB 118	< LD	2,7	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,17
PCB 138	2,6	7,3	3,3	4,7	3,4	3,5	< LD	< LD	< LD	< LD	0,68
PCB 153	2,2	6,4	2,6	4,0	3,2	3,0	< LD	< LD	< LD	< LD	1,02
PCB 180	< LD	3,4	< LD	3,3	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,30

La comparaison des concentrations avec des concentrations mesurées en Suisse (Tab. A1. 3) montre que pour la somme des 6 PCB indicateurs (28, 52, 101, 138, 153 et 180), toutes les concentrations calculées sont supérieures à celles des sites de références NAWA-SPEZ 2015 (I1 : 4,8 ; BN : 21,4 ; BN3 : 5,9 ; BN4 : 14,4 ; STO5 : 9,5 et STO6 : 6,5). Deux sites dépassent même la concentration maximale mesurée dans la campagne NAWA-SPEZ 2018 (BN2 1,7 x et BN4 1,2 x). Si on compare à la concentration de fond calculée pour les 6 PCB<sub>i</sub> (Tab. A1. 3), les concentrations sont de 35 x (I1) à 70 x (STO5) supérieures, si on exclut les sites BN2 et BN4 (158 x et 106 x, respectivement). Concernant le PCB 118, la concentration mesurée au site BN2 est 1,6 x plus forte que la concentration maximale mesurée dans les ruisseaux en Suisse en 2018, et 270 x supérieure à la concentration de fond de 0,010 µg/kg poids sec, indiquant une pollution frappante, en accord avec l'évaluation du risque (qualité mauvaise) selon le critère de qualité EQS<sub>sed</sub> qui a été appliqué.



### 3.1.5 Bilan de l'approche chimique

Les résultats du premier volet de la triade permettent de dresser un état des lieux de la contamination chimique des différents tronçons étudiés et des différents sites sur la base des substances qui ont été analysées dans cette étude (Tab. 12).

Sur chaque site, des concentrations de polluants qui pourraient potentiellement induire une toxicité ont été mesurées (critères de qualité dépassés). Le risque toxique le plus élevé est observé aux sites BN2, BN3, BN4 et STO5 si l'on se réfère au nombre de substances dépassant deux fois le critère de qualité (qualité médiocre et mauvaise) : 4 à 7, contre 0 à 2 dans les autres sites. Selon le bilan de l'analyse des risques (Tab. 12), le site STO5 présente une signature chimique plus proche de celle des sites BN que de celle des autres sites du canal Stockalper. Le canal Stockalper à partir du site STO7, présente un niveau de contamination et de risques moins important que le canal du Bras-Neuf, selon la liste de substances analysées dans ce projet. Les sites I1 et STO6 présentent une qualité chimique intermédiaire, si on les compare aux sites BN et STO7-10. Enfin, le site STO9 est le seul site du canal Stockalper fortement impacté par les HAP selon le calcul du  $QR_{HAP}$ . Concernant les PCB, des concentrations problématiques ont donc été mesurées dans les sites I1 à STO6.

**Tableau 12 :** Bilan de l'interprétation des données chimiques de l'analyse des sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) selon les QR (voir Tableau 3 pour l'échelle des couleurs).

Sites		I1	BN2	BN3	BN4	STO5	STO6	STO7	STO8	STO9	STO10
Métaux	As	Green	Green	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Yellow
	Cd	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
	Cr	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Yellow
	Cu	Yellow	Orange	Yellow	Orange	Orange	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
	Hg	Green	Green	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Green
	Ni	Yellow	Orange	Orange	Yellow	Orange	Yellow	Yellow	Orange	Yellow	Orange
	Pb	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green
	Zn	Yellow	Orange	Orange	Orange	Yellow	Orange	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
HAP	$\sum QR_i$	Green	Orange	Orange	Yellow	Orange	Green	Green	Orange	Yellow	
PCB	PCB 28	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
	PCB 52	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
	PCB 101	Grey	Orange	Grey	Orange	Orange	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
	PCB 118	Grey	Red	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
	PCB 138	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Grey	Grey	Grey	Grey
	PCB 153	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Grey	Grey	Grey	Grey
	PCB 180	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Grey	Grey	Grey	Grey



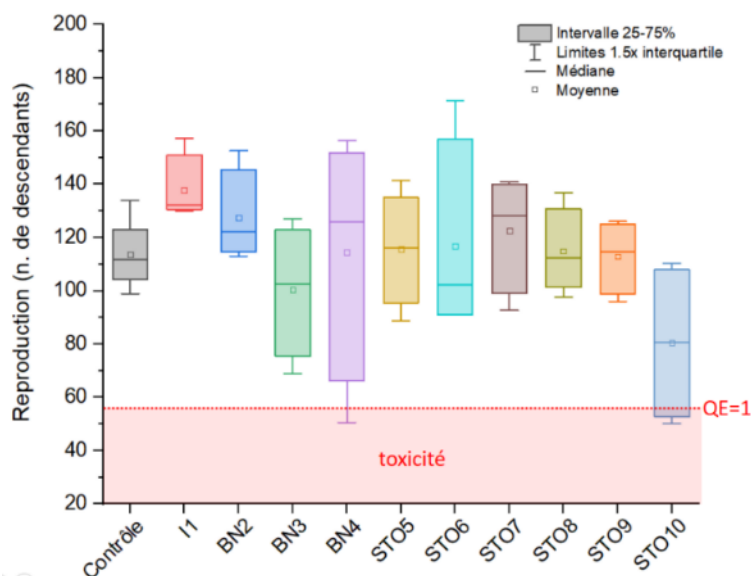
## 3.2 Tests écotoxicologiques

Les annexes A3 et A4 comprennent les rapports complets des résultats et des critères de validité des tests *C. elegans* et *H. incongruens* fournis par S. Höss et S. Santiago, respectivement.

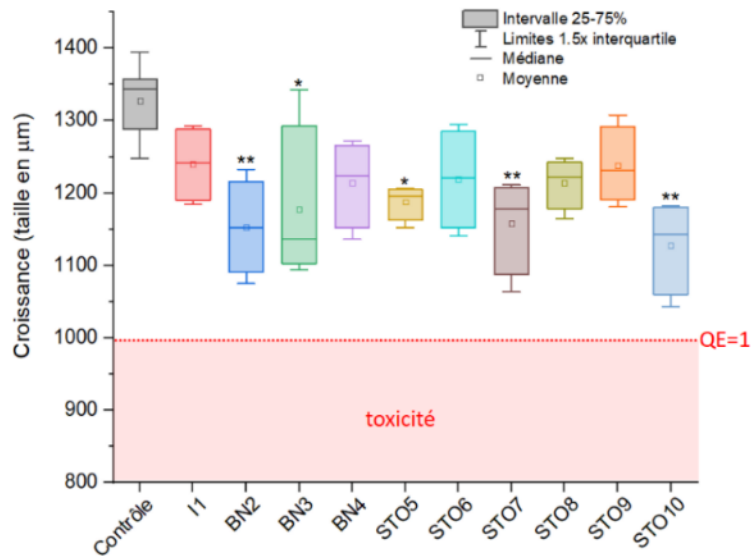
### 3.2.1 Test de toxicité sur le nématode *C. elegans*

Tous les critères de validité du test ont été respectés selon la norme ISO : récupération moyenne des organismes d'essai exposés dans le contrôle entre 80% et 120% ; pourcentage moyen de mâles dans le contrôle  $\leq 10\%$  ; fécondité moyenne dans le contrôle est  $\geq 80\%$  ; reproduction moyenne dans le contrôle est de  $\geq 50$  descendants par organisme de test exposé ; les coefficients de variance pour la croissance et la reproduction dans le sédiment témoin ne dépassent pas 15 et 30 %, respectivement (Annexe A3).

Aucun effet sur la reproduction de *C. elegans* n'a été observé pour les 10 échantillons de sédiments (Fig. 3). Les sédiments des sites BN2, BN3, STO5, STO7 et STO10 ont en revanche induit une diminution significative de la croissance des nématodes au bout de 4 jours (ANOVA, p-value =  $2,93 \times 10^{-37}$ , Fig. 4). L'inhibition de la croissance n'a cependant pas dépassé le seuil toxique de 25 % (inhibition maximale de 13% pour les sites BN2 et STO7).



**Figure 3 :** Reproduction des nématodes (exprimée en nombre de descendants) après 4 jours d'exposition au sédiment contrôle et aux sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO). La ligne rouge indique un quotient d'effet QE = 1, correspondant à 50 % de la croissance du contrôle (seuil de toxicité de 50 %). Aucune différence significative n'a été observée (ANOVA, p-value = 0,19).



**Figure 4 :** Croissance des nématodes (exprimée en longueur (μm)) après 4 jours d'exposition au sédiment contrôle et aux sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO). La ligne rouge indique un quotient d'effet QE = 1, correspondant à 75 % de la croissance du contrôle (seuil de toxicité de 25 %). Les \* indiquent les échantillons significativement différents du contrôle, selon le test Tukey post ANOVA (\*\* p-value < 0,01, \* p-value < 0,05).

### 3.2.2 Test de toxicité sur l'ostracode *H. incongruens*

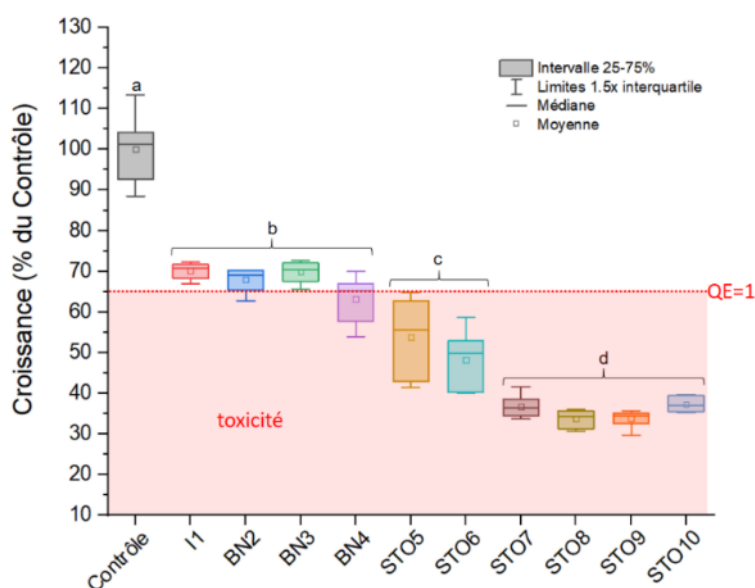
Tous les critères de validité du test ont été respectés selon la norme ISO : survie des ostracodes dans le sédiment contrôle ≥ 80 % ; taille des organismes dans le sédiment contrôle à la fin du test (jour 6) au moins 1,5 × la taille au début du test (jour 0) (Annexe A4).

La mortalité la plus élevée (8,3 %) a été observée pour les échantillons des sites STO9 et STO10. Cependant, pour tous les sites, la mortalité observée ne dépassait pas le seuil de toxicité de 20 % (Tab. 13).

**Tableau 13 :** Taux de mortalité des ostracodes exposés au sédiment artificiel contrôle (C) et aux sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO). La mortalité du contrôle C a été moyennée sur les 2 séries de tests réalisées.

Sédiment	C	I1	BN2	BN3	BN4	STO5	STO6	STO7	STO8	STO9	STO10
Mortalité (%)	4,2	1,7	3,3	5,0	3,3	5,0	6,7	5,0	5,0	8,3	8,3

En revanche, sur tous les sites, une croissance significativement différente de celle du contrôle a été observée (Fig. 5). Au niveau du site BN4 et des sites du canal Stockalper (STO5 à STO10), le seuil d'inhibition de croissance de 35 % a été dépassé [19]. L'inhibition de croissance la plus forte a été observée aux sites STO7 à STO10 (de 63 à 66 %), mais elle n'a cependant pas dépassé le second seuil critique de 70 % (QE = 2).



**Figure 5 :** Croissance des ostracodes exposés aux sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO), exprimée en % par rapport à la croissance des ostracodes dans le sédiment artificiel contrôlé (100 %). La ligne rouge indique un quotient d'effet QE = 1, correspondant à 65 % de la croissance du contrôle (seuil de toxicité de 35 %). Les lettres indiquent les échantillons significativement non différents, selon le test de Tukey ( $p$ -value < 0,05, ANOVA  $p$ -value =  $1,25 \times 10^{-37}$ ).

### 3.2.3 Bilan des tests écotoxicologiques

Aucune toxicité (dépassant les seuils de toxicité) n'a été observée sur le nématode *C. elegans*, alors que seuls les sites I1, BN2 et BN3 n'ont pas induit de toxicité significative sur *H. incongruens*. Les résultats de ces deux tests indiquent que les trois sites en amont sont de bonne qualité écotoxicologique et les sédiments du site BN4 ainsi que tous les sédiments du canal Stockalper d'une qualité écotoxicologique moyenne, selon les effets de la catégorie 2 sur la croissance de *H. incongruens* (Tab. 14). Un risque d'effets indésirables sur les organismes épibenthiques sensibles dans cette section du canal a donc été observé.

**Tableau 14 :** Résumé des quotients d'effet et catégorisation des effets pour les sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) pour les tests *C. elegans* et *H. incongruens* (voir Tab. 5 et 6 pour la catégorisation et le classement de qualité).

Test / Marqueur d'effet	Sites									
	I1	BN2	BN3	BN4	STO5	STO6	STO7	STO8	STO9	STO10
<b><i>C. elegans</i></b>										
- Reproduction	-0,42	-0,24	0,24	-0,02	-0,03	-0,05	-0,15	-0,02	0,01	0,08
Catégorie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
- Croissance	0,26	0,53	0,45	0,34	0,42	0,33	0,51	0,34	0,27	0,32
Catégorie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b><i>H. incongruens</i></b>										
- Mortalité	0,09	0,17	0,25	0,17	0,25	0,34	0,25	0,25	0,42	0,42
Catégorie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
- Croissance	0,85	0,91	0,86	1,05	1,32	1,48	1,81	1,89	1,89	1,79
Catégorie	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
<b>Bilan</b>										



### 3.3 Étude des communautés benthiques

#### 3.3.1 Communautés d'oligochètes

Au total, 15 taxons appartenant aux sous-familles Tubificinae (14 taxons) et Lumbriculidae (1 taxon) ont été trouvés (Tab. A1. 4). Les nombres de taxons obtenus par site sont globalement faibles, en particulier sur 8 sites (4-6 taxons) (Tab. 15). Toutes les espèces rencontrées sont communes en Suisse sauf *Potamothrix bedoti* (un spécimen trouvé au site BN3). La présence de cette espèce a été mentionnée dans le Léman [27-29] et le lac de Bret (Vaud) [30] ainsi que dans deux cours d'eau, le Seyon (Neuchâtel) [27] et la Laire (GE) [31]. Cette espèce peut être considérée comme rare en Suisse. Toutefois, étant donné qu'elle ne peut être identifiée qu'à l'état mature et qu'elle peut se reproduire par fragmentation [32], il est possible que sa fréquence en Suisse soit sous-estimée.

Les peuplements d'oligochètes indiquent une mauvaise qualité sur les sites I1, BN2, BN3, STO5 et STO8 et médiocre sur les 5 autres sites (BN4, STO6, STO7, STO9 et STO10) (Tab. 15). Sur tous les sites, seuls des taxons très résistants aux pollutions ont été rencontrés (99-100 %). Un effet métaux / PCB est nettement indiqué au site STO5 (% de tubificidés sans soies capillaires > 60), et moins marqué aux sites STO9 et STO10 (% de tubificidés sans soies capillaires ≤ 60). Un effet matière organique / HAP marqué est indiqué aux sites I1, BN2, BN3 et STO8 (% de tubificidés avec soies capillaires > 60). La densité d'oligochètes est élevée sur tous les sites sauf I1. Elle est très élevée sur les sites BN2 à BN4 et STO7 à STO10 et donc une pollution par la matière organique est particulièrement suspectée sur ces sites.

**Tableau 15 :** Résultats des communautés d'oligochètes par site (nombre de taxons, densité d'oligochètes par 0,1 m<sup>2</sup>, pourcentage de taxons sensibles à moyennement sensibles et résistants aux pollutions, pourcentage de tubificidés totaux, avec et sans soies capillaires et valeur de l'indice IOBS). Valeurs d'IOBS en rouge = mauvaise qualité; en orange = qualité médiocre.

Site	I1	BN2	BN3	BN4	STO5	STO6	STO7	STO8	STO9	STO10
N taxons	5	5	6	6	4	9	6	6	6	7
Densité d'oligochètes	781	5714	14286	21008	2857	2893	16286	32286	6071	10823
% de taxons sensibles à moyennement sensibles	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
% de taxons résistants	100	100	100	100	100	99	100	100	100	100
% tubificidés totaux	100	100	100	100	100	99	100	100	100	100
% tubificidés avec soies capillaires	86	75	87	54	21	56	50	84	41	40
% tubificidés sans soies capillaires	14	25	13	46	79	43	50	16	59	60
IOBS	0,6	0,7	0,7	1,1	0,5	1,6	1,2	0,7	1,0	1,2

#### 3.3.2 Communautés de nématodes

Le rapport complet de l'étude des communautés de nématodes se trouve en Annexe 3. Les communautés de nématodes obtenues sont caractérisées par une diversité d'espèces/taxons assez faible. Seulement 14 à 23 espèces/taxons ont été rencontrés par site (Tab. 16). En comparaison, 25 à 47 espèces/taxons par site sont généralement trouvés dans les rivières en Allemagne [23]. Toutes les espèces/taxons de nématodes rencontrés sont communes dans les rivières en Allemagne [23]. Les espèces de la famille Mohysteridae sont les plus abondantes au niveau de chaque site sauf STO9. Par site, 25 à 72 % des spécimens appartiennent au genre *Eumonhystra* (Mohysteridae). Les densités de nématodes obtenues sont comparables à celles obtenues dans les rivières en Allemagne.



