

## RECHERCHES ÉCOTOXICOLOGIQUES SUR LA CONTAMINATION DES PEUPELEMENTS DE POISSONS DE LA RÉSERVE NATURELLE NATIONALE DE CAMARGUE PAR LES POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS

Hélène ROCHE<sup>1</sup>, Astrid BUET<sup>1</sup> & François RAMADE<sup>1</sup>

### SUMMARY

Our study was carried out in order to assess the overall contamination by the persistent organic pollutants of eels from a protected coastal wetland, the French National Nature Reserve of Camargue and its effects on the exposed populations. Levels of organochlorine compounds (OC), pesticide residues, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and polychlorobiphenyls (PCB) were analyzed in organs of eels, collected from the Vaccarès Lagoon. The PAH and OC contamination proved to be widespread but fluctuating. They showed in the average, especially for PCB, a very high level. The tissular distribution of PAH displayed a shift during the 4 years. The overall biological load has decreased in the liver and the gall from 1998 to 2000. The naphthalene was the most abundant in 1998 but after 1999 its average content in fishes decreases and the most frequent PAH are of molecules with 3 to 5 benzene cycles. The lindane load, which peaked prior to 1998 when its use was banned in France, has decreased in 1999, though it leveled at rates similar to the one's of *pp'*-DDE 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. By the way of a multivariate analysis, it may be concluded that three hepatic activities involved in the protection against oxyradicals: catalase seem to be most sensitive biomarkers. The muscle and gill ATPases as well as the muscle and brain AChE must be considered as more significant biomarkers than the biotransformation enzymes.

### RÉSUMÉ

Le programme de recherches que nous avons développé dans la Réserve Naturelle Nationale de Camargue a eu pour objectif d'estimer l'importance de la contamination des anguilles et d'en décrire les conséquences écotoxicologiques. L'évaluation de la charge tissulaire en polluants organiques persistants (POP) : pesticides organochlorés (OC), hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et polychlorobiphényles (PCB), a été réalisée chez des anguilles prélevées dans l'étang de Vaccarès. La contamination en HAP et en OC est systématique mais fluctuante. L'imprégnation générale en HAP régresse dans la bile et le foie de 1998 à 2000. Dès 1999, la concentration en naphthalène, molécule dominante en 1998, diminue nettement et les HAP les plus fréquemment détectés sont alors des molécules à 3 à 5 cycles benzéniques. Les concentrations en OC sont anormalement élevées notamment celles en PCB chez certains individus capturés à la fin du printemps. La charge en lindane, très élevée avant son interdiction (1998), diminue en 1999 mais s'est remise à croître en 2000. Les concentrations hépatiques et musculaires en dieldrine et en HCB ont tendance à augmenter au cours de l'année 2000. Par ailleurs, trois activités enzymatiques hépatiques impliquées dans la défense contre les espèces réactives de l'oxygène se sont avérées être des biomarqueurs sensibles d'exposition à des POP. Par ailleurs les ATPases musculaires et branchiales et l'acétylcholinestérase (AChE) présentent une plus grande significativité, en terme de biomarqueurs, que les enzymes de biotransformation.

### INTRODUCTION

Dès 1996, nous avons développé un programme de recherches écotoxicologiques dans la Réserve Naturelle Nationale de Camargue (RNC). Ce programme,

---

<sup>1</sup> Université de Paris-Sud XI, CNRS UMR 8079 Écologie, Systématique et Évolution, Bât 362, F-91405 Orsay cedex. E-mail : [helene.roche@ibaic.u-psud.fr](mailto:helene.roche@ibaic.u-psud.fr)

qui comporte plusieurs volets d'investigations, a pour objet général l'étude de la contamination des réseaux trophiques aquatiques de cette réserve par des polluants organiques persistants (POPs) et des effets de l'exposition à ces derniers sur les organismes dominants de ses principaux peuplements aquatiques. En effet, divers facteurs de perturbations menacent l'intégrité de cette réserve (Ramade, 1993). Certains, dont l'impact est majeur, sont associés à une modification du régime des eaux, liée aux activités rizicoles, et se traduisent à la fois par une tendance à la dessalure des biotopes aquatiques et à l'apport permanent de micropolluants, dû à l'usage intensif de pesticides. De plus, la RNC est soumise à un transfert non négligeable d'aéropolluants provenant du complexe pétrochimique de Fos-sur-mer et de l'agglomération marseillaise (Ramade, 2000). Les recherches exposées ici concernent essentiellement l'étang de Vaccarès, qui occupe la partie centrale de cette zone humide, ce qui en fait l'ultime réceptacle des effluents rejetés par les rizières. Il comporte, outre la détermination de l'imprégnation des espèces, un volet méthodologique relatif à la biosurveillance des biocénoses exposées, et fondé sur l'usage de biomarqueurs (Roche *et al.*, 2002, 2003a, b).

