



**UNIVERSITÉ DE  
MONTPELLIER**



**Faculté des Sciences de l'Université de Montpellier**

**Diplôme d'Université (D.U) : Restauration écologique des petits fonds marins  
côtiers**

Année 2024

**Mémoire**

# **Impact des HAP sur la faune piscicole présente dans les nurseries artificielles portuaires**

Clément Colomb

Date de soutenance : le 03 juin 2024

Encadré par :

Philippe Lenfant

Jury :

Gilles Lecaillon

Julie Deter

Pierre Boissery

## Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Julie et tous les intervenants du D.U, sans qui rien de toute cette expérience n'aurait été possible. Merci de nous avoir permis d'accéder à toutes ces connaissances dans une ambiance sérieuse et conviviale.

Je tiens également à remercier Philippe, mon tuteur universitaire, qui a su me porter d'excellents conseils, me soutenir et m'aiguiller sur mon sujet et la rédaction du mémoire.

Merci à ma famille et à mes amis pour leur soutien infaillible. Leslie et Coryse, merci beaucoup pour le temps passé sur la relecture. Coryse, Dylan et Bixente, merci d'avoir été là pour me donner de si précieux moments de repos et de détente.

Enfin, une dernière pensée à mes camarades du D.U qui ont su le rendre encore plus exceptionnel, j'espère que l'on restera en contact et que l'on aura l'occasion de travailler ensemble.

## Résumé

Les zones côtières caractérisées par une grande richesse biologique se sont vues supprimer leur rôle de nurserie en raison de l'anthropisation. Les nurseries ont pour rôle d'accueillir les juvéniles, notamment de poissons, afin qu'ils puissent se développer et renouveler les populations (stock). En réponse à la perte de ce service écosystémique, des nurseries artificielles ont été installées dans les ports.

Néanmoins, les zones portuaires, lieux de tourisme, de transport commercial et de divers rejets urbains sont sujets à diverses pollutions. Parmi les polluants présents dans les ports, est retrouvé une famille de polluants organiques persistants (POP), les HAP. Ces derniers, très majoritairement issus des activités anthropiques, sont porteurs de nombreux risques et conséquences (malformations, cancer, perturbations endocriniennes, ...) sur les organismes, qu'ils soient téléostéens ou humains.

Ainsi, ce mémoire s'intéresse au risque d'insérer dans les populations de poissons un recrutement d'individus contaminés. L'étude ici présente ne s'intéresse qu'aux HAP d'origine humaine (pyrolytique et pétrogénique).

Cette étude s'appuie principalement sur les travaux de recherche de Marc Bouchouca et al., 2018, portant sur la contamination de deux espèces de poissons dans les nurseries face à une pollution aux métaux. Les résultats de cette étude sont positifs et tendent à montrer que le métabolisme rapide des juvéniles de poissons permet de faire face à la contamination métallique sans induire de changement dans les organismes.

Le mémoire a ainsi été construit afin de comparer les HAP et les métaux dans l'objectif d'obtenir des résultats par corrélation quant aux risques que représentent les HAP.

Cependant, l'analyse comparative entre HAP et métaux n'a pas permis d'identifier un risque concret d'une contamination des eaux aux HAP sur la faune piscicole juvénile. Malgré tout, la possibilité qu'il y ait un risque de ne peut être évitée. Donc, devant l'importance d'obtenir des réponses plus précises de la part des scientifiques, la fin de ce mémoire comporte l'élaboration d'un protocole devant permettre de confirmer ou non le risque induit par les HAP sur les juvéniles de poissons.

## Sommaire

<b>1</b>	<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>MATERIELS/METHODES .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>PROPRIETES, LOCALISATIONS ET DEVENIRS DES HAP ET METAUX DANS L'ENVIRONNEMENT ET LES ORGANISMES DE POISSONS AU STADE JUVENILE .....</b>	<b>4</b>
3.1	LES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP) .....	4
3.1.1	<i>Structures et propriétés des HAP.....</i>	4
3.1.2	<i>Origines et localisations des HAP dans la colonne d'eau .....</i>	5
3.1.3	<i>Biodisponibilité et voies d'absorption :.....</i>	7
3.1.4	<i>Devenirs et zones de stockage des HAP dans les poissons .....</i>	8
3.2	LES METAUX .....	9
3.2.1	<i>Structures et propriétés des métaux .....</i>	9
3.2.2	<i>Origines et localisations dans la colonne d'eau des métaux .....</i>	10
3.2.3	<i>Biodisponibilité et voies d'absorption.....</i>	10
3.2.4	<i>Devenirs et zones de stockage des métaux dans les poissons .....</i>	11
<b>4</b>	<b>MECANISMES ET EFFETS DE CONTAMINATION DES HAP SUR LES JUVENILES DE POISSONS .....</b>	<b>12</b>
4.1	EFFETS INTERNES (CHIMIQUES) DES HAP SUR LES JUVENILES DE POISSONS.....	13
4.1.1	<i>Osmorégulation.....</i>	13
4.1.2	<i>Métabolites .....</i>	13
4.1.3	<i>Reproduction .....</i>	13
4.1.4	<i>Système endocrinien.....</i>	13
4.1.5	<i>Génotoxicité et tumorigénèse .....</i>	14
4.1.6	<i>Survie .....</i>	15
4.2	EFFETS EXTERNES (PHYSIQUES) DES HAP SUR LES JUVENILES DE POISSONS .....	15
4.2.1	<i>Malformation .....</i>	15
4.2.2	<i>Réduction de la taille des branchies .....</i>	15
4.2.3	<i>Croissance .....</i>	16
4.3	EFFETS COMPORTEMENTAUX .....	16
<b>5</b>	<b>BILAN ET PROPOSITION D'UN PROTOCOLE.....</b>	<b>17</b>
5.1	BILAN DE L'ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....	17
5.2	PROPOSITION D'UN PROTOCOLE .....	17
5.2.1	<i>Organismes d'étude.....</i>	17
5.2.2	<i>Sites d'étude .....</i>	17
5.2.3	<i>Conditions environnementales du milieu.....</i>	19
5.2.4	<i>Méthode d'échantillonnage et de transfert.....</i>	20
5.2.5	<i>Dosage des HAP dans les sites d'études .....</i>	20
5.2.6	<i>Dosage des HAP dans la chair des poissons.....</i>	21
5.2.7	<i>Croissance des juvéniles de Diplodus.....</i>	21
5.2.8	<i>État morphologique des juvéniles de Diplodus .....</i>	23
5.2.9	<i>Reproduction .....</i>	23
5.2.10	<i>Analyse stéroïdienne des individus.....</i>	24
5.2.11	<i>Test statistique .....</i>	24
<b>6</b>	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>25</b>
<b>7</b>	<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>26</b>

## Tables des figures

FIGURE 1 : EXEMPLES DE HAP, BENZO[A]PYRENE : B[A]P ; 7,12-DIMETHYLBENZO[A]ANTHRACENE : DMBA ; PYRENE : PYR ; FLUORANTHENE : FL (DAOUK, 2012). .....	4
FIGURE 2 : SCHEMA DES DIFFERENTES SOURCES DE CONTAMINATION (DAOUK, 2012). .....	5
FIGURE 3 : TRANSFERT DES HAP A TRAVERS LES DIFFERENTS COMPARTIMENTS (BIHANIC, 2013). .....	7
FIGURE 4 : VOIE D'ABSORPTION, DE DISTRIBUTION ET D'ELIMINATION DES TOXIQUES CHEZ LES POISSONS. LES VOIES D'ABSORPTION (INGESTION, RESPIRATION, CUTANEE ET MATERNELLE) SONT ENCADREES EN ORANGE ET LES SITES D'ACCUMULATION (ORGANES POTENTIELS D'ACCUMULATION DES XENOBIOTIQUES) SONT ENCADRES EN NOIR, LES FLECHES INDIQUENT LE CHEMIN DE CIRCULATION D'UN XENOBIOTIQUE CHEZ LES TELEOSTEENS. LES FLECHES PLEINES INDIQUENT UN TRANSFERT DANS L'ORGANISME ET LES FLECHES EN POINTILLEES INDIQUENT UNE EXCRETION (DAOUK, 2012).....	8
FIGURE 5 : SCHEMA GENERAL DU PRINCIPE DE PERTURBATION ENDOCRINIENNE. A- RECEPTEUR ET GENE CIBLE DANS UNE CELLULE. B- EN SITUATION NORMALE, L'HORMONE SE LIE A SON RECEPTEUR ET ACTIVE LA TRANSCRIPTION DU GENE CIBLE ET LA TRADUCTION DES PROTEINES. C- LES ANTAGONISTES VONT BLOQUER L'ACTION DE L'HORMONE NATURELLE. D- LES AGONISTES VONT MIMER L'ACTION DE L'HORMONE ET ACTIVER LE RECEPTEUR A DES MOMENTS INADEQUATS (DAOUK, 2012). .....	14
FIGURE 6 : LOCALISATION DES QUATRE SITES (●) ECHANTILLONNES DANS LA BAIE DE TOULON (MEDITERRANEE NORD-OUEST) (BOUCHOUCHA ET AL., 2018).....	18
FIGURE 7 : CARTE DE LA LOCALISATION DES DIFFERENTS SITES D'ETUDE (CLEMENT COLOMB, MAI 2024) .....	19
FIGURE 8 : NOUVELLE ECHANTILLONNEUR DGT POUR LA MESURE DE HAP DANS LES SEDIMENTS (RONG ET AL., 2024). .....	21
FIGURE 9 : PHOTOGRAPHIE EN LUMIERE TRANSMISE D'UNE LAME MINCE (COUPE TRANSVERSALE) D'UN OTOLITHE DE JUVENILE DE DAURADE ROYALE INDIQUANT LES STRUCTURES UTILISEES POUR DISTINGUER LES VIES LARVAIRE ET JUVENILE DU POISSON : (1) NUCLEUS, (2) NOYAU ACCESSOIRE REPRESENTANT UN CHANGEMENT DE L'AXE DE CROISSANCE (3) BORD DE L'OTOLITHE CORRESPONDANT A LA CAPTURE DU POISSON. V : VENTRAL ; D : DORSAL ; PROX : PROXIMAL ; DIST : DISTAL (TOURNOIS, 2013). .....	22

## 1 Introduction

La surface de la terre est essentiellement recouverte par les mers et les océans (71%) (Lenfant et al., 2016). Cet écosystème, avec plus de 230 000 espèces, est une grande source de biodiversité (Coll et al., 2010). Cette richesse biologique est plus particulièrement localisée sur les régions littorales, lieu de convergences et d'interactions entre terre et mer (Kertous and Bouallegue, 2023).

La vitalité de ces écosystèmes littoraux revêt une grande importance pour l'avenir de l'humanité (Pioch, 2021). En effet, ils possèdent de nombreux services écosystémiques, dont celui de nurseries. Une nursery est un endroit où l'abondance des individus et des espèces est supérieure aux autres endroits, où le taux de survie y est également supérieur, une zone assurant la croissance et générant une migration. Elle permet de fournir un recrutement pour les populations et ainsi de renouveler les stocks de poissons pour l'activité de pêche (Beck et al., 2001).

Néanmoins, étant actuellement dans l'ère géologique de l'Anthropocène, ces écosystèmes sont soumis, en raison de l'anthropisation, à des pressions de plus en plus fortes. Il est notamment prévu, au niveau mondial, une atteinte pour 2028 d'une superficie de 38 400 km<sup>2</sup> d'infrastructure maritime, soit une augmentation de 20% en comparaison à 2018. Plus localement, les zones littorales françaises, lieu à forte vocation touristique et dans certains cas industriels, sont caractérisées par une densité de population élevée dont les tendances sont à l'accroissement. Il en résulte ainsi une artificialisation du littoral dont la conséquence est la détérioration des fonds marins et la destruction des habitats des petits fonds côtiers et, par extension, des zones de nurseries (Lorance and Leonardi, 2012; Lenfant et al., 2016; Johnson et al., 2017; Pioch, 2021).

Ainsi, certaines zones de nurseries ont été progressivement remplacées par des infrastructures portuaires et côtières. Afin de remédier à la perte de fonction de nursery, certains bureaux d'études ont proposé des solutions dans le but de rétablir cette fonction écosystémique. C'est notamment le cas de la société ECOCEAN, qui a proposé la nursery artificielle « Biohut ». Cette solution est appliquée dans les eaux marines des ports.

Cependant, même si cette solution a fait ses preuves et augmente le taux de survie des juvéniles, les écosystèmes marins sont également l'exutoire de la plupart des polluants issus des activités anthropiques. De par leur morphologie et leur fonction, les sites portuaires font partie des lieux les plus propices à l'abondance et à la concentration élevée de nombreux contaminants. De plus, de nombreuses études ont montré la capacité des téléostéens à absorber et à stocker les polluants (Daouk, 2012; Bihanic, 2013; Vignet, 2014). Ainsi, l'intérêt de faire entrer dans l'écosystème, par recrutement, des juvéniles de poissons contaminés peut être questionné. Quelques rares études ont commencé à étudier cette problématique. C'est le cas de l'article de Marc Bouchoucha et al « Growth, condition and metal concentration in juveniles of two *Diplodus* species in ports » qui s'est intéressé à la contamination métallique portuaire des juvéniles de deux espèces de poissons face à la concentration en métaux présente dans les nurseries de la baie de Toulon. Malgré les limites de cette étude, les résultats semblent rassurants avec une contamination dans les muscles des poissons pas plus élevée en situation polluée qu'en situation peu contaminée. Elle n'induit également pas une croissance réduite ou de moins bonne condition pour les juvéniles de poissons. En effet, l'étude a mesuré dans les organismes des concentrations de métaux inférieures aux seuils sanitaires. Ils estiment aussi que cette contamination puisse réduire avant d'atteindre la taille commerciale par effet de biodilution, par croissance somatique dans des milieux naturels peu pollués.

Ils constatent également que l'état physiologique des poissons est similaire entre les sites pollués et non pollués. Ils en viennent ainsi à la conclusion que la pollution environnementale a moins d'influence sur la croissance et l'état physiologique que les facteurs abiotiques (température) et la biodisponibilité des ressources pour les juvéniles du genre *Diplodus*.

Ils expliqueraient ces résultats par une production primaire élevée dans le port qui réduirait la compétition trophique et réduirait le risque de contamination par biodilution, ce qui compenserait les effets négatifs des métaux (Jamet et al., 2005; Altin et al., 2015). Enfin, ces résultats sont renforcés par l'observation d'une croissance similaire de juvéniles de *Diplodus* entre sites pollués, artificiels et naturels.

Cependant, même si cette première étude se veut positive, les ports n'abritent pas qu'une contamination métallique. En effet, il y a également la présence de nombreux autres polluants et il est notamment observé une forte présence de polluants organiques persistants (POP) dans les eaux portuaires (Daouk, 2012; Bihanic, 2013).