Les résultats de l'indice NemaSPEAR[%] montrent une bonne qualité aux sites BN3, STO6 et STO10, une qualité moyenne aux sites I1, STO7, STO8 et STO9 et une qualité médiocre aux sites BN2, BN4 et STO5 (Tab. 16). Les valeurs obtenues avec l'indice NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> sont plus faibles que celles obtenues avec le NemaSPEAR[%]. Sur plusieurs sites (BN3, BN4, STO5 à STO10), la valeur du NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> correspond à une classe inférieure à celle obtenue avec le NemaSPEAR[%]. L'indice NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> indique une qualité insuffisante (mauvaise à moyenne) sur tous les sites. À noter toutefois que cet indice a été appliqué sur la base de l'identification d'un nombre réduit de spécimens étant donné l'exclusion des spécimens appartenant au genre *Eumonhystera* (cf § 2.5.2) (44 à 136 vs 167 à 183 pour le NemaSPEAR[%]). Les deux indices nématodes ont montré une qualité biologique nettement moins bonne en aval de la STEP de Collombey (BN4) qu'en amont de cette STEP (BN3).

**Tableau 16** : Résultats des communautés de nématodes par site (nombre de spécimens analysés par site (N), moyenne des densités des 3 réplicats, nombre d'espèce/taxons pris en considération pour le calcul du NemaSPEAR[%], valeurs du NemaSPEAR[%] et du NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub>, et % de spécimens appartenant au genre *Eumonhystera*). Pour le NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub>, le nombre de spécimens considéré dans le calcul (spécimens appartenant au genre *Eumonhystera* non pris en compte) est indiqué entre parenthèses à la suite de la valeur de l'indice. Valeurs des indices en vert : bonne qualité biologique; en jaune: moyenne; en orange: médiocre; en rouge: mauvaise.

Site	I1	BN2	BN3	BN4	STO5	STO6	STO7	STO8	STO9	STO10
N	167	173	171	178	181	181	178	180	181	183
Densité par m <sup>2</sup> (×10 <sup>5</sup> )	4,84	0,92	2,16	6,72	1,23	0,98	1,22	1,00	0,75	3,86
Nb d'espèces/ taxons	14	23	18	14	19	20	21	20	14	17
% <i>Eumonhystera</i>	35,9	42,8	71,3	62,9	37,0	54,1	71,9	57,2	24,9	76,0
Nema-SPEAR[%]	26,2	17,2	36,1	16,9	18,3	30,3	26,9	26,6	29,2	30,9
Nema-SPEAR[%] <sub>genus</sub>	21,1 (n=107)	16,9 (n=99)	24,8 (n=49)	4,8 (n=66)	23,7 (n=114)	23,3 (n=83)	16,2 (n=50)	14,1 (n=77)	26,2 (n=136)	24,9 (n=44)





## 4 Bilan de l'approche triade

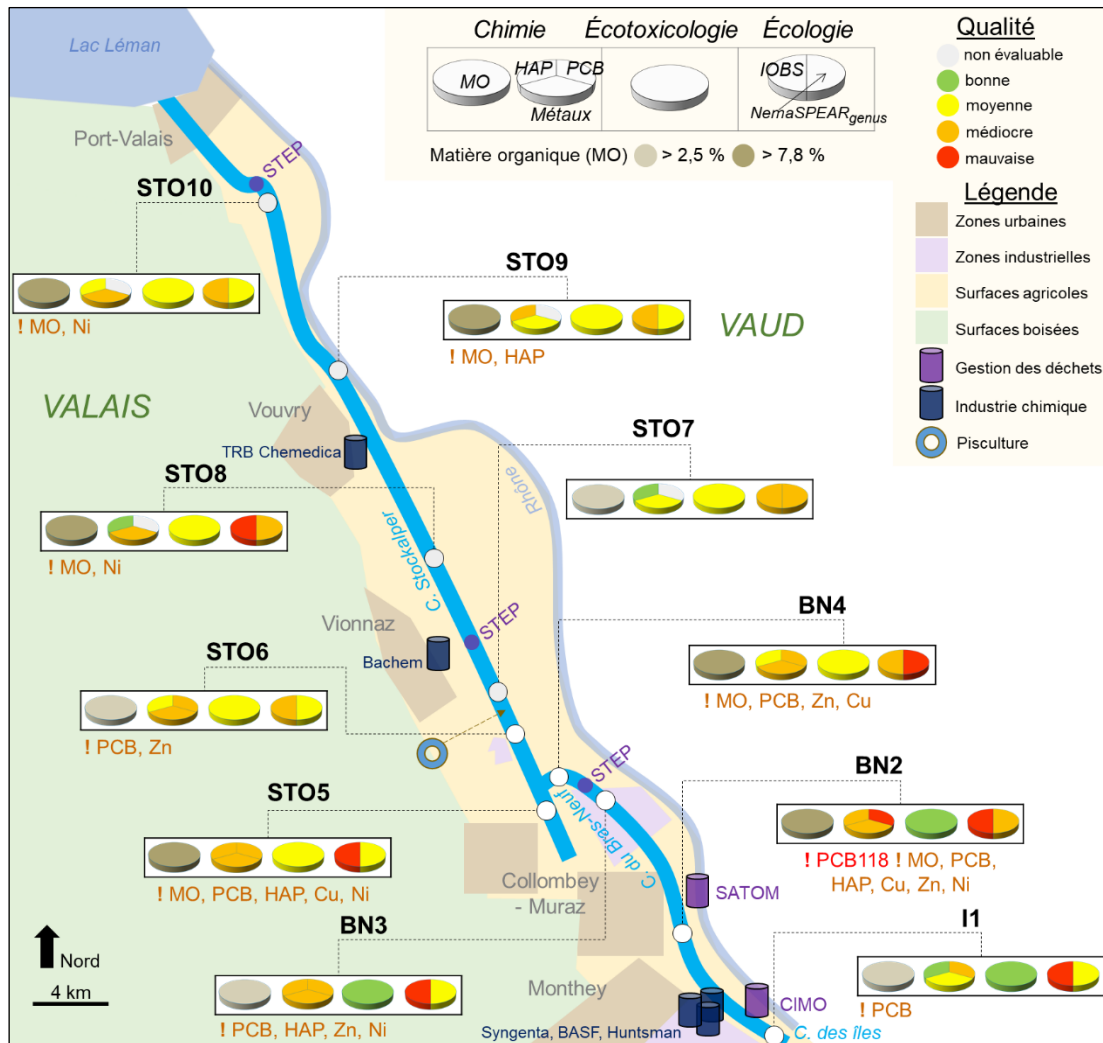
Les résultats de la triade ont été résumés dans la carte en Fig. 6. Cette carte a été élaborée en tenant compte du principe de précaution et illustre les variables les plus « déclassantes ». Pour la chimie, la couleur de qualité est celle correspondant au QR le plus élevé des groupes de substances. Le bilan écotoxicologique reprend le code couleur présenté dans le Tab. 6. Concernant l'approche écologique, les indices NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> et NemaSPEAR[%] ont donné des résultats différents, mais un seul indice a été choisi pour le bilan. Les deux indices ont été validés sur la base de leurs réponses aux pollutions par les métaux, PCB et PAH (corrélations très similaires entre les indices) et il n'est pas possible, sur la base de l'examen des études antérieures, de déterminer lequel apporte le diagnostic le plus fiable. Un indice basé sur une identification des spécimens à l'espèce peut potentiellement fournir des informations plus complètes et fiables sur l'état de milieu, mais seulement si les degrés de résistance des espèces aux pollutions sont parfaitement connus et si l'indice est calibré de manière optimale. Étant donné ces incertitudes, nous suggérons de ne tenir compte que du diagnostic le plus pessimiste, c'est-à-dire celui de l'indice NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub>, pour éviter tout risque de surestimation de la qualité biologique.

Les analyses chimiques permettent d'estimer le niveau d'exposition des organismes benthiques aux substances chimiques. Les critères de qualité ont été utilisés pour évaluer les données chimiques des sédiments afin d'identifier les sites présentant un risque toxique potentiel pour les organismes benthiques. Selon ces données, les sites **BN2**, **BN4** et **STO5** sont apparus comme présentant le plus fort risque toxique avec des teneurs très fortes en MO (> 90<sup>e</sup> centile), une qualité médiocre pour les métaux (Cu, Ni et Zn), moyenne à médiocre pour les HAP et médiocre à mauvaise pour les PCB. Ensuite, les sites **BN3** et **STO6** se distinguent des trois sites cités précédemment du fait d'une teneur plus faible en MO. Alors que les sites **STO8 à STO10** ont montré des qualités chimiques bonnes à médiocres mais de fortes teneurs en MO, les sites **I1** et **STO7** se révèlent être les sites les moins impactés par les substances chimiques ciblées.

Les tests écotoxicologiques permettent d'évaluer les effets potentiels chez les invertébrés benthiques. Ici nous avons procédé à deux biotests, un sur un crustacé épibenthique, *H. incongruens* et un sur une ver endobenthique, *C. elegans*. Ce dernier, c'est avéré moins sensible que le biotest sur *H. incongruens* dans ce projet, comme cela avait également été le cas dans l'étude de Casado *et al.*, 2019 [20]. Les tests écotoxicologiques ont montré que les sédiments du site **BN4** et des sites **STO5 à STO10** ont induit un effet sur la croissance de l'ostracode *H. incongruens*, classant les sédiments en qualité moyenne (Fig. 6). Alors que l'interprétation des données chimiques pour les sites **BN4**, **STO5** et **STO6** avait mis en avant un risque toxique potentiel concernant les métaux, HAP et PCB, les sites **STO7 à STO10** se sont révélés à moindre risque pour l'ensemble des substances analysées, mais ont induit une diminution significative de la croissance des ostracodes. La cause de cette toxicité est donc à exploiter. Les quotients d'effet pour la croissance des ostracodes étaient significativement corrélés avec le risque associé aux concentrations d'As dans les sédiments ( $R^2 = 0,83$ ,  $p$ -value = 0,003). Malgré cette corrélation significative, les QR-As varient de 0,3 à 1,2 et l'As n'est donc très probablement pas (seul) responsable de la toxicité chez *H. incongruens*. Pour les nématodes, même si le seuil d'effet significatif sur la croissance (25 %) n'a pas été atteint, des différences statistiquement significatives ont été révélées (**BN2**, **STO7** et **STO10** ;  $p$ -value < 0,01). Ainsi, les quotients d'effet sur la croissance des nématodes ont montré une corrélation positive avec le QR-Zn ( $R^2 = 0,64$ ,  $p$ -value = 0,044), mais aussi avec la moyenne des QR-métaux ( $R^2 = 0,68$ ,  $p$ -value = 0,029). Ces résultats suggèrent donc que ce test dans une certaine mesure s'est montré sensible face aux concentrations de métaux ciblés dans cette étude. Le test *C. elegans* est standardisé depuis 2010 et est couramment utilisé pour l'évaluation de la qualité des sédiments. Une récente étude, effectuée en laboratoire, a comparé la sensibilité de cette espèce à celle d'autres espèces de nématodes [33]. La sensibilité de *C. elegans* aux métaux et HAP mesurés dans l'eau était comparable à celle d'autres espèces, justifiant ainsi l'utilisation de *C. elegans* comme organisme test.



L'étude de la structure de communautés benthiques permet d'indiquer les effets biologiques des contaminants présents dans les sédiments en étudiant les abondances relatives de taxons résistants et sensibles aux pollutions. Ici nous avons étudié deux importantes communautés d'invertébrés inféodées aux sédiments, les nématodes et les oligochètes. L'étude des communautés d'oligochètes a indiqué une pollution sur tous les sites de la présente étude (qualité médiocre à mauvaise, Fig. 6). Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet des métaux. En effet, Vivien et al. (2014) [34] ont proposé un seuil d'effet pour les métaux combinés (quotient m-PEC-Q-métaux = 0,18) au-delà duquel un effet sur les communautés d'oligochètes est probable. Le calcul de ce quotient à partir des concentrations de métal obtenues dans le présent travail était supérieur à ce seuil d'effet pour tous les sites, puisqu'il se situait entre 0,28 et 0,47 (Tab. A1. 5). De plus, Vivien et al. (2020) ont proposé pour chaque métal (Cr, Ni, Zn, Cu, Hg, Cd, Pb et As) des seuils spécifiques au-delà desquels des effets sur les peuplements in situ d'oligochètes étaient possibles (TEL<sub>oligo</sub>) et probables (PEL<sub>oligo</sub>) [8]. Les concentrations des métaux mesurés dans la présente étude sont presque toutes > PEL<sub>oligo</sub>. Par exemple, le PEL<sub>oligo</sub> du Hg est largement dépassé sur les 10 sites sauf I1. À noter par ailleurs que les TEL/PEL<sub>oligo</sub> du Hg (0.0218 mg/kg pour TEL<sub>oligo</sub> et 0.054 mg/kg pour PEL<sub>oligo</sub>) sont proches du EQS<sub>sed</sub> de ce métal (cf. § 3.1.2). Concernant les communautés de nématodes, les concentrations de métaux, PAH et PCB obtenues sur tous les sites seraient suffisantes pour induire un effet sur les communautés de nématodes. En effet, Höss et al [23] ont observé qu'au-delà d'un certain seuil du quotient m-PEC-Q basé sur les concentrations de métaux, HAP et PCB (m-PEC-Q = 0,17), un effet sur les communautés de nématodes était probable. Le calcul du quotient m-PEC-Q à partir des concentrations de métaux, HAP et PCB obtenues dans le présent travail se situait entre 0,18 et 0,31 (Tab. A1. 5), et donc au-delà du seuil d'effet sur ces communautés. Enfin, l'indice NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> a montré une qualité biologique nettement moins bonne à la station située en aval de la STEP de Collombey (site BN4, mauvaise qualité) qu'à celle située en amont de cette STEP (BN3, qualité moyenne), alors que l'indice oligochètes et les tests écotoxicologiques n'ont pas montré de différence significative entre ces deux sites (Tab. 17). Des études complémentaires devraient être effectuées afin de déterminer si cet indice pourrait être plus approprié que d'autres indicateurs pour détecter l'effet spécifique de rejets de STEP dans le cas où l'amont des STEP est déjà pollué.

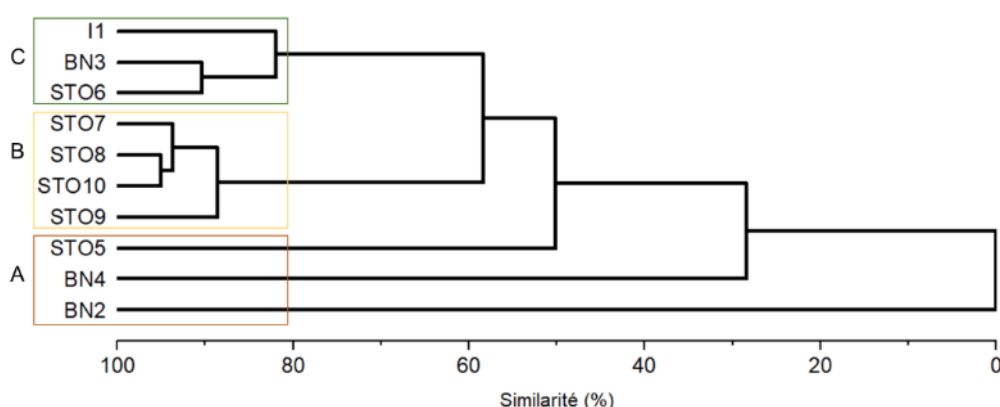


**Figure 6** : Synthèse de l'évaluation de la qualité des sédiments des canaux Stockalper, du Bras-Neuf et des îles : i) chimie (matière organique, métaux : qualité selon l'élément au QR le plus élevé, HAP : qualité selon le QR<sub>HAP</sub> ; PCB : qualité selon le congénère au QR le plus élevé) ; (ii) écotoxicologie selon le bilan des effets mesurés dans les deux biotests et (iii) écologie selon les indices IOBS et NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub>. Les sources potentielles de polluants selon le Registre suisse des rejets et transferts de polluants sont indiquées (gestion des déchets et des eaux usées et industries chimiques). L'utilisation du sol selon la statistique de la superficie simplifiée pour la rive gauche du Rhône selon map.geo.admin.ch (zones urbaines et industrielles et surfaces agricoles et boisées) ainsi que la pisciculture de Vionnaz sont indiquées. Voir le texte pour plus de détails.

