



**MEDITERRANEAN ACTION PLAN  
MED POL**

---

**UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME**



**FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS**

**FINAL REPORTS ON RESEARCH PROJECTS DEALING WITH THE EFFECTS  
OF POLLUTANTS ON MARINE ORGANISMS AND COMMUNITIES**

**RAPPORTS FINAUX SUR LES PROJETS DE RECHERCHE TRAITANT DES EFFETS  
DE POLLUANTS SUR LES COMMUNAUTES ET LES ORGANISMES MARINS**

**MAP Technical Reports Series No. 73**

Note: The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of FAO or UNEP concerning the legal status of any State, Territory, city or area, or of its authorities, or concerning the delimitation of their frontiers or boundaries. The views expressed in the papers of this volume are those of the authors and do not necessarily represent the views of either UNEP or FAO.

Note: Les appellations employées dans ce document et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de la FAO ou du PNUE, aucune prise de position quant au statut juridique des Etats, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les vues exprimées dans les articles de ce volume sont celles de leurs auteurs et ne représentent pas forcément les vues du PNUE, ou de la FAO.

For bibliographic purposes this volume may be cited as:

UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with the effects of pollutants on marine organisms and communities. MAP Technical Reports Series No. 73. UNEP, Athens, 1993.

Pour des fins bibliographiques, citer le présent volume comme suit:

PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant des effets de polluants sur les communautés et les organismes marins. MAP Technical Reports Series No. 73. UNEP, Athens, 1993.

This volume is the seventy-third issue of the Mediterranean Action Plan Technical Reports Series.

This series contains selected reports resulting from the various activities performed within the framework of the components of the Mediterranean Action Plan: Pollution Monitoring and Research Programme (MED POL), Blue Plan, Priority Actions Programme, Specially Protected Areas and Regional Marine Pollution Emergency Response Centre for the Mediterranean.

Ce volume constitue le soixante-treizième numéro de la série des Rapports techniques du Plan d'action pour la Méditerranée.

Cette série comprend certains rapports élaborés au cours de diverses activités menées dans le cadre des composantes du Plan d'action pour la Méditerranée: Programme de surveillance continue et de recherche en matière de pollution (MED POL), Plan Bleu, Programme d'actions prioritaires, Aires spécialement protégées et Centre régional méditerranéen pour l'intervention d'urgence contre la pollution marine accidentelle.



## PREFACE

The United Nations Environment Programme (UNEP) convened an Intergovernmental Meeting on the Protection of the Mediterranean (Barcelona, 28 January - 4 February 1975), which was attended by representatives of 16 States bordering the Mediterranean Sea. The meeting discussed the various measures necessary for the prevention and control of pollution of the Mediterranean Sea, and concluded by adopting an Action Plan consisting of three substantive components:

- Integrated planning of the development and management of the resources of the Mediterranean Basin (management component);
- Co-ordinated programme for research, monitoring, exchange of information and assessment of the state of pollution and protection measures (assessment component);
- Framework convention and related protocols with their technical annexes for the protection of the Mediterranean environment (legal component).

All components of the Action Plan are inter-dependent and provide a framework for comprehensive action to promote both the protection and the continued development of the Mediterranean ecoregion. No component is an end in itself. The Action Plan is intended to assist the Mediterranean Governments in formulating their national policies related to the continuous development and protection of the Mediterranean area and to improve their ability to identify various options for alternative patterns of development and to make choices and appropriate allocations of resources.

The Co-ordinated Mediterranean Research and Monitoring Programme (MED POL) was approved as the assessment (scientific/technical) component of the Action Plan.

The general objectives of its pilot phase (MED POL - Phase I), which evolved through a series of expert and intergovernmental meetings, were:

- to formulate and carry out a co-ordinated pollution monitoring and research programme taking into account the goals of the Mediterranean Action Plan and the capabilities of the Mediterranean research centres to participate in it;
- to assist national research centres in developing their capabilities to participate in the programme;
- to analyse the sources, amounts, levels, pathways, trends and effects of pollutants relevant to the Mediterranean Sea;
- to provide the scientific/technical information needed by the Governments of the Mediterranean States and the EEC for the negotiation and implementation of the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution and its related protocols;
- to build up consistent time-series of data on the sources, pathways, levels and effects of pollutants in the Mediterranean Sea and thus to contribute to the scientific knowledge of the Mediterranean Sea.

Based on the recommendations made at various expert and intergovernmental meetings, a draft Long-term (1981-1990) Programme for Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean (MED POL-Phase II) was formulated by the Secretariat of the Barcelona Convention (UNEP), in co-operation with the United Nations Agencies which were responsible for the technical implementation of MED POL-Phase I, and it was formally approved by the Second Meeting of the Contracting Parties of the Mediterranean Sea against pollution and its related protocols and Intergovernmental Review Meeting of Mediterranean Coastal States of the Action Plan held in Cannes, 2-7 March 1981.

The general long-term objectives of MED POL-Phase II were to further the goals of the Barcelona Convention by assisting the Parties to prevent, abate and combat pollution of the Mediterranean Sea area and to protect and enhance the marine environment of the area. The specific objectives were designed to provide, on a continuous basis, the Parties to the Barcelona Convention and its related protocols with:

- information required for the implementation of the Convention and the protocols;
- indicators and evaluation of the effectiveness of the pollution prevention measures taken under the Convention and the protocols;
- scientific information which may lead to eventual revisions and amendments of the relevant provisions of the Convention and the protocols and for the formulation of additional protocols;
- information which could be used in formulating environmentally sound national, bilateral and multilateral management decisions essential for the continuous socio-economic development of the Mediterranean region on a sustainable basis;
- periodic assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea.

The monitoring of, and research on, pollutants affecting the Mediterranean marine environment reflects primarily the immediate and long-term requirements of the Barcelona Convention and its protocols, but also takes into account factors needed for the understanding of the relationship between the socio-economic development of the region and the pollution of the Mediterranean Sea.

Research and study topics included initially in the MED POL - Phase II were:

- development of sampling and analytical techniques for monitoring the sources and levels of pollutants. Testing and harmonization of these methods at the Mediterranean scale and their formulation as reference methods. Priority will be given to the substance listed in the annexes of the Protocol for the prevention of pollution of the Mediterranean Sea by dumping from ship and aircraft and the Protocol for the protection of the Mediterranean Sea against pollution from land-based sources (activity A);

- development of reporting formats required according to the Dumping, Emergency and Land-Based Sources Protocols (activity B);
- formulation of the scientific rationale for the environmental quality criteria to be used in the development of emission standards, standards of use or guidelines for substances listed in annexes I and II of the Land-Based Sources Protocol in accordance with Articles 5, 6 and 7 of that Protocol (activity C);
- epidemiological studies related to the confirmation (or eventual revision) of the proposed environmental quality criteria (standards of use) for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (activity D);
- development of proposals for guidelines and criteria governing the application of the Land-Based Sources Protocol, as requested in Article 7 of that Protocol (activity E);
- research on oceanographic processes, with particular emphasis on surface circulation and vertical transport. Needed for the understanding of the distribution of pollutants through the Mediterranean and for the development of contingency plans for cases of emergency (activity F);
- research on the toxicity, persistence, bioaccumulation, carcinogenicity and mutagenicity of selected substances listed in annexes of the Land-Based Sources Protocol and the Dumping Protocol (activity G);
- research on eutrophication and concomitant plankton blooms. Needed to assess the feasibility of alleviating the consequences and damage from such recurring blooms (activity H);
- study of ecosystem modifications in areas influenced by pollutants, and in areas where ecosystem modifications are caused by large-scale coastal or inland engineering activity (activity I);
- effects of thermal discharges on marine and coastal ecosystems, including the study of associated effects (activity J);
- biogeochemical cycle of specific pollutants, particularly those relevant to human health (mercury, lead, survival of pathogens in the Mediterranean Sea, etc.) (activity K);
- study of pollutant-transfer processes (i) at river/sea and air/sea interface, (ii) by sedimentation and (iii) through the straits linking the Mediterranean with other seas (activity L);

The Contracting Parties at their 6th Ordinary Meeting (Athens, October 1989) agreed to:

- (a) Re-orient the research activities within MED POL in order to generate information which will also be useful for the technical implementation of the LBS protocol in addition to supporting monitoring activities;

- (b) replace as from 1990 research activities A-L by the following five new research areas:

Research area I - Characterization and measurement

This area will include projects which cover the characterization (identification of chemical or microbiological components) and measurement development and testing of methodologies of specified contaminants;

Research area II - Transport and dispersion

This area will include projects which aim at improving the understanding of the physical, chemical and biological mechanisms that transport potential pollutants from their sources to their ultimate repositories. Typical topics will be atmospheric transport and deposition, water movements and mixing, transport of contaminants by sedimentation and their incorporation in biogeochemical cycles. Priority will be given to the provision of quantitative information ultimately useful for modelling the system and contributing to regional assessments;

Research area III - Effects

This area will include projects relevant to the effects of selected contaminants, listed in Annexes I and II of the LBS and Dumping protocols, to marine organisms, communities and ecosystems or man and human populations. Priority will be given to effects and techniques providing information useful for establishing environmental quality criteria;

Research area IV - Fates/Environmental transformation

This area will include projects studying the fate of contaminants (including microorganisms) in the marine environment such as persistence or survival, degradation, transformation, bioaccumulation etc. but excluding transport and dispersion which is dealt in area II;

Research area V - Prevention and control

This area will include projects dealing with the determination of the factors affecting the efficiency of waste treatment and disposal methods under specific local conditions as well as the development of environmental quality criteria and common measures for pollution abatement;

- (c) define target contaminants or other variables at periodic intervals depending on the progress of implementation of the LBS protocol;

- (d) select project proposals on the basis of their intrinsic scientific validity, their Mediterranean specificity, and encourage whenever possible bilateral and multilateral projects among Mediterranean countries from the north and the south of the basin.

As in MED POL - Phase I, the overall co-ordination and guidance for MED POL - Phase II is provided by UNEP as the secretariat of the Mediterranean Action Plan (MAP). Co-operating specialized United Nations Agencies (FAO, UNESCO, WHO, WMO, IAEA, IOC) are responsible for the technical implementation and day-to-day co-ordination of the work of national centres participating in monitoring and research.

The present volume includes final reports on research projects dealing with the effects of pollutants on marine organisms and communities. Final editing and compilation of this volume was done by Mr. G.P. Gabrielides, FAO Senior Fishery Officer (Marine Pollution) while Ms V. Papapanagiotou, FAO Secretary, was responsible for the typing.



## PREFACE

Le Programme des Nations Unies pour l'environnement (PNUE) a convoqué une réunion intergouvernementale sur la protection de la Méditerranée (Barcelone, 28 janvier - 4 février 1975) à laquelle ont pris part des représentants de 16 Etats riverains de la mer Méditerranée. La réunion a examiné les diverses mesures nécessaires à la prévention et à la lutte antipollution en mer Méditerranée, et elle s'est conclue sur l'adoption d'un Plan d'action comportant trois éléments fondamentaux:

- Planification intégrée du développement et de la gestion des ressources du bassin méditerranéen (élément "gestion");
- Programme coordonné de surveillance continue, de recherche, d'échange de renseignements et d'évaluation de l'état de la pollution et des mesures de protection (élément "évaluation");
- Convention cadre et protocoles relatifs avec leurs annexes techniques pour la protection du milieu méditerranéen (élément juridique).

Tous les éléments du Plan d'action étaient interdépendants et fournissaient le cadre d'une action d'ensemble en vue de promouvoir, tant la protection que le développement continue de l'écorégion méditerranéenne. Aucun élément ne constituait une fin à lui seul. Le Plan d'action était destiné à aider les gouvernements méditerranéens à formuler leurs politiques nationales en matière de développement continu et de protection de zone de la Méditerranée et à accroître leur faculté d'identifier les diverses options s'offrant pour les schémas de développement, d'arrêter leurs choix et d'y affecter les ressources appropriées.

Le programme coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la Méditerranée (MED POL) a été approuvé au titre de l'élément "évaluation" (scientifique/technique) du Plan d'action.

Sa phase pilote (MED POL - Phase I) avait les objectifs généraux ci-dessous, élaborés au cours d'une série de réunions d'experts et de réunions intergouvernementales:

- formuler et exécuter un programme coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution en tenant compte des buts du Plan d'action pour la Méditerranée et de l'aptitude des centres de recherche méditerranéens à y participer;
- aider les centres de recherche nationaux à se rendre plus aptes à cette participation;
- étudier les sources, l'étendue, le degré, les parcours, les tendances et les effets des polluants affectant la mer Méditerranée;
- fournir l'information scientifique et technique nécessaire aux gouvernements des pays méditerranéens et à la Communauté économique européenne pour négocier et mettre en oeuvre la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et les protocoles y relatifs;

- constituer des séries chronologiques cohérentes de données sur les sources, les cheminements, les degrés et les effets des polluants de la mer Méditerranée et contribuer par là à la connaissance scientifique de cette mer.