Les POP abritent la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). En raison des activités anthropiques, les émissions de HAP sont en constante augmentation dans l'environnement. Selon leur origine, les HAP peuvent être classés en trois catégories (Hansen et al., 2003; Daouk, 2012; Bihanic, 2013) :

- HAP pyrolytiques, ils sont générés à partir de la combustion incomplète à haute température (1500-2000°C) de matière organique comme les biomasses fossiles et le pétrole. Ils sont, pour la plupart, d'origine anthropique. Ce groupe de HAP ont majoritairement un poids moléculaire élevé.
- HAP pétrogéniques, ils sont issus du pétrole et de ses dérivés. Ils sont formés à basse température (150°C) sur de longues périodes de temps. Le pourcentage de HAP dans le pétrole varie en fonction de son origine et de son niveau de raffinement. Ainsi, dans l'environnement, on les retrouve lors de marées noires et dans les ports par une pollution chronique. Contrairement aux pyrolytiques, ceux-ci sont plutôt caractérisés par un faible poids moléculaire.
- HAP diagéniques, ils sont en proportion bien plus faible dans l'environnement que les pyrolytiques et les pétrogéniques. Ils sont issus du processus naturel de la décomposition de la matière organique par des organismes vivants.

Avec une présence de plus en plus forte de HAP dans l'environnement marin, il serait intéressant d'étendre les travaux de Marc Bouchouca et al sur ces polluants. D'autant plus que leurs effets et conséquences sur les organismes aquatiques et humains sont bien connus des scientifiques. Il est notamment possible d'évoquer leur génotoxicité pouvant mener à l'apparition de cancers. Ils peuvent également être à l'origine de malformations, perturber la croissance et la reproduction ou encore avoir un pouvoir de perturbateur endocrinien (Gundersen et al., 1996; Klaunig and Kamendulis, 2004; Daouk, 2012; Gilliers et al., 2012; Agamy, 2013; Vignet, 2014).

Ainsi, la problématique abordée pour ce mémoire est « **Se pourrait-il, comme pour les métaux, que le recrutement de juvéniles de poissons issus de nurseries artificielles exposées au HAP ne présente pas de risque de perturbation dans l'écosystème ?** »

En vue des résultats de Marc Bouchouca et al, je fais l'hypothèse que les juvéniles de *Diplodus* ne présenteront pas une contamination et des effets délétères plus élevés dans un milieu très pollué que dans un milieu non pollué aux HAP.

Après avoir détaillé le Matériels/Méthodes, il sera abordé dans une première partie les propriétés, localisations et devenir des HAP et métaux dans l'environnement marin et les organismes de poissons au stade juvénile, en deuxième partie les mécanismes et effets de contamination des HAP sur les

juvéniles de poissons et enfin en troisième partie un protocole pouvant être mis en place afin d'apporter une réponse à l'hypothèse de départ.

## 2 Matériels/Méthodes

Ce mémoire de recherche a été réalisé en plusieurs phases.

La première phase a été de rechercher des publications avec pour mots-clefs : « nurseries artificielles », « HAP » et « poisson marin ».

Pour couvrir un maximum d'articles, plusieurs combinaisons ont été testées avec l'ajout d'autres termes tels que « bioaccumulation », « biodisponibilité » ou « impact écosystème ». De plus, afin d'élargir le champ de recherche, les différentes combinaisons ont été testées en français et en anglais. Cette première phase n'a pas mené à de résultats probants, en effet, les articles ne lient pas ou mentionnent à peine les nurseries artificielles avec le risque de contamination des organismes.

Cependant, j'ai par la suite été aiguillé sur l'article de Marc Bouchouca et al., 2018, traitant la problématique des nurseries artificielles face à une contamination métallique. J'ai alors décidé de faire le lien entre les métaux et les HAP pour obtenir des réponses.

Ainsi, la deuxième phase a consisté à trouver un maximum d'informations sur les propriétés des HAP et des métaux. Cette recherche s'est appuyée sur des thèses qui, de par leur forme, rassemblent un grand nombre d'informations. Au travers de cette phase, les effets et mécanismes des HAP sur les poissons ont également été identifiés.

Les HAP et les métaux étant assez différents, il était trop difficile d'apporter une conclusion sur le sujet. La troisième phase a alors été mise en place afin de proposer un protocole permettant de répondre à la problématique. L'idée est de s'appuyer fortement sur les travaux de Marc Bouchouca et al., 2018 dans l'objectif de compléter et d'étendre leurs recherches sur le sujet des HAP. Ainsi, des recherches complémentaires ont été réalisées pour créer ce protocole.

Les outils utilisés pour les recherches bibliographiques ont été Google Scholar et le portail bibliographique de l'université des Sciences de Montpellier. Ces deux outils permettent d'accéder à de grandes quantités de publications.

Pour l'étude, il est inutile d'étudier les trois catégories de HAP. En effet, cette étude s'intéresse aux HAP d'origine anthropique, ainsi, les HAP diagéniques n'ont pas été traités.

De plus, pour rester en cohérence avec le rôle d'une nurserie et aussi avec l'article de Marc Bouchouca et al., 2018, il a été décidé de travailler sur les mêmes organismes (*Diplodus*) au stade juvénile.

Cependant, en France, l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques est soumise à une réglementation nationale spécifique. Elle est issue de la directive 2010/63/UE du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2010. Cette directive stipule que la mise à mort doit être réalisée de façon à limiter au maximum la douleur, la souffrance et l'angoisse que les organismes éprouvent.

Le protocole proposé voulant compléter les travaux de Marc Bouchouca et al., 2018, la même méthode de capture et de mise à mort sera proposée. Néanmoins, la réglementation ayant évolué depuis la publication de l'article, le protocole a été adapté à la nouvelle réglementation de la directive.



### 3 Propriétés, localisations et devenir des HAP et métaux dans l'environnement et les organismes de poissons au stade juvénile

#### 3.1 Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

##### 3.1.1 Structures et propriétés des HAP

Les HAP sont des polluants organiques constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène avec au minimum deux cycles aromatiques pouvant être substitués. Les propriétés physico-chimiques et toxiques des HAP sont fonction de leur structure (fig.1).

Bien que toxiques, ils sont heureusement dégradables chimiquement, par photodégradation et biodégradation. En effet, ils sont bio-métabolisables par les organismes, dont ceux des poissons. Celle-ci est fonction de plusieurs facteurs abiotiques comme la température et le pH. Lors de la biodégradation, les métabolites produits par les organismes peuvent être plus toxiques que les molécules d'origine.

Les HAP possèdent plusieurs propriétés, l'une des plus connues est leur hydrophobicité. Celle-ci les rend facilement adsorbables sur les autres particules présentes dans l'eau et permet leur accumulation naturelle dans les sédiments (Daouk, 2012; Bihanic, 2013).

Une autre propriété importante des HAP à prendre en compte dans ce mémoire est celle de la solubilité. Cette dernière est définie par son coefficient de partage octanol-eau exprimé sous la forme de  $\log K_{ow}$ . Explicitement, si la valeur obtenue est négative, alors la substance étudiée est hydrophile et si elle est positive, alors la substance est hydrophobe et lipophile. La plupart des HAP présentent un  $K_{ow} < 5$  et sont peu solubles dans l'eau ( $K_{ow} > 0$ ). En effet, les cycles aromatiques qui les composent sont responsables de cette particularité. Ainsi, plus un HAP possède de cycles, moins celui-ci est soluble dans l'eau et plus il est lipophile (Hylland, 2006; Daouk, 2012).

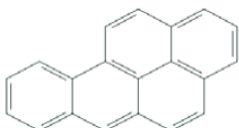

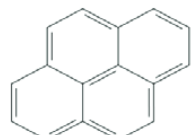
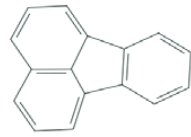
Congénères	Solubilité dans l'eau ( $\mu\text{g/l}$ )	$\text{Log } K_{ow}$	Nombre de cycles	Structures
B[a]P	1,6	6,04	5	
DMBA	140	6,36	4	
Pyr	132	5,18	4	
Fl	201	5,22	4	

Figure 1 : Exemples de HAP, Benzo[a]pyrène : B[a]P ; 7,12-diméthylbenzo[a]anthracène : DMBA ; Pyrène : Pyr ; Fluoranthène : Fl (Daouk, 2012).

En plus du  $K_{ow}$ , les caractéristiques physico-chimiques des HAP sont liées au coefficient de partage organique/eau ( $K_{oc}$ ) et à la masse molaire ( $M$ ).

Le coefficient  $K_{oc}$  indique la préférence d'une molécule à se fixer sur de la matière organique. Plus ce coefficient est élevé, plus la molécule aura tendance à se fixer sur des matrices solides.

Les diverses propriétés de ces molécules confèrent aux HAP une grande stabilité chimique (Bihanic, 2013).

Il est possible de regrouper les HAP en fonction de leur poids moléculaire. Ils sont regroupés en trois catégories (Bihanic, 2013) :

- HAP légers : masse molaire entre 151 et 178 g/mol (naphtalène, acénaphthylène, acénaphène, le fluorène et le phénanthrène).
- Les HAP médiums : masse molaire d'environ 202 g/mol (fluorène et pyrène).
- Les HAP lourds : masse molaire supérieure à 228 g/mol (benzo[a]anthracène, les benzofluoranthènes, benzo[e]pyrène, benzo[a]pyrène et benzo[ghi]pérylène).

### 3.1.2 Origines et localisations des HAP dans la colonne d'eau

Les HAP ont la capacité de pouvoir être transportés sur de longues distances. Leurs voies d'entrées dans le milieu aquatique peuvent se faire de trois façons différentes (fig.2) (Daouk, 2012; Bihanic, 2013) :

- Par voie atmosphérique, les HAP retombent et se déposent soit directement sur la surface de l'eau, soit indirectement sur le sol où ils seront transportés par une autre voie.
- Par ruissellement, les HAP sont transportés par l'eau de pluie. Le lessivage des sols et des routes est notamment vecteur.
- Par émission directe via notamment le transport maritime ou des pollutions accidentelles (marées noires).

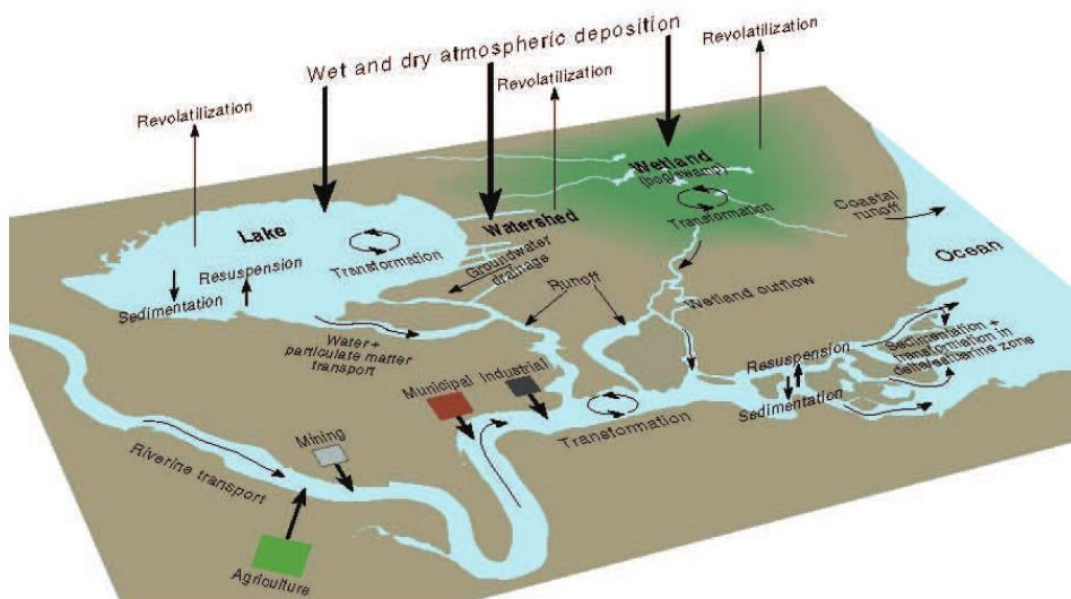


Figure 2 : Schéma des différentes sources de contamination (Daouk, 2012).

Ainsi, l'apport de HAP dans le milieu aquatique peut être chronique (source diffuse) ou ponctuel (marées noires) (Bihanic, 2013).

#### Dans le cas des HAP pyrolytiques :

Ce sont les plus présents dans le compartiment aquatique.

Les bassins versants sont de grands vecteurs de HAP, si un exutoire de cours d'eau est présent dans le port, alors celui-ci risque d'être très contaminé en HAP pyrolytiques.

Par exemple, dans le cas de l'estuaire de la Seine, 43% des HAP proviennent de l'amont du cours d'eau.

#### Dans le cas des HAP pétrogéniques :

Ils sont majoritairement issus des activités maritimes et portuaires qui génèrent une pollution chronique dans le milieu aquatique. La pollution peut également être d'origine ponctuelle avec le déversement accidentel de grandes quantités de pétrole.

Les ports étant un lieu incontournable des transports maritimes, leur présence en zone portuaire n'en fait aucun doute (Bihanic, 2013).

#### Dans le cas des HAP diagéniques :

Certaines sources pointent aussi du doigt une contamination naturelle par suintement du pétrole depuis les couches sédimentaires profondes. Ils estiment ainsi que le site de Santa Barbara relâcherait naturellement jusqu'à 16 L de pétrole par jour (Hornafius et al., 1999; Short et al., 2007).

En milieu aquatique, les molécules peuvent être présentes dans deux compartiments, la colonne d'eau (comprenant également les particules adsorbées sur la matière en suspension) et les sédiments.

En fonction de leur poids moléculaire, les HAP auront une localisation préférentielle dans le compartiment aquatique. Les hauts poids moléculaires (pyrolytique) vont être adsorbés aux particules, tandis que les faibles poids moléculaires (pétrogénique) seront majoritairement présents dans la colonne d'eau (Cailleaud et al., 2007).

Les sédiments sont connus pour leur forte capacité d'adsorption et de stockage des contaminants. Ainsi, ils constituent un réservoir majeur pour les HAP et une source de contamination secondaire (Gateuille, 2013).

En effet, les HAP sont piégés dans la matière organique du sédiment, ce qui réduit le potentiel de désorption (Deprea and Ahrens, 2007).

Néanmoins, avant d'atteindre les sédiments, les molécules de HAP sont adsorbées aux particules en suspension où elles peuvent alors être facilement dispersées et parcourir de longues distances.

À noter que la majorité des HAP présents dans le milieu aquatique sont retrouvés dans le compartiment sédimentaire. Il est logiquement retrouvé au sein des sédiments une majorité de HAP d'origine pyrolytique puis pétrogénique (Budzinski et al., 1997; Hansen et al., 2003).

La fraction biodisponible (disponible pour les organismes) dépend de nombreux paramètres intrinsèques et extrinsèques aux molécules. Des causes extérieures peuvent mettre les HAP en re-solubilisation par remise en suspension des sédiments (fig.3). Plusieurs de ces causes de remises en suspension sont présentes dans les ports. On retrouve notamment les activités de dragage, les tempêtes, les inondations, les marées, et les phénomènes de bioturbation (Palmqvist et al., 2006; Sundberg et al., 2007; Wölz et al., 2008; Cailleaud et al., 2009; Roberts, 2012).