Le mélange complexe de micropolluants qui affecte la réserve est surtout constitué de substances lipophiles susceptibles d'être concentrées dans les tissus des organismes. Il s'agit de composés organochlorés (OC) - pesticides et polychlorobiphényles (PCB) - et d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).

Une évaluation écotoxicologique a donc été réalisée chez l'anguille, espèce dominante des peuplements de poissons des habitats lagunaires de Camargue, qui représente une importante ressource halieutique pour la région et constitue une excellente espèce sentinelle, du fait de sa sédentarité et de sa capacité à bioconcentrer les polluants persistants. Nous avons donc déterminé le degré d'imprégnation des anguilles par les POP et tenté d'évaluer des risques liés à leur présence. La démarche expérimentale mise en oeuvre a consisté à mettre en évidence des relations entre la concentration tissulaire et des paramètres biologiques critiques intégrant des réponses physiologiques ou biochimiques compensatoires et des processus de biodégradation des polluants. Elle devrait servir de base à la définition et à la validation de biomarqueurs dans les écosystèmes naturels (Flammarion *et al.*, 2001). Plusieurs processus métaboliques ont été abordés. Il s'agit des activités de biotransformation (EROD, UDPGT et GST) hépatiques (Cavanagh *et al.*, 2000 ; Pacheco & Santos, 2001) et des activités enzymatiques antioxydantes (SOD, glutathion-peroxydases totales (GPx) et sélénium-dépendantes (Se-GPx) et catalases). Le choix de ces enzymes résulte du fait que divers travaux ont validé la mesure chez les poissons, tant au niveau sanguin qu'au niveau hépatique en tant que biomarqueurs aspécifiques (Roche & Bogé, 1996, 2000). Ont été aussi examinés des paramètres impliqués dans le métabolisme énergétique : teneurs en substrats et éléments constitutifs tissulaires et activité des ATPases musculaires et branchiales. Leur localisation cellulaire en fait, en outre, d'excellents marqueurs membranaires (Roche *et al.*, 2002). D'autres activités membranaires, les acétylcholinestérases (AChE) musculaires et cérébrales, cibles privilégiées des insecticides organophosphorés et des carbamates (Kirby *et al.*, 2000), ont également été mesurées.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

148 anguilles (*Anguilla anguilla*) ont été collectées dans l'étang de Vaccarès. Les composés OC - lindane, dieldrine, *pp'*-DDE, hexachlorobenzène (HCB) - et un

groupe de 23 congénères de PCB ont été dosés dans les lipides musculaires et hépatiques. Ces OC ont été identifiés et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse équipée d'un détecteur à capture d'électrons.

Les concentrations de 16 molécules d'HAP (naphthalène, acénaphthylène, acénaphène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(*a*)anthracène, chrysène, benzo(*b*)fluoranthène, benzo(*k*)fluoranthène, benzo(*a*)pyrène [B(*a*)P], indéno(1,2,3-*cd*)pyrène, dibenzo(*ah*)anthracène et du benzo(*ghi*)pérylène) ont été évaluées dans la bile et les lipides musculaires et hépatiques au moyen d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse quadripolaire HP 5972, (GC/MS) et équipé d'un détecteur à ionisation à impact électronique.

Les méthodes biochimiques de mesure des éléments constitutifs tissulaires et des activités enzymatiques ont été largement décrites précédemment (Roche *et al.*, 2002, 2003a, b ; Buet, 2002). Après extraction, purification et séparation des lipides, les protéines et le glycogène ont été extraits et dosés dans le tissu sec délipidé. Les activités EROD et UDPGT ont été évaluées sur la fraction microsomale hépatique par des techniques spectrofluorimétrique et spectrophotométrique, respectivement. Les activités GST, glutathion-peroxydases, SOD et catalase ont été mesurées dans le cytosol hépatique et les hémolysats. Les activités ATPasiques totales et ouabaine-résistantes ont été déterminées dans les branchies et les muscles par dosage colorimétrique du phosphore inorganique libéré après hydrolyse de l'ATP en ADP. L'activité AChE a été déterminée sur un homogénat clarifié de muscle et de cerveau. L'analyse statistique des données a été effectuée avec le logiciel Statview 4.02 (Alsud-France). Les relations entre les paramètres biologiques et les taux d'imprégnation tissulaires par les micropolluants organiques ont été appréciées par des tests de corrélation de Pearson.