Sur la base des recommandations énoncées lors des diverses réunions d'experts et réunions intergouvernementales, un projet de programme à long terme (1981 - 1990) de surveillance continue et de recherche en matière de pollution (MED POL - Phase II) a été formulé par le secrétariat de la Convention de Barcelone (PNUE), en coopération avec les organismes des Nations Unies chargés de l'exécution technique de MED POL - Phase I, et il a été officiellement approuvé lors de la deuxième réunion des Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et aux Protocoles y relatifs et réunion intergouvernementale des Etats riverains de la mer Méditerranée chargée d'évaluer l'état d'avancement du Plan d'action, qui s'est tenue à Cannes du 2 au 7 mars 1981.

L'objectif général à long terme de la Phase II du MED POL était de concourir à la réalisation des objectifs de la Convention de Barcelone en aidant les Parties contractantes à prévenir, réduire et combattre la pollution dans la zone de la mer Méditerranée ainsi qu'à protéger et améliorer le milieu marin dans cette zone. Les objectifs particuliers étaient de fournir constamment aux Parties contractantes à la Convention de Barcelone et aux Protocoles y relatifs:

- les renseignements dont elles avaient besoin pour appliquer la Convention et les protocoles;
- des indications et une évaluation de l'efficacité des mesures prises pour prévenir la pollution en application de la Convention et des protocoles;
- des renseignements scientifiques qui pourraient servir à réviser et modifier les dispositions pertinentes de la Convention et des protocoles et à rédiger des protocoles additionnels;
- des informations qui pourraient servir à formuler sur les plans national, bilatéral et multilatéral, les décisions de gestion, respectueuses de l'environnement, qui seraient indispensables à la poursuite du développement socio-économique de la région méditerranéenne;
- une évaluation périodique de l'état de pollution de la mer Méditerranée.

La surveillance continue des polluants affectant le milieu marin de la Méditerranée ainsi que la recherche menée à leur sujet répondent en premier lieu aux prescriptions immédiates et à long terme de la Convention de Barcelone et des protocoles y relatifs, mais elles tiennent également compte des facteurs requis pour la compréhension des relations existant entre le développement socio-économique de la région et la pollution de la mer Méditerranée.

Les sujets de recherche et d'étude inclus initialement dans MED POL Phase II étaient les suivants:

- mise au point de techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance des sources et des niveaux de pollution. Essai et harmonisation de ces méthodes à l'échelle méditerranéenne, et formulation de méthodes de référence. Substances figurant sur les listes de priorité des protocoles sur les opérations d'immersion et sur la pollution d'origine tellurique (activité A);
- mise au point de la présentation type des rapports à soumettre en application des protocoles relatifs à l'immersion, à la pollution résultant de situations critiques et à la pollution d'origine tellurique, (activité B);
- élaboration des fondements scientifiques des critères de qualité de l'environnement qui serviront à définir des normes d'émission, des normes d'usage ou des directives concernant les substances énumérées dans les annexes I et II du protocole relatif à la pollution d'origine tellurique, conformément aux articles 5, 6 et 7 de ce protocole (activité C);
- études épidémiologiques relatives à la confirmation (ou révision éventuelle) des critères de la qualité de l'environnement (normes d'usage) proposés pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (activité D);
- mise au point de projets de directives et de critères régissant l'application du protocole relatif à la pollution d'origine tellurique, conformément à l'article 7 de ce protocole (activité E);
- recherches sur les processus océaniques, et particulièrement sur la circulation en surface et les déplacements verticaux. Cette information est nécessaire à la connaissance de la répartition des polluants en Méditerranée et à la mise au point de plans pour parer aux situations critiques (activité F);
- recherches sur la toxicité, la persistance, la bioaccumulation et le caractère cancérogène et mutagène de certaines substances énumérées dans les annexes du protocole relatif à la pollution d'origine tellurique et du protocole relatif aux opérations d'immersion (activité G);
- recherches sur l'eutrophisation et les floraisons de plancton qui l'accompagnent. Cette information est nécessaire pour évaluer la possibilité de prévenir les effets et les dégâts causés par ces floraisons périodiques (activité H);
- étude des modifications de l'écosystème dans les zones soumises à l'influence des polluants et dans celles où ces modifications sont dues à d'importantes activités industrielles sur la côte ou à l'intérieur des terres (activité I);
- effets des pollutions thermiques sur les écosystèmes marins et côtiers, y compris l'étude des effets connexes (activité J);

- cycle biogéochimique de certains polluants intéressant particulièrement la santé (mercure, plomb, survie des organismes pathogènes dans la mer Méditerranée, etc.) (activité K);
- étude des processus de transfert des polluants (i) aux points de contact entre les cours d'eau et la mer et entre l'air et la mer, (ii) par sédimentation et (iii) à travers les détroits qui relient la Méditerranée aux mers voisines (activité L).

Les Parties contractantes au cours de leur sixième réunion ordinaire (Athènes, octobre 1989) ont convenu de:

- (a) réorienter les activités de recherche menées dans le cadre du MED POL en sorte qu'elles engendrent des informations qui soient également utiles pour l'application technique du Protocole tellurique, en plus de l'appui apporté aux activités de surveillance continue;
- (b) à compter de 1990, remplacer les activités A à L par les cinq nouveaux domaines de recherche ci-après:

#### Domaine de recherche I - Caractérisation et dosage

Ce domaine englobera des projets de recherche en matière de caractérisation (identification de constituants chimiques ou microbiologiques) et de dosage (mise au point et essai de méthodes) de contaminants donnés;

#### Domaine de recherche II - Transfert et dispersion

Ce domaine englobera des projets visant à approfondir notre connaissance des mécanismes physiques, chimiques et biologiques qui véhiculent les polluants potentiels de leurs sources à leurs dépôts ultimes. Les sujets étudiés porteront notamment sur le transfert et le dépôt atmosphériques, les mouvements et le brassage des eaux, le transfert des contaminants par sédimentation et leur incorporation dans les cycles biogéochimiques. Priorité sera accordée à l'obtention de données quantitatives servant, en dernier ressort, à la modélisation des systèmes et à l'établissement des évaluations régionales;

#### Domaine de recherche III - Effets

Ce domaine englobera des projets relatifs aux effets de certains contaminants énumérés aux annexes I et II du Protocole tellurique et du Protocole relatif aux situations critiques: effets sur les organismes, les communautés et les écosystèmes marins, effets chez l'homme et parmi les populations humaines. Priorité sera accordée aux effets et techniques fournissant des données utiles pour établir les critères de qualité du milieu;

#### Domaine de recherche IV - Destinées/transformation dans l'environnement

Ce domaine englobera des projets portant sur l'étude de la destinée des polluants (micro-organismes y compris), dans le milieu marin, et notamment sur la persistance et la survie, la dégradation, la transformation et la bio-accumulation, etc., mais non sur le transfert et la dispersion qui sont traités dans le domaine II;

#### Domaine de recherche V - Prévention et lutte antipollution

Ce domaine englobera des projets traitant de la détermination des facteurs conditionnant l'efficacité des méthodes d'épuration et d'élimination des déchets sous des conditions locales spécifiques ainsi que de l'établissement de critères de qualité du milieu et de mesures communes de réduction de la pollution;

- (c) définir des contaminants cibles ou d'autres variables à des intervalles périodiques en fonction de l'état de l'avancement de l'application du Protocole tellurique;
- (d) choisir les propositions de projet sur la base de leur valeur scientifique intrinsèque, leur spécificité méditerranéenne et, chaque fois que possible, encourager les projets bilatéraux et multilatéraux entre les pays méditerranéens du nord et du sud du bassin.

Comme lors de la Phase I du MED POL, la coordination et la direction générales de la Phase II étaient assurées par le PNUÉ, par l'intermédiaire du secrétariat du Plan d'action pour la Méditerranée (PAM). Les organismes spécialisés coopérants des Nations Unies (FAO, UNESCO, OMS, OMM, AIEA, COI) étaient chargés de l'exécution technique et de la coordination quotidienne des travaux des centres de recherche nationaux participant au programme de surveillance continue et de recherche.

Le présent volume comprend les rapports finaux sur les projets de recherche traitant des effets de polluants sur les communautés et les organismes marins. La préparation, l'édition et la compilation de ce volume ont été assurées par M. G.P. Gabrielides, FAO Fonctionnaire Principal des Pêches (Pollution Marine), et Mme V. Papapanagiotou, Secrétaire FAO était chargée de la dactylographie.



TABLE OF CONTENTS/TABLE DES MATIERES

	<u>Page No.</u>
Etude experimentale de l'action du cadmium sur les juveniles (Civelles et Anguillettes) de l'anguille europeenne <u>Anguilla anguilla</u>	
par Sylviane LEMAIRE-GONY	1
Etude experimentale des effets du cadmium et du mercure sur les oeufs fecondes de la truite arc-en-ciel ( <u>Salmo gairdneri</u> )	
par M. KESSABI, Y. SABHI et A. EL HRAIKI	35
Toxicité, persistance et bioaccumulation du chrome chez deux organismes marins comestibles: La moule <u>Mytilus edulis</u> et le crabe <u>Liocarcinus puber</u> . Aspects structuraux, ultrastructuraux et microanalytiques	
par Colette CHASSARD-BOUCHAUD	49
L'ichtyoplancton des eaux côtières libanaises: composition et distribution des oeufs et larves de teleostens	
par S. LAKKIS et R. ZEIDANE	81
Caracteristiques hydrologiques, structures phytoplanctoniques et successions écologiques dans la zone infralittorale de la region est de la baie d'Alger	
par F.L. SAMSON-KECHACHA	101
Impact de la pollution sur la composition chimique et l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de <u>Posidonia oceanica</u> (L.) Delile	
par P. BERNARD, D. PESANDO, A.C. VISO, P. PANAYOTIDIS et V.A. CATSIKI	115
The composition and diversity of planktonic larval decapoda off the Mediterranean coast of Israel	
by Bella GALIL	131
Biogeochemical cycle of mercury species in the marine environment	
by M. BRANICA, N. MIKAC and Ž. KWOKAL	153

ETUDE EXPERIMENTALE DE L'ACTION DU CADMIUM SUR LES JUVENILES  
(CIVELLES ET ANGUILLETES) DE L'ANGUILLE EUROPEENNE  
Anguilla anguilla

par

Sylviane LEMAIRE-GONY

Laboratoire de Biologie Marine,  
Université de Perpignan, France

RESUME

Les effets du cadmium à court et à plus long terme, sur les stades juvéniles (civelles et anguilletes) de l'anguille Anguilla anguilla ont été analysés expérimentalement du point de vue structural et fonctionnel. Dans un premier temps, l'analyse des phénomènes de bioaccumulation du métal dans les tissus a permis de préciser les mécanismes de pénétration et d'accumulation du cadmium dans l'organisme, ainsi que sa distribution dans les différents organes. Il a été montré que les sécrétions muqueuses intestinales et tégumentaires constituent des barrières difficilement franchies par le cadmium. Ces tissus ne présentent donc aucune altération structurale après contamination par ce métal. La branchie, principal site de pénétration du cadmium dans l'organisme, montre des perturbations structurales et fonctionnelles (osmorégulation) précoces et graves. Cependant les lésions observées sont réversibles. En revanche, le foie, du fait de l'accumulation du cadmium dans les tissus hépatiques, présente des altérations structurales plus tardives mais irréversibles, touchant non seulement les hépatocytes mais aussi les voies sanguines et biliaires. De plus, l'intoxication par le benzo(a)pyrène d'anguillettes préalablement contaminées par le cadmium a permis la mise en évidence d'une action toxique synergique de ces deux polluants, tant du point de vue des altérations structurales (foie, intestin) que des perturbations métaboliques (induction des activités de biotransformation impliquées dans le métabolisme du benzo(a)pyrène. Ce travail a montré la sensibilité des stades juvéniles d'anguille vis à vis des facteurs de pollution et leur vulnérabilité vis à vis de la contamination chronique des milieux margino-littoraux qu'elles traversent nécessairement au cours de leur cycle vital. Les conséquences écologiques des effets des pollutions sur les populations naturelles d'anguilles ne doivent pas être mésestimées.