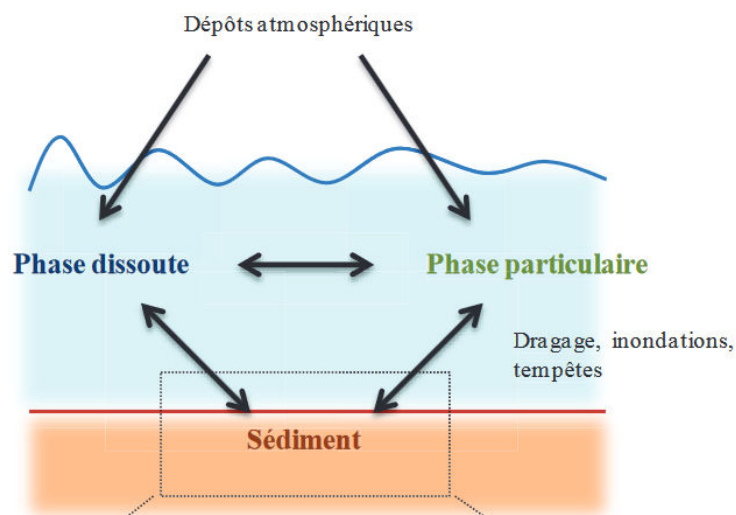


Figure 3 : Transfert des HAP à travers les différents compartiments (Bihanic, 2013).

### 3.1.3 Biodisponibilité et voies d'absorption :

Les poissons étant des organismes osmorégulateurs et poïkilothermes, à la différence des animaux terrestres, ils sont extrêmement dépendants de leur milieu. Les HAP peuvent entrer dans leur organisme par quatre voies de contamination (fig.4) :

- La voie alimentaire : ici, le système digestif étant le lieu d'absorption des particules ingérées, il a un rôle important. Sa grande surface d'échange favorise l'absorption des polluants vers la voie sanguine (Daouk, 2012).
- La voie respiratoire : les branchies sont directement en contact avec l'environnement extérieur et l'organe de la respiration et donc des échanges gazeux.
- La voie cutanée : chez le poisson, sa peau revêt trois fonctions, celle de barrière mécanique, de maintien de l'intégrité osmotique et de respiration. De par son importance, elle compose 10% du poids total chez les poissons (Daouk, 2012). Durant les stades précédant la création de l'orifice buccal des poissons, la respiration est exclusivement cutanée (Fu et al., 2010). Cette voie de contamination concerne principalement les phases larvaires et embryonnaires, elle concerne également les petits poissons adultes comme le médaka et *Pimephales promelas*. Posant ainsi l'hypothèse que les échanges par voie cutanée seraient plus importants chez les petits poissons (Lien and McKim, 1993).
- La voie maternelle concerne les stades de pré-développement (SPD) des poissons. Les femelles accumulent les HAP dans les gonades. Lors de la vitellogenèse, il y a un transfert de lipides pour former le vitellus. Les HAP étant hydrophobes, ils peuvent s'associer avec ces lipides. Ces HAP se retrouvent alors dans les gamètes puis dans l'embryon fertilisé. De plus, l'embryon dépend des réserves lipidiques transmises par la mère pour sa croissance, or celles-ci peuvent être contaminées (Nye et al., 2007). Cette voie peut être très néfaste ou non en fonction des espèces (Carls et al., 2000; Nye et al., 2007).

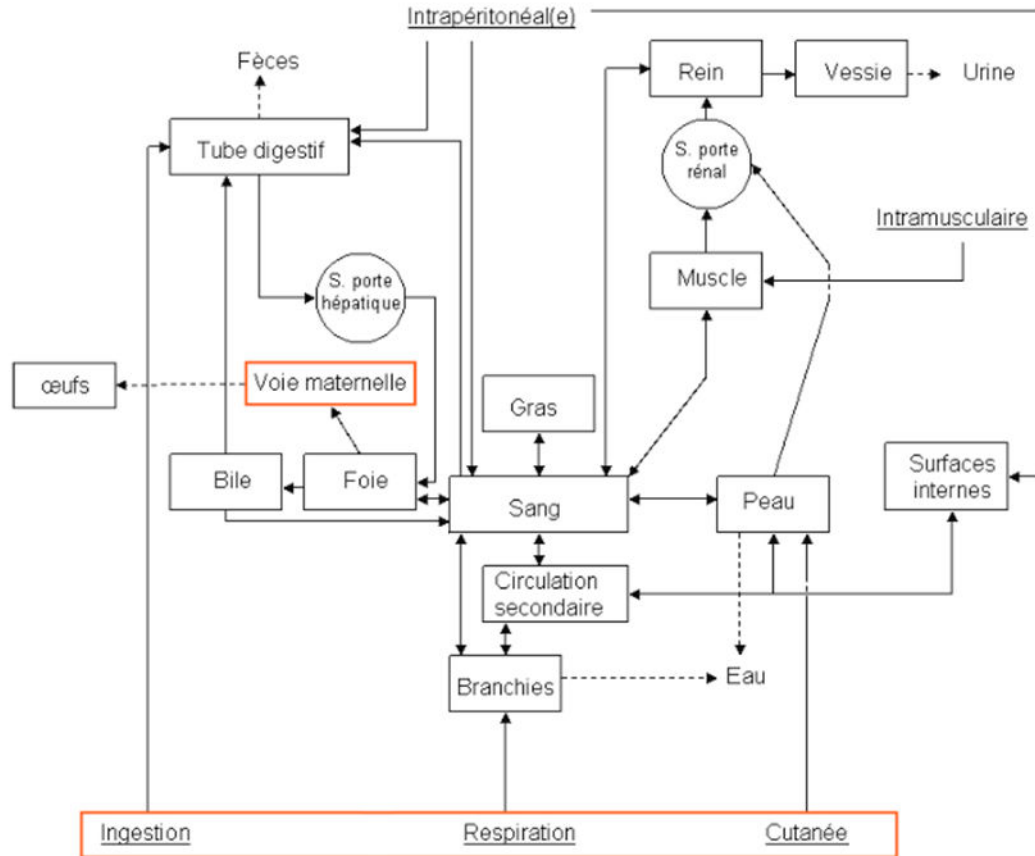


Figure 4 : Voie d'absorption, de distribution et d'élimination des toxiques chez les poissons. Les voies d'absorption (ingestion, respiration, cutanée et maternelle) sont encadrées en orange et les sites d'accumulation (organes potentiels d'accumulation des xénobiotiques) sont encadrés en noir, les flèches indiquent le chemin de circulation d'un xénobiotique chez les téléostéens. Les flèches pleines indiquent un transfert dans l'organisme et les flèches en pointillées indiquent une excrétion (Daouk, 2012).

Des études tendent à montrer que les organismes seraient plus sensibles aux HAP dissous, leur toxicité dépendrait de leur dissolution (Geffard et al., 2003; Carls and Meador, 2009).

Néanmoins, les sédiments contaminés représentent une réelle menace pour les organismes se nourrissant de proies benthiques. Cependant, il n'y a pas de détection de bioamplification.

Une étude a mis en évidence une contamination décroissante des HAP le long de la chaîne trophique. L'explication résiderait dans le fait que les premiers maillons de la chaîne trophique n'auraient pas la capacité de biotransformer les contaminants. Contrairement aux hauts maillons de la chaîne alimentaire qui possèdent de meilleures capacités de métabolisation et d'élimination de HAP (Abarnou, 2000).

### 3.1.4 Devenirs et zones de stockage des HAP dans les poissons

Les HAP sont des molécules reconnues comme étrangères à l'organisme par le système de défense des poissons. Elles peuvent ainsi déclencher des réactions immunitaires (Duffy-Whritenour et al., 2010). Dans le cas où elles ne peuvent pas être directement excrétées, les organismes vont essayer de les biotransformer en molécules plus hydrosolubles. Cette réaction, aussi nommée la métabolisation, transforme dans notre cas les HAP en molécules plus polaires grâce à l'action d'enzymes. Les produits de cette réaction sont des métabolites et vont être stockés dans la bile ou l'urine avant leurs excrétions (Daouk, 2012; Bihanic, 2013). Dans certains cas, la métabolisation peut créer la production de métabolites plus toxiques que les molécules initiales et s'accumuler dans les cellules, provoquant en

réaction des effets délétères (Monod et al., 1994). C'est le cas du HAP benzo[a]pyrène dont la biotransformation conduit à la formation de dérivés époxydes se liant à l'ADN (Schlenk et al., 2008).

Le foie est un organe servant à la détoxification des organismes. Il est impliqué dans le métabolisme, le stockage et la redistribution des nutriments et autres molécules. C'est l'organe majeur de la métabolisation des composés toxiques (Daouk, 2012).

Les HAP passent par la voie de métabolisation du 3-méthylcholanthrène (3-MC), ils ne peuvent utiliser que cette voie. En effet, les HAP ont une forte affinité avec le récepteur AhR (aryl hydrocarbore receptor) qui compose cette voie. La molécule de HAP va simplement se fixer sur le récepteur AhR qui va donner suite à plusieurs réactions entraînant la transformation de la molécule en métabolite (Incardona et al., 2009). L'utilisation de la même voie répétée entraîne l'expression constante des mêmes gènes, faisant alors apparaître les mêmes phénotypes sur les poissons, qu'ils soient au stade larvaire ou adulte (Teraoka et al., 2003; Carney et al., 2008).

La voie 3-RH induit l'activation de l'enzyme thoxyresorufin-O-deethylase (EROD) en présence de HAP ayant plus de 4 cycles aromatiques. On peut ainsi se servir de cette activité pour quantifier la toxicité de certains HAP (Sarkar et al., 2006).

## 3.2 Les métaux

### 3.2.1 Structures et propriétés des métaux

Les métaux, contrairement aux HAP, ne sont pas des molécules, mais sont à un niveau d'organisation plus petit, ils sont sous la forme d'ions (atomique).

Présents naturellement dans l'environnement, ils sont indispensables au maintien des organismes. Néanmoins, leur forte ou faible concentration induit une toxicité et des effets délétères chez les êtres-vivants (Kerambrun, 2011; Mehoul, 2016).

Dans la littérature, le terme « métaux lourds » est assez discuté. En effet, il comprend, en plus des métaux lourds, certains métaux non lourds et des métalloïdes. Les scientifiques préfèrent ainsi employer le terme d'éléments en trace métallique (ETM) (Miquel, 2001) regroupant :

- Les oligo-éléments (métaux ou non-métaux), ils sont nécessaires au bon fonctionnement des organismes. Néanmoins, ils deviennent toxiques à forte concentration (Fer (Fe), Cuivre (Cu), Zinc (Zn), Manganèse (Mn), Chrome (Cr), Sélénium (Se), Vanadium (V), Titane (Ti) et Arsenic (As)).
- Les métaux lourds, ils ne possèdent pas de rôle biologique connu et ils sont considérés comme toxiques (Plomb (Pb) et Mercure (Hg)).

Pour cette étude, dans un esprit de simplification et de cohérence avec l'article de Bouchoucha et al., 2018, le terme métaux sera employé au lieu de ETM.

Les métaux sont caractérisés par les propriétés suivantes :

- Ils sont non biodégradables.
- Ils sont toxiques une fois la limite de tolérance de l'organisme dépassée.

- Ils ont tendance à s'accumuler dans les organismes vivants et à se bio amplifier le long de la chaîne trophique (Aksas, 2013).
- Ils sont caractérisés par une densité importante, leur masse volumique est supérieure à 5 g/cm<sup>3</sup>.

### 3.2.2 Origines et localisations dans la colonne d'eau des métaux

Les métaux sont des éléments naturels de l'environnement et sont en conséquence présents dans l'ensemble de l'environnement.

Cependant, l'on recense deux sources d'origine des métaux dans l'écosystème marin :

- Sources naturelles : ils sont naturellement présents dans les roches et minerais. Ils atteignent les eaux côtières par l'altération de ces roches et de l'érosion des bassins versants. Le volcanisme, les feux de biomasse et les sources thermales, contribuent également au rejet de ces métaux dans l'écosystème marin. Ils sont généralement dans l'environnement sous forme d'oxydes, de carbonates, de silicates ou de sulfures (Rocher, 2003).
- Sources anthropiques : La source majeure de contamination est due aux activités anthropiques qui relâchent abondamment des métaux dans le milieu aquatique (combustion de carburant, trafic marin, déchets industriels, eaux usées) (Canli et al., 1998; Jia et al., 2010; Velusamy et al., 2014). Plus spécifiquement, les polluants d'origine anthropique peuvent être regroupés en 3 types : la pollution atmosphérique (rejets usines, gaz d'échappement), la pollution liée aux activités agricoles (pesticides, engrais) et la pollution industrielle provenant des usines de production (industries agroalimentaires, industries chimiques, centrales nucléaires) (Huynh, 2009).

Étant non biodégradables et extrêmement persistants, ils ont la capacité de facilement s'accumuler dans le biotope et les organismes jusqu'à des niveaux toxiques (Taghipour et al., 2012).

De par leurs propriétés, les métaux sont présents dans la colonne d'eau sous forme d'ions libres, de complexes inorganiques et organiques dissous ou liés à des particules en suspension (Kerambrun, 2011).

Les métaux, une fois dans le milieu aquatique, sont répartis entre la phase aqueuse (colonne d'eau) et les sédiments. Comme pour les HAP, la majeure partie des métaux est localisée dans les sédiments. Seule une faible part d'ions métalliques libres est présente sous forme dissoute dans la colonne d'eau (Alonso Castillo et al., 2013; Bastami et al., 2014).

Ainsi, les sédiments ont un rôle important dans le transport et le stockage de métaux (Alonso Castillo et al., 2013). Plus précisément, une fois dans les sédiments, ils sont en partie métabolisés par les organismes vivants et transférés dans les réseaux trophiques. De plus, il existe des échanges entre la phase dissoute et particulaire. Par exemple, pour le Plomb, en milieu salé, il quitte sa forme dissoute pour rejoindre la forme particulaire (Miramand et al., 1998).

### 3.2.3 Biodisponibilité et voies d'absorption

La bioaccumulation des métaux en milieu marin dépend de leur spéciation et de leur biodisponibilité. En effet, un même élément peut être dans la colonne d'eau sous diverses formes physico-chimiques.

Cela résulte des interactions continues entre les différentes combinaisons d'éléments chimiques (ions, matière organique, particules en suspension) (Boust et al., 1999).

Plus spécifiquement, la spéciation fait référence au processus constituant l'ensemble des réactions de complexation entre l'élément chimique et la totalité des ligands présents dans le milieu. Elle affecte la biodisponibilité des métaux en contrôlant leur assimilation par les organismes marins. Elle contrôle également leur toxicité (Casas, 2005).

Il en découle de la spéciation que la biodisponibilité dépend de la forme chimique du métal. La part absorbée par l'organisme marin représente seulement une partie de ce qui est présent dans le milieu, elle correspond donc à la fraction biodisponible. La biodisponibilité est donc variable selon les formes des métaux. À noter qu'elle est aussi dépendante des facteurs abiotiques de l'eau tels que la température, le pH et la salinité (Casas, 2005).

Comme pour les HAP, les métaux présents dans les sédiments peuvent être remis en suspension dans la colonne d'eau. Les paramètres biogéochimiques peuvent également relarguer des métaux, et ce, sous différentes formes, plus ou moins toxiques en fonction des organismes.

La voie marine réduit la biodisponibilité des métaux en leur faisant quitter leur forme dissoute (Miramand et al., 1998).

Ces contaminants peuvent s'accumuler le long de la chaîne trophique et ce, quel que soit l'organisme en question (micro-organismes, la faune et la flore) (Varol and Şen, 2012). Néanmoins, il a été constaté une diminution des concentrations de métaux au fur et à mesure que l'on se situe dans les hauts maillons de la chaîne alimentaire, due à la capacité des organismes prédateurs à excréter les polluants.

Comme pour les HAP, il existe les mêmes voies d'absorption pour les métaux. Dans le cas des métaux, la principale voie est l'alimentaire, notamment pour le Hg (Hall et al., 1997). Plus précisément, pour les poissons, les phytoplanctons sont les principaux vecteurs de la contamination aux métaux (Blackmore and Wang, 2004).