## RÉSULTATS

Les 16 HAP considérés comme polluants prioritaires par l'Agence américaine de Protection de l'Environnement et les instances internationales (IRPTC, Union Européenne), ont été retrouvés dans la bile, le foie et le muscle des anguilles. Dans la bile par exemple, l'imprégnation globale établie sur l'ensemble des anguilles montre que parmi les 16 HAP identifiés, 3 présentent des teneurs élevées (Fig. 1). Ce sont, par ordre décroissant de concentration : le phénanthrène, l'acénaphthylène, le fluoranthène. La moyenne de leur concentration est alors comprise entre 2,4  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  bile et 900  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  bile. La teneur en B(*a*)P, HAP lourd et cancérigène, est également non négligeable dans la bile ( $\approx 170 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Les 4 pesticides OC ont été retrouvés dans le foie et le muscle des anguilles avec des concentrations très fluctuantes. Les teneurs en *pp'*-DDE et en HCB sont très variables, souvent indétectables elles peuvent atteindre des valeurs très élevées, alors que le lindane, comme la dieldrine, sont systématiquement présents. Cependant une des caractéristiques de cette contamination se traduit par l'abondance des PCB dans le muscle (Fig. 1).

L'évolution annuelle de l'imprégnation tissulaire des anguilles par 4 types de HAP, choisis en fonction de leur nombre de cycles aromatiques, laisse apparaître une nette diminution des concentrations en HAP entre 1998 et 1999. Cette régression est sensible dans le muscle (Fig. 2) par exemple, lequel est très chargé en naphthalène, phénanthrène et pyrène en 1998, l'imprégnation par le B(*a*)P étant alors modérée.

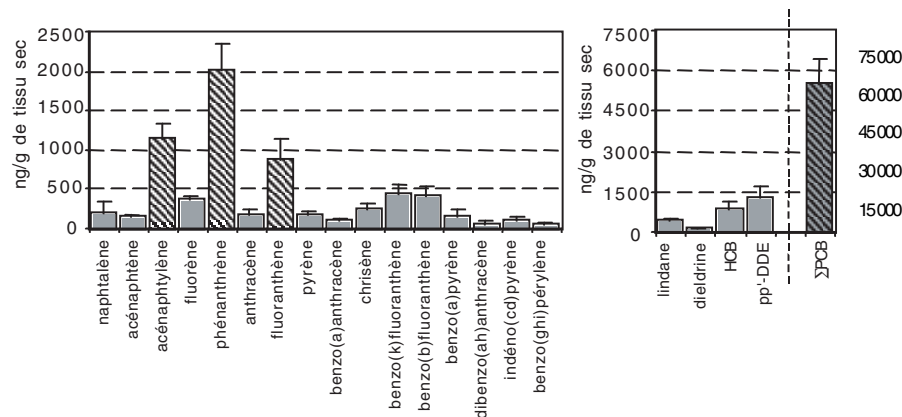


Figure 1. — Identification des HAP présents dans la bile et des OC musculaires chez les anguilles du Vaccarès. Concentration globale en HAP entre 1998 et 1999 (à gauche) : ▨ HAP majoritaires ; ■ HAP minoritaires, et concentration globale en OC entre 1998 et 2000 (à droite) : ■ pesticides organochlorés et ▨ ΣPCB.