Le dendrogramme issu des résultats de la classification ascendante hiérarchique (analyse de clusters) sur les quotients de risques (métaux individuels, PCB individuels, HAP comme mélange), la teneur en MO, les quotients d'effets et les valeurs inversées des indices biologiques (les valeurs inversées permettent de donner la plus grande valeur aux sites les plus affectés) permet de ranger les sites selon la pression de pollution subie et d'intégrer les 3 éléments simultanément (Fig. 7). Le premier site qui se distingue des autres est le site **BN2**. Ceci est sans surprise du fait de son intense signature chimique, qui présente un risque écotoxicologique non discutable selon l'approche des quotients de risque et des indices biologiques médiocre et mauvais. De nombreux sites industriels (ancienne raffinerie Tamoil, industries chimiques Sygenta,



Huntsman Advanced Materials, BASF) et de gestion des déchets et des eaux usées (Cimo, SA-TOM) sont à proximité de ce site (Fig. 6). Ensuite, les sites **BN4** et **STO5** se séparent dans 2 clusters uniques supplémentaires (Fig. 7, cadre A). Le site STO5 se situe en amont mais très proche de l'embouchure du canal du Bras-Neuf et en aval de la zone urbaine de Collombey-Muraz et probablement impacté par des apports d'eaux pluviales chargées à certaines périodes par des métaux (Cu et Ni) et HAP. Une part importante de métaux, HAP et PCB sur ce site pourrait également être apportée par le canal du Bras-Neuf, et ainsi, comme le site BN4, le site STO5 serait impacté par la STEP de Collombey, en amont du site BN4. L'étude d'un site en amont du site STO5 sur le canal Stockalper permettrait de vérifier les hypothèses sur l'origine de la pollution des sédiments de ce canal. Seuls les échantillons **I1 – BN3 – STO6** (sous-cluster C): les plus faibles en MO et valeurs QR pour les métaux, et **STO7-STO8-STO9-STO10** (sous-cluster B) : effets biologiques montrés (indices et biotests), forment 2 groupes d'échantillons. Pour le sous-cluster C, le site I1 étant en amont des sites industriels susmentionnés et le site STO6 en aval de l'embouchure avec le canal Bras-Neuf, apportant une dilution de la pollution des sédiments de l'amont du canal Stockalper (Fig. 6), le regroupement de ces échantillons, séparément des autres, n'est pas surprenant. Le site BN3 se distingue surtout par la teneur la plus faible en MO, probablement dû aux apports des eaux du Rhône par le passé, chargées en sédiments très pauvres en MO. Une partie du canal était en effet utilisée pour convoyer des eaux du Rhône pour le refroidissement de l'ancienne raffinerie de Collombey jusqu'en amont du point BN3. En plus de la présence de stations d'épuration (Vionnaz en amont du site STO8 et Port-Valais au niveau du site STO10), les eaux de ruissellement des terres agricoles, pourraient être responsables de l'effet sur la croissance observée chez les ostracodes au niveau des sites STO7-10, rangeant ces sites dans le sous-cluster B. En effet, le canal Stockalper est caractérisé par la présence de surfaces agricoles intensives (cultures céréalières et fourragères) et de pâturages (Fig. 6). La différence entre STO6 et STO7 peut également s'expliquer par des apports d'eaux plus riches en nutriments en provenance de la pisciculture du Vionnaz (Fig. 6). Une récente étude a montré des concentrations de pesticides élevées dans les sédiments de rivières suisses impactées par l'agriculture et que ces polluants avaient certainement un effet toxique sur les organismes benthiques, y compris les ostracodes [20]. Le site STO9 se distingue cependant légèrement des 3 autres sites dans le cluster C, du fait du risque qu'il présente aussi pour le mélange des HAP. La contamination importante en HAP des sédiments de ce site pourrait être expliquée par la proximité du site avec une zone urbaine (Commune de Vouvry en amont) et le trafic routier (axe routier important à la Porte du Scex).



**Figure 7** : Dendrogramme séparant les sites en groupes distincts (classification ascendante hiérarchique). La méthode est basée sur le calcul de la distance euclidienne de la moyenne du groupe. Les regroupements A, B, C aident à la discussion.



## 5 Conclusion

L'évaluation de la qualité du compartiment sédimentaire a permis dans cette étude d'avoir une caractérisation de l'état chimique et des effets biologiques sur les organismes benthiques dans les canaux des îles, du Bras-Neuf et Stockalper dans le Bas-Valais. Les conclusions suivantes peuvent en être tirées :

- Une qualité biologique insatisfaisante des sédiments sur tous les sites a été observée. Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet des polluants mesurés.
- Les sédiments des sites BN2, BN4 et STO5 sur les communes de Monthey et Collombey-Muraz sont hautement contaminés en métaux, HAP et PCB. Les tests écotoxicologiques et/ou les indices biologiques montrent des effets indéniables sur les organismes benthiques. Ces sites se distinguent des autres par des pressions anthropiques plus fortes. Les teneurs en matière organique y sont en outre très élevées.
- Les sédiments des sites STO7 à STO10 ont montré les effets les plus forts sur les tests écotoxicologiques. Le rôle des HAP au site 9 ainsi que des substances non mesurées dans les autres sites est à explorer. Des analyses chimiques complémentaires, des tests de toxicité avec des organismes clés (par ex. amphipodes ou insectes), ou des études sur la biodisponibilité (par ex. bioaccumulation) peuvent aider à mieux définir les causes et l'importance biologique des effets toxiques dans le canal Stockalper.
- Bien que classés par les indices biologiques comme de qualité non satisfaisante, les sites I1, BN3 et STO6 apparaissent comme les sites les moins impactés selon les résultats des analyses chimiques et des tests écotoxicologiques. Ces sites montrent de plus, des teneurs, certes toujours élevées, mais plus faibles en matière organique.

D'un point de vue méthodologique, ce travail représente une première étude en Suisse mandatée par un canton sur l'utilisation d'une large palette d'outils dans une approche par faisceau de preuves, comme recommandée dans le cadre du projet « Module Sédiment »<sup>2</sup>. L'ensemble des résultats montre que les biotests et les indices biologiques sont complémentaires aux analyses chimiques.

---

<sup>2</sup> Projet conjointement mené par le Centre Ecotox, l'Office fédéral de l'environnement et l'Eawag. Un rapport d'expertise sera publié au cours de l'année 2020 présentant des recommandations harmonisées pour l'échantillonnage et l'évaluation du risque chimique des sédiments.

---



## 6 Références bibliographiques

1. Chapman, P.M., *The Sediment Quality Triad Approach to Determining Pollution-Induced Degradation*. Science of the Total Environment, 1990. **97-8**: p. 815-825.
2. DIN, *DIN EN ISO 12879:2000 - Charakterisierung von Schlämmen - Bestimmung des Glühverlustes der Trockenmasse*. Deutsches Institut für Normung, 2000.
3. DIN, *DIN EN ISO 11885:2009 Wasserbeschaffenheit - Bestimmung von ausgewählten Elementen durch induktiv gekoppelte Plasma-Atom-Emissionsspektrometrie (ICP-OES)*. Deutsches Institut für Normung, 2009.
4. DIN, *DIN EN ISO 17294-2:2005 Wasserbeschaffenheit - Anwendung der induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) - Teil 2: Bestimmung von ausgewählten Elementen einschließlich Uran-Isotope* Deutsches Institut für Normung, 2005.
5. DIN, *DIN ISO 11466:1997 Bodenbeschaffenheit - Extraktion in Königswasser löslicher Spurenelemente*. Deutsches Institut für Normung, 1997.
6. ISO, *ISO 18287:2006 Qualité du sol — Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) — Méthode par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (CG-SM)*. Organisation internationale de normalisation, 2006.
7. ISO, *ISO 10382:2002 Qualité du sol — Dosage des pesticides organochlorés et des biphényles polychlorés — Méthode par chromatographie en phase gazeuse avec détection par capture d'électrons*. Organisation internationale de normalisation, 2002.
8. Vivien, R., et al., *Effect thresholds of metals in stream sediments based on in situ oligochaete communities*. Environments, 2020. **7**(4): p. 31 (15 pp.).
9. Wittmer, I., et al., *Micropolluants – Stratégie d'évaluation pour les micropolluants organiques de sources non ponctuelles. Etude réalisée sur mandat de l'OFEV*. 2014, Eawag: Dübendorf.
10. MacDonald, D.D., C.G. Ingersoll, and T.A. Berger, *Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems*. Arch Environ Contam Toxicol, 2000. **39**(1): p. 20-31.
11. Casado-Martinez, C., *EQSsed - Proposal of the Ecotox Centre: Mercury*. Report from the Ecotox Centre, 2019. **Disponible sur demande auprès des auteurs**.
12. Commission, E., *Guidance Document No. 27 Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards. Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC)*. Technical Report, 2011. **2011-055**.
13. Wildi, M. and C. Casado-Martinez, *Evaluation of Sediment Quality Guidelines for PAHs: recommendations for the development of EQSsed*. Report from the Ecotox Centre, 2019. **Disponible sur demande auprès des auteurs**.
14. Wildi, M. and C. Casado-Martinez, *Evaluation of Sediment Quality Guidelines for PCBs: recommendations for the development of EQSsed*. Report from the Ecotox Centre, 2019. **Disponible sur demande auprès des auteurs**.
15. Junghans, M., P. Kunz, and I. Werner, *Toxizität von Mischungen. Aktuelle, praxisorientierte Ansätze für die Beurteilung von Gewässerproben*. Aqua & Gas, 2013. **93**(5): p. 54-61.
16. ISO, *ISO 10872:2010 Qualité de l'eau — Détermination de l'effet toxique d'échantillons de sédiment et de sol sur la croissance, la fertilité et la reproduction de *Caenorhabditis elegans* (nématodes)*. Organisation internationale de normalisation, 2010.
17. ISO, *ISO 14371:2012 Qualité de l'eau — Détermination de la toxicité des sédiments d'eau douce envers *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda)*. Organisation internationale de normalisation, 2012.
18. Höss, S., et al., *Variability of sediment-contact tests in freshwater sediments with low-level anthropogenic contamination – Determination of toxicity thresholds*. Environmental Pollution, 2010. **158**(9): p. 2999-3010.
19. Casado-Martinez, M.C., et al., *The sediment-contact test using the ostracod *Heterocypris incongruens*: Effect of fine sediments and determination of toxicity thresholds*. Chemosphere, 2016. **151**: p. 220-4.
20. Casado-Martinez, M.C., et al., *Écotoxicité des sédiments de ruisseaux. Les pesticides présents dans les sédiments ont des effets sur les organismes benthiques*. Aqua & Gas, 2019. **99**(12): p. 62-71.





21. AFNOR, *Qualité de l'eau – échantillonnage, traitement et analyse des oligochètes dans les sédiments des eaux de surface continentales*. Association française de normalisation (AFNOR), 2016. **NFT 90-393**: p. 14.
22. Heininger, P., et al., *Nematode communities in contaminated river sediments*. Environmental Pollution, 2007. **146**(1): p. 64-76.
23. Hoss, S., et al., *Nematode species at risk--a metric to assess pollution in soft sediments of freshwaters*. Environ Int, 2011. **37**(5): p. 940-9.
24. Höss, S., et al., *Validating the NemaSPEAR[%]-index for assessing sediment quality regarding chemical-induced effects on benthic communities in rivers*. Ecological Indicators, 2017. **73**: p. 52-60.
25. Traunspurger, W., et al., *Meiobenthic community patterns of oligotrophic and deep Lake Constance in relation to water depth and nutrients*. Fundamental and Applied Limnology, 2012. **180**(3): p. 233-248.
26. Conder, J.M., et al., *Critical review of mercury sediment quality values for the protection of benthic invertebrates*. Environmental Toxicology and Chemistry, 2015. **34**(1): p. 6-21.
27. Juget, J., *Quelques données nouvelles sur les oligochètes du léman : composition et origine du peuplement*. Annls Limnol., 1967. **3**(2): p. 217-229.
28. Lafont, M., *Contribution à la gestion des eaux continentales : utilisation des Oligochètes comme descripteurs de l'état biologique et du degré de pollution des eaux et des sédiments*. Thèse de Doctorat d'État ès Sciences, UCBL Lyon I, 1989: p. 311.
29. Lang, C., *Eutrophication of Lake Geneva indicated by the oligochaete communities of the profundal*. Hydrobiologia, 1985. **126**(3): p. 237-243.
30. Piguet, E. and K. Bretscher, *Oligochètes. Catalogue des invertébrés de la Suisse*. Georg, Genève, 1913. **Fascicule 7**: p. 215.
31. Vivien, R., *Note sur la diversité des oligochètes aquatiques dans la région genevoise*. Revue suisse de zoologie, 2013. **120**: p. 5.
32. Timm, T., *A guide to the freshwater oligochaeta and polychaeta of northern and central Europe*. Lauterbornia, 2009. **66**: p. 235.
33. Haegerbaeumer, A., et al., *Is Caenorhabditis elegans representative of freshwater nematode species in toxicity testing?* Environmental Science and Pollution Research, 2018. **25**(3): p. 2879-2888.
34. Vivien, R., G. Tixier, and M. Lafont, *Use of oligochaete communities for assessing the quality of sediments in watercourses of the Geneva area (Switzerland) and Artois-Picardie basin (France): proposition of heavy metal toxicity thresholds*. Ecohydrology & Hydrobiology, 2014. **14**(2): p. 142-151.
35. de Deckere, E., et al., *Development of sediment quality guidelines for freshwater ecosystems*. Journal of Soils and Sediments, 2011. **11**(3): p. 504-517.





## 7 Listes des figures et tableaux

### 7.1 Liste des figures

- Figure 1 : Illustration d'une partie de la zone d'étude. On remarque notamment l'ancienne raffinerie dans le Chablais valaisan (rive gauche du Rhône qui rejoint le Léman). Source : [www.vd.ch](http://www.vd.ch) ..... 1
- Figure 2 : Plan de situation des sites d'échantillonnage (source des géodonnées : [www.vs.ch/web/egeo/environnement](http://www.vs.ch/web/egeo/environnement)). Les flèches jaunes indiquent le sens du courant ..... 2
- Figure 3 : Reproduction des nématodes (exprimée en nombre de descendants) après 4 jours d'exposition au sédiment contrôle et aux sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO). La ligne rouge indique un quotient d'effet QE = 1, correspondant à 50 % de la croissance du contrôle (seuil de toxicité de 50 %). Aucune différence significative n'a été observée (ANOVA, p-value = 0,19) ..... 15
- Figure 4 : Croissance des nématodes (exprimée en longueur ( $\mu\text{m}$ )) après 4 jours d'exposition au sédiment contrôle et aux sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO). La ligne rouge indique un quotient d'effet QE = 1, correspondant à 75 % de la croissance du contrôle (seuil de toxicité de 25 %). Les \* indiquent les échantillons significativement différents du contrôle, selon le test Tukey post ANOVA (\*\* p-value < 0,01, \* p-value < 0,05) ..... 16
- Figure 5 : Croissance des ostracodes exposés aux sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO), exprimée en % par rapport à la croissance des ostracodes dans le sédiment artificiel contrôle (100 %). La ligne rouge indique un quotient d'effet QE = 1, correspondant à 65 % de la croissance du contrôle (seuil de toxicité de 35 %). Les lettres indiquent les échantillons significativement non différents, selon le test de Tukey (p-value < 0,05, ANOVA p-value =  $1,25 \times 10^{-37}$ ) ..... 17
- Figure 6 : Synthèse de l'évaluation de la qualité des sédiments des canaux Stockalper, du Bras-Neuf et des îles : i) chimie (métaux : qualité selon l'élément au QR le plus élevé, HAP : qualité selon le QR<sub>HAP</sub> ; PCB : qualité selon le congénère au QR le plus élevé) ; (ii) écotoxicologie selon le bilan des différents marqueurs d'effets des deux biotests et (iii) écologie selon les indices IOBS et NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub>. Les sources potentielles de polluants selon le Registre suisse des rejets et transferts de polluants sont indiquées (gestion des déchets et des eaux usées et industries chimiques). L'utilisation du sol selon la statistique de la superficie simplifiée est indiquée pour la rive gauche du Rhône selon [map.geo.admin.ch](http://map.geo.admin.ch) (zones urbaines et industrielles et surfaces agricoles et boisées) ..... 22
- Figure 7 : Dendrogramme séparant les sites en groupes distincts (classification ascendante hiérarchique). La méthode est basée sur le calcul de la distance euclidienne de la moyenne du groupe. Les regroupements A, B, C aident à la discussion ..... 23
- Figure A1. 1 : Concentrations mesurées (mg/kg, poids sec) en (a) Co et Mo et (b) Fe et Mn dans les sédiments (< 2 mm) des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) (x: non détecté : < 1.0 mg/kg, poids sec) ..... 33
- Figure A1. 2 : Concentrations mesurées (mg/kg, poids sec) pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sédiments (< 2 mm) des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) (x: non détecté : < 0.05 mg/kg, poids sec) ..... 33
- Figure A1. 3 : Concentrations mesurées ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ , poids sec) pour les polychlorobiphényles dans les sédiments (< 2 mm) des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) (x, non détecté : < 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , poids sec) ..... 34



## 7.2 Liste des tableaux

Tableau 1 : Sites d'étude : localisation et dates d'échantillonnage .....	2
Tableau 2 : Classification des sédiments selon la teneur en matière organique (% MO) à partir des valeurs des 10 <sup>e</sup> , 50 <sup>e</sup> et 90 <sup>e</sup> centiles des données sur 63 sites de cours d'eau en Suisse ....	4
Tableau 3 : Classification des échantillons de sédiments en 5 catégories de qualité basée sur la comparaison avec les critères de qualité .....	4
Tableau 4 : Seuils de toxicité pour les tests écotoxicologiques sur <i>C. elegans</i> et <i>H. incongruens</i> .....	7
Tableau 5 : Catégorisation des effets mesurés chez <i>C. elegans</i> et <i>H. incongruens</i> .....	7
Tableau 6 : Classification des sédiments selon les résultats des tests écotoxicologiques .....	7
Tableau 7 : Classes de qualité des sédiments selon l'indice IOBS .....	8
Tableau 8 : Classes de qualité des sédiments selon l'indice NemaSPEAR[%] et NemaSPEAR[%] <sub>genus</sub> .....	9
Tableau 9 : Concentrations mesurées pour les métaux (mg/kg, poids sec) dans les sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) et évaluation de la qualité des sédiments selon les valeurs TEC .....	10
Tableau 10 : Concentrations mesurées (mg/kg, poids sec) pour les HAP (individuelles et calculées pour la somme des 16 HAP) dans les sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) (LD = 0,05 mg/kg, poids sec). Évaluation du risque selon les critères de qualité EQS <sub>sed</sub> (Centre Ecotox) dont la valeur a été normalisée par le COT de chaque site et selon le QR <sub>HAP</sub> pour la somme des HAP. Les valeurs EQS <sub>sed</sub> pour le COT moyen sur les 10 sites sont données à titre indicatif .....	12
Tableau 11 : Concentrations mesurées (µg/kg, poids sec) pour les PCB dans les sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) et évaluation du risque selon les critères de qualité EQS <sub>sed</sub> (Centre Ecotox) dont la valeur a été normalisée par le COT de chaque site. Les valeurs EQS <sub>sed</sub> pour le COT moyen sur les 10 sites sont données à titre indicatif. Lorsque les substances ne sont pas détectées, une évaluation du risque ne peut pas être faite (couleur gris) du fait que LD > CQ .....	13
Tableau 12 : Bilan de l'interprétation des données chimiques de l'analyse des sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) selon les QR (voir Tableau 3 pour l'échelle des couleurs) .....	14
Tableau 13 : Taux de mortalité des ostracodes exposés au sédiment artificiel contrôle (C) et aux sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO). La mortalité du contrôle C a été moyennée sur les 2 séries de tests réalisées .....	16
Tableau 14 : Résumé des quotients d'effet et catégorisation des effets pour les sédiments des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) pour les tests <i>C. elegans</i> et <i>H. incongruens</i> (voir Tab. 5 et 6 pour la catégorisation et le classement de qualité) .....	17
Tableau 15 : Résultats des communautés d'oligochètes par site (nombre de taxons, densité d'oligochètes par 0,1 m <sup>2</sup> , pourcentage de taxons sensibles à moyennement sensibles et résistants aux pollutions, pourcentage de tubificidés totaux, avec et sans soies capillaires et valeur de l'indice IOBS) .....	18
Tableau 16 : Résultats des communautés de nématodes par site (nombre de spécimens analysés par site (N), moyenne des densités des 3 réplicats, nombre d'espèce/taxons pris en considération pour le calcul du NemaSPEAR[%], valeurs du NemaSPEAR[%] et du NemaSPEAR[%] <sub>genus</sub> , et % de spécimens appartenant au genre Eumohystera). Pour le NemaSPEAR[%] <sub>genus</sub> , le nombre de spécimens considéré dans le calcul (spécimens appartenant au genre Eumohystera non pris en compte) est indiqué entre parenthèses à la suite de la valeur de l'indice .....	19