#### **3.2.4 Devenirs et zones de stockage des métaux dans les poissons**

Dans le milieu marin, les poissons constituent le sommet du réseau trophique et sont donc en capacité d'accumuler les métaux. Ils peuvent être stockés dans différentes zones des organismes de poissons (Ahmad et al., 2004). Comme pour les HAP, ils sont métabolisables par les organismes vivants. Cependant, il existe des différences entre les métaux. Certains sont non-essentiels et sont toxiques à l'état de trace, tandis que les métaux essentiels tendent à être régulés.

Une fois absorbés par voie alimentaire, les métaux se retrouvent dans le système digestif où ils ont une grande affinité avec les protéines et forment des complexes avec les acides aminés et les petits peptides (Daouk, 2012).

Suite à ces réactions, les métaux, excepté le Hg, se retrouvent avec une concentration plus élevée dans le foie que dans les autres tissus, due au rôle de séquestration et de détoxification de cet organe (Henry et al., 2004; Kerambrun, 2011). Néanmoins, des concentrations de métaux sont retrouvées dans les branchies et la chair de poisson. Cette dernière relève l'aspect menaçant pour la faune et l'homme.



La concentration des métaux au sein de ces différents tissus dépend de leur concentration dans l'environnement (Kim and Kang, 2015), du temps d'exposition et de leur biodisponibilité (Yilmaz and Yilmaz, 2007).

Leur irréversibilité les rend préoccupants, d'autant plus qu'il est difficile de récupérer ces métaux une fois dissipés dans l'environnement. Leur rémanence fait que leur accumulation est difficilement contrôlable.

Les propriétés physiques des métaux (ionique/élémentaire, complexes, dissous/particulaires) ont une influence sur leur diffusion au travers de la barrière biologique (plasmalemme). Les formes ioniques ont la biodisponibilité la plus élevée, Hg<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> et Pb<sup>2+</sup> peuvent passer facilement à travers la membrane biologique par les canaux protéiques non spécifiques. Au contraire, les formes plus volumineuses (complexes) sont plus difficilement absorbées (Mehouel, 2016).

Autre que les propriétés physiques, la variation interspécifique et individuelle (sexe, âge, taille, cycle de reproduction, mode de natation, alimentation) influe sur la bioaccumulation.

Les juvéniles sont connus pour avoir une activité métabolique élevée. Celle-ci influencerait également sur l'accumulation des métaux dans les tissus. Les études à ce sujet sont assez controversées. En effet, certains scientifiques pensent qu'une activité métabolique plus élevée entraîne une accumulation supérieure des métaux dans l'organisme, alors que d'autres chercheurs pensent qu'une activité métabolique élevée permet d'avoir une meilleure détoxification (Kim and Kang, 2015; Bouchoucha et al., 2018).

#### **4 Mécanismes et effets de contamination des HAP sur les juvéniles de poissons**

Il existe une variabilité dans la toxicité des polluants et de leur mélange. En effet, ceux-ci dépendent de l'âge, du sexe de l'organisme en question, du type de contamination ou encore des facteurs physico-chimiques de l'environnement (Vignet, 2014).

Bien que les effets individuels des HAP sur les organismes de poisson aient été analysés à travers plusieurs études, cette synthèse s'intéresse à la réalité du biotope des poissons et se penche ainsi sur l'analyse des effets de cocktail des HAP. En effet, les HAP ne sont jamais seuls dans l'environnement, ils composent toujours un mélange complexe (Bihanic, 2013).

Dans un mélange, les différentes molécules interagissent entre elles et peuvent avoir un effet inhibiteur, augmenter la toxicité ou être toxiques comme elles le sont individuellement. Pour bien comprendre ces effets, il est donc important de comprendre leurs effets individuels (Vignet, 2014). Des travaux ont déjà été effectués sur les effets individuels des molécules et ne seront pas traités dans ce mémoire afin de se concentrer sur les réalités environnementales. C'est un travail complexe de comprendre le fonctionnement des mélanges, car il en existe une infinité.

Tout organisme ingère des nutriments afin de maintenir sa structure et son fonctionnement de base (survie). Une fois ces premières tâches réalisées, le reste de l'énergie peut être alloué pour la croissance et la reproduction (Daouk, 2012).

## 4.1 Effets internes (chimiques) des HAP sur les juvéniles de poissons

### 4.1.1 Osmorégulation

Les cellules, pour assurer leur osmorégulation, possèdent des pompes Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> et Ca<sup>2+</sup>. Une étude a montré sur l'espèce de poisson *Sebastiscus marmoratus* une inhibition croissante des pompes Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> et Ca<sup>2+</sup> en corrélation avec une contamination croissante de HAP (Li et al., 2011). Néanmoins, l'étude était portée sur des larves de poisson et non des juvéniles (Vignet, 2014).

### 4.1.2 Métabolites

Des zebrafish ont été exposés à différentes concentrations de mélange de HAP trouvés en milieu environnemental. Les HAP pyrolytiques n'ont généré aucune modification des métabolites (Lucas et al., 2013).

En comparaison avec d'autres polluants comme les PCB, les HAP sont rapidement métabolisés par les cytochromes P450, générant des métabolites toxiques. Ainsi, par exemple, le DMBA, produit des métabolites très génotoxiques formant des adduits à l'ADN (Jönsson et al., 2009).

### 4.1.3 Reproduction

Les HAP, de par leur nature lipophile, rejoignent les ovaires en se stockant notamment dans la vitellogénine (Monteverdi and Giulio, 2000). Par ailleurs, une étude a montré chez la truite une inhibition de la synthèse de vitellogénine (Anderson et al., 1996).

Les HAP peuvent avoir un impact fort sur la reproduction, diminution de la fécondité, déformation des gamètes (Vignet, 2014). Sur le saumon, bien qu'une espèce non portuaire, une exposition de sa forme larvaire aux HAP génère chez les juvéniles une apoptose des cellules gonadiques (Marty et al., 1997).

Les mâles sont également touchés avec une baisse de la qualité du sperme et une apoptose testiculaire (Vignet, 2014).

Certaines études montrent qu'une contamination des poissons aux HAP par injection de nutriments ou exposition avec le sédiment a un effet sur le taux de fécondation (Daouk, 2012). Avec notamment une diminution de la mobilité des spermatozoïdes pour certaines espèces de poissons (Kime, 1995). Cette baisse de mobilité peut réduire le succès de fécondation (Richthoff et al., 2003).

### 4.1.4 Système endocrinien

Le système endocrinien est composé d'un réseau complexe d'hormones qui s'expriment de manière coordonnée. Néanmoins, certaines molécules chimiques peuvent perturber ce système et l'empêcher de fonctionner correctement (Darbre, 2019). Les HAP font partie de ces perturbateurs endocriniens.

Généralement, une hormone (ligand) se lie à un son récepteur et va in fine activer par différents processus biologiques la transcription des gènes cibles (Daouk, 2012). La problématique des perturbateurs endocriniens comme les HAP est qu'ils peuvent mimer une hormone, se fixer sur son récepteur et réguler la transcription des gènes (Lawrence and Hemingway, 2008). Ainsi, ils peuvent agir de façon antagoniste en bloquant ou en empêchant la liaison entre le récepteur et l'hormone naturelle. Mais, ils peuvent également avoir un effet agoniste en activant les gènes cibles dans un contexte où ils ne devraient pas s'exprimer, et ce, de façon excessive (fig.5).

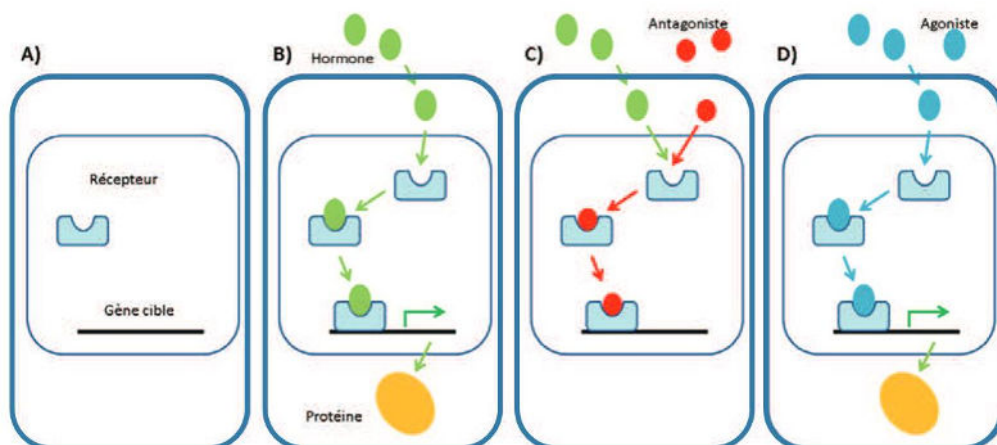


Figure 5 : Schéma général du principe de perturbation endocrinienne. A- Récepteur et gène cible dans une cellule. B- En situation normale, l'hormone se lie à son récepteur et active la transcription du gène cible et la traduction des protéines. C- Les antagonistes vont bloquer l'action de l'hormone naturelle. D- Les agonistes vont mimer l'action de l'hormone et activer le récepteur à des moments inadéquats (Daouk, 2012).

Les hormones étant présentes dans le fonctionnement de nombreux organes, les effets des perturbateurs endocriniens sont variés, et dont celui sur la reproduction est très connu et étudié (Daouk, 2012).

Chez les poissons, les perturbateurs endocriniens régulent l'expression des gènes exprimés par l'œstrogène par l'interaction des ligands et des récepteurs œstrogènes (ER).

Le sexe-ratio des poissons peut être modifié par une exposition de certains perturbateurs endocriniens. Cependant, le changement de sexe ne peut se faire que lors du début du stade larvaire et ne concerne ainsi pas les juvéniles et la problématique de leur développement dans les ports (Daouk, 2012).

Néanmoins, les juvéniles sont exposés aux risques de changement ou d'inversion de sexe (intersexe). Comme vu précédemment, le sexe des poissons est déterminé au début du stade larvaire, cependant, une exposition des juvéniles à des perturbateurs endocriniens ayant des effets œstrogéniques peut opérer à un changement de sexe (Örn et al., 2003) et il est possible d'observer :

- La transformation des gonades de poisson mâle en ovo-testicules.
- La transformation d'ovaires d'un poisson femelles en testicules.
- La transformation d'un seul testicule en ovaire.

Au niveau métallique, le cadmium est aussi connu pour ses effets anti-œstrogéniques en inhibant les récepteurs, ce qui induit à un arrêt de la synthèse de vitellogénine (Haux et al., 1988).

Un autre polluant métallique, l'arsenic génère une dégradation des testicules et des ovaires (Shukla and Pandey, 1984).

#### 4.1.5 Génotoxicité et tumorigénèse

Les HAP peuvent générer des métabolites électrophiles capables de se lier à l'ADN. Ces adduits à l'ADN peuvent modifier son intégrité et ses propriétés. Les métabolites peuvent être responsables de la production d'espèces réactives à l'oxygène pouvant entraîner des cassures simple et double brin de l'ADN et une modification au niveau des purines ou pyrimidines ou désoxyribose (Klaunig and Kamendulis, 2004). Dans la possibilité où les réparations de l'ADN dysfonctionnent, ces modifications de l'ADN peuvent mener à la genèse de cancers.

Ainsi, une exposition des adultes guppys (*Gambusia affinis*) à une eau contaminée par des hydrocarbures provoque chez cette espèce des effets génotoxiques et induit la cassure des doubles brins d'ADN (Caliani et al., 2009).

Certaines molécules de HAP ont la capacité d'activer le récepteur Ah (Aryl Hydrocarbure) en se liant avec lui. En se fixant sur ce récepteur, les molécules de HAP peuvent traverser la membrane nucléaire. Une fois dans le noyau, il y a formation d'un hétérodimère avec l'ARNT, qui peut ensuite se fixer sur des gènes et entraîner leur surexpression ou leur inhibition (cela concerne les gènes régulés par l'AhR). Cette fixation génère des perturbations au niveau de l'intégrité de l'ADN, du système cardiaque, du système endocrinien, du système nerveux et du système immunitaire.

À noter que les HAP légers n'ont pas forcément besoin de se lier à un récepteur. Les molécules passent au travers des membranes et occasionnent des altérations de la membrane, il y a une accumulation de HAP dans la bicouche lipidique. On appelle cette voie la voie narcotique. Les HAP avec un  $k_{low}$  inférieur à 5.2 suivraient cette voie.

#### 4.1.6 Survie

La survie est un bon indicateur utilisé en écotoxicologie. Pour la mesurer, on utilise les calculs de DL50 (dose létale) ou de CL50 (concentration létale).

Lors d'expositions chroniques ou aiguës, l'exposition au mélange de HAP peut diminuer la survie de certaines espèces. En effet, l'exposition au HAP n'affecte pas la survie de toutes les espèces (Vignet, 2014).

### 4.2 Effets externes (physiques) des HAP sur les juvéniles de poissons

#### 4.2.1 Malformation

Des études ont montré que les poissons en développement exposés aux HAP subissent des malformations. C'est le cas notamment du bar qui voit une diminution de la minéralisation de son squelette (Danion et al., 2011).

Face aux HAP, des malformations semblent être observées chez de nombreuses espèces de poissons (Agamy, 2013). Par exemple, la rascasse, un poisson de fond, exposé au pyrène, subit des déformations crâniofaciales, de la mâchoire et présente des œdèmes (Shi et al., 2012).

Par ailleurs, une exposition aux HAP pétrogéniques a généré chez des juvéniles de zebrafish une altération significative de la nage en tunnel (Lucas et al., 2013). Il a été observé une baisse des performances locomotrices de ce poisson pouvant être expliquée par l'apparition de difformités morphologiques.

#### 4.2.2 Réduction de la taille des branchies

Face à l'exposition de HAP pétrogénique sur des juvéniles de Mérou brun tacheté, il a été observé une réduction de la taille des branchies. Cette réaction morphologique serait une réponse du métabolisme pour réduire le contact avec les polluants (Agamy, 2013). Néanmoins, de telles mesures pourraient nuire au métabolisme du poisson par un manque d'apport en oxygène.

### 4.2.3 Croissance

Un autre bon indicateur, souvent utilisé en écotoxicologie pour identifier la présence d'impacts de polluants, est la croissance.

Dans le cas d'une exposition aux HAP, il est généralement observé une réduction de la taille et du poids (Gundersen et al., 1996; Gilliers et al., 2012).

Des études ont montré que l'impact sur la croissance n'est pas dû à une durée d'exposition, à une voie de contamination ou à la concentration de polluants (Moles and Rice, 1983; Kim et al., 2008). Néanmoins, le poids semble être corrélé à la concentration en HAP.

À noter qu'il est difficile d'isoler le facteur de croissance d'autres impacts sur l'organisme. En effet, il a été observé, en même temps qu'une diminution de la croissance, une réduction des réserves lipidiques et en conséquence des réserves énergétiques allouables pour la croissance (Gilliers et al., 2012).

La croissance post-larvaire des téléostéens est un phénomène continu extrêmement dépendant des conditions du milieu. Parmi ces conditions, on retrouve principalement la température, la disponibilité des ressources trophiques et la densité des poissons. Sachant qu'il existe une variabilité de la taille des individus en fonction de l'âge en raison de la variabilité de chaque individu (comportement et performance). Il en résulte logiquement que l'âge n'est pas un bon prédicateur de contamination. Néanmoins, il existe une relation forte entre les caractéristiques des organismes en fonction de leurs stades de développement et de la taille (Parichy et al., 2009).