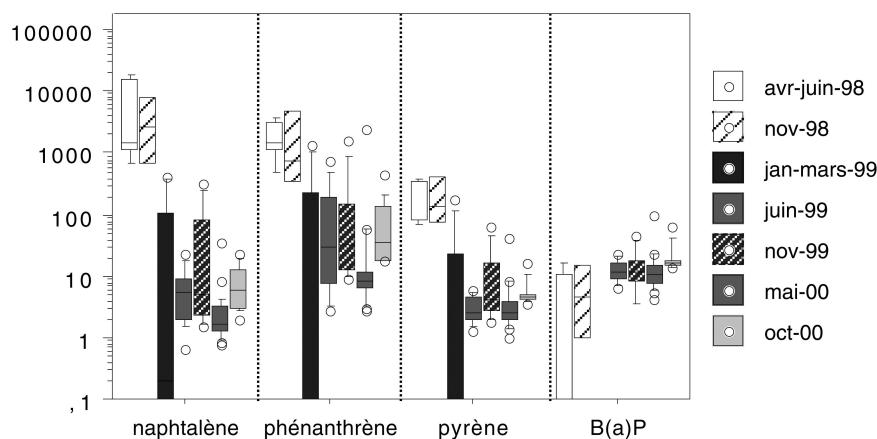


Figure 2. — Évolution temporelle entre avril 1998 et octobre 2000 de l'imprégnation musculaire par 4 HAP représentatifs de la contamination des anguilles. Représentation en boîtes dans lesquelles figurent 95 % de l'ensemble des données, leur moyenne géométrique et les valeurs extrêmes. Les concentrations sont représentées en échelle logarithmique.

Les niveaux d'imprégnation diminuent par la suite, cependant, à partir de mars 1999, la baisse des concentrations moyennes en naphtalène, phénanthrène et pyrène, accuse une grande dispersion des valeurs individuelles encore perceptible en novembre. En 2000, le phénanthrène et le B(a)P, toujours stables, deviennent majoritaires alors que la contamination musculaire globale diminue. Les profils d'imprégnation musculaire (Fig. 3) par le lindane évoluent peu durant la période expérimentale, excepté la survenue de deux phases de diminution perceptibles en

juin 1997 et juin 1999, soit 1 an avant et 1 an après l'interdiction de cette substance. Les teneurs en dieldrine sont 10 à 100 fois plus faibles que celle du lindane, néanmoins la présence de cet insecticide n'est pas négligeable en particulier chez les individus pêchés en hiver 1999. De plus, celle-ci a tendance à s'amplifier en 2000. Le *pp'*-DDE est ponctuellement très concentré, sa teneur pouvant approcher 1000 ng.g<sup>-1</sup> de tissu sec et l'intensité de cette contamination augmentant durant l'année 2000. Les concentrations en HCB présentent, quant à elles, des variations saisonnières particulièrement transitoires et changeantes. La concentration en PCB dans le muscle des anguilles est toujours très élevée. En juin 1999, la teneur était maximale, cependant une décroissance de juin 1999 à octobre 2000 est manifeste.

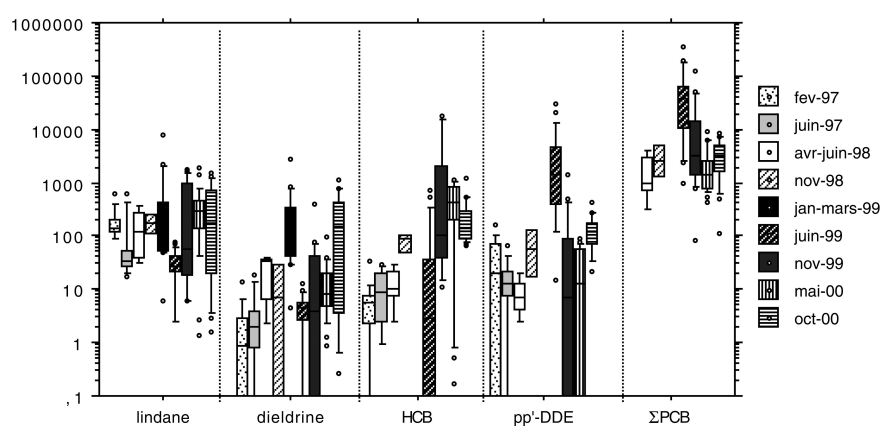


Figure 3. — Profil d'évolution de février 1997 à octobre 2000 de la concentration musculaire en 4 pesticides organochlorés et en PCB chez les anguilles du Vaccarès. Représentation en boîtes dans lesquelles figurent 95 % de l'ensemble des données, leur moyenne géométrique et les valeurs extrêmes. Les concentrations sont représentées en échelle logarithmique.

L'interprétation globale des très nombreuses corrélations entre les niveaux de contamination et les réponses biologiques des anguilles n'est pas aisée, aussi deux options se sont imposées : d'une part la prise en compte de la localisation de l'imprégnation et d'autre part la méthode analytique d'investigation, soit une analyse bivariée associant deux facteurs, un biochimique et un chimique. Les conclusions des tests de corrélation de Pearson sont présentées dans les tableaux I et II. Cette évaluation a été réalisée sur le cycle biennuel 1999-2000. D'une manière générale, il ressort que, sur l'ensemble de l'échantillonnage, l'influence de la localisation tissulaire de la contamination sur l'intensité et le sens de la réponse des paramètres métaboliques constituent des caractères communs aux deux types de contamination.