Tableau A1. 1 : Coordonnées géographiques des lieux de prélèvement, observations et paramètres de l'eau superficielle .....	30
Tableau A1. 2 : Teneur en carbone organique total selon la mesure de la perte au feu .....	31
Tableau A1. 3 : Concentrations minimales et maximales mesurées dans 18 cours d'eau du programme NAWA-SPEZ 2018 dont 2 sites de référence NAWA-SPEZ 2015, ainsi que les concentrations de fond (10e centile) pour les métaux (mg/kg poids sec) [8], les HAP (µg/kg poids sec), la somme des 16 HAP (mg/kg poids sec), la somme des 6 PCB indicateurs et le congénère 118 (µg/kg poids sec) .....	31
Tableau A1. 4 : IOBS .....	32
Tableau A1. 5 : Quotients moyens pour les métaux seuls (m-PEC-Q-métaux, m = moyenne) ou l'ensemble des substances analysées :les métaux (m-PEC-Q-métaux), les HAP (PEC-Q-somme HAP ou m-PEC-HAP <sub>i</sub> ) et les PCB (PEC-Q-somme PCB) <sub>i</sub> calculés avec les valeurs PEC (Predicted effect concentration = concentration au-dessus de laquelle un effet toxique est probable) proposés par MacDonald et al. (2000) ou les valeurs « consensus 2 » dérivés par de Deckere et al. (2011), équivalentes aux PEC » [10, 34] .....	32



## 8 Annexes

### 8.1 A. 1 : Tableaux et figures supplémentaires

**Tableau A1. 1 :** Coordonnées géographiques des lieux de prélèvement, observations et paramètres de l'eau superficielle.

ID	ID-Canton	Coordonnées CH1903+		Couleur sédiment	Substrat	Odeur
I1	CSTO-CBRA 04.3	2'564'591	1'123'481	brun en surface puis noir	fin-sableux	ferreux
BN2	CSTO-CBRA 03.4	2'563'382	1'124'882	brun foncé-noir	fin	souffre, benzène
BN3	CSTO-CBRA 01.9	2'561'871	1'127'009	brun en surface puis noir	fin	benzène
BN4	CSTO-CBRA 00.8	2'561'467	1'127'005	noir	fin	benzène
STO5	CSTO 12.8	2'561'146	1'126'759	orange en surface puis noir	très fin	souffre, benzène
STO6	CSTO 10.7	2'560'460	1'128'563	brun-brun foncé	boueux	ammoniac
STO7	CSTO 09.3	2'559'469	1'129'887	brun-brun foncé	fin	normal
STO8	CSTO 08.2	2'559'292	1'130'806	noir	fin	normal
STO9	CSTO 07.0	2'557'768	1'133'726	brun	fin	normal
STO10	CSTO 00.9	2'556'576	1'136'863	noir	fin	normal

**Tableau A1.1. Suite du tableau.**

ID	Vie aperçue	pH	Température (°C)	O <sub>2</sub> (mg/L)	O <sub>2</sub> (%)	Conductivité (µS/cm)
I1	macrophytes	7,4	9,8	9,9	91,2	726
BN2	poissons aperçus, peu de macrophytes	7,5	11,8	7,6	72,9	712
BN3	gammares, poissons aperçus, macrophytes	7,6	13,4	9,1	90,2	691
BN4	gammares, macrophytes	7,4	13,3	8,4	84,8	711
STO5	biofilm recouvrant plantes et sédiment	6,6	13,1	7,9	77,6	794
STO6	gammares, poissons aperçus, macrophytes	7,3	11,3	8,3	79,3	751
STO7	gammares	7,6	10,2	8,4	77,9	789
STO8	gammares	7,4	10,1	8,8	80,8	786
STO9	poissons aperçus, gammares, grandes plantes	7,4	9,9	8,7	90,8	844
STO10	peu de vie, eau trouble	7,5	11,7	8,5	80,9	758



**Tableau A1. 2 :** Teneur en carbone organique total selon la mesure de la perte au feu.

Site	Matière sèche (%)	Perte au feu (%)	COT (%) selon calcul Module Sédiment* (Centre Ecotox)
I1	48	5,8	2,7
BN2	43	11	4,5
BN3	52	4,8	2,3
BN4	37	8,7	3,8
STO5	45	8,2	3,6
STO6	51	5,4	2,6
STO7	50	6,8	3,1
STO8	47	8,4	3,7
STO9	45	8,3	3,6
STO10	41	8,5	3,7

$$* [COT](\%) = 0,635 \times MO (\%) \times 1,07$$

**Tableau A1. 3 :** Concentrations minimales et maximales mesurées dans 18 cours d'eau du programme NAWA-SPEZ 2018 dont 2 sites de référence NAWA-SPEZ 2015, ainsi que les concentrations de fond (10<sup>e</sup> centile) pour les métaux (mg/kg poids sec) [8], les HAP (µg/kg poids sec), la somme des 16 HAP (mg/kg poids sec), la somme des 6 PCB indicateurs et le congénère 118 (µg/kg poids sec). LQ, limite de quantification, -- indique l'absence de données.

[Substance]	Concentrations NAWA-SPEZ 2018			Concentration de fond
	min.	max.	Sites référence	
As	--	--	--	1,6
Cd	--	--	--	0,09
Cr	9,3	84,7	19,0 - 35,7	15,1
Cu	4,38	87,8	<LQ - 9,3	5,12
Hg	0,007	0,084	0,039 - 0,044	0,009
Ni	10,6	60,9	12,8 - 23,1	11,4
Pb	< LQ	37,3	<LQ	5,2
Zn	35,1	223	37,7 - 48,6	20,2
Acénaphène	--	--	--	0,28
Acénaphylène	--	--	--	0,21
Anthracène	--	--	--	0,59
Benz(a)anthracène	--	--	--	5,00
Benzo(a)pyrène	--	--	--	2,69
Benzo(b)fluoranthène	--	--	--	12,28
Benzo(g,h,i)pérylène	--	--	--	8,62
Benzo(k)fluoranthène	--	--	--	4,15
Chrysène	--	--	--	7,04
Dibenzo (a,h)anthracène	--	--	--	2,01
Fluoranthène	--	--	--	4,73
Fluorène	--	--	--	0,41
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	--	--	--	2,77
Naphtalène	--	--	--	0,86
Phénanthrène	--	--	--	2,85
Pyrène	--	--	--	7,24
∑ 16 HAP	0,02	10,3	0,10 - 0,13	0,075
∑ 6 PCBi	0,09	12,3	0,51 - 1,12	0,135
PCB 118	0,05	1,72	0,05 - 0,17	0,010



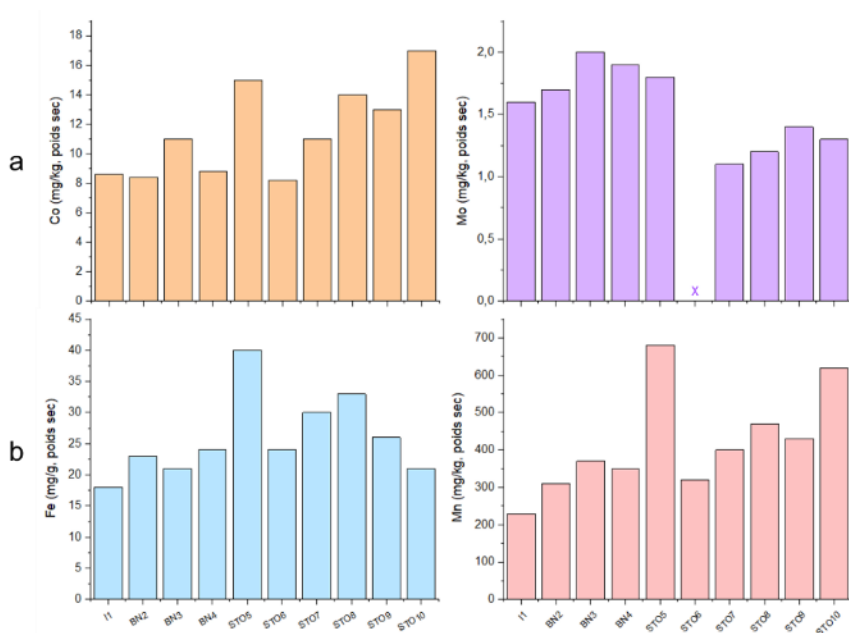
**Tableau A1. 4 :** Nombre de spécimens de chaque taxon d'oligochètes par relevé pour le calcul de l'indice IOBS.

Famille	Taxon	I1	BN2	BN3	BN4	STO5	STO6	STO7	STO8	STO9	STO10
Naididae / Tubificinae	Tubificinae avec soies capillaires non reconnaissables à l'état immature	79	59	66	51	14	53	42	76	35	36
	<i>Tubifex tubifex</i>	2	1					1			
	<i>Potamothrix heuscheri</i>				2				2		1
	<i>Potamothrix bavaricus</i>		15	9	1		1				
	<i>Potamothrix hammoniensis</i>			1							
	<i>Potamothrix bedoti</i>			1							
	<i>Aulodrilus plurisetia</i>	5		10		7	1				2
	<i>Psammoryctides barbatus</i>						1	7	6	6	1
	Tubificinae sans soies capillaires non reconnaissables à l'état immature	12	18	13	43	78	33	42	13	44	58
	<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	2	7		1		6	6	2	8	1
<i>Limnodrilus profundicola</i>						2	2		6	1	
<i>Limnodrilus udekemianus</i>				2							
<i>Limnodrilus claparedianus</i>						2		1	1		
<i>Limnodrilus</i> sp.					1						
Lumbriculidae	<i>Lumbriculidae</i> sp.						1				

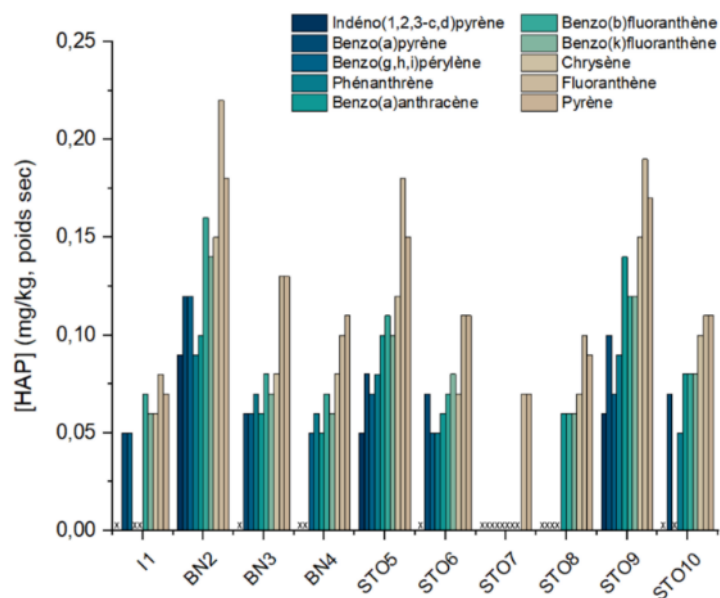
**Tableau A1. 5 :** Quotients moyens pour les métaux seuls (m-PEC-Q-métaux, m = moyenne) ou l'ensemble des substances analysées : les métaux (m-PEC-Q-métaux), les HAP (PEC-Q-somme HAP ou m-PEC-HAP<sub>i</sub>) et les PCB (PEC-Q-somme PCB), calculés avec les valeurs PEC (Predicted effect concentration = concentration au-dessus de laquelle un effet toxique est probable) proposés par MacDonald et al. (2000) ou les valeurs « consensus 2 » dérivés par de Deckere et al. (2011), équivalentes aux PEC » [10, 35].

Sites	I1	BN2	BN3	BN4	STO5	STO6	STO7	STO8	STO9	STO10
m-PEC-Q-métaux	0,28	0,42	0,41	0,47	0,41	0,34	0,35	0,39	0,33	0,39
Moyenne de m-PEC-Q-métaux, PEC-Q-somme PCB, PEC-Q-somme HAP selon MacDonald et al.	0,23	0,36	0,34	0,40	0,33	0,28	0,29	0,32	0,27	0,32
Moyenne de m-PEC-Q-métaux, PEC-Q-somme PCB, m-PEC-Q-HAP <sub>i</sub> selon de Deckere et al.	0,18	0,31	0,24	0,26	0,27	0,20	0,19	0,22	0,24	0,23

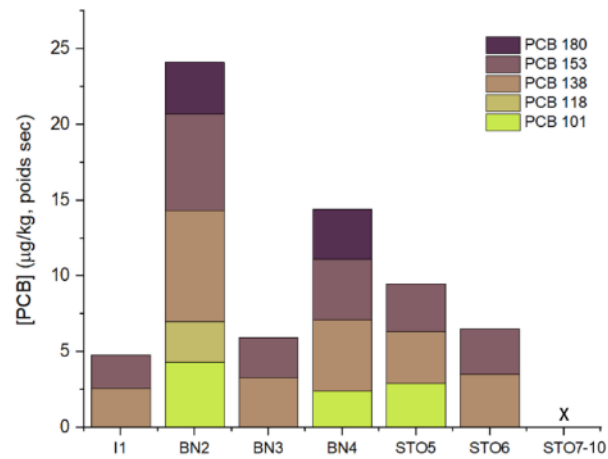




**Figure A1. 1 :** Concentrations mesurées (mg/kg, poids sec) en (a) Co et Mo et (b) Fe et Mn dans les sédiments (< 2 mm) des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) (x: non détecté : < 1.0 mg/kg, poids sec).



**Figure A1. 2 :** Concentrations mesurées (mg/kg, poids sec) pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sédiments (< 2 mm) des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) (x: non détecté : < 0.05 mg/kg, poids sec).



**Figure A1. 3** : Concentrations mesurées ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ , poids sec) pour les polychlorobiphényles dans les sédiments ( $< 2 \text{ mm}$ ) des canaux des îles (I), du Bras-Neuf (BN) et Stockalper (STO) (x, non détecté :  $< 2 \mu\text{g}/\text{kg}$ , poids sec).



## 8.2 A. 2 : Rapport des analyses chimiques du laboratoire Wessling



WESSLING AG  
Werkstrasse 27 · 3250 Lyss BE  
Tel. +41 (0)32 387 6747 · Fax +41 (0)32 387 6746  
info@wessling.ch · www.wessling.ch

WESSLING AG, Werkstrasse 27, 3250 Lyss BE  
Service de l'Environnement SEN  
Monsieur Marc Bernard  
Route de Chandoline 3  
1950 Sion

Commande n° : ULS-07237-19  
Interlocuteur: I. Lehning  
Ligne directe: +41 32 387 67 56  
E-Mail: Isabelle.Lehning@wessling.ch

Lyss, le 29.01.2020

# Rapport no. ULS20-000650-1

## Analyses de sédiments (PCB i et métaux) + HAP + As, Fe et Mn



ISO/IEC 17025

Les résultats d'analyses se fondent uniquement sur les échantillons à notre disposition. Ce rapport ne peut être reproduit partiellement qu'avec l'autorisation préalable de WESSLING AG (DIN EN ISO/IEC 17025).