De plus, on sait que pour les poissons, la maturité sexuelle est déterminée en fonction de l'âge. Cependant, une certaine variabilité est observée avec l'âge et la taille atteinte à la maturité sexuelle, qui serait directement en lien avec les conditions du milieu. En effet, plus la croissance est rapide, plus la maturation en termes de taille et d'âge serait précoce (Taranger et al., 2010).

La lutte contre la pollution générant une dépense énergétique supplémentaire, ainsi la croissance peut être altérée pour plusieurs stades de développement (Daouk, 2012).

Une contamination aux métaux semble également entraîner une diminution du taux de croissance en poids (Kerambrun, 2011).

### 4.3 Effets comportementaux

La réaction comportementale est souvent utilisée pour comprendre les effets des polluants, mais aussi pour mettre en place des indicateurs de pollution.

Face à une exposition à des HAP dissous, une réduction de l'activité de nage est observée chez les juvéniles de dorade. Cette réduction de l'activité de nage porte aussi des conséquences sur le comportement social des groupes de poissons (Correia et al., 2007; Gonçalves et al., 2008). Également, il a aussi été remarqué pour cette espèce une augmentation de la léthargie et une réduction du nombre de remontées en surface.

Chez le saumon, une étude a montré une réduction de la capacité à capturer les proies. Cet effet comportemental pourrait être expliqué par un effet physique lié à la réduction des capacités de vision (Carvalho et al., 2008). Une autre étude a montré des résultats similaires sur une espèce de poisson marin (*Leiostomus xanthurus*) (Hinkle-Conn et al., 1998).

## 5 Bilan et proposition d'un protocole

### 5.1 Bilan de l'étude bibliographique

Pour rappel, les résultats de Marc Bouchoucha et al., 2018, sur la contamination métallique se veulent rassurants avec des résultats similaires entre sites pollués et non pollués.

Néanmoins, malgré les similitudes, il existe de nombreuses différences entre HAP et métaux, en commençant par leurs propriétés physiques.

L'étude de Bouchoucha et al., 2018, a eu lieu in situ et s'est concentrée sur l'évaluation des métaux sans prendre en compte les autres polluants. Étant in situ, les poissons n'étaient pas seulement exposés aux métaux. Ainsi, les résultats observés pour la croissance et l'état morphologique valent pour tous les contaminants présents dans le milieu de développement des individus étudiés. On peut donc supposer par extension que les HAP présents dans le port de Toulon n'ont pas d'influence sur la croissance et l'état morphologique des dorades.

Cependant, comme vu en seconde partie, les effets des HAP ne s'arrêtent pas à la croissance et à l'état morphologique.

L'hypothèse émise en introduction est : « les juvéniles de *Diplodus* ne présenteront pas une contamination et des effets délétères plus élevés dans un milieu très pollué que dans un milieu non pollué aux HAP »

Les études actuelles étant insuffisantes pour vérifier l'hypothèse, je propose de monter un protocole très similaire à celui de la publication de Marc Bouchoucha et al., 2018 afin de la compléter sur le volet HAP.

En effet, afin de rester cohérent et de pouvoir comparer les résultats avec l'étude de Marc Bouchoucha et al., 2018, le protocole sera identique, que ce soit pour les organismes étudiés, une partie des sites d'étude, la mesure de la croissance et les facteurs abiotiques. Les modifications apportées devront permettre de compléter cette première étude en évaluant la contamination des HAP et ses effets sur les organismes étudiés.

### 5.2 Proposition d'un protocole

#### 5.2.1 Organismes d'étude

L'étude se base sur l'utilisation de deux espèces de poissons rocheux côtiers, *D. sargus sargus* (dorade blanche) et *D. vulgaris* (dorade à deux bandes).

Comme expliqué dans l'article de Marc Bouchoucha et al., 2018, il est intéressant de travailler sur ces espèces en raison de leur abondance et de leur valeur écologique et commerciale. De plus, ces deux espèces, bien que proches phylogénétiquement parlant, possèdent des niches écologiques différentes permettant de recouvrir une large plage temporelle presque équivalente à une année entière et de prendre ainsi en compte les effets saisonniers.

#### 5.2.2 Sites d'étude

Les auteurs de l'étude ont choisi de travailler dans la baie de Toulon, une des zones portuaires les plus polluées de France. Elle est composée d'une « grande baie » (42.2km<sup>2</sup>) et d'une « petite baie » (9.8km<sup>2</sup>) séparées par un brise-lame (fig. 6).

La petite baie accueille l'un des plus grands ports industriels de France et six marinas. Elle est caractérisée par des temps de résidence relativement longs en raison de sa morphologie semi-fermée,

des conditions de micro-marées et des apports intermittents d'eau douce (Nicolau et al., 2012; Dufresne et al., 2014). Ces conditions propices à l'accumulation et au maintien important de contaminants et les activités anthropiques passées et actuelles ont entraîné une forte multi-contamination (Tessier et al., 2011; Tessier, 2012; Jean et al., 2012; Pougnet et al., 2014; Dang et al., 2015).

À l'inverse, la grande baie s'ouvrant sur la Méditerranée est peu affectée par les activités anthropiques. Elle est assez naturelle et composée de quelques plages artificielles et de deux petites marinas (Tessier et al., 2011).

L'étude possède quatre sites d'échantillonnage :

- Le premier est dans la petite baie, accueille les bateaux de plaisance (STM).
- Le deuxième est toujours dans la petite baie, mais dans une des zones les plus contaminées (TLN).
- Le troisième est positionné dans un milieu plus naturel, sur le côté mer du brise-lame séparant les deux baies, il représente par ses caractéristiques une zone de nurserie artificielle en zone non polluée (DNL).
- Le dernier est localisé dans une anse naturelle de la grande baie (Anse Magaud) (MAG).

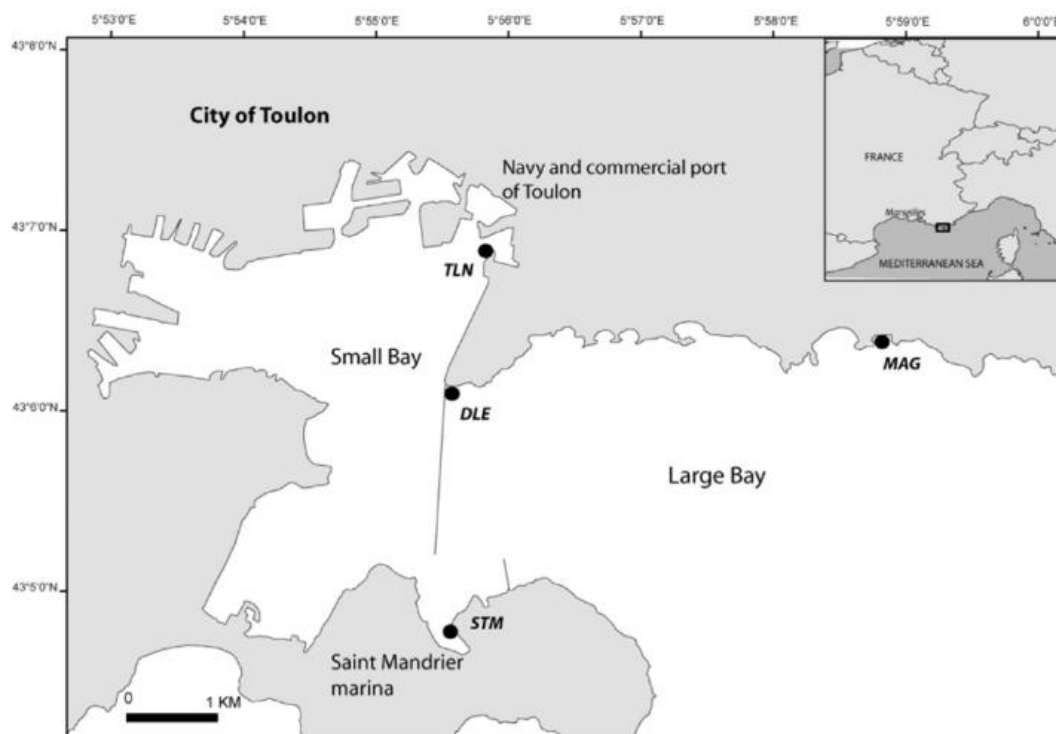


Figure 6 : Localisation des quatre sites (●) échantillonnés dans la baie de Toulon (Méditerranée Nord-Ouest) (Bouchoucha et al., 2018).

Les enjeux de l'étude étant importants, je propose de compléter l'étude en élargissant le protocole à d'autres sites d'étude. De cette façon, elle aura une vision plus globale et selon les résultats, les observations pourront être généralisées ou non.

Pour répondre à cet objectif, il faut augmenter le panel de sites contaminés, moyennement contaminés et peu contaminés. Ainsi, les sites suivants (fig.7) ont été sélectionnés pour leur proximité avec les sites d'étude des travaux de Bouchoucha et al., 2018 et leur niveau de contamination en HAP :

- Sites portant une faible contamination aux HAP : Port de Morgiou, Port de Sormiou et le Port des Goudes.
- Sites portant une contamination moyenne aux HAP : Le nouveau port de La Ciotat, Le Port de Cassis.
- Sites portant une forte contamination aux HAP : Port autonome de Marseille Fos, localisation d'un site à Marseille et d'un autre site à Fos.

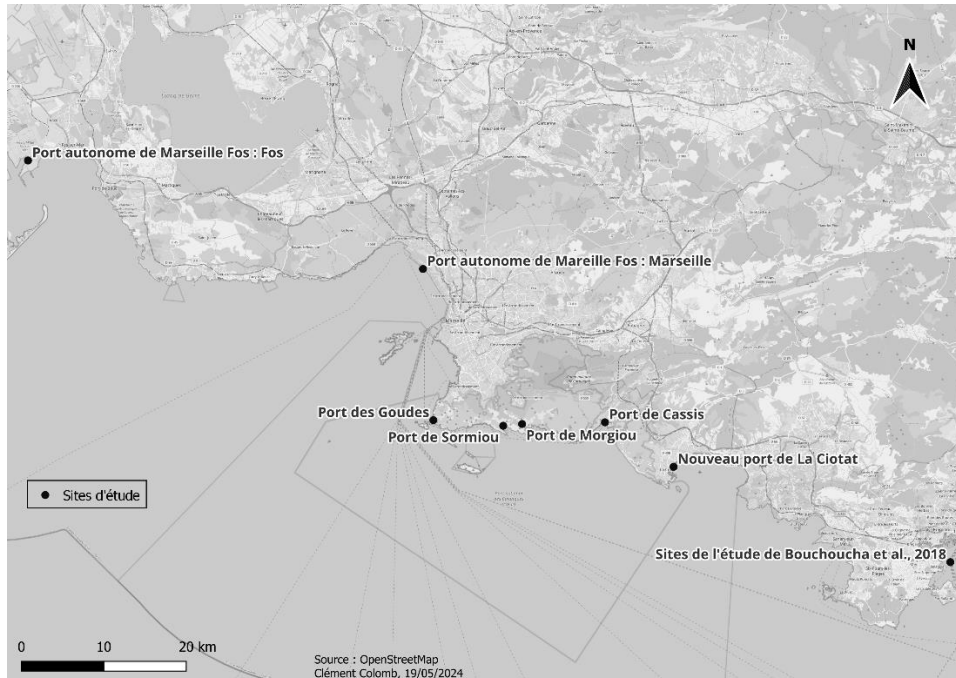


Figure 7 : carte de la localisation des différents sites d'étude (Clément Colomb, Mai 2024).

L'emplacement précis des sites devra permettre de répondre à la problématique et ils devront être choisis en concertation avec le gestionnaire des ports, notamment pour le Port autonome de Marseille Fos.

Le taux de contamination (faible, moyenne et forte) des sites d'étude est une supposition, il devra être confirmé suite à des échantillonnages réalisés préalablement à la mise en place du reste du protocole. Dans la situation où il manquerait des sites pour certaines catégories de pollution, de nouveaux sites d'étude devront être trouvés afin de les remplacer.

Ajouter autant de sites rendra l'étude onéreuse, cependant, derrière la problématique de la contamination des poissons aux HAP se trouve la problématique de la santé humaine. Ainsi, de tels enjeux font que des réponses plus précises de la part des scientifiques sont nécessaires.

### 5.2.3 Conditions environnementales du milieu

Il est possible d'utiliser la même méthodologie présente dans l'étude de Marc Bouchoucha et al., 2018 pour mesurer les conditions environnementales. Ainsi, sont comprises dans les mesures environnementales, la salinité et la température. Lors de leur étude, ils ont utilisé une sonde CTD (YSI Pro30) qui leur a permis d'enregistrer sur les périodes de présence de juvéniles dans les nurseries.



En plus de ces mesures, ils ont également réalisé des échantillons mensuels d'eau de surface afin d'étudier les variations locales de la productivité primaire (concentration de chlorophylle a).

#### 5.2.4 Méthode d'échantillonnage et de transfert

Afin de respecter la législation française, un protocole spécifique doit être mis en place. Comme introduit dans la partie Matériels/Méthodes, après la capture des individus, ils devront être mise à mort de façon à limiter au maximum la douleur, la souffrance et l'angoisse qu'ils éprouvent. Pour cela, la méthode de mise à mort employée sera la même que pour l'article de Marc Bouchouca et al., 2018, soit, après capture, ils seront euthanasiés dans de la bouillie de glace. Néanmoins, la nouvelle réglementation en vigueur préconise l'ajout à ce protocole d'une première injection d'une faible dose d'anesthésiant, suivie d'une seconde injection comprenant une forte dose d'anesthésiant avant l'euthanasie dans la bouillie de glace.

Plus précisément, pour la capture, l'échantillonnage s'effectue sur deux années consécutives. Pour chacune des deux espèces, la collecte des organismes doit être réalisée 1 mois avant le départ des juvéniles, autrement dit après qu'ils aient passé 4 à 5 mois dans les nurseries. De plus, les poissons devront être échantillonnés dans une profondeur comprise entre 0 et 2,5 m à l'aide de filets à main, en apnée ou en plongée suivant la vivacité des individus.

#### 5.2.5 Dosage des HAP dans les sites d'études

Afin de doser la contamination de HAP présente dans les sites, il est possible d'utiliser la technique de « Diffusive Gel in Thin films » (DGT) (CEFREM et al., 2022; Diao et al., 2024). Cette technique permet d'obtenir une grande précision avec des limites de détection d'au maximum 0.05 ng/l. Elle permet de détecter les HAP et leur dérivés, et ce, sur de longues périodes de temps (plusieurs mois) (Ren et al., 2024) et permet d'obtenir une concentration moyenne et non ponctuelle de la colonne d'eau en HAP. Ainsi, je propose de réaliser une installation de DGT sur chaque site, et ce, pendant toute la durée de l'étude (2 ans).

Pour moins de fréquence sur les sites d'étude, il est possible de coupler plusieurs DGT à un carrousel. Selon Diao et al., 2024, la durée optimale d'exposition d'un DGT pour la mesure de HAP est de 4 à 7 jours afin d'équilibrer la sensibilité et atténuer les effets du temps de latence. Je propose donc d'exposer séquentiellement les différents DGT tous les 7 jours.

