

CONTAMINATION DU PEUPELEMENT DE POISSONS D'UN ÉTANG
DE LA RÉSERVE NATURELLE NATIONALE DE CAMARGUE,
LE VACCARÈS, PAR DES POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS

Hélène ROCHE¹, Astrid BUET¹, Abiba TIDOU² & François RAMADE¹

SUMMARY

This paper reports the major results from researches carried out in order to assess the overall contamination by the persistent organic pollutants of some dominant species of the fish community from a protected coastal wetland, the NNR of Camargue and their possible ecotoxicological effects. Levels of organochlorine compounds (OC) especially pesticide residues (lindane, dieldrin, hexachlorobenzene and *p,p'*-DDE), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and polychlorobiphenyls (PCB) were analyzed in organs (muscle, liver, and/or bile) of fishes, collected during 4 years (1997 to 2000) from the Vaccarès Lagoon, a brackish waters habitat, in the French National Nature Reserve of Camargue. European eels (*Anguilla anguilla*), crucian carps (*Carassius auratus*), catfish — black bullheads — (*Ictalurus melas*) and sanders (*Stizostedion luscioperca*) were sampled in three coastal locations, in order to compare the geographical and temporal distribution of their contamination by this persistent organic pollutants. The PAH and OC contamination proved to be widespread and very fluctuating whatever the sampling site or the season. They reached in the average, especially for OC, a surprising high level for sample from a protected area largely exceeding, quite frequently, the ppm per dry weight. The large predators (eels and sanders) indeed were the most contaminated. The PCB reached the highest concentration into eels especially in fishes sampled in springtime. The lindane load, which culminated prior to July 1998 when its use was banned in France, has decreased since this time though it leveled at rates similar to the DDT one's and remains presently still significant. At the opposite, liver and muscle concentrations of dieldrin and HCB have unexpectedly showed a trend to the increase since 1999. The inter-site variations are significant for the whole site sampled regarding the OC contamination. On the contrary, the levels of contamination are quite stable regarding the PCB and PAH what support the hypothesis of an atmospheric transfer to aquatic biotas as well as from water flowing into irrigation canals. The tissular distribution of contaminant showed a shift during the 4 years when our research was carried out. The overall biological load has decreased in the liver and the gall from 1997 to 2000. The naphtalene was the most abundant from 1996 to 1998 but after 1999 their average content in fishes decreases and the concentration of molecules with 3 to 4 benzene cycles (acenaphtylene, phenanthrene, fluoranthene) and the benzo-fluoranthenes prevail. At the opposite the benzo(a)pyrene stayed at low concentrations all over our study.

¹ Écologie et Zoologie, CNRS UPRESA 8079 Écologie, Systématique et Évolution, Bât. 442, Université Paris-Sud XI, F 91405 Orsay cedex – E-mail : helene.roche@ibaic.u-psud.fr

² Laboratoire d'hydrobiologie, Faculté des Sciences et Techniques, BP 322, Abidjan, Côte d'Ivoire.

RÉSUMÉ

Un important programme de recherches écotoxicologiques a été entrepris en 1996 dans la réserve naturelle nationale de Camargue afin de déterminer l'importance de la contamination de ses réseaux trophiques aquatiques par les principaux polluants organiques persistants et de déterminer quelles en sont les conséquences pour le peuplements de poissons qui y vivent. Le présent article a pour objet de décrire les résultats obtenus relativement à la détermination de la charge tissulaire (foie, muscle et/ou bile) en polluants organiques persistants (POP) : pesticides organochlorés (OC) (lindane, dieldrine, hexachlorobenzène et *pp'*-DDE), hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et polychlorobiphényles (PCB) chez des poissons collectés entre 1997 et 2000 au niveau de trois stations sises dans la zone riparienne de l'étang du Vaccarès. La finalité de ces recherches a été d'apprécier l'évolution saisonnière et les variations inter-sites de la contamination chez des anguilles européennes (*Anguilla anguilla*), des carassins (*Carassius auratus*), des poissons-chats — barbottes noires — (*Ictalurus melas*) et des sandres (*Stizostedion luscio-perca*). La contamination en HAP et en OC est systématique et très fluctuante, quels que soient l'espèce, le lieu de prélèvement ou la saison. Ce fait est surprenant pour des échantillons biologiques provenant d'une aire protégée. En effet, les concentrations en ces polluants, plus particulièrement en OC se sont avérées anormalement fortes, excédant en règle générale la ppm rapportée au poids sec, voire la dizaine de ppm pour certains échantillons. Les super-prédateurs (anguilles et sandres) se sont montrés, en toute logique, les espèces les plus contaminées. Les concentrations les plus fortes en OC dans les tissus des anguilles sont atteintes par les PCB, en particulier chez les individus capturés à la fin du printemps. La charge en lindane, très élevée avant son interdiction (juillet 1998), diminue dès 1999 pour atteindre un taux proche de celui du *pp'*-DDE, lui-même assez significatif. Les concentrations hépatiques et musculaires en dieldrine et en hexachlorobenzène ont tendance à augmenter au cours de l'année 2000. Les variations inter-sites s'observent pour l'ensemble des pesticides organochlorés, mais elles sont rares pour les PCB et les HAP corroborant que l'apport des pesticides se fait de façon prédominante par les eaux d'irrigation des zones agricoles voisines, tandis que l'apport des HAP et PCB emprunte essentiellement la voie atmosphérique. Les profils d'imprégnation tissulaire des anguilles par les HAP évoluent au cours des 4 années expérimentales. L'imprégnation générale régresse dans la bile et le foie de 1997 à 2000. Entre 1996 et 1998 le naphthalène était prédominant mais dès 1999, sa concentration diminue nettement et les HAP les plus fréquemment détectés sont alors des molécules à 3 ou 4 cycles benzéniques (l'acénaphthylène, le phénanthrène, le fluoranthène) et les benzo-fluoranthènes. En revanche le benzo(a)pyrène demeure peu concentré.

INTRODUCTION

L'évaluation de l'impact des xénobiotiques sur les communautés propres à un biotope donné et la prévention des effets qui en résultent pour les populations naturelles exposées constituent une des finalités majeures de l'écotoxicologie. Les polluants n'agissent pas seulement sur des populations d'espèces « pollusensibles » mais sur les écosystèmes pris dans leur intégralité. De sorte que les modifications induites dans l'abondance des espèces constituant les communautés peuvent induire des perturbations dans le fonctionnement même des écosystèmes, altérant des processus écologiques aussi fondamentaux que la productivité ou le cycle des éléments. La Réserve Naturelle Nationale de Camargue (RNNC) par sa situation géographique, et par la nature même des divers types de biotopes deltaïques, est fréquemment exposée à des perturbations d'origine naturelle, de caractère aléatoire, liées en particulier à la climatologie. En outre, bien qu'*a priori* protégée par un statut international très strict — celui des réserves Naturelles de catégorie I, telles qu'elles ont été définies par l'UICN pour les Nations-Unies — elle n'est pas exempte de perturbations inadvertantes voire intentionnelles liées aux activités

humaines (aménagement de digues, de canaux, de pertuis, pression cynégétique excessive et agriculture intensive, en particulier riziculture), qui s'exercent à sa périphérie. Depuis 1945, la riziculture s'est rapidement développée sur le pourtour de la Réserve. Cette activité agricole nécessite de gros volumes d'eau d'irrigation dont les rejets sont chargés de divers produits chimiques d'usage agricole (engrais et pesticides) puis se déversent dans les étangs de la Réserve. A cette contamination incontrôlée, s'ajoutent des apports locaux liés à des dérives de brouillards de traitements pesticides effectués dans les zones riveraines ainsi que des apports d'hydrocarbures dus à une pollution atmosphérique diffuse. Ces derniers résultent surtout du transfert de masses d'air polluées par un vent de sud-est qui balaye fréquemment la région, rabattant sur la Camargue les émissions d'aéropolluants du complexe pétrochimique de Fos-sur-mer et de l'agglomération marseillaise (Ramade, 1993, 1997).

Le mélange complexe de micropolluants organiques qui affecte la Réserve est surtout constitué de substances lipophiles susceptibles d'être concentrées dans les tissus des êtres vivants. Il s'agit de pesticides organochlorés (OC) et de polychlorobiphényles (PCB). Les premiers fournissent d'appréciables produits insecticides, dont l'efficacité résulte de leur forte rémanence, elle-même due à leur remarquable stabilité chimique (Ramade, 1977 ; Ramade & Thybaud, 1985). Utilisés à l'échelle mondiale, ils ont été abondamment dispersés dans l'environnement. Les OC sont considérés comme des polluants ubiquistes dont la présence est signalée dans des régions indemnes de toute activité industrielle comme le Groenland ou l'Antarctique (Peterle, 1969 ; Subramanian *et al.*, 1983 ; Paasirvita, 1988 ; De Voogt, 1996).

Les écosystèmes aquatiques figurent parmi les plus atteints par ces substances et notamment les sédiments, qui constituent un lieu privilégié d'accumulation. En ce qui concerne les écosystèmes littoraux, deltaïques ou estuariens, une pollution d'origine tellurique vient s'ajouter à une contamination directe et/ou d'origine atmosphérique par l'intermédiaire des eaux de ruissellement et de lessivage (Ramade, 1997). Ce phénomène, couplé aux processus de sédimentation qui surviennent dans ces milieux, contribue à faire de ces zones les sites les plus chargés en OC. Du fait de leur stabilité chimique, ces composés halogénés se dégradent très lentement. Leur grande liposolubilité, caractérisée par un LogK_{ow} souvent supérieur à 5, leur confère une forte prédisposition à la bioaccumulation et à la bioamplification (Walker, 1990 ; Kimbrough, 1987). Leur rétention dans les tissus graisseux implique un tropisme et en particulier une grande toxicité neurologique. Par ailleurs, ce sont de puissants inducteurs des enzymes microsomaux hépatiques.

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des contaminants abondants et préoccupants pour l'environnement et la santé humaine. Seize d'entre eux figurent dans la liste des polluants prioritaires pour l'Agence de Protection de l'Environnement Américaine (EPA), la plupart étant des agents cancérogènes avérés ou supposés. L'émission de HAP dans l'environnement a une origine à la fois naturelle et biogénique, biosynthèse directe par les plantes et les micro-organismes, mais surtout abiotique et anthropique. Ils proviennent alors essentiellement de la pyrolyse de la matière organique à haute température et des processus de combustion incomplète de combustibles fossiles (fuel, charbon, pétrole...). Les raffineries de pétrole constituent une importante cause d'émission d'HAP dans l'environnement, laquelle s'est aussi accrue au cours des toutes dernières décennies avec l'augmentation de l'activité industrielle, ainsi qu'avec la

« diésélisation » du parc automobile et l'accroissement considérable du transport routier du fret lequel a quadruplé depuis le choc pétrolier de 1973 (Ramade, 1997). En outre, ces composés possèdent un caractère ubiquiste, étant largement rémanents et stables dans le milieu naturel. Leur toxicité a été confirmée à tous les niveaux d'intégration biologique, depuis les macromolécules (ADN) jusqu'aux populations et aux communautés. D'autre part, la liposolubilité des HAP procure à ces molécules une grande capacité d'accumulation au travers des membranes biologiques.