Parmi les constituants structuraux, les protéines montrent des relations statistiques étroites avec les teneurs en HAP du muscle, du foie ou de la bile (Tableau I), ces corrélations étant plus nombreuses et plus significatives au sein du tissu musculaire. Les concentrations des 3 types de HAP (naphtalène, phénanthrène et pyrène) du foie sont également corrélées préférentiellement avec les teneurs en protéines musculaires. Sur l'ensemble de la population d'anguilles étudiée, les rela-

tions entre les concentrations tissulaires en HAP et les teneurs en lipides neutres et polaires des tissus s'avèrent aléatoires. Inversement, les concentrations en lindane et en dieldrine, substances également lipophiles, sont, en toute logique, corrélées aux taux de lipides et notamment aux réserves lipidiques que constituent les lipides neutres, mais également aux teneurs en phospholipides, à l'exception du lindane dans le foie. Cette dernière remarque est d'autant plus inattendue que le lindane, par sa structure moléculaire proche de celle du phosphatidylinositol, est connu pour son aptitude à être incorporé au niveau membranaire. Cette réponse contradictoire trouve probablement son explication dans la notion d'ancienneté et de chronicité de la contamination reflétée par la nature des tissus analysés. En outre, ce concept est corroboré par les coefficients de corrélation positifs et très significatifs entre le lindane « musculaire » et les phospholipides.

TABLEAU I

*Conclusions du test de corrélation de Pearson entre les paramètres constitutifs et les concentrations tissulaires en HAP et OC. Le nombre de couples de valeurs est compris entre 46 et 135. ↗  $p < 0,05$  ; ↘ sens de corrélation opposé.*

	naphtalène	phénanthrène	pyrène	B(a)P	lindane	dieldrine	pp'-DDE	HCB	ΣPCB
<i>tissu hépatique</i>									
Lipides totaux					↗	↗	↘		↘
Lipides neutres					↗	↗			↘
Phospholipides						↗			
Protéines			↗				↘		↘
<i>tissu musculaire</i>									
Lipides totaux									
Lipides neutres					↘				
Phospholipides				↗	↗	↗			
Protéines	↗	↗	↗	↗			↘		↘

A l'inverse, au niveau hépatique, les relations statistiques affectant les concentrations des autres composés OC (PCB et pp'-DDE) avec les teneurs lipidiques totales et neutres présentent un coefficient négatif, signifiant l'absence de relation entre l'abondance des graisses et l'amplitude de l'imprégnation. Ce phénomène est fréquent lorsque, dans un écosystème, divers modes de pollution se conjuguent, tels le déversement direct de polluants, une pollution chronique ou une contamination par bioamplification.

Les enzymes de conjugaison hépatiques de la phase II du processus de biotransformation se révèlent plus pertinentes que l'EROD en tant que biomarqueur (Tableau II).

TABLEAU II

Conclusions du test de corrélation de Pearson entre les activités enzymatiques et les concentrations tissulaires en HAP et OC. Le nombre de couples de valeur est compris entre 46 et 135. ↗  $p < 0,05$  ; ↘ sens de corrélation opposé.

	Concentrations biliaires				Concentrations hépatiques								Concentrations musculaires									
	naphthalène	phénanthrène	pyrène	B(a)P	naphthalène	phénanthrène	pyrène	B(a)P	lindane	dieldrine	pp'-DDE	HCB	∑PCB	naphthalène	phénanthrène	pyrène	B(a)P	lindane	dieldrine	pp'-DDE	HCB	∑PCB
<i>activités hépatiques</i>																						
EROD																						
UDPGT			↘																			
GST		↘	↘																			
GPx																						
SeGPx																						
Catalase																						
SOD																						
<i>activités érythrocytaires</i>																						
GPx																						
SeGPx																						
Catalase																						
SOD																						
<i>activités branchiales</i>																						
ATPases totales																						
Na,K-ATPases																						
ATPases totales																						
<i>activités musculaires</i>																						
ATPases totales																						
Na,K-ATPases																						
AChE																						
<i>activité cérébrale</i>																						
AChE																						

En effet, les activités GST et UDPGT sont significativement corrélées avec les concentrations hépatiques et musculaires du B(a)P et/ou du pyrène, et négativement avec les concentrations biliaires. Elles présentent également des relations positives avec la concentration en lindane hépatique et/ou musculaire et en HCB hépatique alors que les seules relations significatives avec l'activité EROD concernent l'HCB et le pp'-DDE, substances dont l'abondance intra-tissulaire est

réduite. De manière inattendue, les rares corrélations de ces activités enzymatiques avec les teneurs en PCB sont négatives et parfois peu significatives indiquant l'inadaptation de ces activités pour caractériser cette contamination.