Rapport no. ULS20-000650-1

Lyss, le 29.01.2020

Désignation d'échantillon			Massongex CSTO-CBRA 04.3	Monthey CSTO- CBRA 03.4	Collombey- Muraz CSTO- CBRA 01.9	Collombey- Muraz CSTO- CBRA 00.8
N° d'échantillon	Unité	LQ	19-203790-01	19-203790-02	19-203790-03	19-203790-04

**Propriétés générales**

Matière sèche	% mass MB	0.1	48	43	52	37
---------------	-----------	-----	----	----	----	----

**Paramètres organiques globaux**

Perte au feu (550°C)	% mass MS	1	5.8	11	4.8	8.7
----------------------	-----------	---	-----	----	-----	-----

**Substances organiques moyennement et peu volatiles****HAP**

Naphtalène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Acénaphthylène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Acénaphthène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Fluorène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Phénanthrène	mg/kg MS	0.05	<0.05	0.09	0.07	0.06
Anthracène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Fluoranthène	mg/kg MS	0.05	0.08	0.22	0.13	0.1
Pyrène	mg/kg MS	0.05	0.07	0.18	0.13	0.11
Benzo(a)anthracène	mg/kg MS	0.05	<0.05	0.1	0.06	0.05
Chrysène	mg/kg MS	0.05	0.06	0.15	0.08	0.08
Benzo(b)fluoranthène	mg/kg MS	0.05	0.07	0.16	0.08	0.07
Benzo(k)fluoranthène	mg/kg MS	0.05	0.06	0.14	0.07	0.06
Benzo(a)pyrène	mg/kg MS	0.05	0.05	0.12	0.06	<0.05
Dibenzo(ah)anthracène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Indéno(123-cd)pyrène	mg/kg MS	0.05	<0.05	0.09	<0.05	<0.05
Benzo(ghi)pérylène	mg/kg MS	0.05	0.05	0.12	0.06	0.05
Somme des HAP	mg/kg MS		0.44	1.4	0.74	0.58

**PCB**

PCB n° 28	mg/kg MS		<0.01	<0.1	<0.05	<0.1
PCB n° 52	mg/kg MS	0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002
PCB n° 101	mg/kg MS	0.002	<0.002	0.0043	<0.002	0.0024
PCB n° 118	mg/kg MS	0.002	<0.002	0.0027	<0.002	<0.002
PCB n° 138	mg/kg MS	0.002	0.0026	0.0073	0.0033	0.0047
PCB n° 153	mg/kg MS	0.002	0.0022	0.0064	0.0026	0.004
PCB n° 180	mg/kg MS	0.002	<0.002	0.0034	<0.002	0.0033
Somme des 6 PCB	mg/kg MS		0.0048	0.0214	0.0059	0.0144
Somme des 6 PCB (x4,3)	mg/kg MS		0.0206	0.092	0.0254	0.0619
Somme des 7 PCB	mg/kg MS		0.0048	0.0241	0.0059	0.0144

**Métaux, métaux lourds et autres éléments****Métaux et autres éléments**

Arsenic (As)	mg/kg MS	1	3	4.2	5.3	5.2
Plomb (Pb)	mg/kg MS	1	30	47	41	44
Cadmium (Cd)	mg/kg MS	0.1	0.4	0.5	0.6	0.8
Chrome (Cr)	mg/kg MS	1	45	53	53	50
Cobalt (Co)	mg/kg MS	1	8.6	8.4	11	8.8
Fer (Fe)	mg/kg MS	10	18000	23000	21000	24000
Cuivre (Cu)	mg/kg MS	1	45	93	54	90
Manganèse (Mn)	mg/kg MS	1	230	310	370	350
Molybdène (Mo)	mg/kg MS	1	1.6	1.7	2	1.9
Nickel (Ni)	mg/kg MS	1	34	48	47	41
Mercuré (Hg)	mg/kg MS	0.05	0.12	0.29	0.37	0.53
Zinc (Zn)	mg/kg MS	5	180	260	280	400



Rapport no. ULS20-000650-1

Lyss, le 29.01.2020

Désignation d'échantillon			Collombey-Muraz CSTO 12.8	Collombey-Muraz CSTO 10.7	Vionnaz CSTO 09.3	Vionnaz CSTO 08.2
N° d'échantillon	Unité	LQ	19-203790-05	19-203790-06	19-203790-07	19-203790-08

**Propriétés générales**

Matière sèche	% mass MB	0.1	45	51	50	47
---------------	-----------	-----	----	----	----	----

**Paramètres organiques globaux**

Perte au feu (550°C)	% mass MS	1	8.2	5.4	6.8	8.4
----------------------	-----------	---	-----	-----	-----	-----

**Substances organiques moyennement et peu volatiles****HAP**

Naphtalène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Acénaphthylène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Acénaphthène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Fluorène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Phénanthrène	mg/kg MS	0.05	0.08	0.05	<0.05	<0.05
Anthracène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Fluoranthène	mg/kg MS	0.05	0.18	0.11	0.07	0.1
Pyrène	mg/kg MS	0.05	0.15	0.11	0.07	0.09
Benzo(a)anthracène	mg/kg MS	0.05	0.1	0.06	<0.05	0.06
Chrysène	mg/kg MS	0.05	0.12	0.07	<0.05	0.07
Benzo(b)fluoranthène	mg/kg MS	0.05	0.11	0.07	<0.05	0.06
Benzo(k)fluoranthène	mg/kg MS	0.05	0.1	0.08	<0.05	0.06
Benzo(a)pyrène	mg/kg MS	0.05	0.08	0.07	<0.05	<0.05
Dibenzo(ah)anthracène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Indéno(123-cd)pyrène	mg/kg MS	0.05	0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Benzo(ghi)peryène	mg/kg MS	0.05	0.07	0.05	<0.05	<0.05
Somme des HAP	mg/kg MS		1	0.67	0.14	0.44

**PCB**

PCB n° 28	mg/kg MS		<0.1	<0.1	<0.05	<0.1
PCB n° 52	mg/kg MS	0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002
PCB n° 101	mg/kg MS	0.002	0.0029	<0.002	<0.002	<0.002
PCB n° 118	mg/kg MS	0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002
PCB n° 138	mg/kg MS	0.002	0.0034	0.0035	<0.002	<0.002
PCB n° 153	mg/kg MS	0.002	0.0032	0.003	<0.002	<0.002
PCB n° 180	mg/kg MS	0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002
Somme des 6 PCB	mg/kg MS		0.0095	0.0065	-/-	-/-
Somme des 6 PCB (x4,3)	mg/kg MS		0.0409	0.028	-/-	-/-
Somme des 7 PCB	mg/kg MS		0.0095	0.0065	-/-	-/-

**Métaux, métaux lourds et autres éléments****Métaux et autres éléments**

Arsenic (As)	mg/kg MS	1	6.9	11	10	12
Plomb (Pb)	mg/kg MS	1	40	27	29	30
Cadmium (Cd)	mg/kg MS	0.1	0.4	0.5	0.5	0.6
Chrome (Cr)	mg/kg MS	1	44	35	40	45
Cobalt (Co)	mg/kg MS	1	15	8.2	11	14
Fer (Fe)	mg/kg MS	10	40000	24000	30000	33000
Cuivre (Cu)	mg/kg MS	1	81	47	53	60
Manganèse (Mn)	mg/kg MS	1	680	320	400	470
Molybdène (Mo)	mg/kg MS	1	1.8	<1.0	1.1	1.2
Nickel (Ni)	mg/kg MS	1	54	34	42	49
Mercure (Hg)	mg/kg MS	0.05	0.12	0.22	0.2	0.19
Zinc (Zn)	mg/kg MS	5	240	250	220	220



Rapport no. ULS20-000650-1

Lyss, le 29.01.2020

Désignation d'échantillon			Vouvry CSTO 07.0	Port-Valais CSTO 00.9
N° d'échantillon	Unité	LQ	19-203790-09	19-203790-10

#### Propriétés générales

Matière sèche	% mass MB	0.1	45	41
---------------	-----------	-----	----	----

#### Paramètres organiques globaux

Perte au feu (550°C)	% mass MS	1	8.3	8.5
----------------------	-----------	---	-----	-----

#### Substances organiques moyennement et peu volatiles

##### HAP

Naphtalène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05
Acénaphthylène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05
Acénaphtène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05
Fluorène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05
Phénanthrène	mg/kg MS	0.05	0.09	0.05
Anthracène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05
Fluoranthène	mg/kg MS	0.05	0.19	0.11
Pyrène	mg/kg MS	0.05	0.17	0.11
Benzo(a)anthracène	mg/kg MS	0.05	0.14	0.08
Chrysène	mg/kg MS	0.05	0.15	0.1
Benzo(b)fluoranthène	mg/kg MS	0.05	0.12	0.08
Benzo(k)fluoranthène	mg/kg MS	0.05	0.12	0.08
Benzo(a)pyrène	mg/kg MS	0.05	0.1	0.07
Dibenzo(ah)anthracène	mg/kg MS	0.05	<0.05	<0.05
Indéno(123-cd)pyrène	mg/kg MS	0.05	0.06	<0.05
Benzo(ghi)pérylène	mg/kg MS	0.05	0.07	<0.05
Somme des HAP	mg/kg MS		1.2	0.68

##### PCB

PCB n° 28	mg/kg MS		<0.1	<0.1
PCB n° 52	mg/kg MS	0.002	<0.002	<0.002
PCB n° 101	mg/kg MS	0.002	<0.002	<0.002
PCB n° 118	mg/kg MS	0.002	<0.002	<0.002
PCB n° 138	mg/kg MS	0.002	<0.002	<0.002
PCB n° 153	mg/kg MS	0.002	<0.002	<0.002
PCB n° 180	mg/kg MS	0.002	<0.002	<0.002
Somme des 6 PCB	mg/kg MS		-/-	-/-
Somme des 6 PCB (x4,3)	mg/kg MS		-/-	-/-
Somme des 7 PCB	mg/kg MS		-/-	-/-

#### Métaux, métaux lourds et autres éléments

##### Métaux et autres éléments

Arsenic (As)	mg/kg MS	1	8.4	11
Plomb (Pb)	mg/kg MS	1	28	32
Cadmium (Cd)	mg/kg MS	0.1	0.5	0.6
Chrome (Cr)	mg/kg MS	1	38	45
Cobalt (Co)	mg/kg MS	1	13	17
Fer (Fe)	mg/kg MS	10	26000	31000
Cuivre (Cu)	mg/kg MS	1	55	63
Manganèse (Mn)	mg/kg MS	1	430	620
Molybdène (Mo)	mg/kg MS	1	1.4	1.3
Nickel (Ni)	mg/kg MS	1	41	50
Mercuré (Hg)	mg/kg MS	0.05	0.14	0.16
Zinc (Zn)	mg/kg MS	5	190	220





Rapport no. ULS20-000650-1  
Lyss, le 29.01.2020

## Informations sur les échantillons

Echantillon-n°	19-203790-01	19-203790-02	19-203790-03	19-203790-04	19-203790-05
Date de réception:	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019
Désignation	Massongex CSTO-CBRA 04.3	Monthey CSTO-CBRA 03.4	Collombey-Muraz CSTO-CBRA 01.9	Collombey-Muraz CSTO-CBRA 00.8	Collombey-Muraz CSTO 12.8
Type d'échantillons:	Sédiment	Sédiment	Sédiment	Sédiment	Sédiment
Prélèvement:	18.11.2019	18.11.2019	01.11.2019	01.11.2019	31.10.2019
	Service de l'Environnement SEN	Service de l'Environnement SEN	Service de l'Environnement SEN	Service de l'Environnement SEN	Service de l'Environnement SEN
Prélèvement par:					
Début des analyses:	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019
Fin des analyses:	10.12.2019	10.12.2019	10.12.2019	10.12.2019	10.12.2019
Echantillon-n°	19-203790-06	19-203790-07	19-203790-08	19-203790-09	19-203790-10
Date de réception:	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019
Désignation	Collombey-Muraz CSTO 10.7	Vionnaz CSTO 09.3	Vionnaz CSTO 08.2	Vouvry CSTO 07.0	Port-Valais CSTO 00.9
Type d'échantillons:	Sédiment	Sédiment	Sédiment	Sédiment	Sédiment
Prélèvement:	21.11.2019	19.11.2019	19.11.2019	21.11.2019	31.10.2019
	Service de l'Environnement SEN	Service de l'Environnement SEN	Service de l'Environnement SEN	Service de l'Environnement SEN	Service de l'Environnement SEN
Prélèvement par:					
Début des analyses:	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019	03.12.2019
Fin des analyses:	10.12.2019	10.12.2019	10.12.2019	10.12.2019	10.12.2019

## Méthodes

Paramètres	Norme	Laboratoire
Matières sèches	DIN ISO 11465 (1996-12) <sup>A</sup>	Laboratoire Lyss CH (CH)
HAP (16)	ISO 18287 mod. <sup>A</sup>	Laboratoire Lyss CH (CH)
Métaux/Éléments (ICP-OES/ICP-MS) sur matière solide	DIN EN ISO 11885 / DIN EN ISO 17294-2 (2009-09 / 2005-02) <sup>A</sup>	Laboratoire Lyss CH (CH)
Minéralisation à l'eau régale	DIN ISO 11466 mod. (1997-06) <sup>A</sup>	Laboratoire Lyss CH (CH)
Perte au feu de la matière sèche sur matière solide	DIN EN 12879 (2001-02) <sup>A</sup>	Laboratoire Lyss CH (CH)
Polychlorobiphényles (PCB)	ISO 10382 mod. <sup>A</sup>	Laboratoire Lyss CH (CH)

A = procédé de mesure accrédité (ISO 17025)

MB = matière brute

MS = matière sèche

LQ = limite de quantification

E/L = eau / lixiviat

G = gaz

nd = non détecté



Rapport no. ULS20-000650-1  
Lyss, le 29.01.2020

## Commentaires

19-203790-01 à 10

Commentaires des résultats:

Polychlorobiphényles, PCB Nr. 28: En raison des interférences de la matrice, la limite de quantification a été augmentée.

Des compléments d'information sur les principes d'analyses, par exemple les incertitudes de mesure, sont disponibles sur demande.

Ce document a été créé électroniquement et est également valable sans signature.

Heinrich Kalt

Directeur, Dr. rer. nat



### 8.3 A. 3 : Résultats du biotest *C. elegans* et des indices NemaSPEAR d'Ecossa (S. Höss)



**ecological  
sediment &  
soil  
assessment**

Dr. Sebastian Höss  
Giselastr. 6  
82319 Starnberg  
Germany

Tel: +49 8151 5509172  
Fax: +49 8151 5509172  
hoess@ecossa.de  
<http://www.ecossa.de>

## Report

Toxicity Assessment of "Stockalper" Sediment Samples Using the Sediment Contact Test with *Caenorhabditis elegans* (ISO 10872) and In-Situ Nematode Community Analysis

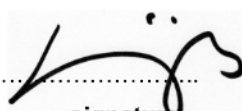
Study Director: Dr. Sebastian Höss  
Nematode Identification: Prof. Dr. Traunspurger (Bielefeld University)

Test Facility: Ecossa  
Giselastr. 6  
82319 Starnberg, Germany

Sponsor: Centre Ecotox/Oekotoxzentrum  
Eawag-EPFL  
EPFL-ENAC-IIE-GE  
Station 2 (GR B0 392)  
1015 Lausanne, Suisse

Version: Draft Report  
Study Completion Date: January 2020

.....  
date

  
signature



## Table of contents

Report Title	1
Table of contents	2
Summary	3
Materials and Methods	4
Toxicity Test with <i>Caenorhabditis elegans</i> (ISO 10872)	7
In-Situ Meiofauna/Nematode-Community Analysis	
Results	8
Toxicity Test with <i>Caenorhabditis elegans</i> (ISO 10872)	8
In-Situ Meiofauna/Nematode-Community Analysis	11
Cited Literature	13
Appendix 1	14
Appendix 2	15
Appendix 3	17
<b>List of Tables</b>	
Table 1: Dry Weight of Sediment Samples	4
Table 2: Bacterial Density	6
Table 3: Validity Criteria for Controls	8
Table 6: Toxicity Test Results	8
<b>List of Figures</b>	
Figure 1: Mean Growth and Reproduction of <i>C. elegans</i>	9



## Summary

The “Stockalper” sediments showed no toxicity in the standard sediment toxicity test with *C. elegans* according to ISO 10872. The nematode communities of the sediments, however, could be clearly distinguished in terms of their species composition and NemaSPEAR-index. nMDS separated sites S1 – S4 from sites S5 – S10, whereas sites S1 and S9 showed a moderate and site 2 a poor ecological quality. For the other sites, NemaSPEAR[%] and NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> showed a slightly different classification of the sites, with sites S3, S6 and S10 showing a good/moderate, S7 and S8 showing a moderate/poor, S5 showing a poor/moderate and S4 showing a poor/bad ecological quality, respectively.

## Materials and Methods

### *Toxicity Test (ISO 10872)*

Test material:	Fresh sediment from 10 sites (site S1-S10); For ISO 10872: fresh sediments; for in-situ analysis: formalin-fixed sediment (3 replicates per site)
Controls:	Formulated sediment (according to ISO 10872)
Test species:	Caenorhabditis elegans, strain N2; J1 at test begin (initial body length: 304 (± 31) µm)
Toxicity parameters:	Growth, Fertility, Reproduction
Test design:	Static test (96 h); 6 replicates/treatment; 10 test organisms/replicate
Test conditions:	Temperature: 19.8 – 20.3 °C; Food: bacterial suspension with 12,122 FAU; in the dark; 12-well multidishes (Nunc)
Statistical analysis:	one-way ANOVA (post-hoc test: Dunnett’s test), descriptive statistics
Endpoint:	% Inhibition of growth, fertility and reproduction

### *In-Situ Nematode Community Analysis*

Test material	Formalin-fixed sediment samples from 10 sites (site S1-S10) (3 replicate samples per site)
Extraction of Organisms	Organisms were extracted from sediments using a density-flotation technique with Ludox (density: 1.13 g/ml)
Meiofauna Quantification	Organisms of the major meiofaunal groups were counted
Nematode identification	From each replicate sample, 50-60 nematode individuals were identified to species level
Indices	Abundance of meiofaunal groups; Nematode species composition; NemaSPEAR[%]-indices

## Results

### *Toxicity Test (ISO 10872)*

Validity criteria:	fulfilled in controls: Recovery in controls (solvent controls): 85.0 %; Males in controls: 0 %; Fertility in controls (solvent controls): 100.0 %; Reproduction in controls: 114 offspring/test organism; % CV (growth): 3.6; % CV (reproduction): 10.2
Toxicity of test item:	No toxic effects on growth, fertility and reproduction; significant lower growth in S2-5, S7-8, S10, however, no exceedance of toxicity threshold of 25% inhibition.



#### *In-Situ Nematode Community Analysis*

NemaSPEAR[%]	Sites could clearly be distinguished according to their NemaSPEAR[%]-values and ecological status: good-moderate: S3, S6, S10; moderate: S1; S9; moderate-poor: S5, S7, S8; poor-bad ecological status: S2, S4.
Species Composition	Based on relative abundances and replicate data, only S9 could be distinguished from the other sites. Based on relative abundances and pooled data, three cluster could be distinguished: Cluster 1: S9; Cluster 2: S6-S10; Cluster 3: S1-S5.

## Materials and Methods

### *Toxicity Test with *Caenorhabditis elegans* (ISO 10872)*

The toxicity test with *C. elegans* was carried out fully following the provisions of ISO 10872 [1]. All relevant steps are briefly described.