Les études toxicologiques sur les polluants organiques persistants (POP) se sont largement développées depuis plusieurs années. Il ressort que l'élimination directe de ces substances étant rare, elles peuvent subir au sein de l'organisme un processus de métabolisation qui conduit à les rendre plus facilement excrétables. Les réactions de biotransformation mises en jeu consistent en des oxydations, des réductions ou des substitutions électrophiles catalysées par les monooxygénases cytochrome P450-dépendantes, suivies d'une phase de conjugaison par l'action de transférases. Certains métabolites électrophiles produits au cours de ces réactions ont la capacité de se lier de façon covalente aux sites nucléophiles des macromolécules (ADN, ARN, protéines), conduisant à la formation d'adduits lesquels sont responsables de dysfonctionnements cellulaires et de génotoxicité (Keith & Dirheimer, 1995). Outre les effets cancérigènes, on attribue notamment aux HAP des effets immunodépresseurs, la responsabilité de lésions hépatiques, des perturbations de l'homéostasie, des effets hématologiques, des altérations de la reproduction, etc. (Tuvikene, 1995).

Un programme de biomonitoring, basé sur l'exposition des organismes aquatiques aux polluants, a été élaboré dans l'étang de Vaccarès. Il a pour mission de déterminer le degré d'imprégnation des réseaux trophiques aquatiques de la Réserve Naturelle Nationale de Camargue par des composés OC et les HAP. Cette évaluation écotoxicologique, initiée en 1996, est encore en cours de réalisation. Elle a concerné dans les premières années quatre espèces de poissons (anguille, carassin, poisson-chat et sandre) et la poursuite de ce programme est consacrée à l'anguille depuis 1999.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

LES ESPÈCES

Le peuplement ichtyologique de la Réserve de Camargue comporte une vingtaine d'espèces de poissons qui se rencontrent pour la plupart dans le Vaccarès, principal site de nos recherches.

Nous avons retenu quatre espèces dominantes situées à divers niveaux trophiques : l'anguille (*Anguilla anguilla*), espèce traditionnelle de la faune aquatique camarguaise, qui est un prédateur, typiquement euryhalin et migrateur ; un poisson-chat (*Ictalurus melas*), poisson sédentaire et sédimentaire, carnivore et vorace ; le carassin (*Carassius auratus gibelio*) un cyprinidé préférentiellement herbivore. Ce dernier, essentiellement dulçaquicole, supporte des taux d'oxygénation réduits. En raison d'une chute de sa population due à l'augmentation de la salinité des étangs, son échantillonnage a été abandonné au cours de nos

investigations qui se sont étalées sur les 4 dernières années. Par la suite une autre espèce, le sandre (*Stizostedion luscioperca*) a été sélectionnée, car c'est un superprédateur situé au sommet de la pyramide trophique dans les étangs de Camargue. Il est pourvu en outre d'un tissu adipeux périviscéral abondant et bien différencié.

La capture des poissons est réalisée dans des pêcheries au moyen de filets statiques munis de nasses relevées périodiquement. Les poissons prélevés sont disséqués sur place puis congelés et maintenus à -40°C dans l'attente des analyses.

LES SITES ET DATES DE PRÉLÈVEMENTS

Trois sites de prélèvements ont été choisis dans l'Etang de Vaccarès (Fig. 1) — à l'embouchure du Canal de Fumemorte, à la pointe de Mornès et — au niveau du site dit de La Capelière.

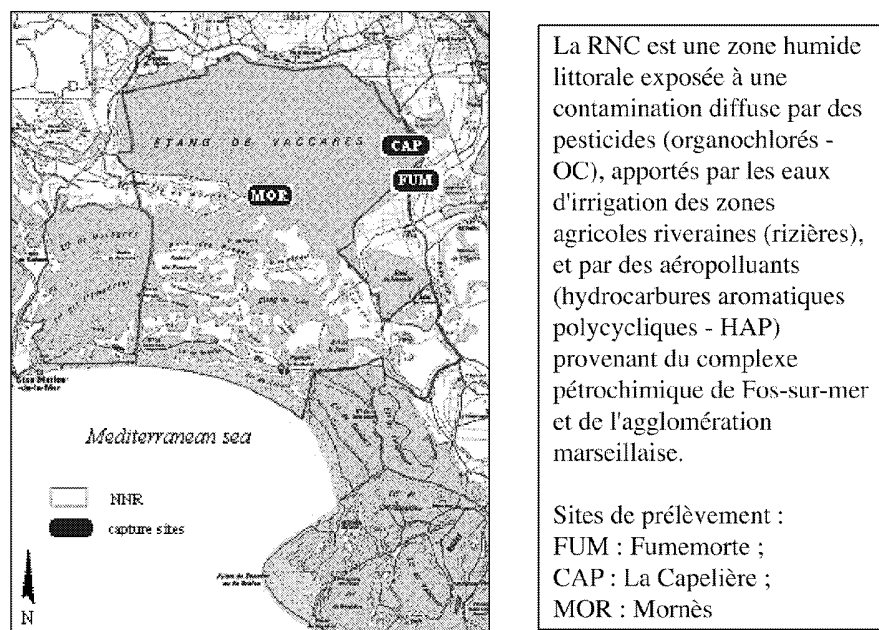


Figure 1. — La Réserve Naturelle Nationale de Camargue (France).

La RNNC représente un site-modèle pour le monitoring des polluants dans l'environnement et pour l'étude des effets à long terme d'une contamination chronique par des polluants organiques persistants en particulier chez les poissons. De façon beaucoup plus générale, elle constitue une référence internationale pour la surveillance écologique permanente, en particulier pour l'étude de la structure des biocénoses propres aux sansouïres camarguaises en application des directives européennes sur la conservation et l'utilisation durable des écosystèmes considérés

en danger. Plusieurs campagnes de prélèvements ont été organisées dans l'étang de Vaccarès, entre mai 1996 et juin 1997. Les premières investigations ont concerné 53 anguilles, 31 carassins, et 32 poissons-chats ; au cours de l'année 1998, 12 anguilles et 7 sandres ont été analysés et, en 1999, l'effectif était constitué de 68 anguilles.

LES MICROCONTAMINANTS

Les organochlorés

Les composés organochlorés (OC) analysés sont le lindane (γ HCH), la dieldrine, le *pp'*-DDE, l'hexachlorobenzène (HCB) et un groupe de 22 congénères parmi les 209 des polychlorobiphényles (PCBs).

Le lindane (γ -hexachloro-1,2,3,4,5,6, cyclohexane ou encore γ HCH) a été le dernier insecticide OC utilisé en France, son interdiction datant du 1^{er} juillet 1998. Ce composé neurotrope est pourvu de propriétés biocides très étendues, dont le mécanisme d'action est basé sur la perturbation de la conduction axonique. Comme la plupart des OC à propriétés insecticides, excepté le DDT et ses dérivés, le mode d'action du lindane consiste en une inhibition du canal ionique associé au neurotransmetteur GABA (acide γ -amino butyrique), induisant une hyperexcitation incontrôlée du système nerveux. Comptant parmi les plus puissants insecticides jamais découverts, le lindane est 5 à 10 fois plus toxique et plus volatil que le DDT mais relativement biodégradable et rapidement éliminé des compartiments lipidiques tissulaires. La dieldrine est un dérivé chloré du cyclopentadiène qui présente une grande toxicité. Son utilisation en agriculture a été interdite en France depuis le 2 octobre 1972, mais elle fut importante durant de longues années. Son mode d'action au niveau du système nerveux est semblable à celui du lindane, mais on constate, en cas d'intoxication chronique, une atteinte des fonctions hépatiques et rénales. Le *pp'*-DDE [1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophényl)éthylène] est le métabolite principal du DDT [1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorophényl)éthane], qui fut le premier pesticide OC utilisé (Walker, 1990). Comme la plupart des autres insecticides organochlorés, il est interdit dans les pays industrialisés selon le cas depuis la fin des années 60 ou le début des années 1970 (1973 en France), mais sa production perdure dans d'autres régions du globe et il continue à faire l'objet d'analyses dans les produits alimentaires, en raison d'une rémanence supérieure à celle du lindane. Le DDT agit comme agent perturbant de la conduction de l'influx nerveux en bloquant au niveau des neurones les canaux sodium potentiel-dépendants. L'HCB (hexachlorobenzène) est également une molécule biocide qui fut longtemps utilisée pour ses propriétés fongicides. Il n'est plus autorisé à la vente depuis plusieurs décennies. Son utilisation agricole, notamment pour l'enrobage des semences et la préservation du bois ainsi que sa formation lors de nombreux processus de synthèse des solvants chlorés (le tétrachlorure de carbone par exemple), en font l'un des OC les plus répandus dans l'environnement (Courtney, 1979). Sa solubilité dans l'eau est faible, mais il est facilement bioaccumulé en raison d'une grande liposolubilité. On lui reconnaît des capacités d'induction des enzymes de métabolisation des xénobiotiques, dont certaines monoxygénases à cytochrome P450 et des enzymes de conjugaison (GST et UDPGT). La famille des PCB ($C_{12}H_{10-n}Cl_n$) comporte 209 isomères (congénères) théoriques selon le nombre et la localisation des atomes de chlore.

Leur rémanence augmente avec le degré d'halogénéation. Possédant de remarquables propriétés physico-chimiques (isolation, ignifugation et thermostabilité), ils ont été largement utilisés jusque dans les années 1970 aussi bien en « systèmes fermés » (transformateurs par exemple) qu'en « systèmes ouverts » (notamment comme lubrifiants) (Ramade, 1997, 2000).

TABLEAU I

Conditions chromatographiques pour l'analyse des OC

Chromatographes	Autosystem XL Perkin Elmer (PE) et Varian 3400 (V)
Détecteur	Capture d'électrons. Source ^{63}Ni
Colonne capillaire PE5 (Perkin Elmer)	Longueur : 30 m Diamètre interne : 0,25 mm Phase stationnaire : 5 % phényl/95 % méthylpolysiloxane (0,25 μm)
Gaz vecteur	Azote N60 2 mL/min (PE) Argon/Méthane (90/10) 2 ml/min (V)
Intégrateur	PE Nelson 1022 (PE) Varian 4400 Integrator (V)
Température du four	PCBs, HCB, pp'-DDE (PE). 180 °C (5 min) 10 °C/min → 205 °C (55 min) 40 °C/min → 250 °C (3 min) (V). 180 °C (10 min) 20 °C/min → 205 °C (55 min) 30 °C/min → 240 °C (3 min) Lindane, dieldrine 200 °C (10 min) 10 °C/min → 220 °C (20 min) 40 °C/min → 250 °C (3 min)
Température de l'injecteur	280 °C (PE) 250 °C (V)
Température du détecteur	350 °C

L'extraction des OC est pratiquée sur les lipides musculaires et hépatiques (Folch *et al.*, 1957). Ils sont ensuite purifiés par élution sur colonne de florasil avec de l'hexane pour l'intégralité des PCB, l'HCB et le pp'-DDE et un mélange hexane-diéthyle oxyde (95 : 5, v/v) pour le lindane et la dieldrine. Après évaporation à sec sous vide, les échantillons sont repris dans 0,2 à 1 ml d'hexane.