## 1. INTRODUCTION

Parmi les métaux lourds, le cadmium est l'un des plus toxiques (Woltering, 1984). Libéré dans le milieu naturel, essentiellement à partir de rejets industriels et domestiques (Cauwet et Fernandez, 1984), il contamine plus particulièrement les zones margino-littorales (côtières, estuariennes et lagunaires). Or, ces zones sont le refuge de nombreuses espèces de poissons marins auxquels elles servent de nurseries (Hervé et Bruslé, 1979). Les juvéniles de ces espèces sont donc susceptibles de subir des contaminations par des taux de Cd parfois relativement élevés: 0,33 µg l<sup>-1</sup> dans l'embouchure de l'Arno (Betti et al., 1985).

Cependant les études portant sur les effets toxiques du Cd à l'échelle organique (effets structuraux et fonctionnels) restent relativement rares, la plupart des auteurs s'étant surtout intéressés aux phénomènes de bioaccumulation, soit directement à partir du milieu contaminé (Noel-Lambot et Bouquegneau, 1977; Andersen, 1984; Crespo et al., 1986), soit au niveau des différents maillons de la chaîne alimentaire (Amiard-Triquet et al., 1983).

Certains auteurs ont cependant montré des effets nocifs du Cd sur les organes vitaux des poissons: branchie (Tort et al., 1984), foie (Halsband et al., 1984; Rhodes et al., 1985), intestin (Crespo et al., 1986), rein (Halsband et al., 1984; Crespo et al., 1986), système nerveux et squelette (Halsband et al., 1984) ainsi que sur les grandes fonctions organiques, telles que l'osmorégulation (Giles, 1984; Crespo et al., 1986) ou l'érythropoïèse (Houston et Keen, 1984).

Une première étude expérimentale des effets du Cd sur les stades juvéniles de l'anguille a permis de mettre en évidence des perturbations structurales profondes au niveau de certains organes-cibles: branchie, foie, intestin, tégument (Gony et al., 1988). Plus particulièrement, les lésions branchiales et hépatiques observées ont été jugées irréversibles et létales à long terme (désorganisation totale de l'appareil branchial; destruction du foie par un processus cirrhotique), et ceci même après une longue période (1 mois et demi) de décontamination. De plus, nous avons montré que les altérations sont plus graves, et la bioaccumulation plus importante, en eau douce qu'en eau saumâtre. Enfin, nous avons mis en évidence l'existence d'un gradient céphalo-caudal des concentrations tissulaires de Cd chez des juvéniles d'anguilles contaminés en eau douce (Gony et al., 1988).

Le travail présenté ici se proposait donc d'approfondir les résultats observés au cours de ces recherches préliminaires. Ce programme concernait plus particulièrement les mécanismes de pénétration et de bioaccumulation du Cd dans l'organisme et ses effets toxiques au niveau des deux organes qui sont apparus les plus atteints au cours de nos expériences préliminaires: la branchie et le foie. Nous nous sommes donc intéressés à trois aspects particuliers de ce problème:

- a) Pénétration, accumulation et distribution du Cd dans les juvéniles d'anguille (civelles et anguillettes) au cours d'une contamination expérimentale par le métal en solution dans l'eau et après une phase de décontamination de durée variable.
- b) Perturbations structurales et fonctionnelles (osmorégulation) induites par le Cd au niveau de la branchie.
- c) Modifications structurales et fonctionnelles (activités de biotransformation) induites par le Cd au niveau du foie.

En effet, nous avons cherché à déterminer l'effet du métal sur les systèmes de biotransformation impliqués dans la détoxification et l'élimination des polluants hydrophobes tels que les hydrocarbures, après contamination des poissons par le Cd et le benzo(a)pyrène (BaP). Ces systèmes sont des systèmes à monooxygénases cytochrome P-450 dépendantes encore appelées "mixed function oxidases" ou MFO.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1 Les expériences in vivo

#### 2.1.1 Protocoles expérimentaux

##### Expérience I: Contamination à court terme (3 jours) par une forte concentration (5 mg l<sup>-1</sup>)

Deux séries expérimentales de contamination de civelles ( $PT=0,19 \pm 0,05$  g) ont été réalisées: une en eau douce (eau de la ville), l'autre en eau saumâtre artificielle à 10 ‰. Pour chaque série, 4 bacs en plexiglass (pas de recyclage ni de renouvellement de l'eau; aération; température:  $15 \pm 1$ EC) ont été utilisés:

- a) Bac "Témoin-chimie": 10 l d'eau contaminée (5 mg Cd l<sup>-1</sup> sous forme de  $Cd(NO_3)_2$ ) sans civelles (variations de la concentration en Cd de l'eau liées aux conditions expérimentales);
- b) Bac "Témoin-Biologie": 10 l d'eau non contaminée + 100 civelles (impact des conditions d'élevage sur les poissons);
- c) Bac "Contamination": 10 l d'eau contaminée (5 mg Cd l<sup>-1</sup>) + 100 civelles;
- d) Bac "Décontamination": 10 l d'eau non contaminée + civelles survivantes du bac "Contamination" (2ème partie de l'expérience).

L'expérience était divisée en deux phases: une phase de contamination de 3 jours suivie d'une phase de décontamination de 28 jours. Des prélèvements d'eau ont été réalisés tout au long de la phase de contamination afin de contrôler la concentration du Cd. Des prélèvements de poissons ont été effectués dans deux buts distincts:

- a) mesure des concentrations tissulaires en Cd après 3 jours de contamination et après 3 jours de contamination suivis de 28 jours de décontamination;
- b) histocytopathologie de la branchie et du foie après 2 heures, 1 jour et 3 jours de contamination et après 3 jours de contamination suivis de 14 et 28 jours de décontamination.

##### Expérience II: Contamination à court terme (3 jours) par une concentration moyenne (112 µg l<sup>-1</sup>)

Afin de suivre la cinétique d'accumulation du Cd dans différents organes, nous avons réalisé une contamination expérimentale d'anguillettes ( $PT= 14 \pm 4$  g) par du Cd radioactif à deux salinités eau douce (eau de la ville) et eau saumâtre artificielle à 10 ‰. La concentration en Cd total (froid + radioactif) était de 112 µg l<sup>-1</sup> et la quantité de <sup>115m</sup>Cd (isotope radioactif) introduite a été déterminée de façon à obtenir une radioactivité d'environ 15000 cpm ml<sup>-1</sup> dans l'eau.

Pour les expériences de plus de 24 h, l'eau a été renouvelée toutes les 24 h. La radioactivité de l'eau a été contrôlée par des prélèvements réguliers (15, 30 et 45 mn, puis 1, 2, 3, 4, 5, 6,7 et 24 h après le changement d'eau). La température était maintenue à  $15 \pm 1$  EC.

Pour chacune des durées testées (15, 24, 48 et 72 h de contamination et 72 h de décontamination), 4 anguillettes ont été placées dans un bac contenant 2 l d'eau convenablement aérée, à l'obscurité. A la fin de chacune des durées étudiées, les 4 poissons ont été sacrifiés et des prélèvements d'organes effectués pour l'étude histo-cytopathologique (branchie, foie et tégument) et pour le suivi des concentrations tissulaires en Cd (branchie, tégument, foie, intestin, rate et muscle).

Expérience III: Contamination à long terme (34 jours) par une faible concentration ( $5 \mu\text{g l}^{-1}$ )

Une contamination de longue durée (34 jours) par une faible concentration en Cd ( $5 \mu\text{g l}^{-1}$ ) a été réalisée chez des anguillettes en eau de mer artificielle (35 ‰). L'expérience s'est déroulée dans des bacs en plexiglass contenant 10 l d'eau aérée et renouvelée toutes les 48 h, et 5 anguillettes ( $P_T = 20,9 \pm 5$  g).

A la fin de l'expérience, les anguillettes ont été sacrifiées afin d'analyser l'histocytopathologie de la branchie, du foie et de l'intestin.

Expérience IV: Contamination à long terme (25 jours) par une faible concentration ( $5 \mu\text{g l}^{-1}$ ) et intoxication par le benzo(a)pyrène ( $20 \text{ mg kg}^{-1}$ )

Afin de mieux cerner les aptitudes d'un foie préalablement altéré par le Cd à détoxifier les hydrocarbures, nous avons cherché à déterminer les effets d'une intoxication par un hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP), le Benzo(a)pyrène (BaP) chez des anguillettes ayant subi une contamination par le Cd de longue durée. Des anguillettes ( $P_T = 46,6 \pm 9,8$  g) ont donc été contaminées par du  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  en solution dans l'eau, à raison de  $5 \mu\text{g Cd l}^{-1}$ , dans des bacs contenant 25 l d'eau de mer artificielle (35 ‰) non recyclée mais aérée et renouvelée toutes les 48 h, tandis qu'un lot témoin était maintenu parallèlement dans les mêmes conditions d'élevage en l'absence de Cd.

Après 24 jours de contamination par le Cd, les deux lots d'anguilles ont été divisés chacun en deux sous-lots recevant l'un une injection intrapéritonéale de BaP ( $20 \text{ mg kg}^{-1}$ ) dissous dans un mélange acétone / huile de maïs stérile (1V/2V), l'autre recevant une injection du mélange acétone / huile de maïs seul. Quatre nouveaux lots étaient ainsi définis (Tableau 1).

Tableau 1

Expérience IV: Traitement subi par les différents lots d'anguilles.

	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
Cadmium	-	+	-	+
BaP	-	-	+	+

24 h après l'injection, les poissons étaient sacrifiés et des prélèvements d'organes effectués afin:

- a) d'étudier l'histocytologie de la branchie, du foie et de l'intestin;
- b) d'analyser les activités hépatiques de biotransformation.

## 2.1.2 Techniques d'étude

### Analyses du cadmium

Expérience I: Les échantillons d'eau ont été filtrés sur papier Whatman GF/C et acidifiés par l'acide nitrique à 65% (5 ml l<sup>-1</sup>). Les civelles ont été sectionnées en 4 tronçons (tronçon I ou céphalique: branchies et cerveau; II ou hépatique: foie et estomac; III ou intestinal: intestin et rein; IV ou caudal: muscle et tégument) et les tronçons ont été poolés par catégories et par prélèvement. Les pools ont été lyophilisés, puis digérés à l'acide nitrique suprapur (1 ml 100 mg<sup>-1</sup> PS) à 90°C pendant 1 h (Amiard *et al.*, 1987). Les échantillons d'eau et de tissus ont été analysés en spectrométrie d'absorption atomique à l'aide de 2 spectromètres: Perkin-Elmer 3030 Zeeman et Hitachi Z-80-180. Le facteur de concentration du Cd a été calculé chez les poissons contaminés au cours de la phase de contamination de la façon suivante:

$$FC = \text{concentration Cd (tissus)}/\text{concentration Cd (eau)}$$

Les analyses ont été réalisées au Centre de Dosage des éléments traces de Nantes avec la collaboration du Dr. Jean-Claude Amiard.

Expérience II: Les échantillons d'eau ont été directement analysés à l'aide d'un compteur à scintillation Bétamatic (Kontron) avec un scintillant classique (Aqualuma plus, Lumac). Les échantillons de tissu ont été digérés pendant 72 h par la soude NaOH 4N puis analysés sur le même compteur avec un scintillant adapté (Hionic-Fluor, Packard). Le facteur de concentration a été calculé de la façon suivante:

$$FC = \text{radioactivité tissu} / \text{radioactivité eau}$$

Les expériences et les analyses ont été réalisées au Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Comparée de la Faculté des Sciences de Nice avec la collaboration du Dr. Jacques Isaia.

### Histocytologie

Histologie classique: Les fragments de tissu ont été fixés par le liquide de Bouin ou de Bouin-Hollande et inclus dans la paraffine. Les coupes de 5 µm d'épaisseur pratiquées à l'aide d'un microtome Reichert-Jung ont été colorées par le rouge nucléaire solide et le micro-indigo-carmin pour l'étude topographique.

Coupes semi-fines et microscopie électronique: Les fragments de tissu ont été fixés pendant 4 h à 4°C par le glutaraldéhyde dans un tampon cacodylate de sodium/chlorure de

calcium (pH 7.4). Elles ont ensuite été rincées dans un tampon saccharose/cacodylate de sodium/ $\text{CaCl}_2$  et post-fixées par l'acide osmique dans le même tampon.

Pour la microscopie électronique à transmission, les pièces ont ensuite été déshydratées par l'acétone et incluses dans une résine synthétique (Polarbed 812, Polaron). Les coupes semi-fines (1  $\mu\text{m}$  d'épaisseur) ont été colorées par le bleu de Richardson (Richardson *et al.*, 1960), tandis que les coupes ultrafines (700 Å) ont été contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (Reynolds, 1963) et observées sur un microscope électronique à transmission Hitachi HU 12 A.