Les activités antioxydantes jouent un rôle majeur dans la réponse biologique à une contamination par les HAP et les OC ; en effet, les corrélations sont nombreuses et souvent très significatives ( $p < 0,0001$ ), mais quelquefois négatives. On a pu relever ainsi des corrélations très significatives entre le naphthalène, le phénanthrène et le pyrène musculaires et l'ensemble des enzymes antioxydantes ; on a également observé la stimulation de la Se-GPx hépatique par le lindane et la dieldrine, ou celles de la catalase et des SOD par les PCB et/ou le *pp'*-DDE. Les enzymes érythrocytaires sont aussi sollicitées, entre autres les SOD, par la présence de PCB, alors que les glutathion peroxydases présentent parallèlement une activité diminuée et que la catalase est stimulée par la dieldrine et l'HCB. En outre, aucune relation n'a été détectée entre les concentrations tissulaires en B(a)P et ces activités enzymatiques.

Les teneurs en HAP des tissus, à l'exception du B(a)P, semblent fréquemment corrélées aux activités enzymatiques membranaires ATPases et AChE, dans le sens d'une activation pour les premières et d'une inhibition pour la seconde. Contrairement aux HAP les activités ATPasiques branchiales et musculaires se montrent très peu corrélées avec les concentrations en OC. En revanche, les activités AChE musculaire et cérébrale sont significativement et alternativement inhibées par l'ensemble des OC mesurés, à l'exception de l'HCB et des PCB « hépatiques ».

## DISCUSSION

Les exigences statutaires relatives aux réserves naturelles de Catégorie I des Nations Unies, ainsi que celles relatives aux Réserves de Biosphère - lesquelles stipulent que la recherche constitue une des missions essentielles de ce type d'aires protégées - nous ont conduits à lancer un programme de recherche extensif consacré à l'impact écotoxicologique des micropolluants sur les communautés aquatiques de cette zone humide protégée en collaboration avec les gestionnaires de la Réserve Nationale de Camargue.

Ces recherches écotoxicologiques, entreprises en particulier dans les populations d'anguilles, ont eu pour objectif de déterminer l'importance et l'impact de la contamination par les principaux polluants organiques persistants (POP) chez ces poissons prédateurs situés vers le sommet du réseau trophique aquatique. Les charges tissulaires (foie, muscle et/ou bile) en substances organochlorées et en hydrocarbures aromatiques polycycliques chez des anguilles collectées entre 1997 et 2000 dans l'étang de Vaccarès ont été évaluées.

Nos recherches ont hélas ! montré que la contamination de ces poissons des habitats aquatiques de la réserve est systématique quels que soient le lieu de prélèvement ou la saison et qu'elle s'avère très fluctuante. Nous avons précédemment montré l'existence de variations inter-sites pour les pesticides OC, mais elles étaient rares pour les PCB et les HAP (Roche *et al.*, 2000 ; 2002). Cette observation conforte l'hypothèse selon laquelle l'apport des pesticides se fait de façon prédominante par les eaux d'irrigation des zones agricoles voisines notamment des rizières. D'autre part il se confirme que le transfert des HAP et PCB emprunte essentiellement la voie atmosphérique (Buet, 2002). Les concentrations, particulièrement en



PCB, se sont avérées anormalement élevées, pouvant excéder la centaine de  $\mu\text{g}$  par g de poids sec chez quelques individus capturés à la fin du printemps 1999. La charge en lindane, très élevée avant son interdiction (juillet 1998), diminue dès 1999 pour atteindre un taux proche de celui du *pp'*-DDE, lequel demeure significatif. Cependant un accroissement de la concentration en lindane a été ponctuellement relevé au cours de l'année 2000. Les concentrations hépatiques et musculaires en dieldrine et en HCB ont, par ailleurs, tendance à augmenter au cours de l'année 2000. Les profils d'imprégnation tissulaire des anguilles par les HAP les plus représentatifs, évoluent au cours des quatre années expérimentales. L'imprégnation générale régresse dans la bile, le muscle et le foie de 1998 à 2000. Entre 1997 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 B(a)P demeure peu concentré.