Les substances organochlorées sont identifiées et quantifiées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) équipée d'un détecteur à capture d'électrons (ECD). Les références de PCB sont les mélanges industriels Aroclor 1242, Aroclor 1254 et Aroclor 1260 qui comprennent en masse \approx 54 % de chlore.

Ils se composent majoritairement de penta- et d'hexachlorobiphényles qui sont les plus sujets à la bioaccumulation, la solution étalon contient 3 ng/μl. Des solutions d'étalons de pesticides : lindane (γHCH), dieldrine, HCB et *pp'*-DDE (Sigma) sont préparés à la concentration de 0,5 : 0,5 ; 0,125 ; 0,2 ng/μl d'hexane (Prolabo-qualité pestipur) respectivement. L'étalonnage externe est réalisé avec deux solutions de référence : HCB/*pp'*-DDE/PCB (Aroclor 1242, 1254, 1260 ; contenant entre autres 22 congénères : 18, 31, 44, 47, 49, 52, 66, 101, 105, 110, 118, 119, 138, 151, 153, 156, 170, 180, 194, 195, 199, 209) d'une part, et lindane/dieldrine d'autre part, le minimum de détection est de 0,05 ng par injection. Les conditions chromatographiques sont présentées dans le tableau 1. Deux chromatographes ont été utilisés en parallèle.

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Dans l'environnement, les HAP sont généralement présents sous forme de mélanges complexes dont la composition varie selon l'origine (Law & Biscayat, 1994). La contamination du milieu aquatique se fait essentiellement par voie atmosphérique et par drainage et lessivage des sols, les risques s'intensifiant après de fortes précipitations (Ollivon *et al.*, 1993 ; Law & Biscayat, 1994). La volatilité et l'hydrosolubilité des HAP sont faibles, néanmoins, leur émission dans l'atmosphère est facilitée par les rejets de particules carbonées par des chaufferies au charbon ou au fuel et avec les fumées noires des moteurs diesel. En milieu aqueux, ils sont adsorbés sur les particules organiques et inorganiques qui se concentrent dans les sédiments où, stabilisés, ils représentent une source latente de pollution (Djomo *et al.*, 1995). Leur persistance dans les sédiments varie de plusieurs mois à plusieurs années. Cependant, certains peuvent être relargués par des mécanismes de bioturbation ; ils restent potentiellement toxiques pour les organismes qui les ont incorporés (Tuvikene, 1995).

La biodisponibilité des HAP pour les animaux aquatiques est susceptible d'être modifiée par des changements de solubilité ou de réactivité qui surviennent lors des processus de biotransformation et de photo-oxydation. Néanmoins, certaines espèces de poissons semblent plus sensibles que d'autres, sans que la raison en soit réellement connue (Sikka *et al.*, 1993). Le phénomène de bioamplification (augmentation de l'imprégnation avec le niveau trophique) est faible pour les HAP, les capacités de métabolisation étant d'autant plus grandes que l'organisme est situé à un niveau trophique élevé. Il s'agit néanmoins de composés relativement peu biodégradables par rapport à d'autres types d'hydrocarbures.

Les HAP recherchés dans les tissus des poissons de Camargue sont les 16 molécules considérées comme polluants majeurs par l'agence américaine EPA (US Environment Protection Agency) et par le PNUE, du plus volatil le naphthalène, au plus dense le dibenzo(*ah*)anthracène (Tableau II). Pour un grand nombre d'expérimentateurs, le benzo(*a*)pyrène fait figure de référence en raison de son potentiel toxique propre et de son grand pouvoir cancérigène, mais également à l'égard de ses métabolites majoritaires formés au cours des mécanismes hépatiques de biotransformation, tels le 7,8- et le 9,10-dihydrodiol benzo(*a*)pyrène, qui possèdent également des propriétés carcinogènes.

Le dosage des 16 HAP est réalisé dans la bile et les lipides totaux extraits à partir d'environ 0,5 g de foie et de 2 g de muscle (Folch *et al.*, 1957). Les lipides hépatiques et musculaires en solution dans du dichlorométhane sont additionnés de

TABLEAU II

Caractéristiques des molécules de HAP étudiées

Nom par ordre d'apparition des pics chromatographiques	Poids moléculaire (g)	Coefficient de partage octanol/eau Log Kow	Nombre de cycles benzéniques
Naphtalène	128	3,3	2
Acénaphène	154	4,33	3
Acénaphylène	152	3,94	3
Fluorène	166	4,18	3
Phénanthrène	178	5,52	3
Anthracène	178	4,45	3
Fluoranthène	202	5,2	4
Pyrène	202	5	4
benzo(a)anthracène	228	5,6	4
Chrysène	228	5,86	4
benzo(b)fluoranthène	252	5,78	5
benzo(k)fluoranthène	252	6,11	5
benzo(a)pyrène	252	6,35	5
dibenzo(ah)anthracène	278	6,75	6
indeno(1,2,3-cd)pyrène	276	6,7	6
benzo(ghi)pérylène	276	6,63	6

TABLEAU III

Conditions chromatographiques pour l'analyse des HAP

Chromatographe	HP 5890 série II
Détecteur	HP 5972 Ionisation : impact électronique (EI) Température de la source : 250 °C Température du quadripôle : 100 °C Température de l'interface : 300 °C
Colonne de silice	Longueur : 30 m Diamètre interne : 0,25 mm Phase stationnaire apolaire 5 % Phényl méthylpolysiloxane DB5 MS
Gaz vecteur	Hélium 1 mL/min
Température du four	100 °C à 320 °C
Température de l'injecteur	280 °C
Température du détecteur	300 °C

40 ng de 7 étalons deutérés (naphtalène-d8, acénaphylène-d8, phénanthrène-d10, fluoranthène-d10, pyrène-d10, benzo(a)pyrène-d12, benzo(ghi)pérylène-d12, chrysène-d12) puis purifiés par chromatographie d'adsorption sur colonne de

florisil avec un mélange hexane-dichlorométhane (v/v) avant d'être concentrés sous azote.

Dans la bile, après ajout des 40 ng d'étalons internes, les HAP sont extraits à 120 °C sous haute pression à l'aide d'un extracteur ASE (Accelerated Solvent Extractor, Dionex) par du dichlorométhane. Cet appareil permet une accélération des processus traditionnels d'extraction par l'utilisation de solvants portés à température élevée mais restant à l'état liquide grâce à une forte pression exercée sur les cellules d'extraction. La purification sur cartouches de florisil est effectuée avec un mélange hexane/dichlorométhane (v/v). Les échantillons sont également concentrés sous azote avant d'être analysés.

Les HAP sont analysés au moyen d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse quadripolaire HP 5972 (GC/MS) équipé d'un détecteur à ionisation à impact électronique (EI), mis à notre disposition par le Laboratoire de Chimie Analytique de l'École Polytechnique (Palaiseau). Le tableau III résume les conditions chromatographiques.

RÉSULTATS

VARIATIONS INTER-ESPÈCES

L'analyse comparative des niveaux de contamination chez diverses espèces du réseau trophique aquatique camarguais est réalisée à partir des premiers résultats collectés dès 1996. Elle montre que tous les microcontaminants recherchés (OC et HAP) sont présents au sein de tous les échantillons tissulaires des poissons, quels qu'en soient l'espèce, le lieu ou la période du cycle annuel où ont été effectués les prélèvements. Cependant, l'importance de l'imprégnation dans les compartiments tissulaires diffère en fonction du niveau trophique de l'espèce (Fig. 2).

Les deux « superprédateurs » — anguilles et sandres — sont, en toute logique, globalement plus contaminés que les deux autres espèces. Cette imprégnation tissulaire se manifeste par la présence systématique de lindane et de PCB, le lindane étant prédominant dans le muscle des sandres, et les PCB majoritaires dans le foie des autres espèces. Cette contamination est générale mais relativement faible, à l'exception de deux groupes d'anguilles capturées à Fumemorte et des sandres prélevés au printemps 1998 dans ce même site. Il est important de noter la présence de quantités non négligeables de *pp'*-DDE dans le muscle des anguilles et de dieldrine dans les tissus des sandres. Les carassins, herbivores, et les poissons-chats, poissons voraces et benthivores, présentent des taux d'imprégnation hépatique généralement inférieurs. Parallèlement l'accumulation musculaire en lindane des poissons-chats est supérieure à celle des anguilles, laquelle est équivalente à celle des carassins. Par ailleurs, le tissu adipeux des sandres est lourdement chargé en OC (Fig. 3), il renferme, en outre, des quantités considérables de PCB, de lindane et de *pp'*-DDE. Ce poisson, qui possède un tissu gras périviscéral individualisé, est manifestement prédisposé à la bioaccumulation de substances organiques lipophiles, notamment dans le site de Fumemorte particulièrement exposé et à une saison (printemps) de reprise alimentaire. Cependant la faiblesse de l'effectif (n = 7) ne nous autorise pas à en tirer de plus amples conclusions.

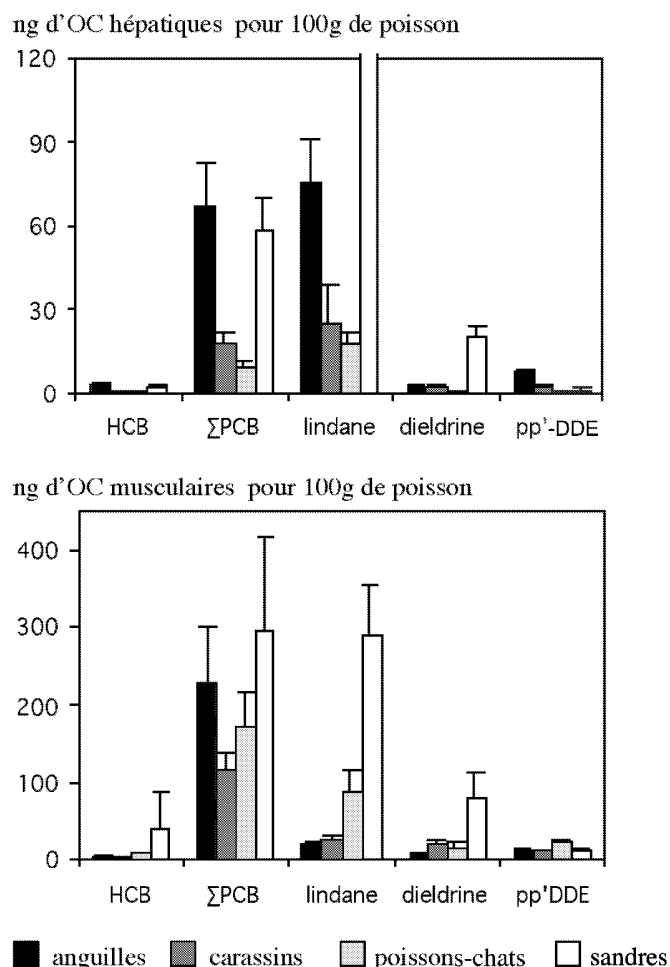


Figure 2. — Concentration en OC dans les tissus hépatique et musculaire des anguilles (n > 30), carassins (n = 32) ; poissons-chats (n = 30) et sandres (n = 7) de l'étang de Vaccarès. Dans un but comparatif les valeurs sont exprimées par rapport au poids du poisson.