### *Preparation of test material*

Dry weight of sediments was determined. All sediments showed a dry weight of  $\leq 60\%$ , so that no water had to be added for moistening (see Tab. 1).

**Table 1:** Dry weight of sediment samples

Sediment	% dry weight	% water content
S 1	52.4	47.6
S 2	35.8	64.2
S 3	43.4	56.6
S 4	36.1	63.9
S 5	39.1	60.9
S 6	44.2	55.8
S 7	45.0	55.0
S 8	40.0	60.0
S 9	36.6	63.4
S 10	34.8	65.2

- Artificial sediment was prepared according to ISO 10872. All components were stored at room temperature.

#### *Composition:*

- 40% (w/w) Quarzsand (0.1-0.4 mm; BayWa; Munich, Germany)
- 30% (w/w) Quarzpowder (Millisil W4; Quarzwerke Frechen, Germany)
- 20% (w/w) Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (purum, p.a.; Fluka; Batch: 437451/1)
- 4.5% (w/w) Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (puriss. p.a.  $\geq 99\%$ ; Fluka; Batch: 428807/1)
- 0.5% (w/w) Dolomit (Dolomitwerk Jettenberg; Germany)
- 1% (w/w) CaCO<sub>3</sub> (Ph Eur; USP; BP, precipitated; Carl-Roth; batch: 14245877)





- 4% (w/w) Peat (untreated, highly decomposed black peat, R.H.P. quality; Klasmann-Deilmann, Geeste, Germany)

The dry components were thoroughly mixed to result in a total amount of 100 g (dry wt) artificial sediment. Analysis of grain size distribution and TOC revealed 41% sand (>63  $\mu\text{m}$ ), 54.5% silt (2-63  $\mu\text{m}$ ), 4.5% clay (<2  $\mu\text{m}$ ) and 2.1% TOC [2].

#### *Preparation of test vessels*

- For each sediment and the control 4 replicates were set up (control sediment: 8 replicates).
- For the artificial control sediment 0.300 ( $\pm$  0.003) g of the dry sediment were weighed into each test well (12-well multi-dishes; Nunc, Thermo Scientific) and 0.2 ml distilled water were added to moisten the sediment and to achieve a sediment wet weight of 0.5 g and a water content of 40%.
- For the test material, 0.5 g sediment (wet weight) were weighed into each test well (12-well multi-dishes; Nunc, Thermo Scientific).
- For conditioning of the control sediment and oxidation of the test material, test wells were stored for 24h at 8°C ( $\pm$  2°C) before the start of the test.
- Immediately before the start of the test, 0.5 ml of bacterial suspension (*Escherichia coli* OP50 in M9-medium (ISO 10872; 6 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \text{ l}^{-1}$ , 3 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \text{ l}^{-1}$ , 5 g NaCl, 0.25 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O l}^{-1}$ ); cell density: 12,000  $\pm$  600 FAU; according to ISO 10872, see Table 3) were added to the 0.5 g wet sediment and thoroughly mixed with a spatula, achieving 1 g of wet sediment.
- To start the test, 10 juvenile *C. elegans* of the first stage were introduced in each test well (according to ISO 10872);
- After 96 h, the five replicate vessels for toxicity assessment were stained with Bengal rose and heat treated at 80°C for 15 min and afterwards stored at 8 °C (according to ISO 10872).

#### *Cultivation of test organisms*

- *Test organism*: Strain: N2; Species: *Caenorhabditis elegans*; Genotype: *C. elegans* wild type, DR sub-clone of CB original (Tc1 pattern I); sent as dauer larvae;
- *Source*: Caenorhabditis Genetic Centre; University of Minnesota; Dept of GCD; 6-160 Jackson Hall; 321 Church Street S.E.; Minneapolis; MN 55455; USA.
- *Cultivation*: *C. elegans* were cultivated according to ISO 10872:
  - Inoculation of bacterial lawn
  - Transferring of dauer larvae on agar plates with fresh bacterial lawn
  - Within 3 days, dauer larvae developed to a mixed population of adults and juveniles of the first and second stage (J1 and J2); all worms were rinsed from the plates using M9-medium into a filter (5  $\mu\text{m}$ -gauze); the filtrate was collected in a 10cm-( $\varnothing$ )-Petri dish.



- Filtering of mixed population retained larger animals so that the collected filtrate contained only J1 juvenile stages that were used for the test. Measuring 30 J1 at the start of the test revealed a mean initial body length of 304 ( $\pm$  31)  $\mu$ m (Appendix 1).

#### *Cultivation of food bacteria*

- *Food organism*: Strain OP50; Species: *Escherichia coli*; Genotyp: *E. coli*.
- *Source*: Caenorhabditis Genetic Centre; University of Minnesota; Dept of GCD; 6-160 Jackson Hall; 321 Church Street S.E.; Minneapolis; MN 55455; USA
- *Cultivation*: *E. coli* OP50 were cultivated according to ISO 10872.

**Table 2:** Bacterial density: OD<sub>600</sub> = Optical density at 600 nm wave length; FAU = Formazin Absorption Units (according to ISO 7027).

	Dilution (Medium)	FAU (diluted)	FAU (final density)
Test	1:60 (M9-Medium)	205	12,301

#### *Processing of samples for toxicity assessment*

Samples assigned for toxicity assessment are processed according to ISO 10872. Briefly, test organisms and offspring are separated from the sediment by Ludox extraction (Ludox TM50 [50 wt % suspension in water; Sigma-Aldrich; Batch: 07826PH] adjusted with water to a density of 1.13 g/ml). After mixing of the sediment with the Ludox-suspension and subsequent centrifugation, nematodes are found in the supernatant. After three extraction steps, the combined supernatant is analyzed.

#### *Analysis of test parameters*

The following parameters are analyzed to calculate toxicity endpoints and assess validity criteria for the controls according to ISO 10872.

- *Recovery* (validity criterion; measured for controls): Count the separated exposed test organisms and calculate the percentage of recovered exposed test organisms by dividing the total number of recovered exposed test organisms (including potentially present male test organisms) by the number of introduced test organisms (10) and multiplying by 100.
- *Males* (validity criterion; measured for controls): Count the males in the replicates and exclude them from further measurement of growth and calculations of fertility and reproduction, as adult males are generally smaller than adult hermaphrodites and males are not able to produce eggs and offspring. Determine the percentage of male exposed test organisms by dividing the number of males by the total number of recovered exposed test organisms and multiplying by 100.
- *Fertility* (validity criterion; measured for controls): Calculate per control replicate the percentage



of gravid exposed test organisms in relation to the total number of recovered hermaphroditic exposed test organisms (fertility) by dividing the number of gravid exposed test organisms by the total number of recovered exposed test organisms (less the number of males) and multiplying by 100.

- *Growth* (toxicity endpoint): Calculate the replicate growth as the difference of the mean measured body length and mean body length of 30 J1 at the beginning of the test (see Appendix 1).
- *Reproduction* (toxicity endpoint): Offspring (second generation) of each replicate is counted and reproduction is calculated by dividing the number of offspring by the number of introduced test organisms (= 10) for each replicate.

#### *Validity criteria*

The test is regarded as valid if (according to ISO 10872):

- the mean recovery of exposed test organisms from the control is  $\geq 80\%$  and  $\leq 120\%$ ;
- the mean percentage of males in the control is  $\leq 10\%$ ; the percentage of males in a single control replicate is  $\leq 20\%$ ;
- the mean fertility in the control is  $\geq 80\%$ ;
- the mean reproduction in the control is  $\geq 50$  offspring per exposed test organism.
- Coefficients of variance for growth and reproduction in the control sediment don't exceed 15 and 30%, respectively;

#### *Data evaluation and statistics*

To test for significant differences to the control, one-way ANOVA was performed with suitable posthoc tests for multiple comparisons (Dunnett test if homogeneity of variance is given; Dunnett T3 test, if homogeneity of variance is given; according to Levene's test). Additionally to statistical significance of effects, % inhibition to control sediment should be  $\geq 25\%$ ,  $\geq 20\%$  and  $\geq 50\%$  for growth, fertility and reproduction, respectively, before an effect is regarded as toxic effect [3].

#### *In-Situ Meiofauna/Nematode-Community Analysis*

In general the in-situ meiofauna/nematode community analysis including the calculation of assessment indices followed the published instructions [4–7]. Therefore, only a brief method description is given in this report:

#### *Sample Preparation/Organism extraction*

For extraction of nematodes and other meiofaunal organisms, sediment of each replicate sample was rinsed into centrifugation tubes and centrifuged for 5 min at 800 g. After discarding the supernatant, sediment was mixed with a colloidal silica suspension (Ludox TM 50;

7/17



SigmaAldrich, Munich, Germany) that was adjusted to a density of 1.13 g/ml with deionized water. After centrifugation for 15 min at 800 g, the supernatant was filtered through a 10- $\mu$ m gaze that retained all meiofaunal organisms. The extraction steps were repeated three times.

#### *Quantification of meiofaunal organisms*

The retained organisms were rinsed into petri-dishes, where they were counted using a dissecting microscope (25-40-fold magnification). Following meiofaunal groups were considered: amphipods, ceratopogonid and chironomid larvae, copepods (+ nauplia larvae), gastrotriches, mites, nematodes, oligochaetes, ostracodes, phyllopod and tardigrades.

#### *Nematode species identification*

From each replicate sample approximately 50-60 nematodes were transferred and prepared in glycerol (Seinhorst, 1959). In total nematodes were determined under the microscope to species level (1250-fold magnification; Leitz, Dialux).

#### *NemaSPEAR[%]-indices*

NemaSPEAR[%] and NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> were calculated from relative abundances of nematode species data according to Höss et al. 2017 [5]. To classify the samples in terms of their ecological status, thresholds between classes were taken from Höss et al. 2017 [5]: NemaSPEAR > 54: high; 30-54: good; 20-30: moderate; 10-20: poor; <10: bad.

## Results

### *Toxicity Test with Caenorhabditis elegans (ISO 10872)*

#### *Validity Criteria*

All validity criteria were met in the control sediment (Table 3).

**Table 3:** Validity criteria in controls; x = fulfilled

Validity Criteria	Control
% Recovery in Controls ( $80 \leq x \leq 120\%$ )	85.0 (x)
% Males in Controls ( $\leq 10\%$ )	0.0 (x)
% Fertility in Controls ( $\geq 80\%$ )	100.0 (x)
Reproduction in Controls ( $\geq 30$ offspring / test organisms)	114 (x)
% CV Growth in Controls	3.6 (x)
% CV Reproduction in Controls	10.2 (x)

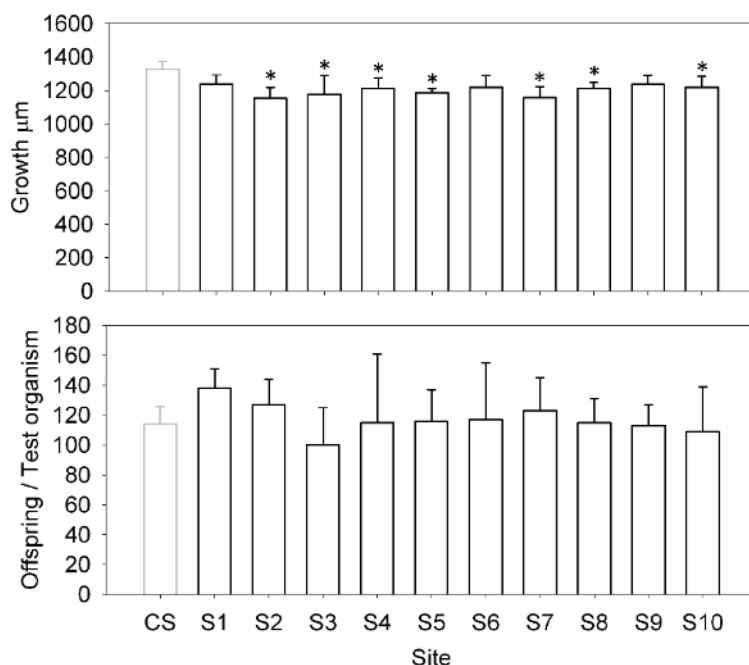


Response of *C. elegans* to sediments

**Table 4:** Toxicity test results: fertility, growth and reproduction of *C. elegans* after 96 h of exposure in control sediment (CS) and five different sediment samples; CS = Control sediment; SD = standard deviation; Inh = inhibition; \* = significantly different from control sediment ( $p < 0.05$ ).

Sediment	Toxicity parameters					
	Fertility (%)		Growth ( $\mu\text{m}$ )		Reproduction (Offspring / test organism)	
	Mean $\pm$ SD	% Inh to CS <sup>-1</sup>	Mean $\pm$ SD	% Inh to CS <sup>-1</sup>	Mean $\pm$ SD	% Inh to CS <sup>-1</sup>
CS	100 $\pm$ 0.0		1327 $\pm$ 47		113.8 $\pm$ 11.6	
S 1	100 $\pm$ 0.0	0.0	1240 $\pm$ 53	6.6	137.9 $\pm$ 12.9	-21.2
S 2	100 $\pm$ 0.0	0.0	1153 $\pm$ 65	13.1	127.5 $\pm$ 17.4	-12.0
S 3	100 $\pm$ 0.0	0.0	1178 $\pm$ 112	11.3	100.3 $\pm$ 24.7	11.8
S 4	100 $\pm$ 0.0	0.0	1214 $\pm$ 60	8.5	114.6 $\pm$ 46.1	-0.8
S 5	100 $\pm$ 0.0	0.0	1188 $\pm$ 24	10.5	115.6 $\pm$ 21.5	-1.6
S 6	100 $\pm$ 0.0	0.0	1219 $\pm$ 69	8.2	116.7 $\pm$ 37.9	-2.6
S 7	100 $\pm$ 0.0	0.0	1158 $\pm$ 66	12.8	122.5 $\pm$ 22.2	-7.7
S 8	100 $\pm$ 0.0	0.0	1214 $\pm$ 35	8.5	114.9 $\pm$ 16.2	-1.0
S 9	100 $\pm$ 0.0	0.0	1238 $\pm$ 53	6.8	112.9 $\pm$ 13.8	0.7
S 10	100 $\pm$ 0.0	0.0	1220 $\pm$ 65	8.1	109.2 $\pm$ 29.8	4.0

<sup>1</sup> negative inhibition values indicate higher performance than in control sediment



**Fig. 1:** Mean growth ( $\mu\text{m}$ ) and reproduction (offspring / test organism) of *C. elegans* after 96 h of exposure in control sediment (CS) and ten different sediment samples; error bars = standard deviation, \* = significantly different from control sediment ( $p < 0.05$ ).

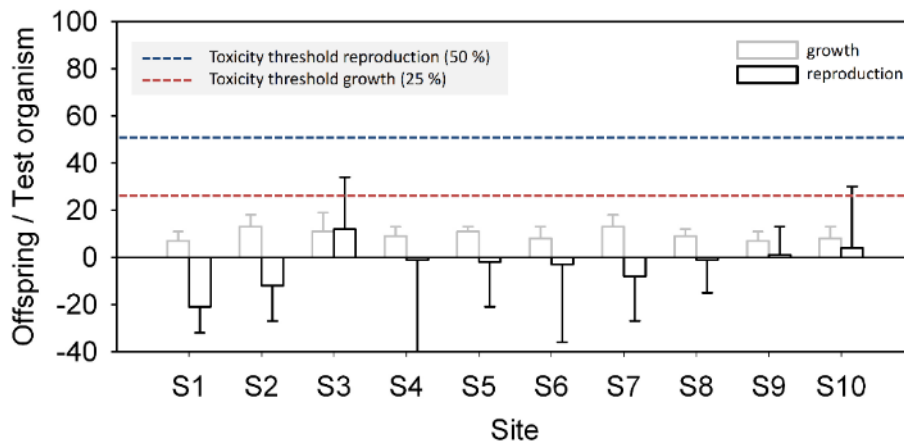


Fig. 2: % Inhibition of growth (grey bars) and reproduction (black bars) of *C. elegans* after 96 h of exposure and ten different sediment samples compared to the control sediment; error bars = standard deviation; blue and red dashed lines: toxicity thresholds for reproduction (50%) and growth (25%), respectively.





### *In-situ Meiofauna/Nematode Communities*

The meiofauna of the “Stockalper” sediments were mainly dominated by nematodes and oligochaetes, followed by chironomids and copepods (Tab. 5). Nematode abundances in the replicate samples ranged from 24,000 to 1,300,000 individuals/m<sup>2</sup> which is well within the range of nematode abundances found in German rivers [6].

**Tab. 5:** Abundance of dominant meiofaunal groups found in “Stockalper” samples (individuals/m<sup>2</sup>); sd = standard deviation;

Site	Nematodes		Oligochaetes		Chironomids		Copepods	
	Individuals/m <sup>2</sup>							
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
S1	483,852	712,113	49,987	25,935	37,327	31,514	50,223	44,033
S2	91,765	56,542	64,989	44,156	5,209	2,258	2,117	1,834
S3	216,381	115,244	68,643	31,932	25,476	6,358	6,064	2,933
S4	672,009	351,829	142,612	107,388	61,247	59,297	0	0
S5	123,356	124,033	36,151	22,655	44,887	8,964	4,452	2,511
S6	98,304	64,064	116,403	39,063	26,275	9,043	1,632	2,070
S7	122,278	71,583	430,889	31,7059	16,372	6,810	2,641	1,601
S8	100,117	42,418	161,687	63,678	35,294	27,493	3,313	2,905
S9	75,149	2,729	118,023	24,708	20,502	14,790	282	489
S10	385,691	233,898	61,671	63,917	59,208	51,974	1,457	1,324

Nematode communities were characterized by a relatively low species diversity, with 14 -23 species found for 170-180 analyzed nematodes (Tab. 6). In comparison, in German rivers maximal species numbers of 25 to 47 could be found [6]. The list of species found in the “Stockalper” samples is quite comparable with nematode communities in German rivers [6]. The samples were clearly dominated by nematodes of the family Monhysteridae, with 25 to 72% of all nematodes belonging to the genus *Eumonhystera*, which is a quite heterogenous genus in terms of sensitivity to chemicals [8].