Après l'exposition des DGT aux eaux des différents sites d'étude, ils devront ensuite être récupérés et amenés au laboratoire. La phase fixante (partie contenant les polluants) des DGT devra être récupérée puis éluée afin de récupérer les HAP pour les quantifier. Dans l'objectif de les quantifier, il sera également nécessaire de connaître les coefficients de diffusion (Pommier, 2020).

Pour ces différentes phases, je propose d'utiliser le protocole mis en place par Diao et al., 2024 (Guo et al., 2017; Diao et al., 2024). Néanmoins, dans leur article, ils mettent en garde sur la difficulté que représente la mesure des coefficients de diffusion pour des molécules hydrophobes comme les HAP et mettent en avant le besoin de trouver de nouvelles méthodes pour l'estimation des coefficients de diffusion.

Pour les sédiments, il est également possible d'utiliser de l'échantillonnage passif. En effet, de nouveaux échantillonneurs DGT ont été mis au point pour une application in-situ par Rong et al., 2024 (fig.8).

À l'inverse de la colonne d'eau, un carrousel ne pourra pas être utilisé. Néanmoins, le temps d'exposition est plus long, en effet, les échantillonneurs peuvent rester pendant 14 jours (Rong et al.,

2024). Après ce délai, ils devront être récupérés puis analysés. Après chaque récupération, un nouveau DGT pourra être installé afin d'avoir un suivi saisonnier et annuel.

Pour sa mise en place et son analyse en laboratoire, le protocole présent dans les travaux de Rong et al., 2024, sera repris.



Figure 8 : nouvelle échantillonneur DGT pour la mesure de HAP dans les sédiments (Rong et al., 2024).

### 5.2.6 Dosage des HAP dans la chair des poissons

Pour déterminer la concentration de HAP dans les poissons, il est possible de s'appuyer sur les travaux de Kerambrun, 2011.

La chercheuse propose de réaliser un dosage des HAP dans la chair des poissons par saponification à chaud avec de l'hydroxyde de potassium éthanolique. Cette méthode permet d'éliminer entièrement la matière grasse présente dans l'échantillon (Kerambrun, 2011).

Avant extraction des HAP, une préparation est nécessaire sur les poissons, il faut en retirer la tête, les viscères et la peau. Pour la réalisation du protocole, il faut regrouper les poissons dans le but d'obtenir un poids de tissus biologiques d'environ 3 g.

L'extraction utilise divers produits et procédés décrits dans la thèse de Kerambrun, 2011.

In fine, l'analyse des HAP se fait par chromatographie en phase gazeuse couplée à deux spectromètres de masses quadripolaires montés en série (CG-MS-MS). Cette technique permet d'augmenter la sensibilité par rapport à une CG-MS utilisée pour doser les HAP présents dans les sites d'étude.

Néanmoins, la toxicité d'un mélange de HAP est complexe à comprendre. Chaque molécule du mélange a des propriétés physico-chimiques qui lui sont propres. Cependant, l'interaction entre les molécules peut aussi bien avoir des effets agonistes qu'antagonistes en fonction des mélanges (Bihanic, 2013). Ainsi, pour aller plus loin, il peut être intéressant d'analyser la toxicité des mélanges, notamment grâce à la méthode des Facteurs d'Equivalent Toxique (FET) proposée dans la thèse de Bihanic, 2013.

### 5.2.7 Croissance des juvéniles de *Diplodus*

Pour cette partie de l'étude, le protocole du rapport final du projet METOXFISH (CEFREM et al., 2022) et des travaux de Bouchoucha et al., 2018 pourront être fusionnés et adaptés.

Ainsi, ce nouveau protocole comprend, après la capture et la mise à mort des poissons, le pesage en g (M) et la photographie de chaque individu à quai. Les photographies permettront d'obtenir la longueur totale en mm (LT), la hauteur maximale du corps en mm (HT), et la hauteur du pédoncule caudal en mm (Hp).

Après ces premières étapes, les organismes devront être placés dans la carboglace puis conservés en laboratoire dans un congélateur à -20°C.

L'état corporel des individus peut être obtenu à partir de l'indice de Fulton K (Ricker, 1975) :

$$K = 10^5 M/TL^3$$

Ici, il est fait la supposition que plus un individu est lourd pour une même taille donnée, plus il sera en meilleure condition.

Par la suite, le taux de croissance peut être lu à partir de la lecture des otolithes.

Ces structures calcifiées situées dans l'oreille interne des poissons téléostéens regorgent d'une grande quantité d'informations sur le cycle de vie des poissons (Campana, 1999). Plusieurs études ont montré la formation quotidienne d'incrément d'otolithes chez les juvéniles. En conséquence, il est possible de déterminer leur âge sur une base quotidienne (Pannella, 1971; Campana and Jones, 1992; Tournois, 2013).

De plus, pour chaque individu, le taux de croissance des otolithes est directement lié au taux de croissance somatique (Campana and Thorrold, 2001; Wilson et al., 2009).

Ainsi, la longueur du rayon de l'otolithe peut être utilisée pour déterminer le taux de croissance somatique.

Pour cela, les otolithes devront être extraites, lavées et préparées pour le comptage d'anneaux.

Elles devront être noyées dans de la résine Crystal Bond puis broyées jusqu'à ce que le noyau soit exposé. L'opération de broyage se fait dans le plan transversal à l'aide de papier silicaté à 1200, 2400 et 4000 grains.

Ensuite, les sections d'otolithes devront être retournées puis polies pour atteindre une épaisseur de 20 µm.

Le comptage quotidien des anneaux peut être réalisé pour les deux espèces de l'étude (Vigliola, 1997). De plus, leurs otolithes sagittaux présentent une marque de colonisation benthique, décrite comme une série d'incrément quotidiens ombragés (Vigliola et al., 2000; Di Franco et al., 2011). Il est donc possible de déterminer la période de croissance pélagique (phase larvaire) de la croissance benthique (phase juvénile) (fig.9).

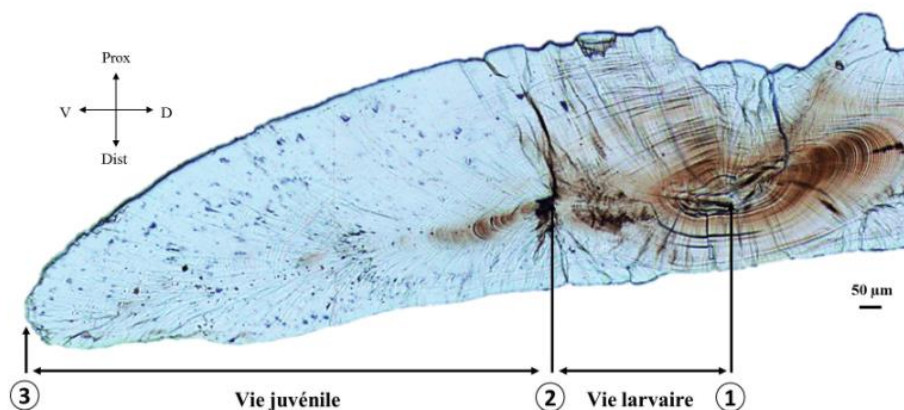


Figure 9 : Photographie en lumière transmise d'une lame mince (coupe transversale) d'un otolithe de juvénile de daurade royale indiquant les structures utilisées pour distinguer les vies larvaire et juvénile du poisson : (1) nucleus, (2) noyau accessoire représentant un changement de l'axe de croissance (3) bord de l'otolithe correspondant à la capture du poisson. V : ventral ; D : dorsal ; Prox : proximal ; Dist : distal (Tournois, 2013).

Ainsi, le comptage devra être réalisé de la marque jusqu'au bord de l'otolithe.

Le protocole comprend également la mesure des distances correspondantes le long de l'axe de croissance maximum.

Enfin, le taux de croissance absolu (TCA) quotidien pour la phase juvénile pourra être calculé pour chaque individu à l'aide de l'équation (Panfili et al., 2002; Bouchoucha et al., 2018) :

$$TCA = D/T$$

Où D est la distance (en  $\mu\text{m}$ ) et T le nombre d'incrément journaliers (en jours) entre la marque de peuplement et le bord de l'otolithe.

### 5.2.8 État morphologique des juvéniles de *Diplodus*

La mise à mort employée permettant de ne pas détériorer le corps de l'organisme, il est possible d'analyser l'état morphologique des poissons post mortem.

Il a été mentionné dans ce mémoire, en seconde partie, les effets des HAP sur l'aspect morphologique des poissons. Ainsi, en complément des autres tests, une observation de l'état morphologique des organismes peut être réalisée.

Au travers des photographies réalisées après collecte en suivant le protocole du projet METOXFISH (CEFREM et al., 2022) pour la mesure de la croissance, l'analyse de l'état morphologique des poissons capturés pourra être facilement réalisée. Un intérêt devra être porté sur la présence d'œdème, d'excroissance et de difformité (Danion et al., 2011; Shi et al., 2012; Lucas et al., 2013).

La taille des branchies pourra également être observée et analysée. Pour cela, il est possible de s'appuyer sur les travaux de Esam Agamy, 2013 et de son protocole sur l'analyse morphométrique des branchies (Agamy, 2013).

Pour ce faire, le protocole comprend des photomicrographies du tissu branchial prises aléatoirement sur des organismes. Lors de l'étude, elles ont été observées au grossissement moyen (100), puis les facteurs suivants ont été mesurés sur les tissus observés :

- Longueur (LL) et largeur (LW) lamellaires.
- Epaisseur épithéliale basale (BET).
- Diamètre du sinus veineux central (CVS).

Ces mesures permettront d'obtenir une réponse quant au changement de la distance de diffusion dans les branchies.

### 5.2.9 Reproduction

Les HAP peuvent également affecter la reproduction à plusieurs niveaux. Un de ces niveaux touche particulièrement les juvéniles de poissons et modifie leur appareil reproducteur (Daouk, 2012).

Une simple observation des appareils reproducteurs sous loupe binoculaire peut permettre de les analyser. Quatre résultats peuvent alors être obtenus (Örn et al., 2003) :

- Aucun changement visible, les appareils reproducteurs sont en bonne santé.
- La transformation des gonades de poisson mâle en ovo-testicules.
- La transformation d'ovaires d'un poisson femelle en testicules.
- La transformation d'un seul testicule en ovaire.

L'observation d'une transformation des appareils reproducteurs peut permettre de mettre en évidence l'impact des HAP sur la reproduction de ces organismes. Si de tels résultats sont obtenus, la pérennité de la population pourrait être en danger par perte de la capacité à renouveler la population.

#### 5.2.10 Analyse stéroïdienne des individus

Les HAP sont connus pour leur effet oestrogénique et anti-oestrogénique.

Afin d'évaluer si les organismes présents dans les sites contaminés ont un dérèglement hormonal, je propose d'utiliser le protocole issu des travaux de Labadie, 2004, qui a notamment réalisé une analyse stéroïdienne sur le Flet (*Platichthys flesus*) en condition in-situ (Labadie, 2004).

Les principaux éléments de son protocole sont brièvement décrits ci-dessous.

Après récoltes, mise à mort et mesures morphométriques des spécimens réalisés, une prise de sang devra être réalisée par piqûre dans la veine caudale. Le prélèvement devra ensuite être placé dans un tube de type Eppendorf préalablement rincé à l'héparine et contenant 2 $\mu$ L d'aprotinine. Le tube devra ensuite être stocké à 4°C.

Dans un second temps, les individus seront disséqués afin de récupérer la vésicule biliaire et les gonades. Le sexe des organismes sera identifié grâce à la morphologie des gonades.

Au laboratoire, les tubes devront être centrifugés afin de séparer le plasma. Ce dernier sera conservé à -80°C avec les éléments disséqués, avant leur analyse.

Les différents échantillons (plasma, bile, matrice solide) possèdent leur propre protocole de préparation qu'il conviendra de respecter.

Comme conseillé dans la thèse de Labadie, 2004, l'analyse sera réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM). Les stéroïdes étant trop polaires, le réactif de dérivation utilisé sera le MSTFA (N-méthyl-N(triméthylsilyl)trifluoroacétamide). Lors de l'utilisation de la CG-MS, des conditions d'analyse particulières devront également être appliquées (Labadie, 2004).

Les résultats permettront d'observer la présence ou non de variation stéroïdienne entre les différents sites contaminés. In fine, sont attendus des variations importantes dans les organismes présents dans les sites contaminés et peu de variations dans les sites peu contaminés.

Une attention devra être portée sur le nombre de poissons disponibles après capture, car certains protocoles nécessitent l'utilisation des mêmes organes.

#### 5.2.11 Test statistique

De nombreux tests statistiques peuvent être mis en place. Ceux choisis devront être adaptés en fonction des échantillons et des résultats souhaitant être montrés. Néanmoins, afin de rester cohérent avec l'étude de Marc Bouchoucha et al., 2018, il est recommandé d'utiliser le logiciel PRIMER 6 avec l'extension PERMANOVA et une limite de significativité des tests fixée à  $\alpha = 0.05$ .

## 6 Conclusion

En conclusion, le sujet d'étude est très complexe de par le grand nombre de polluants présents dans le milieu marin et les réactions différentes des polluants en fonction de la composition des mélanges. Ainsi, une observation pour un site peut être complètement différente pour un autre.

La bibliographie à ce jour existante ne permet pas de répondre à la problématique du risque de mettre en place des nurseries artificielles dans des ports contaminés aux HAP. Ainsi des études, en parallèle avec le protocole proposé dans ce mémoire, peuvent et doivent être mis en place pour apporter des réponses scientifiques. Il faut se prémunir du danger de générer des déséquilibres de l'écosystème et d'augmenter la toxicité de certains organismes par phénomène de bioaccumulation et de bioamplification.

Néanmoins, il faut prendre en compte que le protocole proposé dans ce mémoire ne recouvre pas tous les risques pouvant être apportés par les HAP. En effet, les risques liés à la perturbation des récepteurs Ah (Aryl Hydrocarbone) n'ont pas été abordés. De plus, d'autres variables non perceptibles physiologiquement peuvent être mesurées, comme le comportement pour lequel une étude en laboratoire serait plus adéquate.

Et enfin, ce protocole, bien que complétant l'étude de Mar Bouchoucha et al., 2018, en ajoutant les HAP passe à côté de nombreux autres polluants tels que les PCB. Donc, même si les résultats sont positifs comme avec les métaux, il existe encore d'autres polluants pouvant être considérés comme dangereux pour les écosystèmes et pour l'espèce humaine.