La majorité des HAP « prioritaires » est présente dans la bile et le foie des 3 espèces de poissons analysées (Fig. 4 et 5). Parmi ces molécules, le cas du naphthalène est particulier. C'est une molécule volatile d'origine exclusivement pétrolière qui possède deux cycles benzéniques et qui induit peu de réaction métabolique de biotransformation. Le naphthalène est très concentré chez les anguilles dans les deux compartiments tissulaires où il atteint des concentrations supérieures à 3 µg par g de bile et 125 ng par g de tissu sec hépatique. Bien que 4 fois moins concentré dans le foie du poisson-chat, il est très présent chez cette espèce. En ce qui concerne les autres HAP, l'imprégnation biliaire, significative

ng.g-1 de tissu adipeux

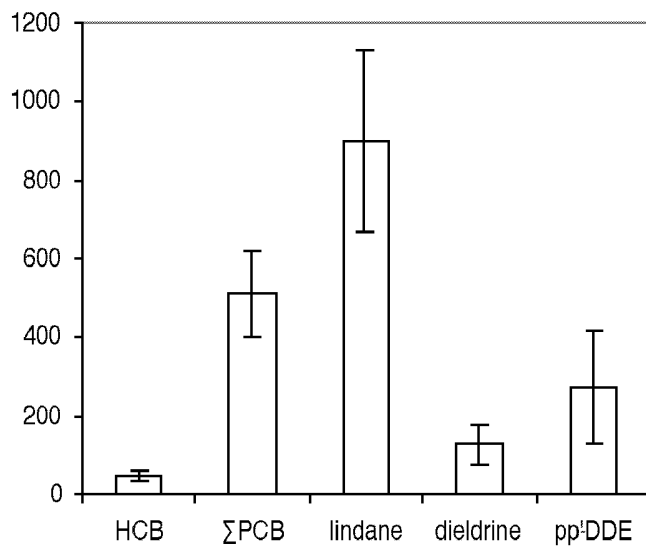


Figure 3. — Concentration des OC dans le tissu adipeux périviscéral de sandres (n = 7) pêchés au printemps 1998 à proximité de l'embouchure du canal de Fumemorte.

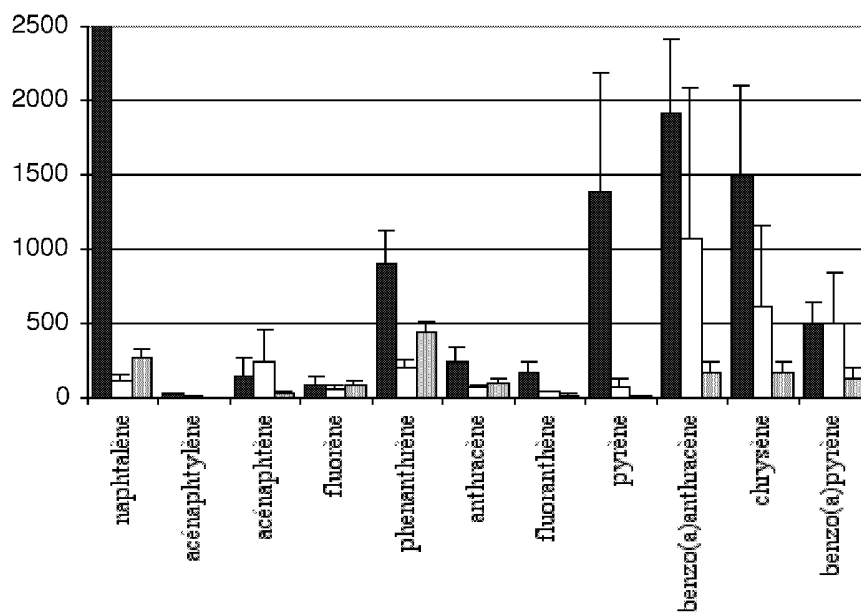


Figure 4. — Concentration en 11 molécules d'HAP dans la bile chez 3 espèces de poissons capturées dans l'étang de Vaccarès (ng pour 100 g de poisson) en 1996, 1997 et 1998. ■ anguilles ; □ carassins; ▒ poissons-chats. Moyenne et erreur standard.

d'une contamination récente, se caractérise par une grande variabilité qui laisse néanmoins apparaître des concentrations préoccupantes en pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène et en benzo(a)pyrène. Les anguilles (carnivores) et les carassins (préférentiellement herbivores) sont plus atteints par les HAP les plus lourds que les poissons-chats (omnivores). Au niveau hépatique les profils de contamination en HAP chez les 3 espèces sont très différents voire quelquefois opposés.

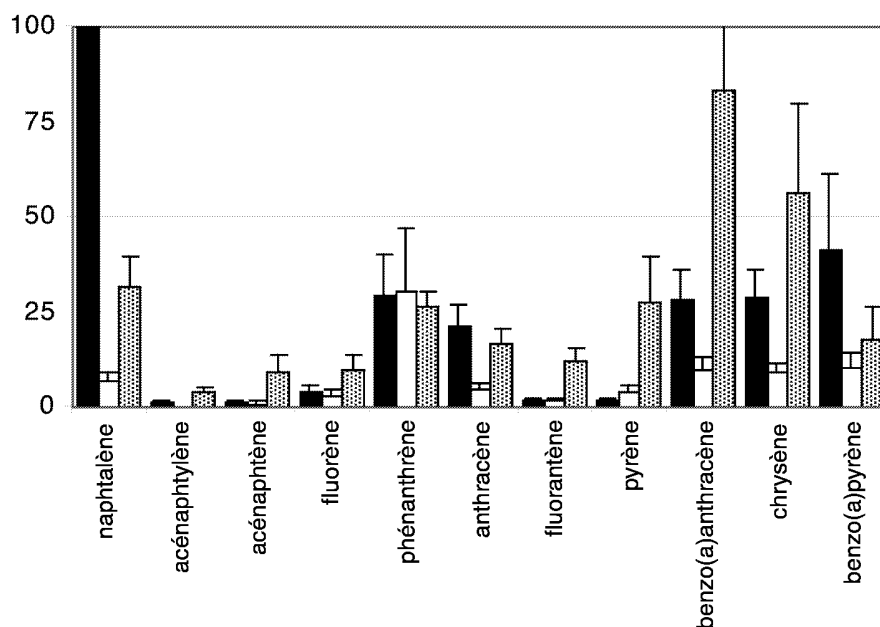


Figure 5. — Concentration en 11 molécules d'HAP dans le foie de 3 espèces de poissons capturées dans l'étang de Vaccarès ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ de tissu sec) en 1996, 1997 et 1998. ■ anguilles ; □ carassins ; ▣ ; poissons-chats. Moyenne et erreur standard.

En effet, si le tissu hépatique des anguilles est globalement très chargé, ce sont les poissons-chats qui présentent les foies les plus imprégnés, notamment en fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène et chrysène. A l'exception du phénanthrène, les concentrations hépatiques en HAP des carassins sont modérées, probablement du fait du volume et de la nature de ce tissu qui, chez cette espèce, est un hépatopancréas diffus, pauvre en lipides.

FLUCTUATIONS SAISONNIÈRES ET VARIATIONS INTER-SITE DE L'IMPRÉGNATION TISSULAIRE PAR LES POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS CHEZ LES ANGUILLES DU VACCARÈS

L'anguille constitue une espèce sentinelle des zones humides littorales du fait de son euryhalinité, de sa relative sédentarité et de sa grande valence écologique.

C'est, en outre, un poisson de forte adiposité qui est donc susceptible de bioaccumuler les xénobiotiques lipophiles. Son emplacement dans le réseau trophique aquatique camarguais la prédispose à devenir une espèce-modèle permettant d'apprécier la chronicité des contaminations et les processus de bioamplification. Les recherches dont certains résultats sont exposés ici ont été effectuées pendant la période 1996-2001. Elles ont concerné la contamination de poissons du Vaccarès (poisson-chat, carassin, sandre et anguille). A partir de 1999, l'essentiel des recherches entreprises a concerné la population d'anguilles et s'est inséré dans le cadre du programme PNETOX (Programme National en Ecotoxicologie) piloté par le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, mais développé en collaboration avec le CNRS et l'INRA. Une partie de l'important échantillonnage auquel nous avons procédé *in situ* est encore en cours d'analyse. Cependant, en dépit de l'absence de certaines données notamment celles des prélèvements hivernaux, les résultats présentés ici permettent de mettre à jour une évolution saisonnière de l'imprégnation par les POP et une variation de cette contamination en fonction des sites de prélèvement.

Les organochlorés

L'imprégnation tissulaire globale par les OC se caractérise par des fluctuations de grande amplitude au cours des deux cycles annuels (Fig. 6). Les données montrent de très grandes variations individuelles et il est difficile de cerner une évolution temporelle de cette imprégnation. Les PCB sont les molécules organochlorées les plus concentrées dans les tissus des anguilles et en particulier chez les individus capturés à la fin du printemps. Exprimés par rapport à la matière sèche, les plus chargés présentent en juin 1999 des teneurs supérieures à 100 μg par g de muscle et allant jusqu'à 800 μg par g de muscle chez un individu. Bien que nettement diminuée leur concentration reste non négligeable dans les prélèvements d'automne. La présence dans le foie des anguilles de *pp'*-DDE à des concentrations dépassant souvent 100 ng par g de tissu sec est surprenant, notamment en juin et novembre 1999. A l'opposé, l'HCB et la dieldrine ont des concentrations, certes fluctuantes, mais souvent inférieures à 10 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ de tissu sec ; cependant, elles ont tendance à augmenter en 2000. Enfin, le lindane, molécule prédominante dans le foie lors des analyses précédant son interdiction (cf. Fig. 2), manifeste dès 1999 une concentration proche de celle du *pp'*-DDE, c'est-à-dire très diminuée.