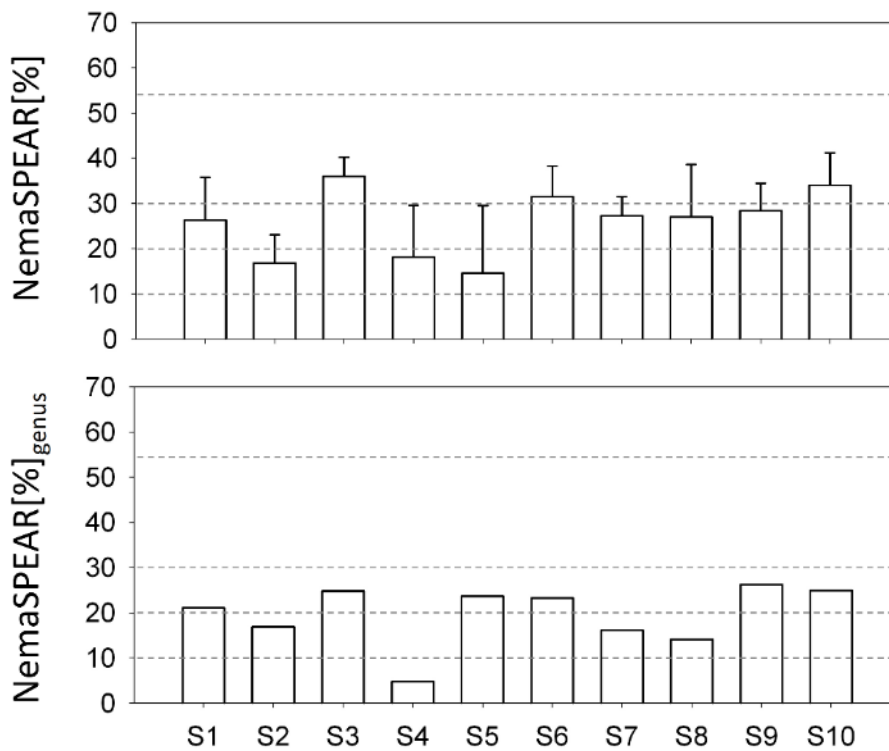
The mean NemaSPEAR[%]-index of the sites ranged between 17 and 36, meaning a range between bad and good ecological quality (Tab. 6; Fig. 3). A good quality could be found at sites S3, S6 and S10. Sites S2, S4 and S5 showed a poor, sites S1 and S7 to S9 a moderate ecological status.

The NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> (based on genus level) generally showed lower values compared to the NemaSPEAR[%] based on species level, often meaning a shift of ecological status into a lower class (sites S3, S4, S6, S7, S8, S10). However, these values should be regarded with caution, as for the NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> the ambiguous genus *Eumonhystera* is omitted for the index calculations [8]. As for many samples, *Eumonhystera* made up >50% of the total species abundance (Tab. 6), the values for the index might be biased by an inappropriate data basis. Moreover, due to the low number of nematodes that could be used for the replicate-based analysis of the NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub> after excluding *Eumonhystera*, this index was only calculated for the pooled data (n = 44 - 114).



**Tab. 6:** Indices calculated for nematode communities found in “Stockalper” samples; colors of cells refer to ecological quality classes: green:  $\geq 30$  and  $< 54$  = good; yellow:  $\geq 20$  and  $< 30$  = moderate; orange:  $\geq 10$  and  $< 20$  = poor; red:  $< 10$  = bad.

Site	N	No. of Species	NemaSPEAR[%]			Nema-SPEAR[%] <sub>genus</sub>	% Eumonhystera
			pooled	Mean	Sd		
S1	167 (53-59)	14	26.2	26.3	9.5	21.1 (n=107)	35.9
S2	173 (57-58)	23	17.2	16.8	6.3	16.9 (n=99)	42.8
S3	171 (55-58)	18	36.1	36.0	4.2	24.8 (n=49)	71.3
S4	178 (58-61)	14	16.9	18.1	11.5	4.8 (n=66)	62.9
S5	181 (58-62)	19	18.3	14.6	14.9	23.7 (n=114)	37.0
S6	181 (56-63)	20	30.3	31.5	6.8	23.3 (n=83)	54.1
S7	178 (58-60)	21	26.9	27.3	4.2	16.2 (n=50)	71.9
S8	180 (58-61)	20	26.6	27.0	11.6	14.1 (n=77)	57.2
S9	181 (59-61)	14	29.2	28.4	6.1	26.2 (n=136)	24.9
S10	183 (61)	17	30.9	34.0	7.2	24.9 (n=44)	76.0



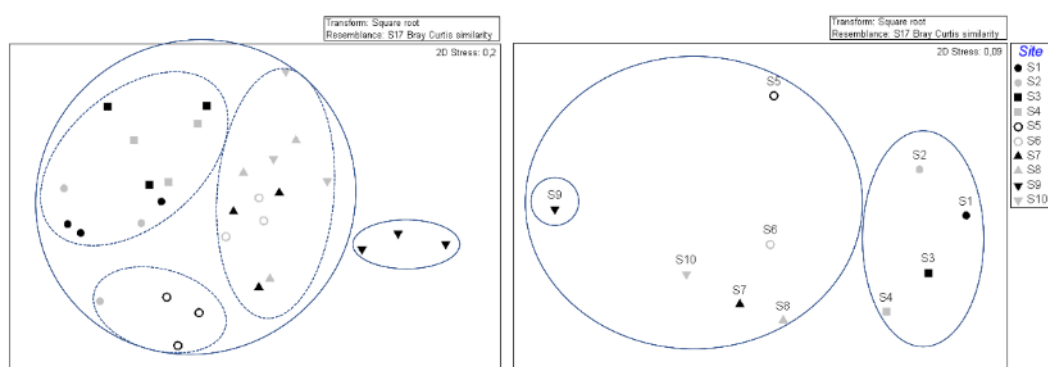
**Fig. 3:** NemaSPEAR[%]-indices calculated for nematode communities in the 10 different sites of the Stockalper; note that for the NemaSPEAR[%]<sub>genus</sub>-index, the dominant genus *Eumonhystera* had to be omitted; dotted lines represent thresholds for the classification in ecological quality classes:  $\geq 54\%$ : high;  $\geq 30$  and  $< 54$ : good;  $\geq 20$  and  $< 30$ : moderate;  $\geq 10$  and  $< 20$ : poor;  $< 10$ : bad.

Regarding the species composition, it could be shown that for most sites, the replicate samples were



quite similar regarding the species composition (closely related symbols in nMDS plot; Fig. 4, left panel). Based on the replicate samples, only site S9 differed significantly from all other sites, building its own cluster in a hierarchical cluster analysis (Fig. 4, left panel; SimProf:  $p < 0.05$ ). Using a significance level of  $p < 0.1$ , again three clusters could be distinguished (see dashed lines): cluster 1: with site 5; cluster 2 with sites 1 to three; cluster 3 with sites S6-8 and S10.

Regarding the pooled species data for the individual sites (replicate data pooled to one data set; Fig. 4 right panel), sites S1 to S4 had a significantly different nematode species composition compared to the sites S5 to S10, whereas site S9 builded its own, significantly different, cluster (SimProf:  $p < 0.05$ ).



**Fig. 4:** nMDS plots based on relative abundances for nematodes species (Bray-Curtis similarity) of replicate samples (left panel) and sites (pooled replicate data; right panel) found in “Stockalper” samples; superimposed lines refer to significantly different cluster (hierarchical cluster analysis based of Bray-Curtis similarities) on different significance-levels (solid lines:  $p < 0.05$ ; dashed lines:  $p < 0.1$ ; SimProf-Analysis); Used software: Primer Software; Version 6.1.5.

## Cited Literature

1. ISO. Water quality - Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2010.
2. Höss S, Krebs F. Dilution of toxic sediments with unpolluted artificial and natural sediment - Effects on *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in a whole sediment bioassay. Hamburg, Germany: Society of Environmental Toxicology and Chemistry; 2003. p. 148.
3. Höss S, Ahlf W, Fahnenstich C, Gilberg D, Hollert H, Melbye K, et al. Variability of freshwater sediment contact tests in sediments with low-level anthropogenic contamination – Determination of toxicity thresholds. *Environ. Pollut.* 2010;158:2999–3010.



4. Heininger P, Höss S, Claus E, Pelzer J, Traunspurger W. Nematode communities in contaminated river sediments. *Environ. Pollut.* 2007;146:64–76.
5. Höss S, Heininger P, Claus E, Möhlenkamp C, Brinke M, Traunspurger W. Validating the NemaSPEAR[%]-index for assessing sediment quality regarding chemical-induced effects on benthic communities in rivers. *Ecol. Indic.* 2017;73.
6. Höss S, Claus E, Von der Ohe PC, Brinke M, Güde H, Heininger P, et al. Nematode species at risk - A metric to assess pollution in soft sediments of freshwaters. *Environ. Int.* 2011;37.
7. Traunspurger W, Höss S, Witthöft-Mühlmann A, Wessels M, Güde H. Meiobenthic community patterns of oligotrophic and deep Lake Constance in relation to water depth and nutrients. *Fundam. Appl. Limnol.* 2012;180.
8. Höss S, Heininger P, Claus E, Möhlenkamp C, Brinke M, Traunspurger W, et al. Validating the NemaSPEAR[%]-index for assessing sediment quality regarding chemical-induced effects on benthic communities in rivers. *Ecol. Indic.* 2017;73:52–60.



**Appendix 1: Initial body length (BL) of 30 J1 at the start of the test (ISO 10872)**

Treatment	Initial BL ( $\mu\text{m}$ )
1	279
2	228
3	228
4	269
5	311
6	321
7	279
8	279
9	331
10	290
11	321
12	331
13	342
14	279
15	362
16	300
17	300
18	311
19	321
20	311
21	311
22	362
23	300
24	311
25	300
26	331
27	300
28	279
29	290
30	331
<b>Mean</b>	<b>303.6</b>
<b>SD</b>	<b>31.4</b>



Appendix 2: Replicate data (ISO 10872)

Treatment	Replicate	Mean growth	Fertility	Reproduction	Recovery	Males
		µm	%	Offspring per test organism	%	%
CS	1	1293.5	100	103.4	70	0
	2	1358.4	100	118.7	90	0
	3	1248.0	100	108.0	80	0
	4	1351.7	100	107.4	90	0
	5	1337.1	100	115.3	90	0
	6	1394.3	100	134.0	90	0
	7	1349.0	100	98.9	80	0
	8	1287.2	100	124.4	110	0
S 1	1	1277.1	100	130.0	80	0
	2	1292.2	100	157.1	80	0
	3	1206.4	100	131.7	80	0
	4	1184.5	100	132.8	90	0
S 2	1	1075.1	100	152.6	80	0
	2	1166.0	100	124.4	80	0
	3	1137.8	100	113.1	70	0
	4	1232.7	100	119.8	90	0
S 3	1	1094.0	100	127.2	90	0
	2	1342.7	100	110.2	70	0
	3	1129.2	100	95.0	70	0
	4	1144.1	100	69.0	60	0
S 4	1	1272.0	100	50.6	50	0
	2	1200.2	100	137.9	90	0
	3	1247.5	100	113.6	70	0
	4	1136.4	100	156.4	80	13
S 5	1	1152.5	100	88.7	60	0
	2	1199.9	100	115.9	70	0
	3	1191.2	100	116.4	70	0
	4	1206.4	100	141.3	80	0
S 6	1	1294.7	100	113.6	80	0
	2	1255.2	100	91.0	60	0
	3	1140.7	100	91.0	60	0
	4	1186.2	100	171.3	80	0
S 7	1	1160.9	100	137.9	80	0
	2	1063.7	100	118.7	80	0
	3	1211.4	100	140.8	90	0
	4	1196.3	100	92.7	60	0
S 8	1	1225.8	100	97.8	70	0
	2	1218.1	100	113.1	80	0
	3	1164.9	100	136.8	100	0
	4	1248.0	100	111.9	80	0
S 9	1	1218.1	100	96.1	60	0
	2	1181.1	100	126.1	80	0
	3	1244.2	100	107.4	80	0
	4	1307.4	100	122.1	80	0
S10	1	1176.1	100	59.9	60	0
	2	1109.1	100	110.2	80	0
	3	1182.4	100	101.7	80	0
	4	1043.5	100	50.3	80	0



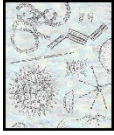
Appendix 3: Relative abundances of nematode species in replicate samples (I, II, III); p = pooled data.

Species	Station 1			Station 2			Station 3			Station 4			Station 5			Station 6			Station 7			Station 8			Station 9			Station 10		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
<i>Achromadora nurecola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Aelaimus primitivus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Aphanolaimus aquaticus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Aphelenchoides panietinus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Aphelenchoides bicaudatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Aporcelaimellus obtusicaudatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Bursilla monhystra</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Cephalobus persegnis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Chromadorina bioculata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Chromadorina leuckarti</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Chromogaster typica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Colenchus costatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Diplogaster sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Diplogaster coronatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Dorylaimus stagnalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Eucephalobus oxyuroides</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Eudorylaimus centrocecus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Ethmolaimus pratensis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Eurochtharea dispar</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Eurochtharea filiformis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Eurochtharea longicaudata</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Eurochtharea pascuiflora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Eurochtharea simplex</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Eurochtharea vulgaris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Helicotylenchus spec.</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Irenus longicaudatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Macrocephalon spec.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Maenidium hypophis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Mermodidae gen. sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Mesodorylaimus cf. ostiaeni</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Monhystrella pedicellata</i>	0	47.2	50.9	61.0	55.3	35.3	67.5	15.5	35.2	15.5	37.3	55.2	32.7	1.6	6.8	10.3	6.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
<i>Monhystrella pascuiflora</i>	1	1.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
<i>Mononchus adriaticus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Mononchus truncatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Panagrolaimus rigidus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Paraplectonema pedunculatum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Parascincolaimus macrolaimus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Pelodera cf. teres</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Plectus squarilis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Plectus parvus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Prismatolaimus intermedius</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Prodesmosora circulata</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Prodorylaimus rotundiceps</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Rhabditidae gen. sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Rhabditis sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Species 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Thornia propria</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Thornia ettersburgensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Tobrius gracilis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Tobrius sp.</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Brevitobrius stefanskilli</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Semiotobrius pellucidus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Trypae glomerans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Tylenchus spec.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Ulenchus spec.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	





## 8.4 A. 4 : Résultats du biotest *H. incongruens* de Soluval Santiago (S. Santiago)



**Soluval** Santiago

Analyses environnementales  
Ecotoxicologie

Couvet, le 02 janvier 2020

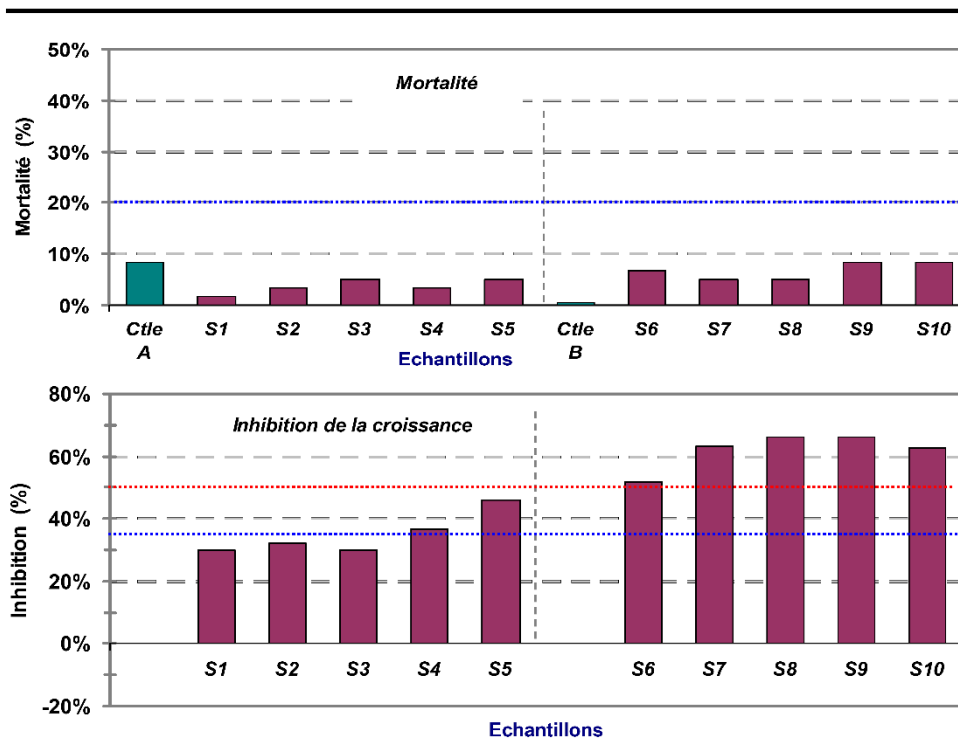
8853 – Valais Sédiments Stockalper Ostracodes\_2019