## 7 Bibliographie

- Abarnou, A.** 2000. Les Contaminants Organiques. Quels Risques Pour Le Monde Vivant ? *In.*: Editions Quae.
- Agamy, E.** 2013. Impact of laboratory exposure to light Arabian crude oil, dispersed oil and dispersant on the gills of the juvenile brown spotted grouper (*Epinephelus chlorostigma*): A histopathological study. *Marine Environmental Research* 86:46–55. doi: 10.1016/j.marenvres.2013.02.010
- Ahmad, I., M. Pacheco, and M. A. Santos.** 2004. Enzymatic and nonenzymatic antioxidants as an adaptation to phagocyte-induced damage in *Anguilla anguilla* L. following in situ harbor water exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57:290–302. doi: 10.1016/S0147-6513(03)00080-0
- Aksas, H.** 2013. Etude cinétique et thermodynamique de l'adsorption des métaux lourds par utilisation des adsorbants naturels.
- Alonso Castillo, M. L., I. Sánchez Trujillo, E. Vereda Alonso, A. García de Torres, and J. M. Cano Pavón.** 2013. Bioavailability of heavy metals in water and sediments from a typical Mediterranean Bay (Málaga Bay, Region of Andalucía, Southern Spain). *Marine Pollution Bulletin* 76:427–434. doi: 10.1016/j.marpolbul.2013.08.031
- Altin, A., Ö. Özen, H. Ayyildiz, and A. Ayaz.** 2015. Feeding habits and diet overlap of juveniles of 2 sparids, *Diplodus puntazzo* (Walbaum, 1792) and *Diplodus vulgaris* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817), from the North Aegean Sea of Turkey. *Turkish Journal of Zoology* 39:80–87. doi: 10.3906/zoo-1312-2
- Anderson, M. J., H. Olsen, F. Matsumura, and D. E. Hinton.** 1996. *In Vivo* Modulation of 17 $\beta$ -Estradiol-Induced Vitellogenin Synthesis and Estrogen Receptor in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Liver Cells by  $\beta$ -Naphthoflavone. *Toxicology and Applied Pharmacology* 137:210–218. doi: 10.1006/taap.1996.0074
- Bastami, K. D., H. Bagheri, V. Kheirabadi, G. G. Zaferani, M. B. Teymori, A. Hamzehpoor, F. Soltani, S. Haghparast, S. R. M. Harami, N. F. Ghorghani, and S. Ganji.** 2014. Distribution and ecological risk assessment of heavy metals in surface sediments along southeast coast of the Caspian Sea. *Marine Pollution Bulletin* 81:262–267. doi: 10.1016/j.marpolbul.2014.01.029
- Beck, M. W., K. L. Heck, K. W. Able, D. L. Childers, D. B. Eggleston, B. M. Gillanders, B. Halpern, C. G. Hays, K. Hoshino, T. J. Minello, R. J. Orth, et al.** 2001. The Identification, Conservation, and Management of Estuarine and Marine Nurseries for Fish and Invertebrates: A better understanding of the habitats that serve as nurseries for marine species and the factors that create site-specific variability in nursery quality will improve conservation and management of these areas. *BioScience* 51:633–641. doi: 10.1641/0006-3568(2001)051[0633:TICAMO]2.0.CO;2
- Bihanic, F. L.** 2013. Effets des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur les stades précoces de poissons modèles : développement de bioessais et étude comparée de mélanges. [Online.] Available at <https://theses.hal.science/tel-01068302>.

- Blackmore, G., and W.-X. Wang.** 2004. The transfer of cadmium, mercury, methylmercury, and zinc in an intertidal rocky shore food chain. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 307:91–110. doi: 10.1016/j.jembe.2004.01.021
- Bouchoucha, M., C. Brach-Papa, J.-L. Gonzalez, P. Lenfant, and A. M. Darnaude.** 2018. Growth, condition and metal concentration in juveniles of two *Diplodus* species in ports. *Marine Pollution Bulletin* 126:31–42. doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.10.086
- Boust, D., B. fre Institut Francais de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, J.-C. Fischer, B. Ouddane, F. Petit, and M. Wartel.** 1999. Fer et manganese: reactivites et recyclages.
- Budzinski, H., I. Jones, J. Bellocq, C. Piérard, and P. Garrigues.** 1997. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry* 58:85–97. doi: 10.1016/S0304-4203(97)00028-5
- Cailleaud, K., J. Forget-Leray, L. Peluhet, K. LeMenach, S. Souissi, and H. Budzinski.** 2009. Tidal influence on the distribution of hydrophobic organic contaminants in the Seine Estuary and biomarker responses on the copepod *Eurytemora affinis*. *Environmental Pollution* 157:64–71. doi: 10.1016/j.envpol.2008.07.026
- Cailleaud, K., J. Forget-Leray, S. Souissi, D. Hilde, K. LeMenach, and H. Budzinski.** 2007. Seasonal variations of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species *Eurytemora affinis* (Calanoïda, copepoda). Part 1: PCBs and PAHs. *Chemosphere* 70:270–280. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.05.095
- Caliani, I., S. Porcelloni, G. Mori, G. Frenzilli, M. Ferraro, L. Marsili, S. Casini, and M. C. Fossi.** 2009. Genotoxic effects of produced waters in mosquito fish (*Gambusia affinis*). *Ecotoxicology* 18:75–80. doi: 10.1007/s10646-008-0259-0
- Campana, S. E.** 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series* 188:263–297. doi: 10.3354/meps188263
- Campana, S. E., and C. M. Jones.** 1992. Otolith Microstructure Examination and Analysis. doi: 10.13140/RG.2.2.22258.61127
- Campana, S. E., and S. R. Thorrold.** 2001. Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58:30–38. doi: 10.1139/f00-177
- Canli, M., Ö. Ay, and M. Kalay.** 1998. Levels of Heavy Metals (Cd, Pb, Cu, Cr and Ni) in Tissue of *Cyprinus carpio*, *Barbus capito* and *Chondrostoma regium* from the Seyhan River, Turkey. *Turkish Journal of Zoology* 22:149–158. doi: -
- Carls, M. G., J. E. Hose, R. E. Thomas, and S. D. Rice.** 2000. Exposure of pacific herring to weathered crude oil: Assessing effects on ova. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19:1649–1659. doi: 10.1002/etc.5620190624
- Carls, M. G., and J. P. Meador.** 2009. A Perspective on the Toxicity of Petrogenic PAHs to Developing Fish Embryos Related to Environmental Chemistry. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* 15:1084–1098. doi: 10.1080/10807030903304708



- Carney, M. W., K. Erwin, R. Hardman, B. Yuen, D. C. Volz, D. E. Hinton, and S. W. Kullman.** 2008. Differential developmental toxicity of naphthoic acid isomers in medaka (*Oryzias latipes*) embryos. *Marine Pollution Bulletin* 57:255–266. doi: 10.1016/j.marpolbul.2008.02.036
- Carvalho, P. S. M., D. da C. B. Kalil, G. A. A. Novelli, A. C. D. Bairy, and A. P. M. Fraga.** 2008. Effects of naphthalene and phenanthrene on visual and prey capture endpoints during early stages of the dourado *Salminus Brasiliensis*. *Marine Environmental Research* 66:205–207. doi: 10.1016/j.marenvres.2008.02.059
- Casas, S.** 2005. Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. [Online.] Available at <https://theses.hal.science/tel-00009551>.
- CEFREM, BIOM, CNRS, OFB, and Parc Naturel Marin du Golfe du Lion.** 2022. Projet METOXFISH - Rapport final.
- Coll, M., C. Piroddi, J. Steenbeek, K. Kaschner, F. B. R. Lasram, J. Aguzzi, E. Ballesteros, C. N. Bianchi, J. Corbera, T. Dailianis, R. Danovaro, et al.** 2010. The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, Patterns, and Threats: PLoS ONE. *PLoS ONE* 5:1–36. doi: 10.1371/journal.pone.0011842
- Correia, A. D., R. Gonçalves, M. Scholze, M. Ferreira, and M. A.-R. Henriques.** 2007. Biochemical and behavioral responses in gilthead seabream (*Sparus aurata*) to phenanthrene. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 347:109–122. doi: 10.1016/j.jembe.2007.03.015
- Dang, D. H., J. Schäfer, C. Brach-Papa, V. Lenoble, G. Durrieu, L. Dutruch, J.-F. Chiffolleau, J.-L. Gonzalez, G. Blanc, J.-U. Mullot, S. Mounier, and C. Garnier.** 2015. Evidencing the Impact of Coastal Contaminated Sediments on Mussels Through Pb Stable Isotopes Composition. *Environmental Science & Technology* 49:11438–11448. doi: 10.1021/acs.est.5b01893
- Danion, M., M.-H. Deschamps, H. Thomas-Guyon, A. Bado-Nilles, S. Le Floch, C. Quentel, and J.-Y. Sire.** 2011. Effect of an experimental oil spill on vertebral bone tissue quality in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74:1888–1895. doi: 10.1016/j.ecoenv.2011.07.027
- Daouk, T.** 2012. Effets de contaminations d’embryons et d’adultes de poissons zèbres (*Danio rerio*) par des PCB et des HAP.
- Darbre, P. D.** 2019. The history of endocrine-disrupting chemicals. *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research* 7:26–33. doi: 10.1016/j.coemr.2019.06.007
- Depree, C., and M. Ahrens.** 2007. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Auckland’ s Aquatic Environment Sources, Concentrations and Potential Environmental Risks. *In.:*
- Di Franco, A., G. De Benedetto, G. De Rinaldis, N. Raventos, R. Sahyoun, and P. Guidetti.** 2011. Large scale-variability in otolith microstructure and microchemistry: The case study of *Diplodus sargus sargus* (Pisces: Sparidae) in the Mediterranean Sea. *Italian Journal of Zoology*.
- Diao, Z., G. Feng, W. Xu, F. Zhu, Y. Zhang, J. Duan, M. Xu, X. Zhang, X. Zhang, S. Zhao, S. Wang, and X. Yuan.** 2024. Development of diffusive gradients in thin-films technique for monitoring polycyclic aromatic hydrocarbons in coastal waters. *Journal of Hazardous Materials* 471:134384. doi: 10.1016/j.jhazmat.2024.134384

- Duffy-Whritenour, J. E., R. Z. Kurtzman, S. Kennedy, and J. T. Zelikoff.** 2010. Non-coplanar polychlorinated biphenyl (PCB)-induced immunotoxicity is coincident with alterations in the serotonergic system. *Journal of Immunotoxicology* 7:318–326. doi: 10.3109/1547691X.2010.512277
- Dufresne, C., C. Duffa, and V. Rey.** 2014. Wind-forced circulation model and water exchanges through the channel in the Bay of Toulon: *Ocean Dynamics*. *Ocean Dynamics* 64:209–224. doi: 10.1007/s10236-013-0676-3
- Fu, C., J. M. Wilson, P. J. Rombough, and C. J. Brauner.** 2010. Ions first: Na<sup>+</sup> uptake shifts from the skin to the gills before O<sub>2</sub> uptake in developing rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277:1553–1560. doi: 10.1098/rspb.2009.1545
- Gateuille, D.** 2013. Rémanence et transferts des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques dans le bassin amont de la Seine. [Online.] Available at <https://theses.fr/2013PA066730>.
- Geffard, O., A. Geffard, E. His, and H. Budzinski.** 2003. Assessment of the bioavailability and toxicity of sediment-associated polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals applied to *Crassostrea gigas* embryos and larvae. *Marine Pollution Bulletin* 46:481–490. doi: 10.1016/S0025-326X(02)00451-4
- Gilliers, C., G. Claireaux, R. Galois, V. Loizeau, and O. L. Pape.** 2012. Influence of Hydrocarbons Exposure on Survival, Growth and Condition of Juvenile Flatfish: A Mesocosm Experiment. *Journal of Life Sciences* 4:113–122. doi: 10.1080/09751270.2012.11885203
- Gonçalves, R., M. Scholze, A. M. Ferreira, M. Martins, and A. D. Correia.** 2008. The joint effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on fish behavior. *Environmental Research* 108:205–213. doi: 10.1016/j.envres.2008.07.008
- Gundersen, D. T., S. W. Kristanto, L. R. Curtis, S. N. Al-Yakoob, M. M. Metwally, and D. Al-Ajmi.** 1996. Subacute toxicity of the water-soluble fractions of Kuwait crude oil and partially combusted crude oil on *Menidia beryllina* and *Palaemonetes pugio*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 31:1–8. doi: 10.1007/BF00203901
- Guo, W., K. Van Langenhove, M. S. Denison, W. Baeyens, M. Elskens, and Y. Gao.** 2017. Estrogenic Activity Measurements in Water Using Diffusive Gradients in Thin-Film Coupled with an Estrogen Bioassay. *Analytical Chemistry* 89:13357–13364. doi: 10.1021/acs.analchem.7b03537
- Hall, B. D., R. A. Bodaly, R. J. P. Fudge, J. W. M. Rudd, and D. M. Rosenberg.** 1997. Food as the Dominant Pathway of Methylmercury Uptake by Fish. *Water, Air, and Soil Pollution* 100:13–24. doi: 10.1023/A:1018071406537
- Hansen, D. J., D. M. DiToro, J. A. McGrath, R. C. Swartz, D. R. Mount, R. L. Spehar, R. M. Burgess, R. J. Ozretich, H. E. Bell, M. C. Reiley, and T. K. Linton.** 2003. Procedures for the Derivation of Equilibrium Partitioning Sediment Benchmarks (ESBs) for the Protection of Benthic Organisms: PAH Mixtures.
- Haux, C., B. Th. Björnsson, L. Förlin, Å. Larsson, and L. J. Deftos.** 1988. Influence of cadmium exposure on plasma calcium, vitellogenin and calcitonin in vitellogenic rainbow trout. *Marine Environmental Research* 24:199–202. doi: 10.1016/0141-1136(88)90298-X

- Henry, F., R. Amara, L. Courcot, D. Lacouture, and M.-L. Bertho.** 2004. Heavy metals in four fish species from the French coast of the Eastern English Channel and Southern Bight of the North Sea. *Environment International* 30:675–683. doi: 10.1016/j.envint.2003.12.007
- Hinkle-Conn, C., J. W. Fleeger, J. C. Gregg, and K. R. Carman.** 1998. Effects of sediment-bound polycyclic aromatic hydrocarbons on feeding behavior in juvenile spot (*Leiostomus xanthurus* Lacépède: Pisces). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 227:113–132. doi: 10.1016/S0022-0981(97)00265-7
- Hornafius, J. S., D. Quigley, and B. P. Luyendyk.** 1999. The world's most spectacular marine hydrocarbon seeps (Coal Oil Point, Santa Barbara Channel, California): Quantification of emissions. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 104:20703–20711. doi: 10.1029/1999JC900148
- Huynh, T. M. D.** 2009. Impact des métaux lourds sur les interactions plante/ ver de terre/ microflore tellurique. [Online.] Available at <https://theses.fr/2009PEST0060>.
- Hylland, K.** 2006. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Ecotoxicology in Marine Ecosystems. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 69:109–123. doi: 10.1080/15287390500259327
- Incardona, J. P., M. G. Carls, H. L. Day, C. A. Sloan, J. L. Bolton, T. K. Collier, and N. L. Scholz.** 2009. Cardiac Arrhythmia Is the Primary Response of Embryonic Pacific Herring (*Clupea pallasii*) Exposed to Crude Oil during Weathering. *Environmental Science & Technology* 43:201–207. doi: 10.1021/es802270t
- Jamet, J.-L., N. Jean, G. Bogé, S. Richard, and D. Jamet.** 2005. Plankton succession and assemblage structure in two neighbouring littoral ecosystems in the north-west Mediterranean Sea. *Marine and Freshwater Research* 56:69–83. doi: 10.1071/MF04102
- Jean, N., E. Dumont, G. Durrieu, T. Balliau, J.-L. Jamet, S. Personnic, and C. Garnier.** 2012. Protein expression from zooplankton communities in a metal contaminated NW mediterranean coastal ecosystem. *Marine Environmental Research* 80:12–26. doi: 10.1016/j.marenvres.2012.06.004
- Jia, L., W. Wang, Y. Li, and L. Yang.** 2010. Heavy Metals in Soil and Crops of an Intensively Farmed Area: A Case Study in Yucheng City, Shandong Province, China. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 7:395–412. doi: 10.3390/ijerph7020395
- Johnson, C. N., A. Balmford, B. W. Brook, J. C. Buettel, M. Galetti, L. Guangchun, and J. M. Wilmshurst.** 2017. Biodiversity losses and conservation responses in the Anthropocene. *Science* 356:270–275. doi: 10.1126/science.aam9317
- Jönsson, M. E., B. Brunström, and I. Brandt.** 2009. The zebrafish gill model: Induction of CYP1A, EROD and PAH adduct formation. *Aquatic Toxicology* 91:62–70. doi: 10.1016/j.aquatox.2008.10.010
- Kerambrun, É.** 2011. Évaluation des effets biologiques des contaminants chimiques sur les juvéniles de poissons marins : approche multibiomarqueur en conditions expérimentales et in situ. [Online.] Available at <https://theses.fr/2011DUNK0317>.