Les variations inter-sites de l'imprégnation tissulaire sont sensibles pour l'ensemble des pesticides organochlorés, alors que les teneurs, très élevées, en PCB sont équivalentes chez les poissons capturés dans les trois sites de l'étang de Vaccarès (Fig. 7). D'une manière générale, l'hétérogénéité des mesures entraîne une grande variabilité suggérant des concentrations moyennes non statistiquement différentes d'un site à un autre, car l'étalement des valeurs est considérable. Cette dispersion se retrouve aussi bien au niveau des concentrations hépatiques que musculaires. Or il est bien établi que la charge hépatique représente une contamination relativement récente, l'hypothèse d'une arrivée d'insecticides organochlorés, notamment le lindane, *via* le canal de Fumemorte se trouve effectivement confortée par l'abondance de cet insecticide dans le foie des anguilles capturées à proximité. Mais, alors que les teneurs musculaires maximales en lindane sont détectées chez les poissons pêchés à Fumemorte, c'est à La Capelière que les individus sont en moyenne les plus contaminés. L'imprégnation par la dieldrine présente un comportement semblable. A l'inverse, les anguilles provenant

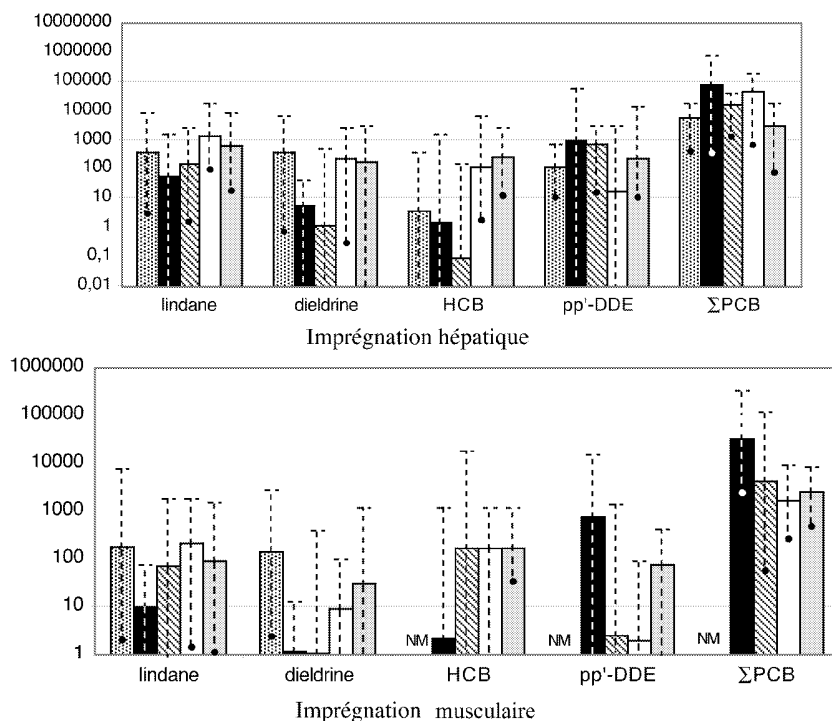
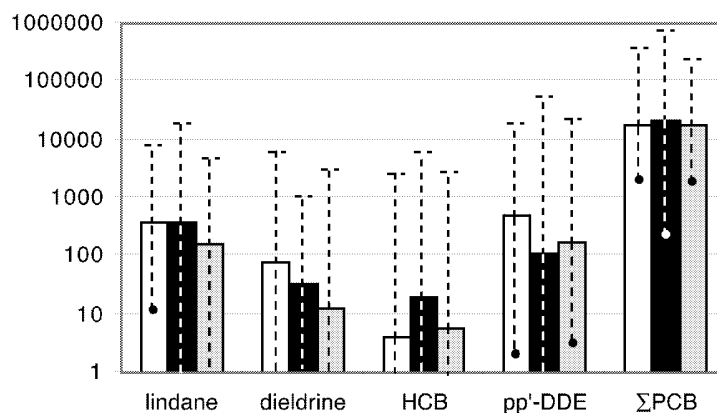


Figure 6. — Variations saisonnières de l'imprégnation tissulaire par les OC chez les anguilles de la Réserve Nationale de Camargue capturées en 1999 et 2000. Les histogrammes représentent les moyennes géométriques (----- valeur maximale, ----- • : valeur minimale). Les concentrations sont exprimées en ng.g^{-1} de tissu sec et sont représentées en échelle logarithmique. NM = non mesuré. □ janvier et mars 1999, n = 17 pour le foie et 18 pour le muscle ; ■ juin 1999, n = 19 pour le foie et n = 22 pour le muscle ; ▨ novembre 2000, n = 17 ; □ mai 2000, n = 19 pour le foie et n = 25 pour le muscle ; ■ octobre 2000, n = 20.

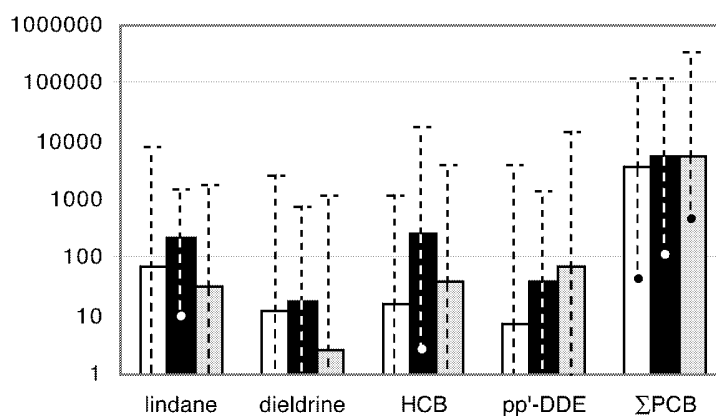
de Mornès, site éloigné des apports d'eau douce, sont nettement moins chargées en lindane et dieldrine. L'HCB est particulièrement abondant dans les tissus des poissons prélevés à La Capelière surtout au niveau musculaire. Par ailleurs, les profils d'imprégnation par le *pp'*-DDE sont divergents selon les tissus : les individus capturés à Fumemorte sont les plus contaminés au niveau hépatique et les moins chargés au niveau musculaire, de plus ce métabolite du DDT est manifestement plus présent chez les anguilles de Mornès.

Les HAP : Variations annuelles de la contamination

En raison de la faiblesse de l'effectif analysé en 1997 et 1998 il est difficile de tirer des conclusions quant à la variation annuelle de l'imprégnation biliaire des anguilles pour ces deux années. Le constat le plus significatif tient au fait de la



Imprégnation hépatique



Imprégnation musculaire

Figure 7 - Variations inter-sites de l'imprégnation tissulaire par les OC chez les anguilles de la Réserve Nationale de Camargue capturées en 1999 et 2000. Les histogrammes représentent les moyennes géométriques (----- : valeur maximale, -----• : valeur minimale). Les concentrations sont exprimées en ng.g⁻¹ de tissu sec et sont représentées en échelle logarithmique. □ Fumemorte (site exposé) : n > 30 ; ■ La Capelière (rive-est du Vaccarès) : n > 25 ; ▒ Mornès (centre de l'étang, site éloigné des apports d'eaux douces) : n > 25.

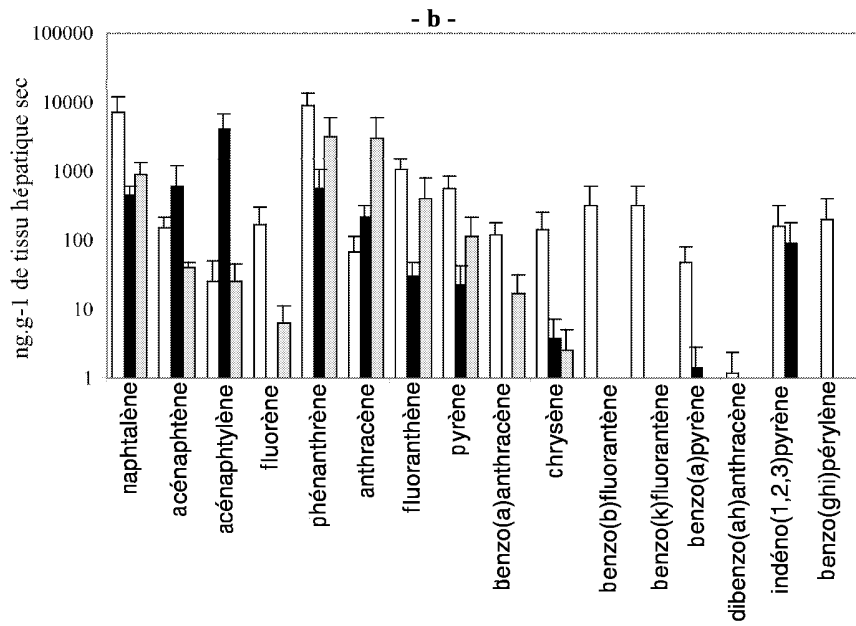
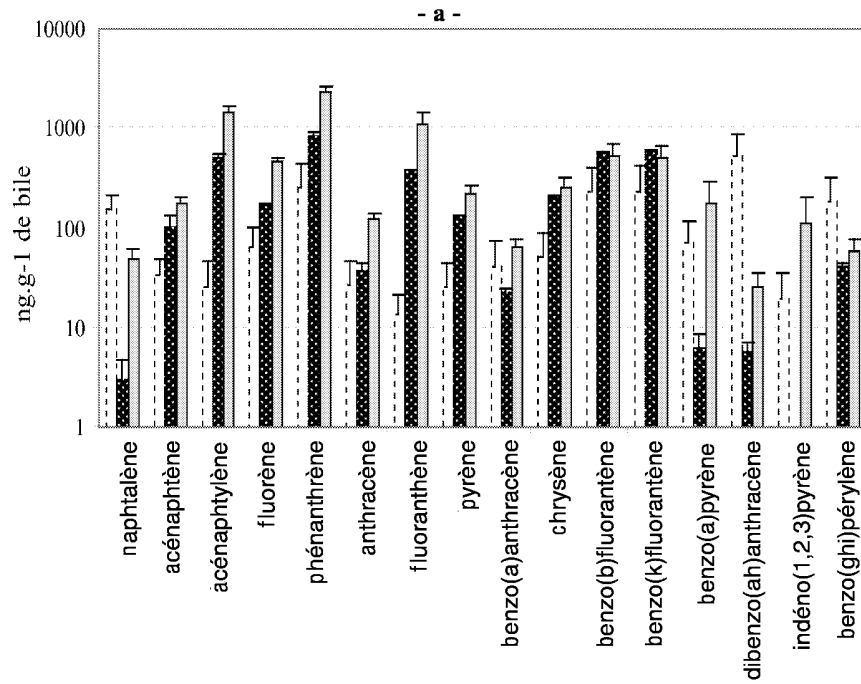
présence de toutes les molécules en quantité non négligeable dans la bile des anguilles notamment en 1999. Ainsi il apparaît que les HAP dont les poids moléculaires sont compris entre 152 et 202 g (cf. Tableau II), c'est-à-dire de l'acénaphthylène au pyrène, par ordre d'émergence chromatographique, sont

sensiblement plus abondants en 1999 (Fig. 8a). Parmi eux l'acénaphthylène, le phénanthrène et le fluoranthène dépassent la concentration moyenne de 1 µg par g de bile. A cela s'ajoute le fait qu'une majorité de molécules parmi les moins volatiles ont des concentrations biliaires comprises entre 100 et 1 000 ng par g de bile. Il s'agit notamment du chrysène, du benzo(*b*)fluoranthène du benzo(*k*)fluoranthène et, dans une moindre mesure, du benzo(*a*)pyrène en 1999.