Pour la microscopie électronique à balayage, les pièces fixées et post-fixées comme ci-dessus ont été déshydratées par l'éthanol et séchées par le  $\text{CO}_2$  dans un appareil à point critique Balzers-Union, avant d'être métallisées à l'or (métalliseur-sputtering Hitachi). Elles ont été observées sur un microscope électronique à balayage Hitachi S 520.

### Analyses biochimiques

Les activités enzymatiques hépatiques de biotransformation ainsi que la quantité de cytochrome P-450 ont été analysées au Laboratoire de Biotransformation et de Cancérogenèse de la Faculté de Médecine de Nice avec la collaboration du Dr. Philippe LEMAIRE.

Les microsomes hépatiques ont été isolés par centrifugations différentielles (Lemaire, 1990) dans un tampon sucrose 0,02 M / Tris 0,05 M, pH 7,4 HCl (Nava et Engelhardt, 1982).

La quantité de cytochrome P-450 est dosée selon la méthode de Omura et Sato (1964a et b) en spectrophotométrie. L'activité NADPH cytochrome c réductase se dose en cinétique et en spectrophotométrie selon la méthode décrite par Masters *et al.* (1967).

Les activités éthoxyrésorufine-O-dééthylase (EROD) et benzo(a)pyrène monooxygénase (BaPMO) sont analysées en fluorimétrie selon les méthodes de Burke et Mayer (1974) et Nebert et Gelboin (1968) respectivement.

L'activité glutathion-S-transférase (GST) est mesurée selon la méthode décrite par Habig *et al.* (1974) en cinétique et en spectrophotométrie.

Tous les dosages d'activités enzymatiques sont réalisés à 30°C. Ces techniques d'analyse ont été adaptées pour leur étude chez les poissons par Lemaire (1990). Les lectures spectrophotométriques sont réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre Uvikon 930 (Kontron) et les lectures fluorimétriques à l'aide d'un fluorimètre SFM 25 (Kontron). La quantité de protéines est déterminée selon la méthode de Lowry *et al.* (1951), avec l'albumine sérique de boeuf comme référence.

## 2.2 Les expériences in vitro

### 2.2.1 Etude des flux transbranchiaux

L'étude des effets de la contamination par le Cd sur les flux ioniques transbranchiaux

a été réalisée au Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Comparée de la Faculté des Sciences de Nice en collaboration avec le Dr. Jacques Isaia. L'espèce choisie pour cette étude était la truite Salmo gairdneri.

### Choix de la truite

Le choix de la truite pour cette étude a été guidé par deux critères. En effet, non seulement la physiologie branchiale de ce poisson est bien connue (Avella *et al.*, 1986), mais, en plus, le flux entrant de sodium est environ 20 fois plus élevé chez la truite (de l'ordre de  $40\mu\text{mol h}^{-1} 100 \text{ g}^{-1}$ ) que chez l'anguille (de l'ordre de  $2 \mu\text{mol h}^{-1} 100 \text{ g}^{-1}$ ), d'où une plus grande facilité pour détecter une éventuelle inhibition partielle des flux.

Les truites, d'un poids moyen de 200 g, proviennent d'un élevage piscicole de St-Jeannet (Alpes Maritimes) et sont maintenues en circuit ouvert (eau de la ville aérée par bullage d'air) dans des cuves de 500 litres en chambre froide (température:  $15 \pm 1\text{EC}$ ; photopériode: 12 heures/12 heures).

### Technique de perfusion de la tête de poisson isolée

La technique de perfusion de la tête de poisson isolée, mise au point par Payan et Matty (1975) et corrigée par Bornancin *et al.* (1985), a été utilisée ici pour suivre les flux artériels de sodium et d'eau à l'aide d'éléments radioactifs ( $^{22}\text{Na}$  et eau tritiée).

Les flux témoins ont été mesurés à l'équilibre (soit 15 mn après le début de la perfusion), juste avant d'introduire le Cd ( $5 \mu\text{g l}^{-1}$ ). Les flux ont été de nouveau mesurés après 15 mn de contamination.

Le pourcentage d'inhibition du flux initial mesuré (flux témoin) a été calculé comme suit:

$$\% = 100 (J_T - J_{Cd}) / J_T$$

où  $J_T$  représente le flux témoin et  $J_{Cd}$  le flux après 15 mn de contamination.

## 2.2.2 Etude des activités $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPases branchiales

### Les poissons

Les anguilles ( $P_T = 354 \pm 82 \text{ g}$ ), en provenance de la Têt (fleuve côtier, Golfe du Lion), ont été séparées en deux lots, acclimatés l'un à l'eau douce (eau de forage: circuit ouvert, eau aérée par bullage d'air), l'autre à une eau de mer artificielle à 35 ‰ (recyclage sur laine de verre et charbon actif; aération) pendant 3 semaines (température:  $15 \pm 1\text{EC}$ ; photopériode: 12 heures/12 heures).

### Préparation des membranes

Les membranes latéro-basales des cellules à chlorures branchiales sont isolées après homogénéisation des branchies par centrifugations différentielles selon le procédé décrit par Mayer-Gostan et Lemaire (1991) et conservées à  $-20\text{EC}$ . La concentration en protéines des échantillons est déterminée par la méthode de Bradford (1976) avec l'albumine sérique de boeuf comme standard.

### Pré-incubation des membranes

Les membranes sont pré-incubées 30 mn en présence de Cd (de 0 à  $10^4$  nM  $Cd^{2+}$ ) dans les différents tampons utilisés pour l'incubation (avec ou sans ouabaïne, inhibiteur spécifique de l'activité  $Na^+/K^+$ -ATPase). En effet, l'activité  $Na^+/K^+$ -ATPase est calculée à partir de la différence entre l'activité enzymatique maximale et l'activité résiduelle obtenue en présence d'ouabaïne (pour les tampons d'incubation, voir Mayer-Gostan et Lemaire, 1991).

### Réaction enzymatique et dosage

La réaction enzymatique est initialisée par l'addition d'ATP dans les microcuvettes de la microplaque et le dosage est réalisé selon la méthode d'Henkel *et al.* (1988) adaptée aux ATPases branchiales de poissons par Mayer-Gostan et Lemaire (1991).

## 3. RESULTATS

Avant d'examiner les perturbations structurales et fonctionnelles induites par le Cd chez l'anguille, il convenait de mieux cerner les mécanismes de pénétration, de distribution, d'accumulation et d'élimination du métal dans les organismes. Ces phénomènes ont été étudiés en analysant les concentrations tissulaires du Cd au cours des expériences I et II.

### 3.1 Etude de la pénétration, de la distribution, de l'accumulation et de l'élimination du cadmium chez l'anguille

#### 3.1.1 Accumulation et élimination du cadmium au cours d'une contamination à court terme (3 jours) suivie d'une longue décontamination (28 jours) (Expérience I)

##### Les échantillons d'eau

Les analyses d'eau montrent une relative stabilité de la concentration du Cd au cours du temps. Cependant, il convient de remarquer que la concentration est deux fois plus élevée dans le bac contamination de la série en eau saumâtre ( $8,5 \text{ mg l}^{-1}$ ) que dans celui de la série en eau douce ( $4 \text{ mg l}^{-1}$ ).

##### Concentrations et distribution tissulaires du cadmium

Les concentrations tissulaires en Cd dans les témoins sont faibles (de 0,02 à 0,04  $ng \text{ g}^{-1}$  PS en valeur globale) et aucune différence n'est observée entre les civelles d'eau douce et celles d'eau saumâtre.

Chez les civelles contaminées, le calcul du facteur de concentration au cours de la phase de contamination montre que les civelles accumulent moins le Cd en eau saumâtre qu'en eau douce (fig. 1), tant au niveau corporel global que dans chacun des différents tronçons.

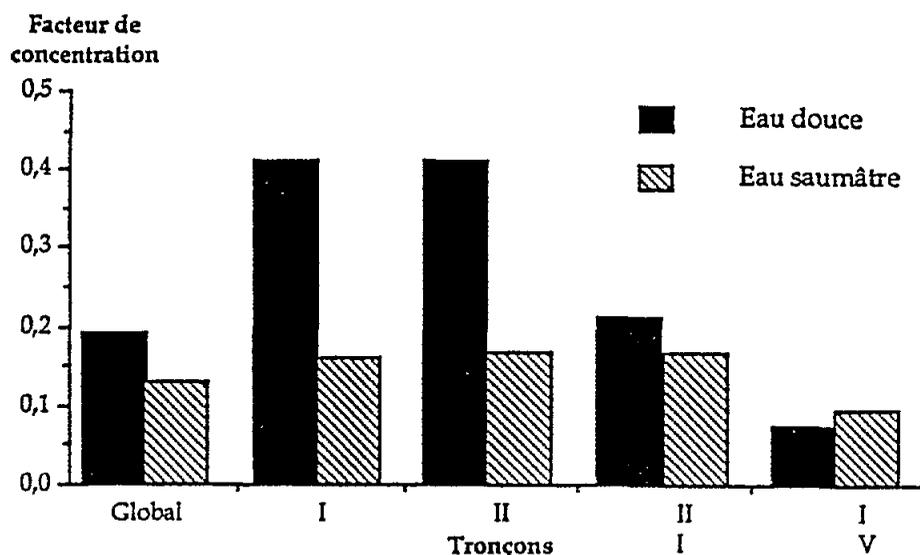


Fig. 1 Expérience I: Facteurs de concentration observés après 3 jours de contamination des civelles par  $5 \text{ mg Cd l}^{-1}$

Du point de vue des concentrations globales (fig. 2), aucune diminution n'apparaît après 28 jours de décontamination. En ce qui concerne la répartition du Cd entre les différents tronçons (fig. 2), on observe, chez les civelles d'eau douce, à l'issue de la phase de contamination, un gradient céphalo-caudal des concentrations tissulaires qui disparaît au cours de la phase de décontamination: en fin d'expérience, le Cd est plus concentré dans le tronçon hépatique (II) tant en eau douce qu'en eau saumâtre. Chez les poissons d'eau saumâtre, aucun gradient n'est mis en évidence: les concentrations dans les 3 tronçons viscéraux (I, II et III) sont équivalentes et supérieures à celle du tronçon caudal (IV). Après la phase de décontamination, la concentration du Cd diminue dans le tronçon céphalique (I) alors qu'elle augmente dans les autres tronçons.

### 3.1.2 Etude cinétique de l'accumulation du cadmium

#### En eau douce - Effet de la durée d'exposition

Muscle: c'est l'organe qui accumule la plus faible quantité de Cd à court terme. Cependant, le facteur de concentration très faible (0,006 après 24 h) croît au cours du temps pour atteindre la valeur de 0,014 après 72 h de contamination (fig. 3a).

Rate: du fait du très faible poids de cet organe, seuls des résultats très fragmentaires ont été obtenus (fig. 3b). Cependant, un facteur de concentration de 0,161 peut être observé après 72 h de contamination.

Foie: dès 15 h de contamination, la radioactivité est détectable au niveau du foie, mais seulement chez 2 individus sur les 4 testés. Après 24h, le facteur de concentration est de 0,016 et il s'accroît avec la durée d'exposition pour atteindre 0,103 après 72 h (fig. 3c).