Campagne d'analyse de sédiments en Automne 2019 - Valais

### Ecotoxicité associée aux sédiments du Canal du Bras-Neuf et du Canal Stockalper d'après le test avec Ostracodes

Results des bioessais  
en Novembre 2019

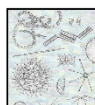
Pour : CENTRE ECOTOX  
LAUSANNE



Sergio Santiago



## Récapitulatif des résultats



### Soluval Santiago

Analyses environnementales


Rue Edouard-Dubied 2

CH - 2108 COUVET e-mail: ssantiago@bluewin.ch

Tél: 032 863 43 60

### Bioessais de toxicité

#### Récapitulatif des résultats

<b>Identification</b>		Origine : Valais ; Canal Bras-Neuf / Canal Stockalper		Destinataires : R. Beauvais		
Type d'échantillon : Sédiments bruts (< 2 mm)				Société : Centre Ecotox		
Prélèvements : <input checked="" type="checkbox"/> instantané <input type="checkbox"/> intégré				Adresse : 1015 Lausanne		
Dates : Fin Octobre / Novembre 2019				Plan d'analyse(s) : Ostracodes		
Effectués par : Centre Ecotox / R. Beauvais				(OstracodToxkit F)		
Echantillons n° : # S1 - S2 (18-11-2019)		# S6 - S9 (21-11-2019)		Dates de réception : 21 / 29 - 11 - 2019		
# S3 - S4 (01-11-2019)		# S7 - S8 (19-11-2019)		Enregistrement n° : 8853 - A / - B		
# S5 (31-10-2019)		# S10 (31-10-2019)		Responsable : S. Santiago		
Remarque :						
<b>Test Ostracodes</b>		Organisme : <i>Heterocypris incongruens</i> (Microbiotests Inc.)		Dates : 24-11 / 05-12-2019		
<b>Heterocypris incongruens</b>		microplaque (PS; 6 puits); 25 ±1°C; obscurité		Effectué par : SS		
(selon ISO 14371)		Dilution : milieu SMHW ; nour. <i>Algues</i> ( <i>Scenedesmus</i> spp.)		Contrôlé par :		
		Toxicité subléthale : inhibition de la croissance des ostracodes				
		Longueur moyenne par puits à 6 jours (µm)				
Echantillon	Sédiment	Mortalité à 6 jours	Puits (moyenne des survivants)		Moyenne	
					Ecart-type	
					Croissance (%)	
					Inhibition (%)	
<b>Contrôles témoins A</b>		5 / 60	691	810	715	
( = réf. Microbiotests) 24.11.2019		= 8,3 %	697	750	774	
Long. initiale moy. J <sub>0</sub> = 214.0 µm						
# S1	brut	1 / 60	590	594	566	10.4
	Canal des Îles (amont La Vièze)	= 1,7 %	575	587	585	= 1.8 %
# S2	brut	2 / 60	544	584	573	15.7
	Can. Bras-Neuf (amont eaux Tamoiil)	= 3,3 %	562	581	584	= 2.7 %
# S3	brut	3 / 60	596	592	589	14.1
	Can. Bras-Neuf (amont STEP Collombey)	= 5,0 %	580	572	558	= 2.4 %
# S4	brut	2 / 60	498	582	561	30.2
	Can. Bras-Neuf (aval STEP Collombey)	= 3,3 %	524	558	555	= 5.5 %
# S5	brut	3 / 60	541	554	493	50.8
	Can. Stockalper (amont Canal Bras-Neuf)	= 5,0 %	432	442	519	= 10.2 %
<b>Contrôles témoins B</b>		0 / 60	825	805	732	
( = réf. Microbiotests) 05.12.2019		= 0 %	820	805	807	
Long. initiale moy. J <sub>0</sub> = 212.6 µm						
# S6	brut	4 / 60	557	506	511	41.8
	Can. Stockalper (amont Fossé Talons)	= 6,7 %	505	449	448	= 8.4 %
# S7	brut	3 / 60	432	433	417	16.3
	Can. Stockalper (amont STEP Vionnaz)	= 5,0 %	456	410	422	= 3.8 %
# S8	brut	3 / 60	421	412	417	12.9
	Can. Stockalper (amont confit. Avançon)	= 5,0 %	424	393	398	= 3.1 %
# S9	brut	5 / 60	422	418	414	12.5
	Can. Stockalper (Porte du Scex)	= 8,3 %	387	409	416	= 3.0 %
# S10	brut	5 / 60	428	421	419	11.1
	Can. Stockalper (amont STEP Port-Valais)	= 8,3 %	444	431	445	= 2.6 %
Remarques :						
<b>Conclusions - Commentaires</b>			Essai valide <input checked="" type="checkbox"/> oui - <input type="checkbox"/> non			
Mortalité Sédiments		Inhibition de la croissance		Contrôles (sédiment de référence) :		
≤ 10% : # S1 ; S2 ; S3 ; S4 ; S5		≤ 20% : -		Mortalité < 20% <input checked="" type="checkbox"/>		
# S6 ; S7 ; S8 ; S9 ; S10		21% - 35% : # S1 ; S2 ; S3		Coefficient de croissance ≥ 1,5 <input checked="" type="checkbox"/>		
11% - 20% : -		36% - 50% : # S4 ; S5				
21% - 30% : -		> 50% : # S6 ; S7 ; S8 ; S9 ; S10				
> 30% : -						
			 Couvet, 02-01-2020 p. 2 / 4			



Annexe - Série A

**Test Ostracodes - OstracodToxkit F** Origine : VS Canal Stockalper Echantillons : S1 / S5 Enregistrement n° : 8853-A Effectué par : SS  
**Heterocypris incongruens** Type d'échantillon : Sédiment Date : 30-10/18.11.2019 Début de l'essai : 21.11.2019 Remarques : x = mort  
 Longueurs à 6 jours [en µm] oo = vivant, non mesurable

Répl.	Contrôle (sédiment de référence)						Séd. S1						Séd. S2						Séd. S5					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	651.0	845.8	726.7	811.5	823.1	628.3	808.1	555.5	580.7	594.3	582.9	594.6	552.2	620.8	577.5	599.4	594.3	589.2	543.7	597.8	433.4	428.5	408.2	466.1
2	636.5	839.6	786.6	614.4	832.2	843.2	594.0	602.8	600.4	571.6	610.8	605.4	429.6	614.0	601.3	596.3	552.5	597.2	416.3	555.7	538.7	423.7	411.9	252.7
3	658.5	829.1	784.6	863.6	627.9	814.2	597.2	619.7	592.4	602.1	584.0	591.6	455.2	598.0	589.3	586.2	574.7	586.9	431.5	442.1	418.3	422.6	434.5	570.1
4	818.1	817.9	597.2	625.5	831.3	787.1	595.0	615.0	562.7	601.8	574.6	553.8	602.3	592.4	442.0	586.8	587.3	583.5	590.0	575.9	590.0	540.9	438.6	576.6
5	642.2	820.3	807.8	831.6	486.5	796.5	585.2	604.4	586.0	602.4	573.6	591.2	613.8	533.7	588.6	595.6	581.6	596.5	646.7	576.7	579.1	390.2	433.6	546.7
6	645.3	832.4	806.0	811.1	840.7	817.4	605.8	597.5	596.1	601.3	588.8	583.2	418.5	606.1	585.8	341.6	560.6	577.8	oo	552.1	581.9	428.1	500.0	566.2
7	654.7	823.6	494.0	819.6	828.2	829.2	598.0	598.1	566.5	431.5	594.6	569.4	619.0	605.2	607.1	594.6	584.9	592.4	oo	548.7	412.3	460.6	413.2	568.9
8	823.6	824.5	625.5	626.3	oo	619.2	562.9	600.3	587.2	568.1	600.5	589.4	590.3	583.2	580.2	570.1	602.1	559.9	oo	567.9	542.2	406.3	431.7	592.5
9	oo	626.1	808.2	866.1	x	813.2	588.0	579.3	620.8	597.1	580.7	582.5	540.6	579.2	583.4	589.1	581.5	573.7	oo	555.8	433.0	380.3	x	x
10	x	842.0	x	x	x	790.2	597.2	574.3	333.9	579.4	579.8	x	618.6	603.6	x	x	584.9	578.1	oo	oo	oo	oo	oo	oo
<b>Mortalité (%)</b>						5 / 60 = 8.3%	1 / 60 = 1.7%	2 / 60 = 3.3%							2 / 60 = 3.3%									

Longueur moyenne, par puits	691.2	810.1	715.2	696.6	750.0	773.5	590.1	593.7	565.9	575.0	587.0	584.6	544.0	583.6	572.8	562.4	581.4	583.5
Longueur moyenne (lous puits)	739.5 ± 46.9 6.3%						582.7 ± 10.4 1.8%						571.3 ± 15.7 2.7%					
Croissance moyenne, par puits	477.3	596.1	501.2	482.7	536.0	559.6	376.1	379.7	361.9	361.0	373.0	370.6	330.0	369.6	368.8	348.4	367.4	369.5
Croissance moyenne (lous puits)	525.5 ± 46.9						368.7 ± 10.4						357.3 ± 15.7					
Croissance / Inhibition moy. (%)	100%						70.2%						32.0%					

Répl.	Séd. S3						Séd. S4						Séd. S5							
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6		
1	588.1	584.5	590.1	574.2	573.2	576.1	562.3	568.6	456.5	576.6	578.2	546.9	543.7	597.8	433.4	428.5	408.2	466.1		
2	595.6	606.8	572.8	593.8	585.8	568.7	446.7	567.8	559.9	578.1	589.9	585.0	416.3	555.7	538.7	423.7	411.9	252.7		
3	613.7	607.6	582.6	597.0	593.1	579.2	419.2	573.8	563.8	581.2	580.9	448.1	431.5	442.1	418.3	422.6	434.5	570.1		
4	607.4	586.0	593.3	572.9	576.6	588.8	551.5	590.9	583.2	620.1	579.4	533.4	590.0	575.9	590.0	540.9	438.6	576.6		
5	570.3	570.7	598.4	565.6	456.1	356.7	578.7	586.6	582.3	557.4	588.2	591.6	626.3	571.4	444.7	440.8	510.4	545.4		
6	607.5	594.8	603.0	593.0	599.3	601.3	435.4	602.2	595.7	581.7	585.0	572.7	646.7	576.7	579.1	390.2	433.6	546.7		
7	571.0	597.5	594.1	581.5	590.9	583.4	539.5	576.5	573.5	576.0	299.2	578.4	oo	552.1	581.9	428.1	500.0	566.2		
8	595.6	593.7	584.5	555.3	581.4	592.0	436.0	591.0	564.1	49.0	578.1	566.9	oo	548.7	412.3	460.6	413.2	568.9		
9	611.1	579.4	586.3	582.8	591.5	578.3	441.6	589.6	oo	561.2	600.1	571.9	oo	567.9	542.2	406.3	431.7	592.5		
10	x	586.0	x	575.3	574.7	x	585.7	x	x	560.0	584.8	oo	x	555.8	433.0	380.3	x	x		
<b>Mortalité (%)</b>						3 / 60 = 5.0%	2 / 60 = 3.3%							3 / 60 = 5.0%						

Longueur moyenne, par puits	595.6	591.7	589.4	579.5	572.3	558.3	497.7	581.9	561.1	524.1	558.4	554.8	540.7	554.4	493.4	432.2	442.4	519.5
Longueur moyenne (lous puits)	581.1 ± 14.1 2.4%						546.3 ± 30.2 5.5%						497.1 ± 50.8 10.2%					
Croissance moyenne, par puits	381.6	377.7	375.5	365.5	358.3	344.3	283.7	367.9	347.1	310.1	344.4	340.8	326.8	340.4	279.4	218.2	228.5	306.5
Croissance moyenne (lous puits)	367.1 ± 14.1						332.3 ± 30.2						283.1 ± 50.8					
Croissance / Inhibition moy. (%)	69.5%						30.1%						36.8%					

Contrôles : facteur croissance = 2.46  
 Critères de validité pour sédiment de référence :  
 Mortalité ≤ 20%   
 Facteur croissance > 1.5   
 Sédiments  
 Inhibition de la croissance (%)  
 Inhibition ≤ 20%   
 21% ≤ Inhibition ≤ 35%   
 36% ≤ Inhibition ≤ 50%   
 Inhibition ≥ 50%   
 Couvet, 11-12-2019  
 S. Santiago



Annexe - Série B

**Test Ostracodes - OstracodToxkit F** Origine : VS Canal Stockalper Echantillons : S6 / S10 Enregistrement n° : 8853-B Effectué par : SS  
**Heterocypris incongruens** Type d'échantillon : Sédiment Date : 31-10/21-11.2018 Début de l'essai : 05.12.2019 Remarques : x = mort  
 Heterocypris à 6 jours (en µm) oo = vivant, non mesurable

Répl.	Contrôle (sédiment de référence)						Séd. S6 Amont Fosse Talons						Séd. S7 Amont STEP Viornaz										
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6					
1	826.8	764.9	770.7	834.7	831.3	794.8	431.5	548.9	588.3	583.3	424.1	414.5	441.3	436.5	443.1	414.8	386.9	444.6					
2	815.5	788.3	822.6	804.6	831.3	829.7	560.4	555.7	584.1	573.3	413.9	550.3	390.8	451.7	414.5	583.7	427.8	399.6					
3	830.8	789.7	807.9	826.6	805.6	831.0	571.9	573.3	544.1	585.3	454.9	410.5	423.5	435.2	427.0	419.6	394.3	401.8					
4	839.7	824.5	806.9	831.1	827.7	827.3	580.9	439.4	426.3	457.3	430.0	424.1	426.0	434.0	426.2	544.9	395.6	424.9					
5	827.0	794.3	610.6	812.9	810.4	768.1	558.2	440.1	427.9	415.8	424.9	412.7	446.9	424.4	413.2	421.1	403.5	417.0					
6	843.5	822.9	831.2	837.1	730.9	830.4	570.5	560.6	494.1	552.1	403.2	498.7	437.1	446.2	357.8	419.7	413.5	424.2					
7	818.0	816.9	834.8	812.6	800.0	807.9	586.1	597.0	537.3	435.8	423.4	439.4	424.5	431.9	418.5	431.9	435.9	424.1					
8	819.2	805.2	831.2	813.3	797.9	757.2	587.6	425.4	598.7	386.1	512.8	430.6	464.4	419.5	425.1	415.8	420.8	422.5					
9	828.9	821.5	796.2	807.3	811.8	820.4	569.0	516.7	437.9	543.7	550.6	x	oo	419.5	426.8	x	412.5	438.3					
10	799.9	824.4	803.9	815.0	oo	oo	oo	399.8	oo	x	x	x	x	435.1	416.1	x	412.8	oo					
Mortalité (%)						0 / 60 = 0%	4 / 60 = 6.7%						3 / 60 = 5.0%										
Longueur moyenne, par puits						824.9	805.3	731.6	819.5	805.2	807.4	557.3	505.7	511.0	504.7	448.6	447.7	431.8	463.4	416.8	456.4	410.3	421.9
Longueur moyenne (tous puits)						799.0 ± 34.0 4.3%						495.8 ± 41.8 8.4%						428.4 ± 16.3 3.8%					
Croissance moyenne, par puits						612.3	582.7	519.0	606.9	592.6	594.8	344.8	283.1	298.4	282.1	236.0	235.1	219.2	220.8	204.2	243.8	197.8	209.3
Croissance moyenne (tous puits)						586.4 ± 34.0						283.3 ± 41.8						215.9 ± 16.3					
Croissance / Inhibition moy. (%)						100% (Facteur croissance = 2.8)						44.3%						34.3%					

Répl.	Séd. S8 Amont conf. Avauçon						Séd. S9 C. Stockalper/Porte du Soex						Séd. S10 Amont STEP Port-Valais										
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6					
1	422.9	404.3	439.2	430.8	403.7	390.2	414.2	422.5	402.2	394.8	417.7	412.8	433.9	430.2	435.8	415.3	493.5	398.8					
2	412.1	417.1	422.8	426.4	331.5	369.4	428.0	424.2	389.4	390.4	387.5	420.1	437.6	406.1	417.4	437.7	408.8	426.0					
3	431.9	417.4	408.4	406.6	395.1	410.6	417.2	420.6	410.3	416.2	411.7	446.4	425.1	429.6	436.8	418.8	400.8	520.8					
4	424.2	425.0	425.3	445.7	399.2	362.3	422.9	417.1	413.5	300.5	423.4	434.8	436.1	435.6	419.7	428.4	430.7	412.4					
5	432.0	402.9	326.1	425.8	415.7	396.2	433.6	407.9	427.8	408.3	397.1	386.0	439.7	421.4	411.8	424.7	508.7	421.0					
6	391.0	425.8	435.6	439.3	403.8	434.9	422.4	407.4	431.3	388.6	409.2	407.7	428.1	407.6	411.0	441.6	404.8	551.1					
7	441.7	386.5	429.9	395.5	331.0	406.5	440.3	415.4	437.3	324.3	427.2	418.3	417.9	426.2	421.6	435.9	407.7	428.9					
8	408.2	413.6	429.7	424.2	395.0	396.6	419.8	431.3	399.4	426.4	411.1	401.9	418.1	428.1	407.2	450.9	393.3	427.2					
9	428.3	406.7	434.4	x	427.6	408.8	401.7	414.4	x	411.2	395.8	408.1	418.3	404.1	394.5	431.0	x	418.6					
10	420.3	414.5	oo	x	423.6	x	x	415.8	x	410.5	x	x	x	x	437.9	557.7	x	x					
Mortalité (%)						3 / 60 = 5.0%	5 / 60 = 8.3%						5 / 60 = 8.3%										
Longueur moyenne, par puits						421.3	412.4	416.8	424.3	392.6	397.7	422.2	417.7	413.9	387.1	409.0	416.3	428.3	421.0	419.4	444.2	431.0	445.0
Longueur moyenne (tous puits)						410.8 ± 12.9 3.1%						411.0 ± 12.5 3.0%						431.5 ± 11.1 2.6%					
Croissance moyenne, par puits						208.7	199.8	204.2	211.7	180.0	185.1	209.6	205.1	201.3	174.5	196.4	203.7	215.7	208.4	206.8	231.6	218.4	232.4
Croissance moyenne (tous puits)						198.3 ± 12.9						198.4 ± 12.5						218.9 ± 11.1					
Croissance / Inhibition moy. (%)						31.5%						31.5%						31.5%					

Contrôles : facteur croissance = 2.76

**Critères de validité pour sédiment de référence :**  
 Mortalité ≤ 20%   
 Facteur croissance > 1,5

**Sédiments**  
 Inhibition de la croissance (%)  
 Inhibition ≤ 20%   
 21% ≤ Inhibition ≤ 35%   
 36% ≤ Inhibition ≤ 50%   
 Inhibition ≥ 50%

Couvet, 24-12-2019  
 S. Santiago

*Seelys*  
**Draft**