L'évolution annuelle de l'imprégnation tissulaire hépatique et musculaire a un profil différent (Fig. 8b et 8c). D'une manière générale, la concentration globale hépatique en HAP est plus élevée que la concentration musculaire. Quelle que soit l'année de capture les HAP les plus représentés dans le foie sont le naphthalène et le phénanthrène ; chacun d'entre eux a atteint 100 µg par g de matière sèche hépatique en 1997. En 1998 l'acénaphthylène « domine » dans le foie et, avec l'anthracène, constituent les deux molécules les plus abondantes en 1999. Par ailleurs, les anguilles analysées en 1998 ont manifestement une charge musculaire globale plus élevée qu'en 1999. Les molécules d'hydrocarbures les plus concentrées sont, en 1998, le naphthalène, le phénanthrène, l'acénaphthène, l'acénaphthylène et le fluoranthène. Seul le phénanthrène reste abondant en 1999 et présente une teneur moyenne équivalente à celle de l'anthracène. Enfin, dans ces deux tissus, on note un net déclin des molécules comportant 4 cycles benzéniques ou plus, dès 1998 dans le tissu hépatique et en 1999 dans le muscle.

Cette diminution globale de l'imprégnation tissulaire en 1999 est contradictoire à l'augmentation des teneurs biliaires précédemment mentionnée. Il est admis que la détection des polluants organiques dans la bile renseigne sur l'existence d'une contamination très récente voire contemporaine, alors qu'au niveau des réserves lipidiques tissulaires, l'imprégnation mesurée témoigne d'une bioaccumulation ou d'une adaptation postérieure à l'action des systèmes métaboliques de détoxification. Nous avons donc utilisé ces données biliaires afin d'estimer l'évolution des apports en HAP au sein des organismes de la réserve nationale de Camargue en 1999. Ces données, en quantité suffisante, nous ont donc fourni l'opportunité d'analyser d'une part les variations saisonnières de la contamination des anguilles et d'autre part les variations potentielles inter-sites à deux saisons, à la fin du printemps et en automne.

Il ressort de ces analyses l'existence de variations saisonnières de grande amplitude (Fig. 9). Indéniablement on observe une gradation de la contamination de janvier à novembre 1999, en particulier pour les molécules les plus légères c'est-à-dire les HAP comportant de deux à quatre cycles benzéniques (jusqu'au chrysène). Chez les deux poissons analysés en janvier les taux de naphthalène, benzo(*a*)pyrène et dibenzo(*ah*)anthracène sont particulièrement bas et les concentrations en HAP les plus lourds restent modérées. Les HAP émergeant entre l'acénaphthène et le chrysène sont abondants et à des concentrations équivalentes en mars et en juin. Alors qu'en novembre, la majorité des HAP est plus concentrée qu'aux autres saisons, les plus légères comme les plus lourdes, bien que certaines d'entre elles, comme les benzo-fluoranthènes et le benzo(*a*)pyrène présentent des taux particulièrement élevés en mars.



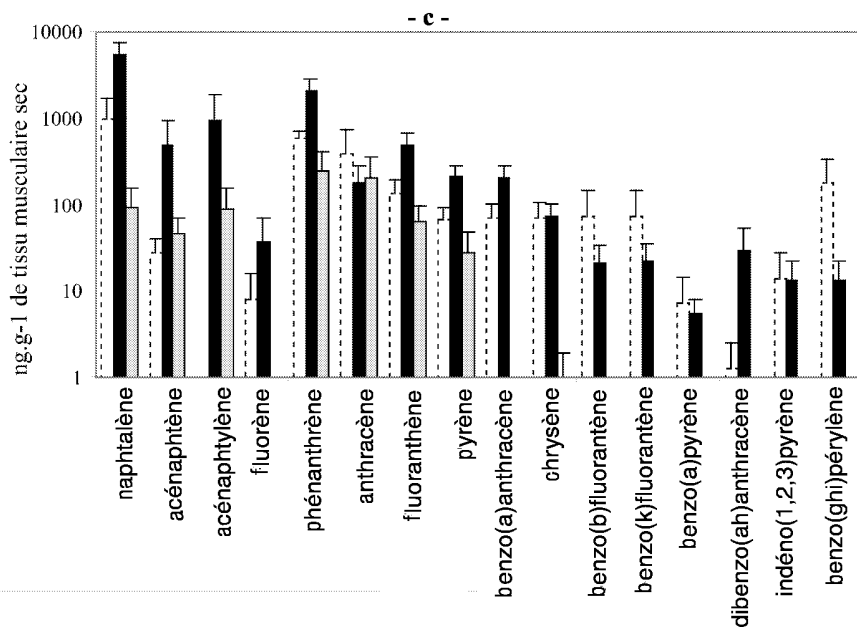


Figure 8. — Variations annuelles des teneurs a) biliaires, b) hépatiques et c) musculaires des 16 HAP prioritaires chez l'anguille du Vaccarès. □ 1997 ; ■ 1998 ; ▒ 1999. Histogrammes en pointillés n < 5, histogrammes pleins n = 8 à 10.

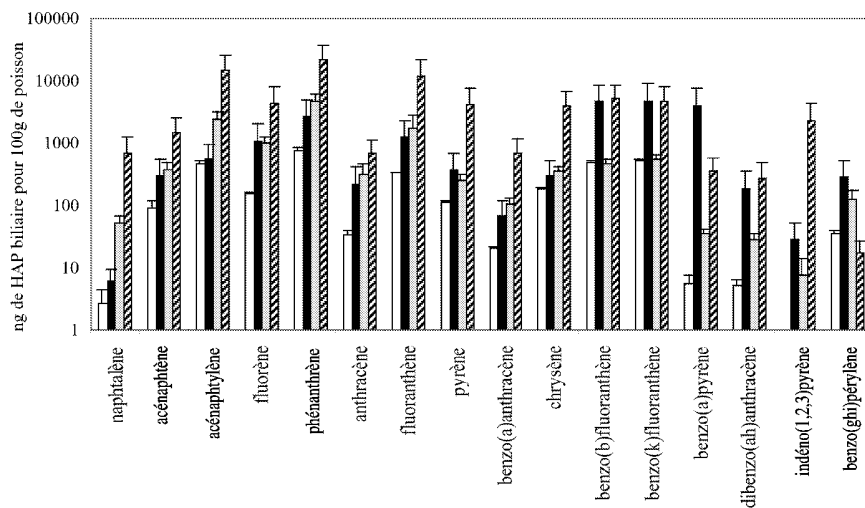


Figure 9. — Concentrations en HAP (dans l'ordre d'émergence chromatographique) dans la bile des anguilles prélevées en 1999. Valeurs rapportées au poids du poisson : □ janvier 1999 : n = 2, analyses en cours ; ■ mars 1999 : n = 8 ; ▒ juin 1999 : n = 24 ; ▨ novembre 1999 : n = 20.

Entre juin et novembre, les HAP ont donc des concentrations variables dans la bile des anguilles suggérant une fluctuation de l'apport en micropolluants. Une analyse inter-site a donc été engagée.

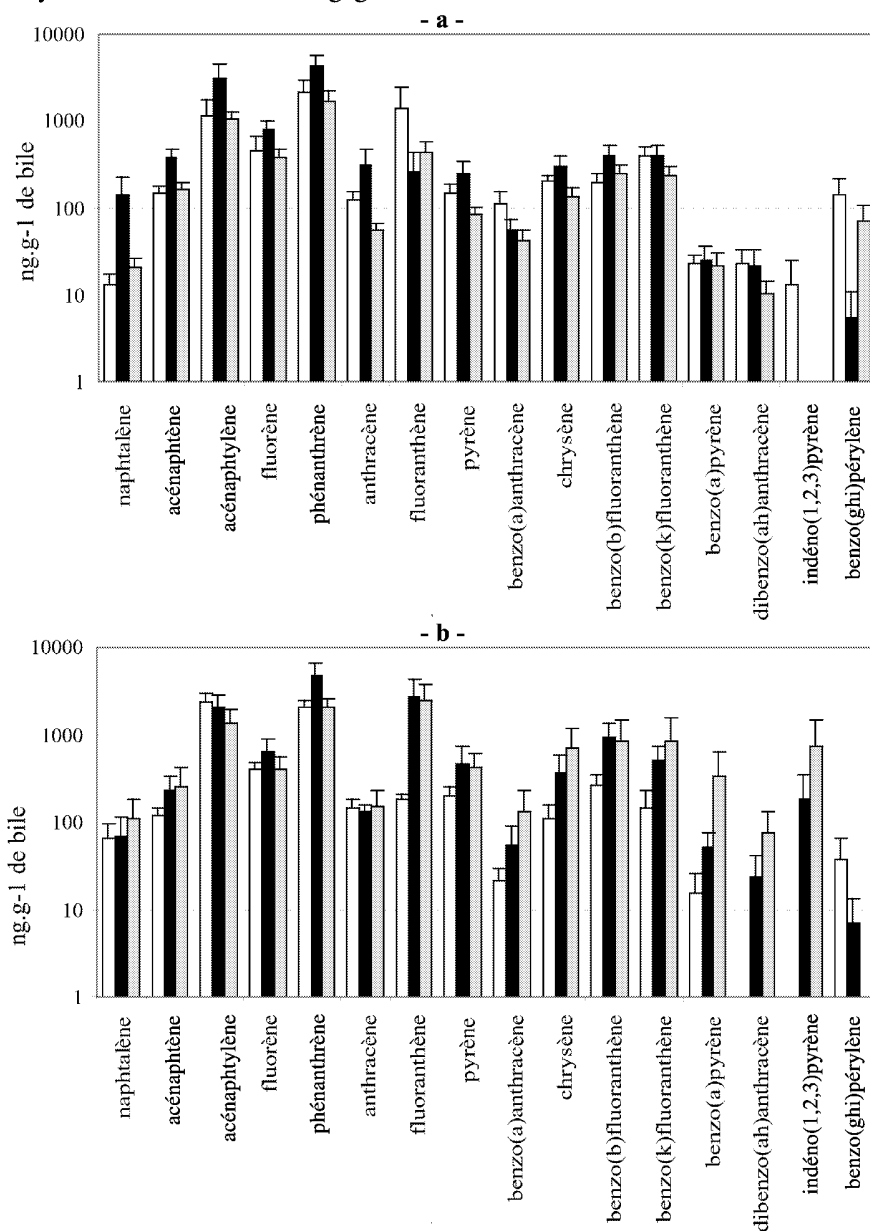


Figure 10. — Variations inter-sites en HAP biliaires à deux saisons a) juin et b) novembre 1999.