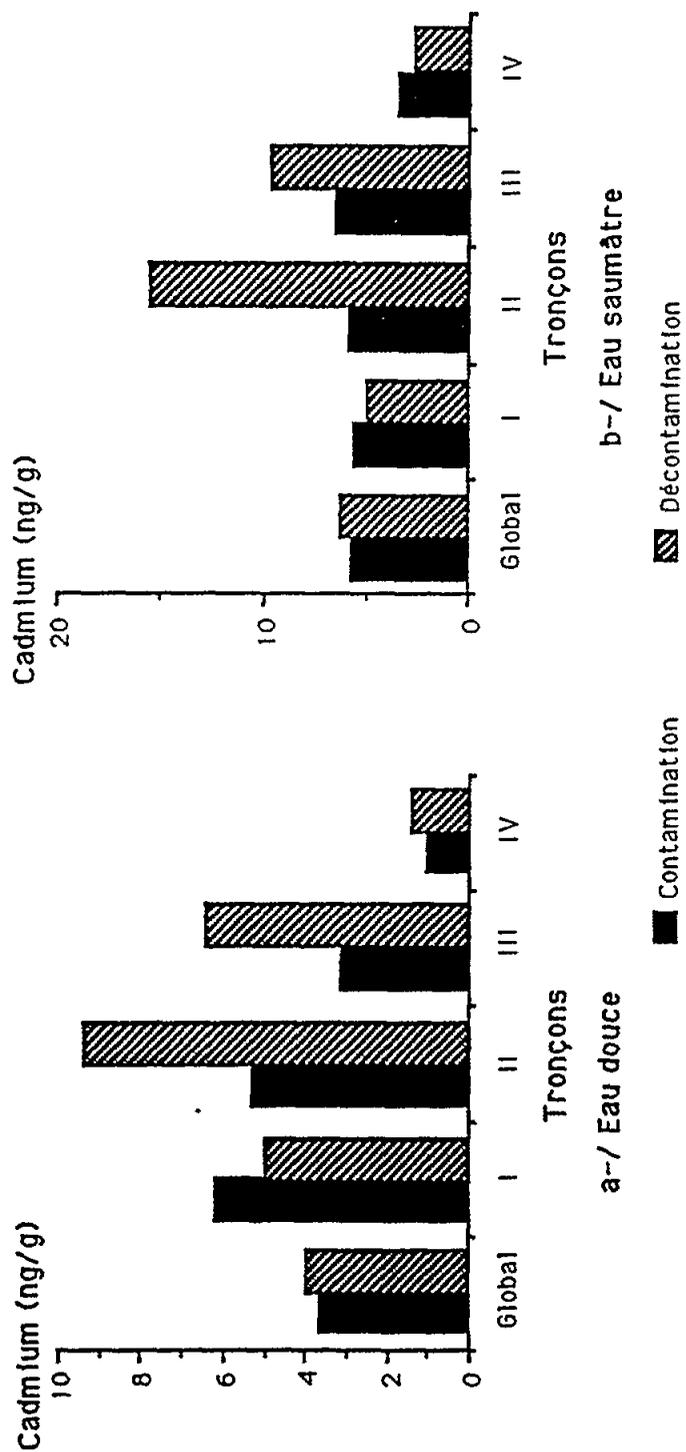


Fig. 2 Expérience I: Concentrations tissulaires du Cd chez les civelles après 3 jours de contamination par 5 mg Cd l-1 et après 3 jours de contamination suivis de 28 jours de décontamination

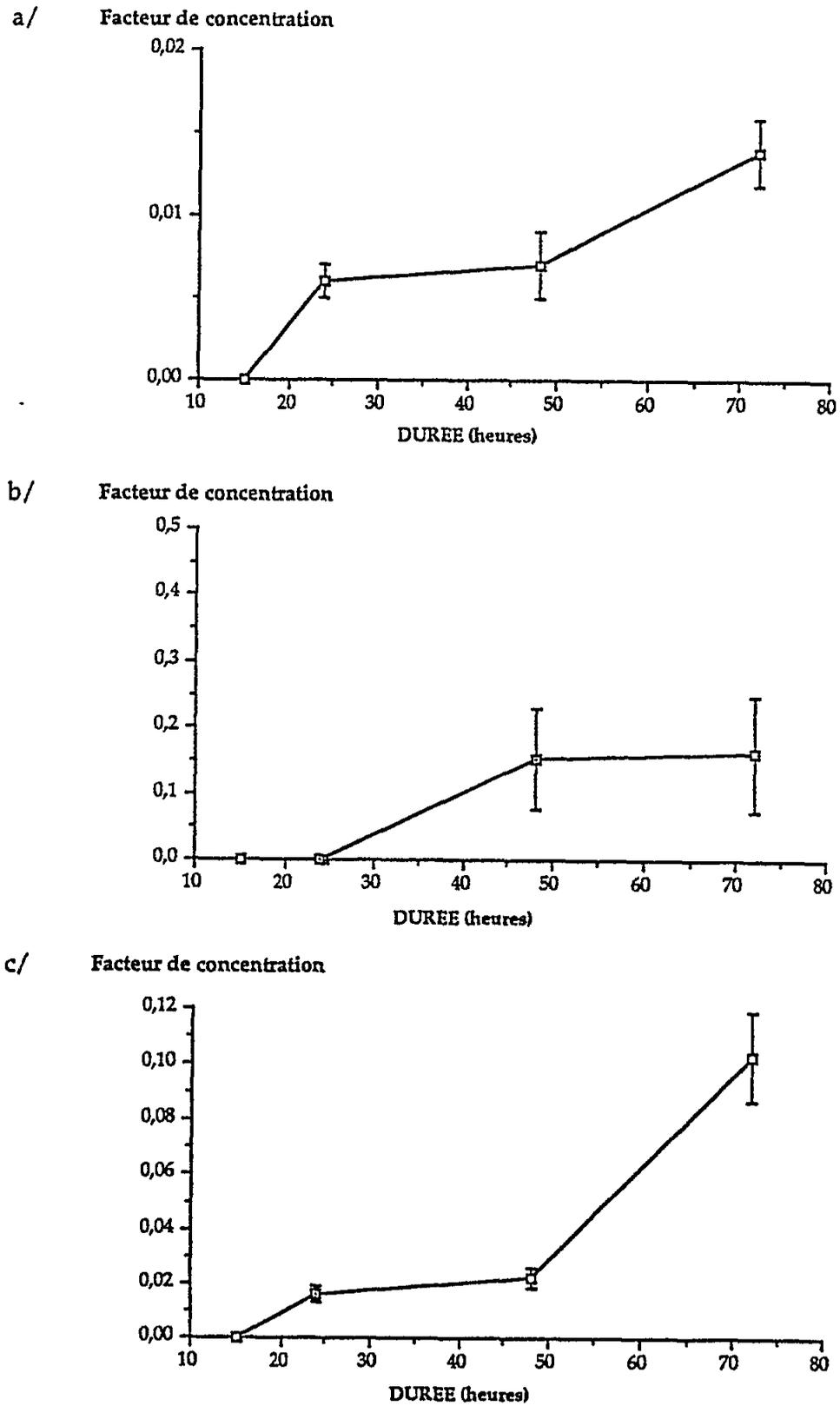


Fig. 3 Expérience II: Incorporation du Cd dans le muscle (a), la rate (b) et le foie (c)

Tégument: la présence de Cd est observable au niveau du tégument dès 15 h d'exposition (fig. 4a) et le facteur calculé reste relativement stable pendant la période de contamination (autour de 0,07) puis décroît fortement après 24 h de décontamination (0,01).

Intestin: l'intestin manifeste, dès 15 h de contamination, une radioactivité relativement importante (facteur de 0,116) qui augmente avec la durée d'exposition: le facteur de concentration est de 9,28 après 3 jours de contamination, mais il chute considérablement (0,077) après 24 h de décontamination (fig. 4b).

Branchie: le facteur de concentration, très élevé (3,54) dès 15 h d'exposition, reste relativement constant, même après 24 h de décontamination (fig. 4c).

#### En eau saumâtre - Effet de la salinité

Si on compare les résultats obtenus après 24 h d'exposition en eau douce et en eau saumâtre pour la même durée (figs. 5 et 6), on constate que, sauf pour l'intestin, les valeurs du facteur de concentration sont toujours plus faibles en eau saumâtre qu'en eau douce.

### 3.2 Perturbations branchiales induites par le cadmium

#### 3.2.1 Perturbations structurales

##### Effet d'une forte concentration (5 mg l<sup>-1</sup>) à court-terme (3 jours) (Expérience I)

Après seulement 2 h de contamination en eau douce, on observe une hypertrophie de l'épithélium branchial due à une dilatation des cellules épithéliales pavimenteuses. Cette hypertrophie s'amplifie au cours du temps et après 3 jours de contamination, l'épithélium branchial est complètement détruit: les cellules des assises internes apparaissent nécrosées tandis que celles des assises externes sont en cours de lyse, tant au niveau de l'épithélium primaire qu'au niveau de l'épithélium secondaire. Cependant, après 14 jours de décontamination, des signes de régénération sont observés bien que, après 28 jours de décontamination, l'épithélium demeure plus large que chez les témoins.

Les perturbations observées en eau saumâtre à 10 ‰ sont de la même nature, mais cependant moins graves que celles observées en eau douce.

##### Effet d'une concentration moyenne (112 µg l<sup>-1</sup>) à court-terme (3 jours) (Expérience II)

Après 15 h de contamination en eau douce, une hypertrophie de l'épithélium branchial est observée. Cette hypertrophie diminue après un jour de contamination, tandis que la présence de cellules à chlorures surnuméraires, sur les lamelles secondaires, est notée et que des mucocytes apparaissent au niveau de l'épithélium primaire interlamellaire. Après 3 jours, des phénomènes de fusion lamellaires sont observés.

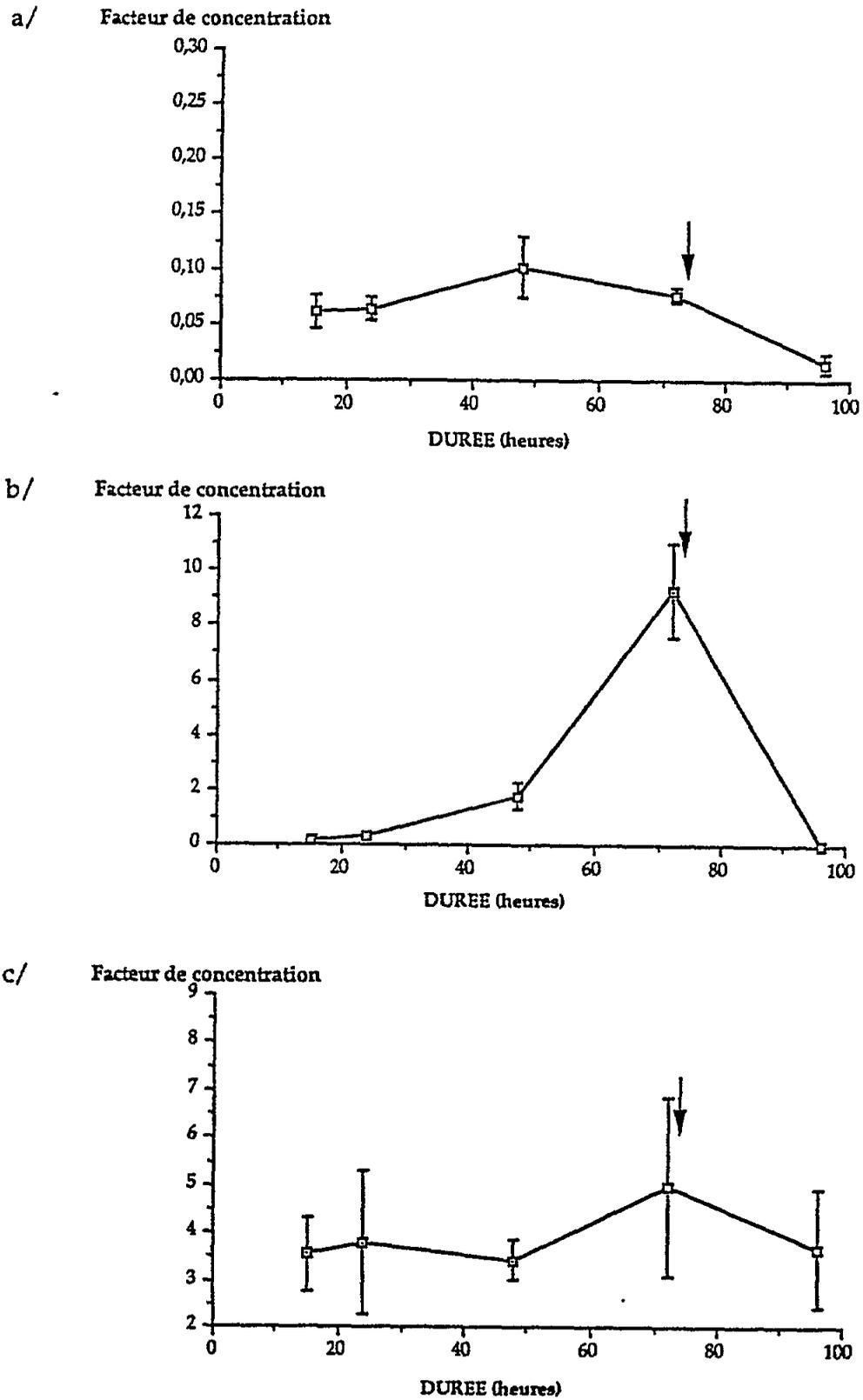


Fig. 4 Expérience II: Incorporation du Cd dans le tégument (a), l'intestin (b) et la branchie (c). La flèche représente le transfert en eau non contaminée