Les taux de POP tissulaires sont rarement corrélés à la teneur en lipides des tissus de stockage, par ailleurs leurs concentrations dans les fractions lipidiques (neutres et polaires) présentent une grande variabilité individuelle, arguments essentiels pris en compte pour l'interprétation des modalités de contamination comme nous l'avions montré précédemment (Roche *et al.*, 2002).

Parmi les micropolluants analysés, certains sont responsables de lésions hépatiques pouvant conduire à des perturbations de l'homéostasie, ils sont de puissants inducteurs des enzymes microsomales hépatiques, ont des effets génotoxiques et carcinogènes. Le principe de la mise en oeuvre des biomarqueurs dans des populations et des peuplements naturels, repose sur la détection de déséquilibres biochimiques ou physiologiques susceptibles de révéler précocement une exposition à de faibles concentrations de polluants. On analyse le plus souvent les réactions métaboliques qui jouent un rôle dans la détoxification ou dans l'adaptation de l'organisme (Depledge *et al.*, 1993 ; Agradi *et al.*, 2000 ; Roche *et al.*, 2003a). Cependant, en raison des caractéristiques de la contamination, les recherches de biomarqueurs sont ici orientées vers une analyse pluri-paramétrique qui inclut d'autres processus métaboliques. Il s'agit de paramètres constitutifs et « énergétiques », d'enzymes hépatiques et érythrocytaires impliquées dans le métabolisme des radicaux libres de l'oxygène et de marqueurs enzymatiques membranaires. Les premiers résultats tendent à montrer que des indicateurs métaboliques (comme les ATPases), la catalase hépatique, des enzymes glutathion-dépendantes et les marqueurs membranaires (Na,K-ATPases et acétylcholinestérase) présentent une plus grande significativité, en terme de biomarqueurs, que les enzymes de biotransformation, alors que ces dernières, notamment l'EROD, sont fréquemment utilisées dans les programmes de biomonitoring (Galgani *et al.*, 1992 ; Van der Oost *et al.*, 1996). Elles sont, cependant, plus révélatrices d'un stress chimique aigu. C'est pourquoi, le choix d'indicateurs biologiques symptomatiques des effets à long terme s'oriente vers des marqueurs significatifs de l'intégrité des membranes (Antunes-Madeira & Madeira, 1989 ; Roche *et al.*, 2002).

Les réponses des activités antioxydantes hépatiques sont nombreuses, mais leur sens est inconstant. Les Se-GPx et la catalase sont les enzymes les plus impliquées. Elles sont soit inhibées par des HAP, soit stimulées par la présence d'OC et de certains HAP « musculaires ». De plus, le niveau d'imprégnation par les PCB est très lié à l'hyperactivité de la catalase. En opposition avec le concept d'inductibilité enzymatique décrit, entre autres, par Livingstone *et al.* (1993), les SOD sont inhibées quand les concentrations en HAP s'élèvent dans le foie et la bile et celles en lindane ou dieldrine dans le muscle, et stimulées quand les HAP sont augmentés

dans le muscle. La contradiction de ces réponses est probablement due au fait que les effets au niveau du métabolisme oxydatif ne sont pas les seuls analysés mais interviennent aussi des modifications potentielles de la synthèse ou de la maturation des protéines.

## CONCLUSION

Les niveaux de contamination par les HAP et les substances OC des populations d'anguilles de la Réserve de Biosphère de Camargue sont très fluctuants. Cependant, une tendance à la diminution des concentrations dans l'organisme des individus échantillonnés semble se manifester. La validation *in situ* de biomarqueurs de contamination par des polluants lipophiles découle de 3 facteurs essentiels qui sont : l'emplacement trophique de l'espèce précisément déterminé au moment de la capture ; la localisation tissulaire de la contamination qui renseigne sur l'ancienneté de l'atteinte et sur sa chronicité et l'état nutritionnel de l'individu, lié à la saison, et dont dépend la charge tissulaire en lipides.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions très vivement Eric Coulet, directeur de la Réserve Naturelle Nationale de Camargue et ses collaborateurs, plus particulièrement François Lescuyer, pour l'assistance matérielle qu'ils nous ont apportée lors de nos déplacements et pour nos travaux sur le terrain ainsi que dans l'échantillonnage des poissons.