□ Fumemorte. ■ La Capelière ■ Mornès.

En juin, les biles des individus pêchés à La Capelière sont globalement les plus chargées en molécules les plus volatiles, soit du naphthalène à l'anthracène, dans l'ordre de l'émergence des pics chromatographiques (Fig. 10). Par ailleurs, les poissons prélevés à l'embouchure du canal de Fumemorte sont particulièrement contaminés par le fluoranthène et par les 2 molécules les plus lourdes (6 cycles benzéniques) : l'indéno(1,2,3)pyrène et le benzo(*ghi*)pérylène. A Mornès, site *a priori* peu exposé, seul l'anthracène montre une concentration significativement inférieure. En novembre de la même année, le profil est très différent voire inversé. En effet, si le site de La Capelière fournit encore des anguilles très chargées en phénanthrène biliaire, les concentrations des autres molécules volatiles sont équivalentes quel que soit le site. D'autre part, les anguilles provenant du site de Fumemorte ont des biles particulièrement moins chargées en HAP les plus lourds notamment en benzo(*a*)pyrène et en indéno(1,2,3) pyrène. Singulièrement, c'est à Mornès que l'on a pêché les anguilles les plus contaminées par ces deux molécules.

DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION

Nos travaux ont mis en évidence la présence dans les poissons de la RNNC des charges fluctuantes en OC et HAP (Buet *et al.*, 1998 ; Roche *et al.*, 2000 ; Buet *et al.*, 2001 ; Roche *et al.*, 2001 ; Buet, 2002). D'une manière générale, il semble que les teneurs en micropolluants, notamment en HAP, soient supérieures à celles citées dans des études comparables réalisées sur des organismes de référence pour le biomonitoring dans les eaux côtières de la Méditerranée (Porte & Albaigès, 1993 ; Baumard *et al.*, 1998a,b). Ainsi, Baumard *et al.* (1998a) ont observé dans des moules pêchées sur les côtes méditerranéennes des teneurs tissulaires moyennes comprises entre 25 et 82 ng.g⁻¹ de tissu sec et des pics atteignant 337 ng.g⁻¹ de tissu sec contamination dans des sites à forte activité portuaire. En Camargue, zone dépourvue d'activités industrielles, nous avons détecté jusqu'à 5 µg.g⁻¹ de tissu musculaire du seul phénanthrène chez les anguilles. Cette non-concordance peut être mise sur le compte du choix de l'espèce particulièrement riche en lipides mais également sur un ajustement méthodologique ou une technique de mesure (Escartin & Porte, 1999) provoquant soit une sur-estimation soit un déficit. La position trophique des espèces conditionnée par leur régime alimentaire, est un facteur déterminant quant à l'importance de cette contamination. Les super-prédateurs (anguille et sandre) sont manifestement les plus atteints (Tulonen & Vuorinen, 1996). Néanmoins la localisation de l'imprégnation est largement dépendante de la nature du tissu. Il est admis que les micropolluants organiques lipophiles ne présentent pas le même niveau de métabolisation ou de stockage dans les divers tissus. Il n'existe pas de corrélation entre les concentrations biliaires en HAP et les teneurs hépatiques et musculaires en lipides. Cette absence de corrélation ne signifie pas pour autant qu'il n'y ait pas de bioaccumulation, elle confirme le fait que la présence de ces molécules au niveau biliaire est transitoire. Ainsi, chronologiquement, la bile refléterait la contamination précédant le prélèvement et le foie, siège des métabolismes de détoxification, donnerait une image à moyen terme de cette contamination. Le tissu musculaire représenterait plus précisément le stockage dans le cas où l'accumulation serait liée à l'utilisation des réserves énergétiques. On estime que les taux d'imprégnation et de bioaccumulation des xénobiotiques lipophiles sont dépendants de la charge lipidique des tissus de

réserve. Ainsi le tissu adipeux différencié du sandre montre des concentrations très élevées en lindane. A l'opposé, l'hépatopancréas du carassin pauvre en lipides est peu chargé en HAP. Il est donc naturel d'observer des profils d'imprégnation très différents selon les tissus.

Les concentrations tissulaires en pesticides OC, en particulier du lindane, mais aussi de la dieldrine qui a connu un vaste usage pour l'enrobage des semences de riz, sont incontestablement la conséquence de l'utilisation de ces molécules par l'agriculture et plus spécialement par la riziculture camarguaise. Certains résultats suggèrent même une utilisation, sinon récente du moins prolongée, d'insecticides interdits comme la dieldrine et d'autres cyclopentadiènes chlorés. Le lindane est cependant prépondérant bien que l'on note une diminution notable de sa concentration dans le foie des anguilles à partir de 1998, laquelle s'est accentuée lors des prélèvements d'automne 1999. Dans cette dernière série expérimentale, la dieldrine est largement présente à des concentrations parfois équivalentes à celle du lindane. Les variations inter-sites de la contamination des anguilles du Vaccarès ne laissent aucun doute sur l'origine des molécules insecticides et des PCB. En effet, les poissons prélevés à proximité de l'embouchure du canal de Fumemorte et à La Capelière sont significativement les plus imprégnés particulièrement dans leur tissu musculaire, ce qui suggère une contamination ancienne et chronique. Il est vraisemblable que l'évolution des charges tissulaires en OC soit liée aux événements naturels (climatologie, cycle nutritionnel...) ou anthropiques (traitements agricoles). Cependant, on assiste à une diminution des taux de lindane depuis l'interdiction d'utilisation de celui-ci (juillet 1998). En revanche la présence de dieldrine et de *pp'*-DDE, entretient toujours les débats quant à leur provenance et leur modalité d'accumulation. Il en est de même pour l'HCB dont la concentration au niveau hépatique s'est accrue au cours de l'année 2000. L'abondance des PCB dans les tissus des poissons est également préoccupante puisque l'origine de ces molécules n'est pas clairement définie. Leur concentration dans les muscles et dans les foies de tous les individus suggère qu'elles sont également apportées par les eaux d'irrigation, par lessivage des sols et aussi par voie atmosphérique.

L'analyse quantitative des imprégnations en xénobiotiques organiques révèle une contamination significative par les HAP chez les populations de poissons dans le Vaccarès. Lors des premières expérimentations de 1996 à 1998 le naphthalène était prédominant notamment dans la bile des anguilles. D'autres types de molécules, le phénanthrène, et le benzo(*a*)anthracène et le chrysène avaient été détectés en quantité abondante dans la bile et le foie des anguilles, des carassins et des poisson-chats. Les mesures réalisées dans la population d'anguilles du Vaccarès, montrent une diminution de l'imprégnation par les HAP dans la bile et le foie de 1997 à 1999, cette diminution touche essentiellement les HAP les plus volatiles comme le naphthalène. Dès 1999, les profils d'imprégnation des anguilles ont quelque peu évolué. Si au niveau biliaire le naphthalène est toujours présent et abondant, il est très diminué dans les deux autres tissus analysés. Les hydrocarbures les plus fréquemment rencontrés dans les organes « de stockage » sont alors des molécules volatiles comportant 3 à 4 cycles benzéniques (l'acénaphthylène, le phénanthrène, le fluoranthène) et parmi les plus métabolisables, les benzo-fluoranthènes puis en quantité relativement faible le benzo(*a*)pyrène. A la fin de l'hiver (janvier-mars 1999), quand la reprise alimentaire n'est pas encore effective, le taux d'imprégnation est au plus bas. Certains HAP de poids moléculaire élevé (+ de 5 cycles benzéniques) sont alors difficilement détectables. Au cours des mois

suiuants la contamination s'amplifie et atteint un maximum en novembre, notamment pour la plupart des molécules les plus lourdes.

L'intensité de l'imprégnation tissulaire en HAP est dépendante de leur structure chimique. En effet, le coefficient de partage octanol-eau (Log Kow) et le poids moléculaire sont déterminants car les organismes sont plus fréquemment exposés à des composés lipophiles de faible poids moléculaire. Mais l'éventualité et l'amplitude d'une contamination persistante est également fonction de l'habitat, du régime alimentaire et des capacités métaboliques des organismes, donc étroitement liées à leur niveau trophique (Baumard *et al.*, 1998b). On a pu observer que la concentration en substances lipophiles était plus intense chez les prédateurs que chez leur proie, notamment pour les produits chimiques présentant un haut coefficient de partage octanol-eau. Cependant la richesse en lipides des organismes n'augmente pas avec la chaîne alimentaire. En réalité il n'existe aucune relation entre le niveau trophique et la teneur globale en lipides (Russel *et al.*, 1999). Nous avons précédemment mentionné que dans le tissu hépatique comme dans le tissu musculaire, les concentrations en HAP étaient rarement corrélées avec les teneurs lipidiques totales ; en revanche on relève des corrélations très significatives entre les teneurs en contaminants et les taux de phospholipides et de protéines, ceci conduit à l'hypothèse d'une accumulation au niveau des structures membranaires (Buet *et al.*, 2001 ; Roche *et al.*, 2002). La plupart des molécules à 5 ou plus cycles benzéniques est préférentiellement incorporée dans la phase lipidique la plus polaire (bicouche membranaire lipidique), notamment les molécules qui possèdent un coefficient de partage octanol-eau élevé (Log Kow > 5). Il semble probable que cette incorporation membranaire soit partiellement due à un processus de bioamplification. D'après Liang *et al.* (1999), la prédisposition à la bioamplification pourrait être liée à la capacité d'accumulation des HAP dans les membranes biologiques.

On pourrait s'interroger sur l'éventualité d'effets létaux avec les HAP eu égard aux concentrations parfois élevées trouvées dans certains échantillons des espèces prédatrices que nous avons étudiées. Il a en effet été montré expérimentalement après le naufrage de l'*Exxon Valdez* que chez les saumons roses du Pacifique (*Oncorhynchus gorbutscha*), une forte embryotoxicité s'est manifestée à 4,4 µg par litre, des effets létaux ayant même été observés à des concentrations de 1 µg par litre de ces substances (Heinz *et al.*, 1999). Bien que les espèces que nous avons étudiées soient moins pollusensibles, des dosages réguliers de HAP dans les eaux s'avèreraient nécessaires pour évaluer l'importance de ce risque en complément des recherches relatives aux biomarqueurs d'exposition chez les anguilles.