- Kertous, M., and O. Bouallegue.** 2023. Mondialisation, développement et vulnérabilités des espaces maritimes et côtiers. Présentation. *Mondes en développement* 203:7–10. doi: 10.3917/med.203.0007
- Kim, J.-H., and J.-C. Kang.** 2015. The lead accumulation and hematological findings in juvenile rock fish *Sebastes schlegelii* exposed to the dietary lead (II) concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 115:33–39. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.02.009
- Kim, S. G., D. K. Park, S. W. Jang, J. S. Lee, S. S. Kim, and M. H. Chung.** 2008. Effects of Dietary Benzo[a]pyrene on Growth and Hematological Parameters in Juvenile Rockfish, *Sebastes schlegelii* (Hilgendorf). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 81:470–474. doi: 10.1007/s00128-008-9499-1
- Kime, D. E.** 1995. The effects of pollution on reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 5:52–95. doi: 10.1007/BF01103366
- Klaunig, J. E., and L. M. Kamendulis.** 2004. The Role of Oxidative Stress in Carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 44:239–267. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121851
- Labadie, P.** 2004. Détermination des stéroïdes hormonaux dans l'environnement : développements analytiques et applications. [Online.] Available at [https://oskar-bordeaux.fr/bitstream/handle/20.500.12278/25561/LABADIE\\_PIERRE\\_2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://oskar-bordeaux.fr/bitstream/handle/20.500.12278/25561/LABADIE_PIERRE_2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
- Lawrence, A. J., and K. L. Hemingway.** 2008. Effects of Pollution on Fish: Molecular Effects and Population Responses. *In.*: John Wiley & Sons.
- Lenfant, P., A. Gudefin, S. Fonbonne, G. Lecaillon, J. Aronson, E. Blin, S. M. Lourie, P. Boissery, J.-L. Loeuillard, A. Palmaro, G. Herrouin, and J. Person.** 2016. Restauration écologique des nurseries des petits fonds côtiers de Méditerranée.
- Lien, G. J., and J. M. McKim.** 1993. Predicting branchial and cutaneous uptake of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl in fathead minnows (*Pimephales promelas*) and Japanese medaka (*Oryzias latipes*): Rate limiting factors. *Aquatic Toxicology* 27:15–31. doi: 10.1016/0166-445X(93)90044-2
- Lorance, P., and S. Leonardi.** 2012. PRESSIONS PHYSIQUES ET IMPACTS ASSOCIÉS Pertes et dommages physiques.
- Lucas, J., I. Percelay, L. Lyphout, X. Cousin, P. Miramand, C. Le François, L. R. Université, Li. En. et Sociétés, L. R. U.-C. N. de la R. Scientifique, L. R. halieutiques B. sur Mer, H. M. M. du Nord, et al.** 2013. Trophic contamination by pyrolytic and petrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons: Effects on metabolic and swimming performance in zebrafish: Effects on metabolic and swimming performance in zebrafish *(Danio rerio)*.
- Marty, G. D., D. E. Hinton, J. W. Short, R. A. Heintz, S. D. Rice, D. M. Dambach, N. H. Willits, and J. J. Stegeman.** 1997. Ascites, premature emergence, increased gonadal cell apoptosis, and cytochrome P4501A induction in pink salmon larvae continuously exposed to oil-contaminated gravel during development. *Canadian Journal of Zoology* 75:989–1007. doi: 10.1139/z97-120

- Mehouel, F.** 2016. Evaluation de la contamination de la sardine et de l'espadon par les métaux lourds (mercure, plomb et cadmium). [Online.] Available at <http://dspace.univ-tiaret.dz:80/handle/123456789/873>.
- Miquel, G.** 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé - Rapport n°261 (2000-2001). [Online.] Available at [https://www.senat.fr/rap/l00-261/l00-261\\_mono.html](https://www.senat.fr/rap/l00-261/l00-261_mono.html).
- Miramand, P., D. Fichet, D. Bentley, J.-C. Guary, and F. Caurant.** 1998. Concentrations en métaux lourds (Cd, Cu, Pb, Zn) observées le long du gradient de salinité dans le réseau trophique pélagique de l'estuaire de la Seine. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series IIA - Earth and Planetary Science* 327:259–264. doi: 10.1016/S1251-8050(98)80083-9
- Moles, A., and S. D. Rice.** 1983. Effects of Crude Oil and Naphthalene on Growth, Caloric Content, and Fat Content of Pink Salmon Juveniles in Seawater. *Transactions of the American Fisheries Society* 112:205–211. doi: 10.1577/1548-8659(1983)112<205:EOCOAN>2.0.CO;2
- Monod, G., D. Saucier, E. Perdu-Durand, M. Diallo, J.-P. Cravedi, and L. Astic.** 1994. Biotransformation enzyme activities in the olfactory organ of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Immunocytochemical localization of cytochrome P4501A1 and its induction by  $\beta$ -naphthoflavone. *Fish Physiology and Biochemistry* 13:433–444. doi: 10.1007/BF00004326
- Monteverdi, G. H., and R. T. D. Giulio.** 2000. In vitro and in vivo association of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and benzo[a]pyrene with the yolk-precursor protein vitellogenin. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19:2502–2511. doi: 10.1002/etc.5620191016
- Nicolau, R., Y. Lucas, P. Merdy, and M. Raynaud.** 2012. Base flow and stormwater net fluxes of carbon and trace metals to the Mediterranean sea by an urbanized small river. *Water Research* 46:6625–6637. doi: 10.1016/j.watres.2012.01.031
- Nye, J. A., D. D. Davis, and T. J. Miller.** 2007. The effect of maternal exposure to contaminated sediment on the growth and condition of larval *Fundulus heteroclitus*. *Aquatic Toxicology* 82:242–250. doi: 10.1016/j.aquatox.2007.02.011
- Örn, S., H. Holbech, T. H. Madsen, L. Norrgren, and G. I. Petersen.** 2003. Gonad development and vitellogenin production in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to ethinylestradiol and methyltestosterone. *Aquatic Toxicology* 65:397–411. doi: 10.1016/S0166-445X(03)00177-2
- Palmqvist, A., L. J. Rasmussen, and V. E. Forbes.** 2006. Influence of biotransformation on trophic transfer of the PAH, fluoranthene. *Aquatic Toxicology* 80:309–319. doi: 10.1016/j.aquatox.2006.09.008
- Panfili, J., H. de Pontual, H. Troadec, and P. J. Wright.** 2002. Manual of Fish Sclerochronology. *In.*: Ifremer-IRD coedition, p. 464 p + DVD.
- Pannella, G.** 1971. Fish Otoliths: Daily Growth Layers and Periodical Patterns. *Science* 173:1124–1127. doi: 10.1126/science.173.4002.1124
- Parichy, D. M., M. R. Elizondo, M. G. Mills, T. N. Gordon, and R. E. Engeszer.** 2009. Normal table of postembryonic zebrafish development: Staging by externally visible anatomy of the living fish. *Developmental Dynamics* 238:2975–3015. doi: 10.1002/dvdy.22113

- Pioch, S.** 2021. L'artificialisation du littoral. Comment l'éviter, la réduire ou la compenser ? *Futuribles* 442:63–78. doi: 10.3917/futur.442.0063
- Pommier, A.-L.** 2020. Altérations de la diffusion et de la fixation des métaux/métalloïdes au sein d'un échantillonneur passif de type DGT, mécanismes et impacts sur les performances de quantification.
- Pouget, F., J. Schäfer, L. Dutruch, C. Garnier, E. Tessier, D. H. Dang, L. Lanceleur, J.-U. Mullot, V. Lenoble, and G. Blanc.** 2014. Sources and historical record of tin and butyl-tin species in a Mediterranean bay (Toulon Bay, France). *Environmental Science and Pollution Research* 21:6640–6651. doi: 10.1007/s11356-014-2576-6
- Ren, S., L. Li, Y. Li, J. Wu, and Y. Dou.** 2024. Development and Field Application of a Diffusive Gradients in Thin-Films Passive Sampler for Monitoring Three Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Derivatives and One Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in Waters. *Water* 16:684. doi: 10.3390/w16050684
- Richthoff, J., L. Rylander, B. A. G. Jönsson, H. Akesson, L. Hagmar, P. Nilsson-Ehle, M. Stridsberg, and A. Giwercman.** 2003. Serum levels of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB-153) in relation to markers of reproductive function in young males from the general Swedish population. *Environmental Health Perspectives* 111:409–413. doi: 10.1289/ehp.5767
- Roberts, D. A.** 2012. Causes and ecological effects of resuspended contaminated sediments (RCS) in marine environments. *Environment International* 40:230–243. doi: 10.1016/j.envint.2011.11.013
- Rocher, V.** 2003. Introduction et stockage des hydrocarbures et des éléments métalliques au sein du réseau d'assainissement unitaire parisien. [Online.] Available at <https://pastel.hal.science/tel-00007154>.
- Rong, Q., Y. Li, J. Luo, L. Yan, K. C. Jones, and H. Zhang.** 2024. Development of a novel DGT passive sampler for measuring polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic systems. *Journal of Hazardous Materials* 470:134199. doi: 10.1016/j.jhazmat.2024.134199
- Sarkar, A., D. Ray, A. N. Shrivastava, and S. Sarker.** 2006. Molecular Biomarkers: Their significance and application in marine pollution monitoring. *Ecotoxicology* 15:333–340. doi: 10.1007/s10646-006-0069-1
- Schlenk, D., M. Celander, E. Gallagher, S. George, M. James, and S. Kullman.** 2008. Biotransformation in Fishes. *The Toxicology of Fishes*.
- Shi, X., C. He, Z. Zuo, R. Li, D. Chen, R. Chen, and C. Wang.** 2012. Pyrene exposure influences the craniofacial cartilage development of *Sebastes marmoratus* embryos. *Marine Environmental Research* 77:30–34. doi: 10.1016/j.marenvres.2012.01.003
- Short, J. W., J. J. Kolak, J. R. Payne, and G. K. Van Kooten.** 2007. An evaluation of petrogenic hydrocarbons in northern Gulf of Alaska continental shelf sediments – The role of coastal oil seep inputs. *Organic Geochemistry* 38:643–670. doi: 10.1016/j.orggeochem.2006.12.005
- Shukla, J. P., and K. Pandey.** 1984. Arsenic-induced cellular and biochemical changes during the testicular cycle of a freshwater perch, *Colisa fasciatus* (Bl. & Sch.). *Cellular and molecular biology* 30:227–231.

- Sundberg, H., M. Hanson, B. Liewenborg, Y. Zebühr, D. Broman, and L. Balk.** 2007. Dredging Associated Effects: Maternally Transferred Pollutants and DNA Adducts in Feral Fish. *Environmental Science & Technology* 41:2972–2977. doi: 10.1021/es070073j
- Taghipour, H., M. Mosaferi, M. Pourakbar, and F. Armanfar.** 2012. Heavy Metals Concentrations in Groundwater Used for Irrigation. *Health Promotion Perspectives* 2:205–210. doi: 10.5681/hpp.2012.024
- Taranger, G. L., M. Carrillo, R. W. Schulz, P. Fontaine, S. Zanuy, A. Felip, F.-A. Weltzien, S. Dufour, Ø. Karlsen, B. Norberg, E. Andersson, and T. Hansen.** 2010. Control of puberty in farmed fish. *General and Comparative Endocrinology* 165:483–515. doi: 10.1016/j.ygcen.2009.05.004
- Teraoka, H., W. Dong, Y. Tsujimoto, H. Iwasa, D. Endoh, N. Ueno, J. J. Stegeman, R. E. Peterson, and T. Hiraga.** 2003. Induction of cytochrome P450 1A is required for circulation failure and edema by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in zebrafish. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 304:223–228. doi: 10.1016/S0006-291X(03)00576-X
- Tessier, E.** 2012. Diagnostic de la contamination sédimentaire par les métaux/métalloïdes dans la rade de Toulon et mécanismes contrôlant leur mobilité. [Online.] Available at <https://theses.hal.science/tel-01124043>.
- Tessier, E., C. Garnier, J.-U. Mullot, V. Lenoble, M. Arnaud, M. Raynaud, and S. Mounier.** 2011. Study of the spatial and historical distribution of sediment inorganic contamination in the Toulon bay (France). *Marine Pollution Bulletin* 62:2075–2086. doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.07.022
- Tournois, J.** 2013. Rôle des nourriceries lagunaires dans le maintien d’une espèce de poisson à forte valeur commerciale, la daurade royale (L. 1758, *Sparus aurata*). [Online.] Available at <https://theses.fr/2013MON20198>.
- Varol, M., and B. Şen.** 2012. Assessment of nutrient and heavy metal contamination in surface water and sediments of the upper Tigris River, Turkey. *CATENA* 92:1–10. doi: 10.1016/j.catena.2011.11.011
- Velusamy, A., P. Satheesh Kumar, A. Ram, and S. Chinnadurai.** 2014. Bioaccumulation of heavy metals in commercially important marine fishes from Mumbai Harbor, India. *Marine Pollution Bulletin* 81:218–224. doi: 10.1016/j.marpolbul.2014.01.049
- Vigliola, L.** 1997. Validation of daily increment formation in otoliths for three *Diplodus* species in the Mediterranean sea. *Journal of Fish Biology* 51:349–360. doi: 10.1111/j.1095-8649.1997.tb01671.x
- Vigliola, L., M. Harmelin-Vivien, and M. G. Meekan.** 2000. Comparison of techniques of back-calculation of growth and settlement marks from the otoliths of three species of *Diplodus* from the Mediterranean Sea. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57:1291–1299. doi: 10.1139/f00-055
- Vignet, C.** 2014. Altération de la physiologie des poissons exposés à des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) : comportement et reproduction. [Online.] Available at <https://theses.hal.science/tel-01174986>.

- Wilson, J. A., L. Vigliola, and M. G. Meekan.** 2009. The back-calculation of size and growth from otoliths: Validation and comparison of models at an individual level. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 368:9–21. doi: 10.1016/j.jembe.2008.09.005
- Wölz, J., M. Engwall, S. Maletz, H. Olsman Takner, B. van Bavel, U. Kammann, M. Klempt, R. Weber, T. Braunbeck, and H. Hollert.** 2008. Changes in toxicity and Ah receptor agonist activity of suspended particulate matter during flood events at the rivers Neckar and Rhine — a mass balance approach using in vitro methods and chemical analysis. *Environmental Science and Pollution Research* 15:536–553. doi: 10.1007/s11356-008-0056-6
- Yilmaz, A. B., and L. Yilmaz.** 2007. Influences of sex and seasons on levels of heavy metals in tissues of green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus* de Hann, 1844). *Food Chemistry* 101:1664–1669. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.04.025