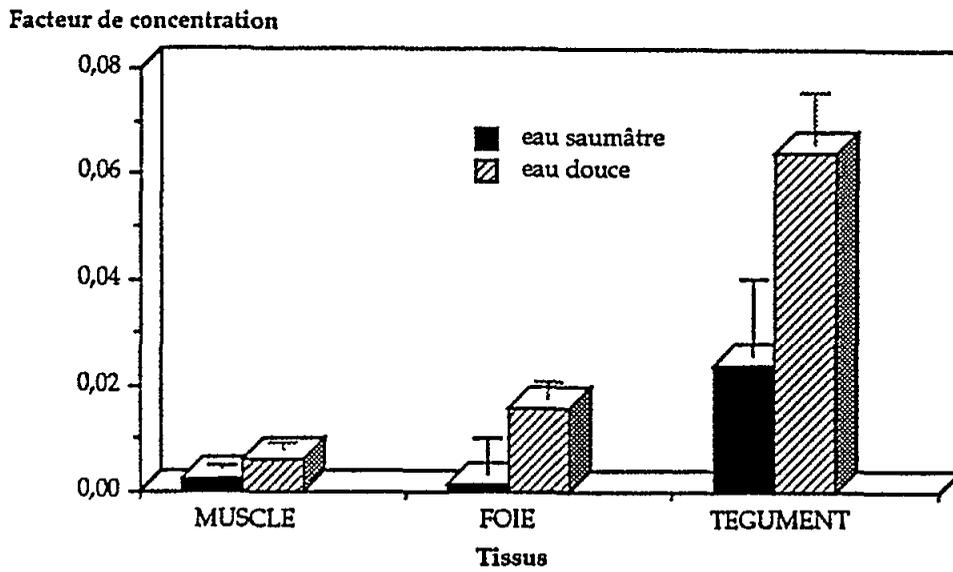


Fig. 5 Expérience II: Facteurs de concentration observés dans le muscle, le foie et le tégument en eau douce et en eau saumâtre après 24 h de contamination

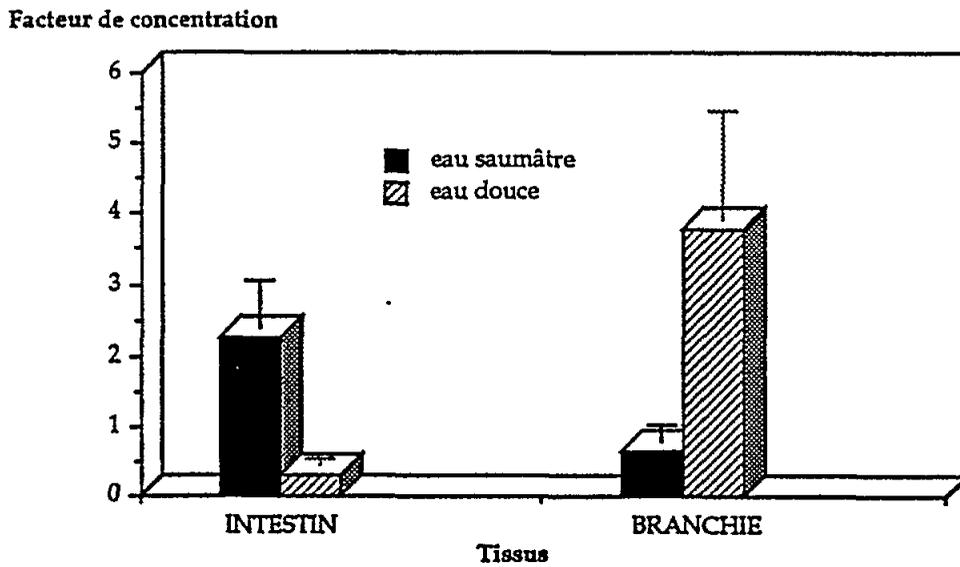


Fig. 6 Expérience II: Facteurs de concentration observés dans l'intestin et la branchie en eau douce et en eau saumâtre après 24 h de contamination

Le schéma des altérations induites en eau saumâtre est différent de celui observé en eau douce, la principale perturbation notée consistant en une congestion des lamelles branchiales dont les lacunes sanguines sont remplies d'érythrocytes.

Effet d'une faible concentration ( $5 \mu\text{g l}^{-1}$ ) à long-terme (34 jours)  
(Expérience III)

Après 34 jours de contamination en eau de mer (35 ‰), l'épithélium branchial montre de nombreuses cellules nécrosées. De nombreuses lamelles secondaires montrent un épithélium respiratoire en cours de desquamation et les espaces lymphatiques sont particulièrement importants. L'épithélium primaire apparaît très nécrosé et très vacuolisé (élargissement considérable des espaces intercellulaires). Les cellules à chlorures sont très altérées: vacuolisation très prononcée des mitochondries.

3.2.2 Perturbations fonctionnelles

Etude des flux transbranchiaux de sodium et d'eau

L'étude des flux de sodium montre que, si le flux artériel entrant n'est pratiquement pas modifié après 15 mn de contamination par le Cd (13,3% d'inhibition seulement), le flux net, en revanche, est totalement inversé: au lieu d'un flux entrant, normalement observé en eau douce, le flux devient sortant et d'une valeur absolue de l'ordre de celle du flux initial: le pourcentage d'inhibition est de 185,7% (fig. 7).

Comme le flux artériel entrant de sodium, le flux artériel entrant d'eau est très peu influencé par la contamination par le Cd: pourcentage d'inhibition de 13% seulement (fig. 8).

Etude des activités  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPases branchiales

Chez les anguilles adaptées à l'eau de mer (fig. 9), on observe une inhibition significative ( $p < 0,001$ ) de l'activité  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, d'autant plus importante que la concentration en Cd est élevée. La concentration qui entraîne une inhibition de 50% de cette activité est comprise entre  $5 \cdot 10^2$  et  $10^3 \text{ nM Cd}^{2+}$ .

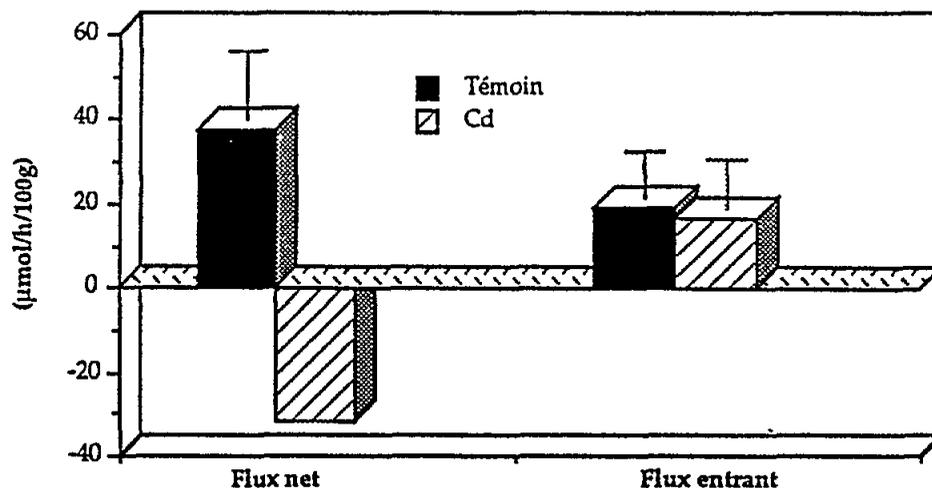


Fig. 7 Flux artériels nets et entrant de sodium avant et après 15 mn de contamination par  $5 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  chez la truite Salmo gairdneri en eau douce

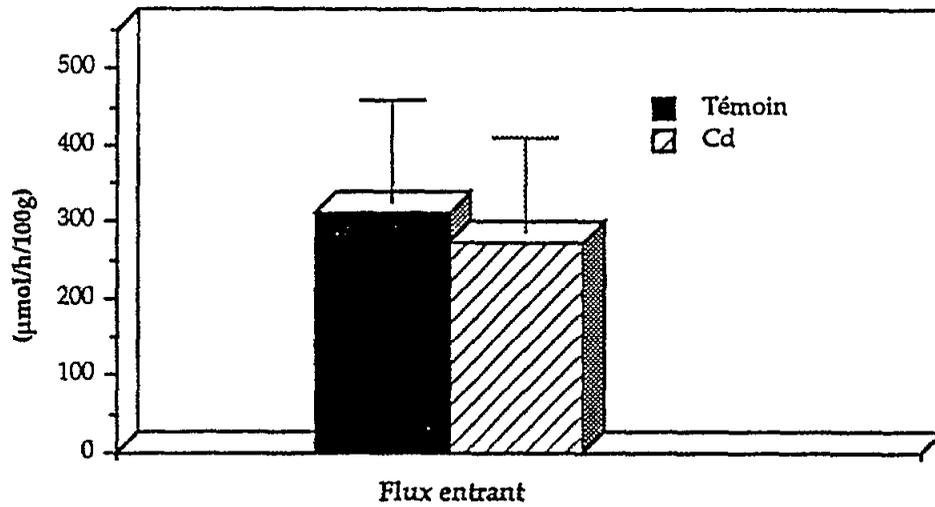


Fig. 8 Flux artériel entrant d'eau avant et après 15 mn de contamination par  $5 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  chez la truite Salmo gairdneri en eau douce

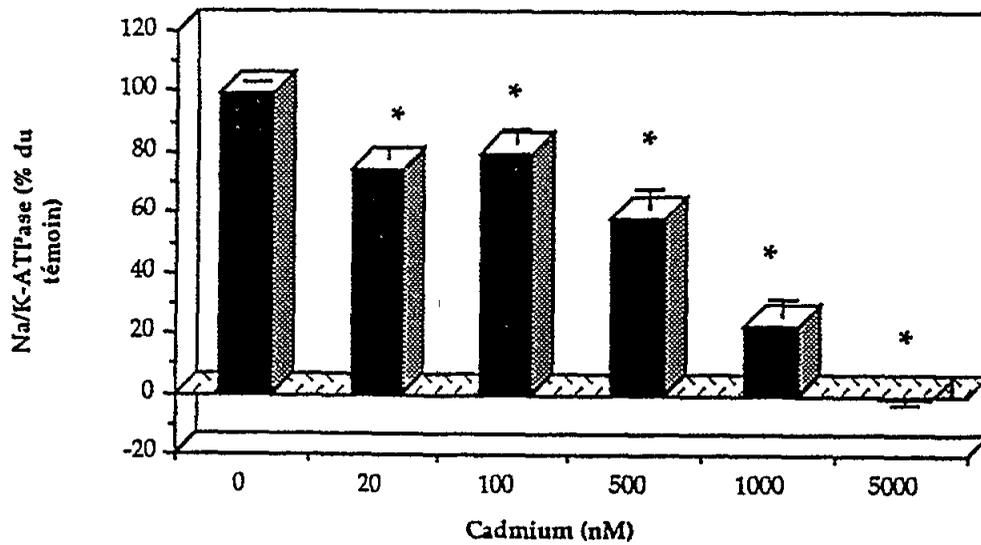


Fig. 9 Activité  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$  (% activité résiduelle par rapport à l'activité témoin) des anguilles adaptées à l'eau de mer.  
\* différence significative / témoin

Chez les anguilles adaptées à l'eau douce (fig. 10), on observe également une inhibition très significative ( $p < 0,001$ ) de cette activité. Cependant, la faiblesse des activités observées rend la technique moins sensible: l'inhibition n'est réellement significative qu'à des concentrations en Cd supérieures à  $10^2 \text{ nM Cd}^{2+}$  tandis qu'à  $10^3$  et  $10^4 \text{ nM Cd}^{2+}$ , l'activité est réduite à 5-10% de l'activité témoin. Dans ces conditions, il est difficile

d'appréhender la concentration pour laquelle 50% d'inhibition sont obtenus: elle est comprise entre  $10^2$  nM (pas d'inhibition significative) et  $10^3$  nM  $Cd^{2+}$  (95% d'inhibition).