## RÉFÉRENCES

- AGRADI, E., BAGA, R., CILLO, F., CERADINI, S. & HELTAI, D. (2000). — Environmental contaminants and biochemical response in eel exposed to Po river water. *Chemosphere*, 41: 1555-1562.
- ANTUNES-MADEIRA, M.C. & MADEIRA, V.M. (1989). — Membrane fluidity as affected by the insecticide lindane. *Biochim. Biophys. Acta*, 982: 161-166.
- BUET, A. (2002). — *Impact biologique des HAP chez l'Anguille européenne. Définition et validation de biomarqueurs in situ*. Thèse de Doctorat, Université Paris-Sud.
- CAVANAGH, J.E., BURNS, K.A., BRUNSKILL, G.J., RYAN, D.A.J. & AHOKAS, J.T. (2000). — Induction of hepatic cytochrome P-450 1A in pike bream (*Acanthopagrus berda*) collected from agricultural and urban catchments in far North Queensland. *Mar. Pollut. Bull.*, 41: 7-12.
- DEPLEDGE, M.M., AMARAL-MENDES, J.J., DANIEL, B., MOORE, M.N. & PEAKALL, D.B. (1993). — The conceptual basis of the biomarker approach. Pp. 15-29 in Peakall, D.B. & Shugart, L.R. (eds), *Biomarkers, Research and Application in the assessment of environmental health*. H68, Springer, Berlin.
- FLAMMARION, P., DEVAUX, A. & GARRIC, J. (2001). — Biochemical markers of environmental contamination in continental aquatic ecosystems. Examples of use and prospects for management. *Bull. Franç. Pêche Pisc.*, 357-360: 209-226.
- GALGANI, F., BOCQUENÉ, G. & CADIU, Y. (1992). — Evidence of variation in cholinesterase activity in fish along a pollution gradient in the North Sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 91: 77-82.
- KIRBY, M.F., MORRIS, S., HURST, M., KIRBY, S.J., NEALL, P., TYLOR, T. & FAGG, A. (2000). — The use of cholinesterase activity in flounder (*Platichthys flesus*) muscle tissue as a biomarker of neurotoxic contamination in UK estuaries. *Mar. Poll. Bull.*, 40: 780-791.
- LIVINGSTONE, D.R., LEMAIRE, P., MATTHEWS, A., PETERS, L., BUCKE, D. & LAW R. (1993). — Pro-oxidant, antioxidant and 7-Ethoxyresorufin O-Deethylase (EROD) activity responses in liver of Dab

- (*Limanda limanda*) exposed to sediment contaminated with hydrocarbons and other chemicals. *Marine Pollut. Bull.*, 26: 602-606.
- PACHECO, M. & SANTOS, M.A. (2001). — Biotransformation, endocrine, and genetic responses of *Anguilla anguilla* L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters. *Ecotox. Environ. Saf.*, 49: 64-75.
- RAMADE, F. (1993). — Environmental and ecotoxicological problems in the Mediterranean countries. *Science Total Environ.*, Suppl. 1: 97-107.
- RAMADE, F. (2000). — *Dictionnaire encyclopédique des pollutions*. Ediscience International, Paris.
- ROCHE, H. & BOGÉ, G. (1996). — Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication. *Mar. Environ. Res.*, 41: 27-43.
- ROCHE, H. & BOGÉ, G. (2000). — *In vivo* effects of phenolic compounds on blood parameters of a marine fish (*Dicentrarchus labrax*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 125C: 345-353.
- 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 Vaccares lagoon (French National Reserve of Camargue) - Effects on some physiological parameters. *Aquat. Toxicol.*, 48: 443-459.
- ROCHE, H., BUET, A. & RAMADE, F. (2002). — Accumulation of lipophilic micro-contaminants and biochemical responses in eels from the Biosphere Reserve of Camargue. *Ecotoxicology*, 11: 9-18.
- ROCHE, H., BUET, A. & RAMADE, F. (2003a). — Mise en évidence et validation de biomarqueurs écotoxicologiques dans la population d'anguilles d'un étang de la Réserve Naturelle Nationale de Camargue, le Vaccarès, exposée à des polluants organiques persistants. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, 58: 127-141.
- ROCHE, H., BUET, A., TIDOU, A. & RAMADE, F. (2003b). — Contamination du peuplement de poissons d'un étang de la Réserve Naturelle Nationale de Camargue, le Vaccarès, par des polluants organiques persistants. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, 58: 77-102.
- VAN DER OOST, R., GOKSOYR, A., CELANDER, M., HEIDA, H. & VERMEULEN, N.P.E. (1996). — Biomonitoring of aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*) - II. Biomarkers: pollution-induced biochemical responses. *Aquat. Toxicol.*, 36: 189-222.