La rareté des relations observées entre les concentrations et les sites de capture corrobore l'occurrence d'une origine atmosphérique et irrégulière des HAP retrouvés en toutes saisons dans la biomasse ichtyenne. Les anguilles capturées à proximité des canaux d'irrigation seraient même relativement moins exposées comme en témoigne l'absence de certains hydrocarbures parmi les plus lourds lors du prélèvement de novembre 1999. Le sens et l'intensité de l'apport d'aéropolluants sont difficilement contrôlables comme le montrent les analyses inter-sites. Elles suggèrent, en outre, le caractère chronique de la contamination dont les effets à long terme s'avèrent préoccupants. Elle peut être directe mais également induite par le biais de la chaîne alimentaire. En effet, une des modalités d'intoxication des organismes aquatiques est le processus de bioamplification. On estime généralement que les mécanismes de bioaccumulation aux niveaux trophiques inférieurs dépendent principalement de facteurs physico-chimiques, tels

que la solubilité dans l'eau et le caractère lipophile des polluants, alors qu'aux niveaux supérieurs les mécanismes de bioaccumulation sont principalement régulés par des facteurs biochimiques, comme les capacités métaboliques des organismes. En outre, la nature des proies préférentielles est un facteur déterminant dans la configuration de ce processus (Ruus *et al.*, 1999). Divers travaux ont montré une certaine structure-dépendance de la bioamplification d'une molécule organique en fonction du niveau trophique de l'espèce (Looser *et al.*, 1998 ; Perez-Ruzafa *et al.*, 2000). C'est pourquoi dans la prochaine étape expérimentale nous envisageons de mesurer les taux d'imprégnation par des polluants lipophiles persistants (OC et HAP) chez les espèces aquatiques de l'écosystème camarguais, chez lesquelles sera déterminé précisément l'emplacement trophique.

La présence accidentelle d'HAP dans l'environnement aquatique revêt actuellement un caractère d'urgence du fait du récent naufrage du pétrolier Erika. Cet événement a remis en actualité un certain nombre d'interrogations sur les effets à long terme de ces substances dans les organismes. On sait, en effet, que la première incidence du déversement de produits pétroliers dans un écosystème aquatique se traduit par ses effets toxiques aigus sur la faune. Mais les effets à long terme se manifestent sur plusieurs générations (Barron *et al.*, 1999) par des mutations héréditaires toxico-induites comme celles qui ont été observées après l'accident de l'Exxon Valdez en 1989 (Cronin et Bickham, 1998), et par l'accumulation des substances chimiques dans les organismes.

REMERCIEMENTS

Nous remercions très vivement Eric Coulet, Directeur de la Réserve Naturelle de Camargue et ses collaborateurs, plus particulièrement François Lescuyer, pour l'assistance qu'ils nous ont apportée dans le prélèvement et l'échantillonnage des poissons sur lesquels ont été effectuées les recherches dont les résultats sont ici exposés.

RÉFÉRENCES

- BARRON, M.G., PODRABSKY, T., OGLE, S. & RICKER, R.W. (1999). — Are aromatic hydrocarbons the primary determinant of petroleum toxicity to aquatic organisms? *Aquatic Toxicology*, 46 : 253-268.
- BAUMARD, P., BUDZINSKI, H., GARRIGUES, P., BURGEOT, T., MICHEL, X. & BELLOCQ, J. (1998a). — Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus sp.*) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination, and bioavailability. *Mar. Environ. Res.* 47 : 415-439.
- BAUMARD, P., BUDZINSKI, H., MICHON, Q., GARRIGUES, P., BURGEOT, T. & BELLOCQ J. (1998b). — Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from mussel and sediments records. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 47 : 77-90.
- BUET, A., ROCHE, H., HABERT, H., CAQUET, TH. & RAMADE, F. (1998). — Évaluation du niveau de contamination par les micropolluants organiques des poissons de la Réserve de Biosphère de Camargue. Proposition d'un plan expérimental pour la validation de biomarqueurs utilisables *in situ*. *Ichthyophysiol. Acta*, 21 : 61-76.
- BUET, A. (2002). — *Impact biologique des HAP chez l'Anguille européenne. Définition et validation de biomarqueurs in situ*. Thèse de Doctorat, Université Paris-Sud XI, 194 p.
- BUET, A., ROCHE, H., ANHEIM, S. & RAMADE, F. (2001). — Méthode d'évaluation du niveau de contamination par des polluants organiques persistants des communautés de la réserve de Biosphère de Camargue. *Ichthyophysiol. Acta*, 23 : 57-70.
- COURTNEY, K.D., (1979). — Hexachlorobenzene (HCB) : A Review, *Environ. Res.* 20 : 225-266.

- CRONIN, M.A. & BICKHAM, J.W. (1998). — A population genetic analysis of the potential for a crude oil spill to induce heritable mutations and impact natural populations. *Ecotoxicology*, 7 : 259-278.
- DE VOOGT, P. (1996). — Ecology of Chlorinated Aromatic Hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.*, 6 : 89-112.
- DJOMO, J.E., GARRIGUES, P. & NARBONNE, J.F. (1995). — Uptake and depuration of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediment by the zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 15 : 1177-1181.
- ESCATIN, E. & PORTE, C. (1999). — Assessment of PAH pollution in coastal areas from the NW Mediterranean through the analysis of fish bile. *Mar. Poll. Bull.*, 38 : 1200-1206.
- FOLCH, J., LESS, M. & SLOANE-STANLEY, G.H. (1957). — A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226 : 497-509.
- HEINZ, R.A., SHORT, J.W., RICE, S.D. (1999). — Sensitivity of fish embryos to weathered crude oil : part 2 Incubating downstream from weathered « Exxon Valdez » crude oil caused increased mortality of Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) embryos. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18 : 484-493.
- KEITH, G. & DIRHEIMER, G. (1995). — Postlabelling : a sensitive method for studying DNA adducts and their role in carcinogenesis. *Curr. Opinion Biotechnol.*, 6 : 3-11.
- KIMBROUGH, R.D. (1987). — Human health effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs). *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 27 : 87-111.
- LAW, R. & BISCAYAT, J.L., (1994). — Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) - Problems and progress in sampling, analysing and interpretation. *Mar. Poll. Bull.*, 29 : 235-241.
- LIANG, Y., WONG, M.H., SHUTES, R.B.E. & REVITT, D.M. (1999). — Ecological risk assessment of polychlorinated biphenyl contamination in the Mai Po marshes nature reserve. *Water Res.*, 33 : 1337-1346.
- LOOSER, R., BALLSCHMITER, K. & HOYER, G.A. (1998). — Biomagnification of polychlorinated biphenyls (PCBs) in freshwater fish. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 360 : 816-819.
- OLLIVON, D., GARBAN, B. & CHESTERIKOFF, A. (1993). — Analysis of the distribution of some polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and suspended matter in the river Seine (France). *Water Air Soil Poll.*, 81 : 135-152.
- PAASIRVITA, S. (1988). — Organochlorines compounds in the environment. *Wat.Sci.Tech.*, 20 : 119-129.
- PEREZ-RUZAFÁ, A., NAVARRO, S., BARBA, A., MARCOS, C., CAMARA, M.A., SALAS, F. & GUTIERREZ, J.M. (2000). — Presence of pesticides throughout trophic compartments of the food web in the Mar Menor lagoon (SE Spain). *Mar. Poll. Bull.*, 40 : 140-151.
- PETERLE, T.J. (1969). — DDT in antarctic snow. *Nature*, 224 : 620.
- PORTE, C. & ALBAIGÉS, J. (1993). — Bioaccumulation patterns of hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in bivalves, crustaceans, and fishes. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, 26 : 273-281.
- RAMADE, F. & THYBAUD E. (1985). — Écotoxicologie des composés organohalogénés. *Actes du « Colloque Insectes, Insecticides, Santé »* : 469-485.
- RAMADE, F. (1977). — *Écotoxicologie*. Masson, Paris, p. 77 et suiv.
- RAMADE, F. (1993). — Ecological and environmental problems in the Mediterranean countries. *Sci. Total Environ.*, supplement, vol. 1 : 97-107.
- RAMADE, F. (1997). — *La Conservation des Ecosystèmes Méditerranéens*. PNUE - Plan d'Action pour la Méditerranée - Les fascicules du Plan Bleu. Economica, Paris, 2^{ème} éd., p. 71-77 et 90-91.
- RAMADE, F. (1998). — *Dictionnaire Encyclopédique des Sciences de l'Eau*. Ediscience International, Paris, p. 343, 415 et suiv.
- RAMADE, F. (2000). — *Dictionnaire encyclopédique des pollutions*. Ediscience International, Paris, 710p.
- ROCHE, H., DORVAL, J., BUET, A., FREITAS, S. & RAMADE, F. (2001). — Contamination des anguilles de la Réserve Naturelle de Camargue par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et recherche de biomarqueurs. *Ichthyophysiol. Acta*, 23 : 71-85.
- ROCHE, H., BUET, A. & RAMADE, F. (2002). — Accumulation of lipophilic microcontaminants and biochemical responses in eels from the Biosphere Reserve of Camargue. *Ecotoxicology*, vol. 11 : 155-164.
- ROCHE, H., BUET, A., JONOT, O. & RAMADE, F. (2000). — Organochlorine residues in european eel (*Anguilla anguilla*), crusian carp (*Carassius carassius*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*) from Vaccarès lagoon (French National Reserve of Camargue) - Effects on some physiological parameters. *Aquat. Toxicol.*, 48 : 443-459.
- RUSSELL, R.W., GOBAS, F.A.P.C. & HAFFNER, G.D. (1999). — Role of chemical and ecological factors in trophic transfer of organic chemicals in aquatic food webs. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18 : 1250-1257.

- RUUS, A., UGLAND, K.I., ESPELAND, O. & SKAARE, J.U. (1999). — Organochlorine contaminants in a local marine food chain from Jarfjord, Northern Norway. *Mar. Environ. Res.*, 48 : 131-146.
- SIKKA, H.C., STEWARD, A.R., ZALESKI, J., KANDASWAMI, C., RUTKOWSKI, J.P., KUMAR, S. & GUPTA, R.C. (1993). — Comparative metabolism of benzo(a)pyrene by the liver microsomes and freshly isolated hepatocytes of brown bullhead and carp, in Garrigues, P. & Lamotte, M. (eds), *Polycyclic Aromatic Compounds*. Gordon, Breach Sci. Publ., Iverdon, Suisse, 1087-1094.
- SUBRAMANIAN, B.R., TANABE, S., HIDAKA, M. & TATSUKAWA, R. (1983). — DDT and PCB isomers and congeners in antarctic fish. *Arch. Envir. Toxicol. Chem.*, 12 : 367-369.
- TULONEN, J. & VUORINEN, P.K. (1996). — Concentrations of PCBs and other organochlorine compounds in eels (*Anguilla anguilla* L.) of the Vanajavesi watercourse in southern Finland, 1990-1993. *Sci. Total Environ.*, 187 : 11-18.
- TUVIKENE, A. (1995). — Responses of fish to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Ann. Zool. Fenn.*, 32 : 295-307.
- WALKER, C.H. (1990). — Persistent pollutants in fish-eating sea birds-bioaccumulation, metabolism and effects. *Aquat. Toxicol.*, 17 : 293-324.