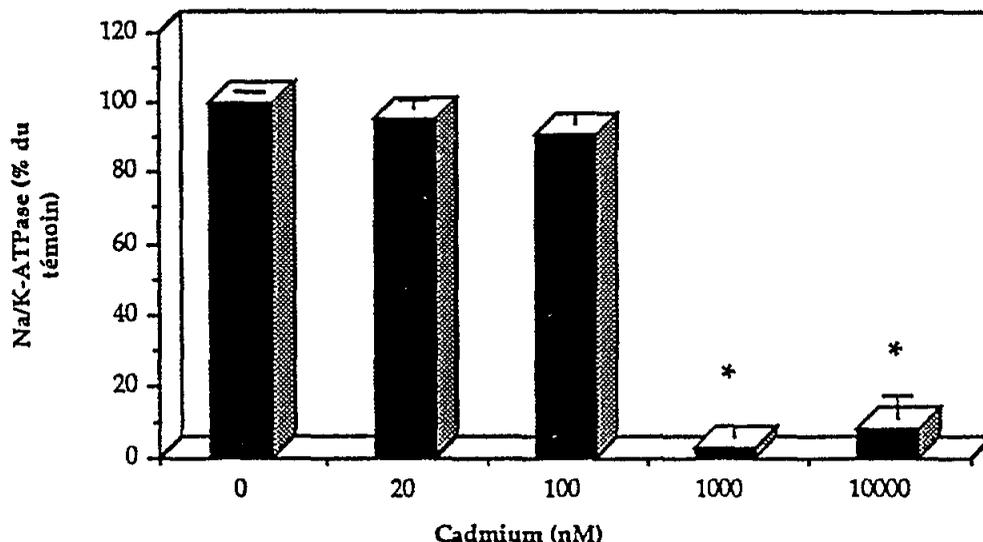


Fig. 10 Activité  $Na^+/K^+$ ATPase (% activité résiduelle par rapport à l'activité témoin) des anguilles adaptées à l'eau douce

### 3.3 Perturbations hépatiques induites par le cadmium

#### 3.3.1 Effet d'une forte concentration ( $5 \text{ mg l}^{-1}$ ) à court-terme (3 jours) (Expérience I)

Chez les civelles adaptées à l'eau douce, la seule perturbation décelable après 1 jour de contamination consiste en une agrégation du glycogène. Après 3 jours, de nombreux signes de dégénérescence sont observés: les cellules sont caractérisées par un réticulum endoplasmique granulaire très développé dont les citernes apparaissent dilatées. Les mitochondries sont également dilatées et de très nombreux lysosomes sont présents. De nombreux noyaux présentent une forme atypique et une accumulation importante de fibres de collagène est notée dans l'espace de Disse. Après décontamination, les hépatocytes retrouvent un aspect normal, mais l'accumulation de collagène persiste.

Chez les civelles adaptées à l'eau saumâtre, les altérations observées sont identiques quoique moins importantes.

#### 3.3.2 Effet d'une concentration moyenne ( $112 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ ) à court-terme (3 jours) (Expérience II)

Après seulement 15 h de contamination en eau douce, on note une accumulation de glycogène dans les hépatocytes. Cette accumulation s'accroît jusqu'au 3ème jour (2 jours de contamination), mais après 3 jours de contamination, des signes de dégénérescence hépatique apparaissent: de nombreux hépatocytes sont nécrosés alors que les autres montrent un réticulum

endoplasmique très développé et une accumulation de globules lipidiques. Chez les anguillettes adaptées à l'eau saumâtre, une accumulation de glycogène est également observée, mais elle demeure moins importante que chez les anguillettes adaptées à l'eau douce.

### 3.3.3 Effet d'une faible concentration ( $5 \mu\text{g l}^{-1}$ ) à long-terme (34 jours) (Expérience III)

Après 34 jours de contamination en eau de mer, le parenchyme hépatique présente de nombreuses altérations. Deux catégories d'hépatocytes dégénérescents sont reconnues. D'une part, certains hépatocytes s'opacifient et deviennent très denses aux électrons: ce sont des hépatocytes en cours de nécrose. D'autres, au contraire, présentent un cytoplasme de faible densité électronique: ce sont des hépatocytes en cours de lyse dont la membrane plasmique est souvent rompue et dont le cytoplasme, plus ou moins fragmenté, contient des mitochondries partiellement vacuolisées, des lysosomes et des figures myéliniques.

D'autre part, une importante accumulation de fibres de collagène dans l'espace de Disse est observée. Cette fibrose périvasculaire s'étend entre les hépatocytes et de nombreuses accumulations de fibres collagènes sont également observées dans de nombreux secteurs du parenchyme hépatique.

## 3.4 Etude des effets conjugués du cadmium et du benzo(a)pyrène

### 3.4.1 Effets structuraux

#### Branche

Les lésions observées au niveau branchial après contamination par le Cd sont les mêmes que celles précédemment rapportées (Cf. 3.2.1). L'intoxication par le BaP n'induit, à très court terme (24 h), aucune perturbation supplémentaire.

#### Intestin

Aucune perturbation structurale de l'intestin n'est observée après 25 jours de contamination par le Cd seul. Chez les anguilles intoxiquées par le BaP, l'épithélium intestinal présente des altérations précoces telles que la multiplication des mucocytes et des macrophages et une vacuolisation du cytoplasme apical due à une vacuolisation des mitochondries dans cette zone. Des perturbations de la même nature sont notées chez les anguillettes contaminées par le Cd et intoxiquées par le BaP, mais elles sont plus importantes. En outre des phénomènes de dégénérescence nucléaire sont observés.

#### Foie

Les lésions induites à long terme par le Cd seul sont identiques à celles précédemment décrites (Cf. 3.3.3). L'intoxication par le BaP seul induit, à très court-terme (24 h), une accumulation considérable de lipides dans les hépatocytes ainsi qu'une déplétion du glycogène et des altérations mitochondriales. En revanche, chez les poissons contaminés par le Cd et intoxiqués par le BaP, le parenchyme hépatique apparaît complètement

désorganisé: outre la fibrose hépatique due au Cd, les hépatocytes montrent des signes de dégénérescence nucléaire très graves, depuis la simple disparition du nucléole jusqu'à la destruction complète du noyau.

### 3.4.2 Effets métaboliques: activités de biotransformation

Chez les anguilles témoins, le contenu en cytochrome P-450 de la fraction microsomale hépatique ( $0,600 \pm 0,074$  nmol mg<sup>-1</sup> protéines) ainsi que les activités NADPH cytochrome c réductase ( $20,04 \pm 1,67$  nmol mn<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protéines), EROD ( $0,192 \pm 0,014$  nmol mn<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protéines), BaPMO ( $0,077 \pm 0,011$  pmol mn<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protéines) et GST ( $62,56 \pm 14,95$  nmol mn<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protéines) ont pu être mesurées (figs. 11-15). Ces activités sont peu modifiées après traitement des anguilles par le Cd. Cependant, on peut noter une légère augmentation (non significative) de l'activité BaPMO et de la quantité de cytochrome P-450 (figs. 11-15). Après 24 heures d'intoxication par le BaP chez les anguilles non contaminées par le Cd, seules les activités EROD et BaPMO apparaissent induites de façon très significative ( $p < 0,01$ ) respectivement d'un facteur 15 et 35 (figs. 11-15). En revanche, chez les anguilles contaminées par le Cd, l'injection de BaP induit non seulement les activités EROD et BaPMO de façon beaucoup plus importante que chez les anguilles non cadmiées (respectivement d'un facteur 19 et 71;  $p < 0,01$ ) mais en plus, une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de la quantité de cytochrome P-450 (facteur 1,8) est observée (figs. 11, 13 et 14). En outre, une inhibition également significative ( $p < 0,01$ ) de l'activité GST (50%) est à noter chez les anguilles cadmiées traitées par le BaP par rapport au anguilles contaminées par le Cd seul (fig. 15).

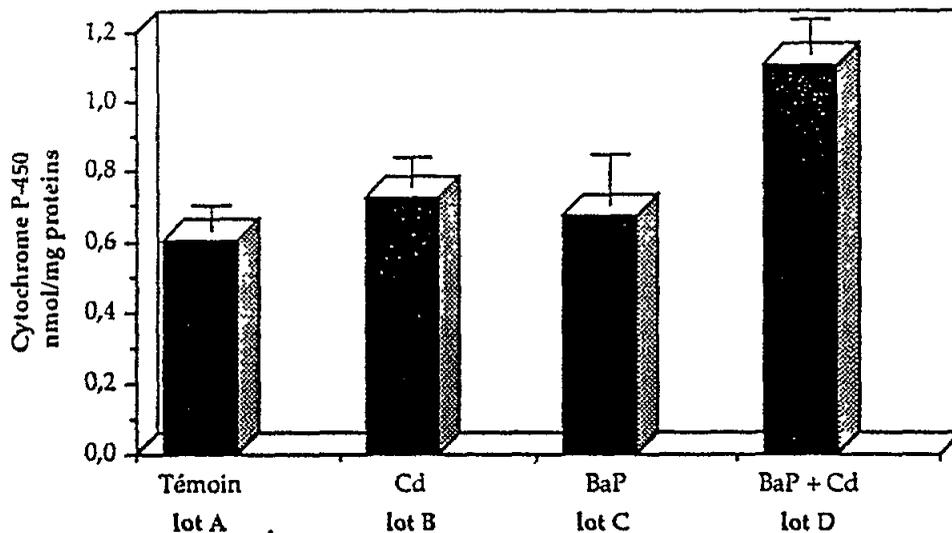


Fig. 11 Quantité de cytochrome P-450 présente dans les microsomes hépatiques d'anguilles témoins et après 25 jours de contamination par  $5 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  et/ou 24 h d'intoxication par  $20 \text{ mg BaP kg}^{-1}$

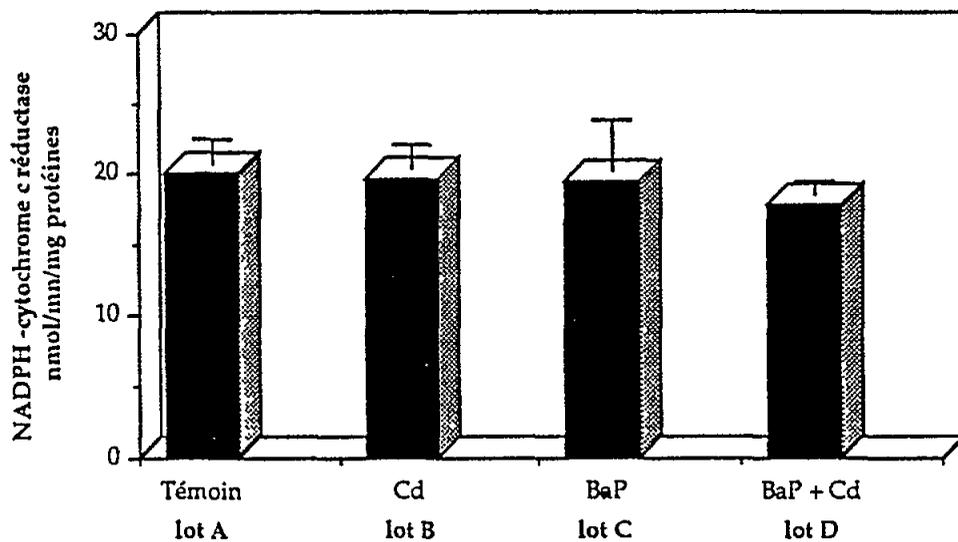


Fig. 12 Activité NADPH cytochrome c réductase chez les anguilles témoins et contaminées pendant 25 jours par  $5 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  et/ou 24 h par  $20 \text{ mg BaP kg}^{-1}$

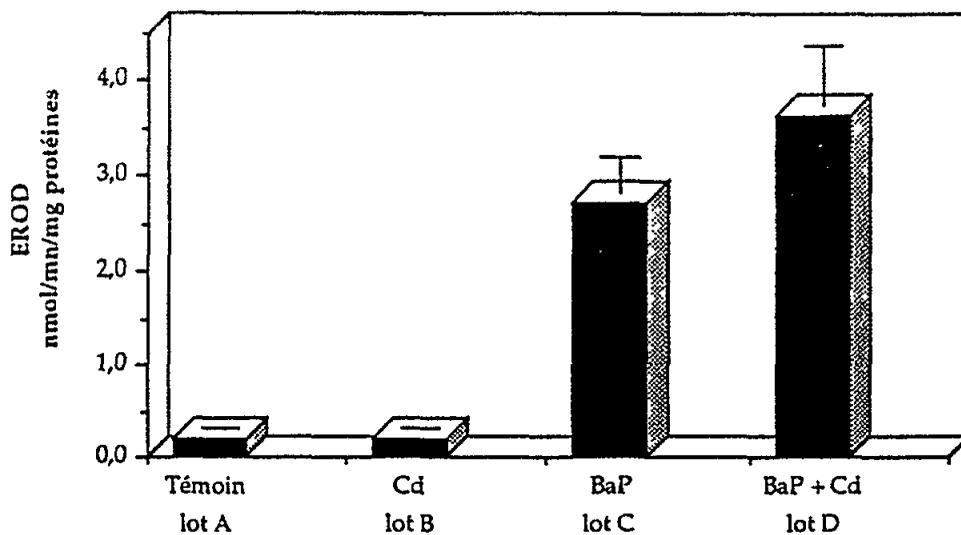


Fig. 13 Activité Ethoxyrésorufine-O-Dééthylase chez les anguilles témoins et contaminées pendant 25 jours par  $5 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  et/ou 24 h par  $20 \text{ mg BaP kg}^{-1}$

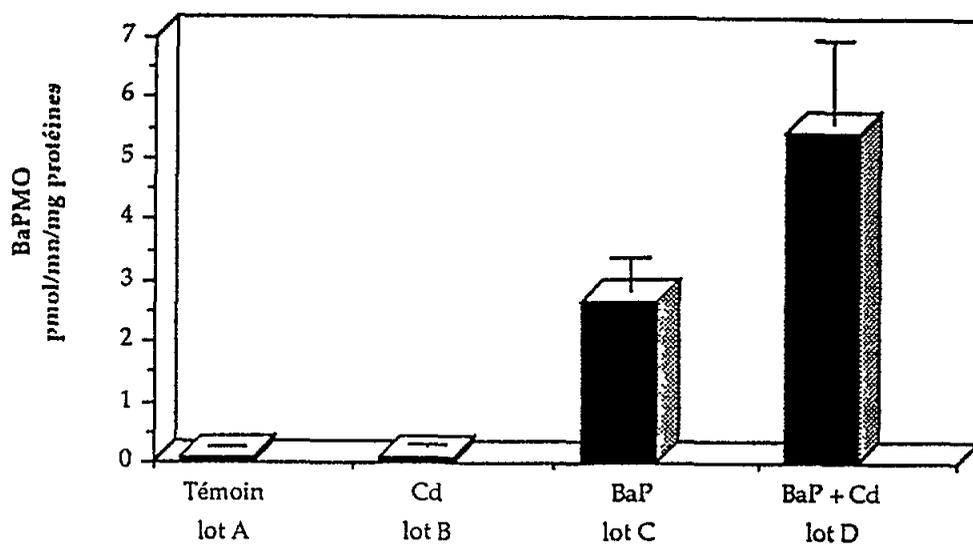


Fig. 14 Activité Benzo(a)pyrène Monooxygénase chez les anguilles témoins et contaminées pendant 25 jours par  $5 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  et/ou 24 h par  $20 \text{ mg BaP kg}^{-1}$

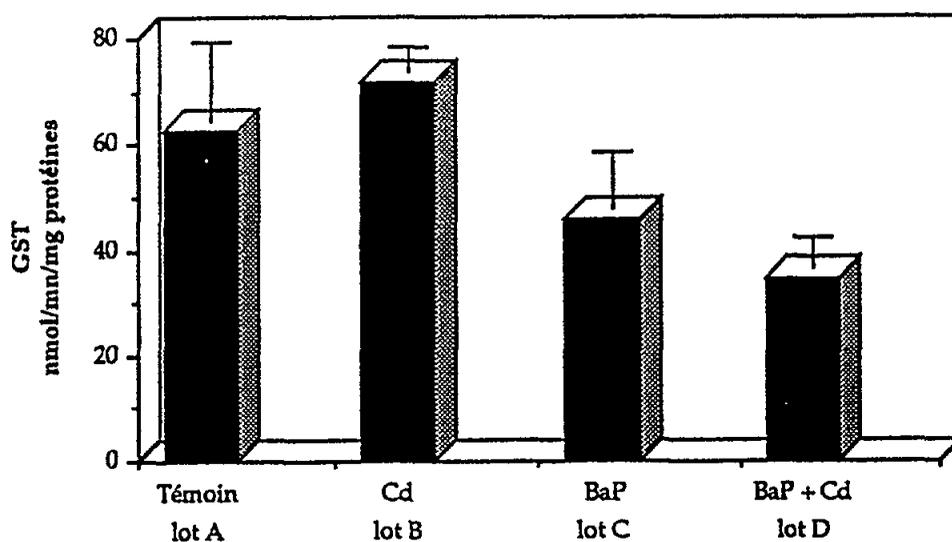


Fig. 15 Activité Glutathion-S-Transférase chez les anguilles témoins et contaminées pendant 25 jours par  $5 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  et/ou 24 h par  $20 \text{ mg BaP kg}^{-1}$

## 4. DISCUSSION

### 4.1 Pénétration, distribution, accumulation et élimination du cadmium chez l'anguille

Bien que certains auteurs aient décrit une élimination du Cd rapide et importante chez les poissons (Eisler, 1974; Kosumi et Sekine, 1986), la plupart des travaux rapportent des demi-vies du métal généralement longues (Pentreath, 1977; Ray, 1984) qui expliquent le fait que malgré une décontamination de 28 jours, aucune élimination du Cd n'ait été observée chez l'anguille dans ce travail.

En revanche, au cours de la phase de décontamination, on assiste à une redistribution du métal des organes externes (susceptibles d'être des sites de pénétration du Cd) vers des organes internes où il s'accumule.

En fait, l'expérience II permet de distinguer différents groupes d'organes en fonction de leur aptitude à "piéger" de façon plus ou moins durable le Cd.

- a) La concentration en Cd croît avec la durée d'exposition dans le foie, la rate et le muscle. Au cours de la phase de décontamination, cette concentration peut continuer à croître. Ces organes sont connus pour être des sites d'accumulation du Cd (Eisler, 1974; Westernhagen et al., 1978; Establier et Gutierrez, 1980). Cependant, une certaine élimination du métal par excrétion biliaire et/ou rénale est susceptible de se produire et de réguler les quantités accumulées dans les viscères.
- b) Au niveau du tégument, la concentration en Cd, relativement constante au cours de la phase de contamination, diminue fortement après seulement 24 heures de décontamination. Cette disparition rapide permet de supposer que le Cd n'est probablement qu'adsorbé sur le revêtement muqueux de l'épiderme, constamment renouvelé. L'imperméabilité au Cd du mucus tégumentaire a été montrée chez la truite Salmo gairdneri (Part et Lock, 1983) et de nombreux auteurs considèrent même le tégument des poissons comme totalement imperméable aux métaux lourds (Shephard, 1981; Part, 1983).
- c) L'intestin, par contre, est généralement considéré comme un site de pénétration des métaux lourds, en particulier en cas de contamination par voie trophique (Dallinger et al., 1987). Or, au cours de nos expériences, le Cd présent dans l'intestin disparaît après seulement 24 h de décontamination. Cette disparition brutale permet de supposer qu'ici également, le métal n'a pas pénétré dans les tissus intestinaux et qu'il a été éliminé avec les fécès. L'accumulation croissante observée au cours de la phase de contamination est à associer avec l'aptitude du mucus intestinal à précipiter et à concentrer, sous forme de cristaux, les cations divalents dissous dans l'eau ingérée (Humbert et al., 1986). Une telle aptitude, principalement impliquée dans les mécanismes d'osmorégulation (Humbert et al., 1986), joue un rôle important dans la protection de l'organisme vis à vis des métaux lourds dissous (Noël-Lambot, 1981). Par conséquent, la pénétration du Cd dissous par voie intestinale peut être considérée comme négligeable, voire nulle.

- d) Enfin, dans la branchie, le facteur de concentration est maximal dès les premières heures de contamination. Il reste constant au cours de la contamination et pendant les premières heures de décontamination. Sa décroissance lente n'est visible qu'à long terme. Or, la branchie est considérée comme le principal site de pénétration dans l'organisme du Cd en solution dans l'eau (Part et Svanberg, 1981; Part, 1983). Les tissus branchiaux constituent la seule barrière entre l'eau contaminée et le sang qui assure la distribution du polluant aux autres organes. Le Cd pénètre dans les tissus branchiaux principalement sous forme ionique ( $Cd^{2+}$ ) par diffusion passive (Part, 1983) et/ou activité des canaux  $Ca^{2+}$  (Verboost *et al.*, 1987) alors que son passage dans le sang est probablement réalisé par un mécanisme actif impliquant des  $Ca^{2+}$ -ATPases (Verboost *et al.*, 1987). L'accumulation de Cd observée au niveau branchial résulte donc de l'équilibre qui s'établit entre ces deux mécanismes. Cette accumulation n'est que transitoire: lorsque le milieu extérieur est dépourvu de Cd (décontamination), le Cd est éliminé du tissu branchial à la vitesse du pompage actif puis distribué aux autres organes par voie sanguine.

Enfin, le facteur salinité influence à la fois la pénétration et la distribution du Cd dans l'organisme. Ses effets se situent à deux niveaux:

Spéciation chimique: Comme nous venons de le voir, le Cd pénètre dans les tissus branchiaux essentiellement sous forme libre ( $Cd^{2+}$ ), étant donné qu'il est de loin plus difficile aux formes plus complexes (ioniques ou moléculaires) de traverser la barrière épithéliale (Part, 1983). Or, il est connu que, alors qu'en eau douce, la forme minérale dominante du Cd est justement la forme libre  $Cd^{2+}$ , plus la salinité s'élève et plus le Cd se lie aux chlorures présents dans l'eau, sous forme ionique ou moléculaire (Cauwet et Fernandez, 1984). La quantité de Cd disponible pour les organismes est donc plus faible en eau de mer ou en eau saumâtre qu'en eau douce, d'où une pénétration moins importante en milieu halin.

Adaptations physiologiques: En raison de leur physiologie adaptée à la compensation des pertes hydriques qu'ils subissent, les poissons marins apparaissent plus susceptibles d'être soumis à des intoxications par les polluants aquatiques que les poissons d'eau douce. En effet, d'une part, au niveau branchial, les espaces intercellulaires sont moins "hermétiques" chez les poissons marins que chez les poissons dulçaquicoles (Sardet *et al.*, 1979), permettant ainsi le passage de molécules trop volumineuses pour pénétrer par simple diffusion, et d'autre part, les poissons marins, qui compensent leurs pertes hydriques par une absorption d'eau au niveau intestinal, ont un taux de boisson accru. Cependant, il semblerait que le passage intercellulaire des substances soit moins facile que le passage intracellulaire des formes ioniques (Part et Svanberg, 1981; Part, 1983), et, en outre, comme nous l'avons vu précédemment, le mucus intestinal protège l'organisme de toute pénétration des métaux par voie intestinale. Ainsi, en ce qui concerne la pénétration du Cd dans l'organisme, le rôle joué par la physico-chimie de l'eau serait plus important que celui de la physiologie du poisson.

#### 4.2 Perturbations branchiales induites par le cadmium

La réponse de la branchie à l'intoxication par le Cd intervient de façon très précoce, en relation avec la pénétration quasi-immédiate du métal dans les tissus branchiaux telle qu'elle a été observée lors de l'étude de la bioaccumulation (Cf. 4.1). La gravité des lésions observées varie en fonction de trois paramètres: la concentration en Cd de l'eau, la durée de contamination et la salinité de l'eau. En effet, à court terme (3 jours), les perturbations structurales induites sont plus importantes en eau douce qu'en eau saumâtre. En fait, étant donné que le Cd pénètre moins bien dans l'organisme en milieu halin (Cf. 4.1), cet effet modérateur de la salinité correspond à un effet dose.

Il convient de remarquer que l'ensemble des lésions observées ne présente aucune spécificité de la contamination par les métaux lourds. En fait, les branchies présentent rarement une réponse spécifique à un polluant donné, ou même à une catégorie de toxique (Mallat, 1985; Evans, 1987).

A court-terme, les perturbations cellulaires observées sont de même nature et comprennent toutes une phase d'hypertrophie épithéliale. Cette dilatation épithéliale aboutit à l'élargissement de la barrière des échanges gazeux, susceptible d'induire des difficultés respiratoires. Des difficultés respiratoires liées à une intoxication par les métaux lourds ont également été décrites chez divers organismes aquatiques et notamment chez les poissons (Schweiger, 1957; Skidmore, 1970; Van der Putte et Part, 1982; Spry et Wood, 1984 et 1985).

Les perturbations observées au niveau des cellules à chlorures permettent de présumer de l'existence de troubles de l'osmorégulation. L'apparition de cellules à chlorures surnuméraires au niveau des lamelles secondaires a été signalée lors de l'acclimatation de poissons à des milieux faiblement ionisés (Olivereau, 1971; Masoni *et al.*, 1984) et correspond à une réponse adaptative à une perturbation des flux ioniques. Une telle perturbation est confirmée par les altérations subies à long terme par les cellules à chlorures. En effet, les vacuolisations et les lyses mitochondriales, déjà décrites chez la roussette Scyliorhinus canicula contaminée par le zinc (Crespo et Sala, 1986), se révèlent graves dans ce type cellulaire car elles privent la cellule de sa principale source d'ATP, alors que la fonction principale de ces cellules, la régulation ionique, est assurée par des ATPases.

L'étude des effets du Cd sur les flux ioniques transbranchiaux et sur les activités Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPases branchiales a permis de préciser en partie la nature de ces troubles de l'osmorégulation. L'inversion du flux net de sodium observé chez la truite ne peut être due qu'à un accroissement très important du flux sortant (passif), ce qui implique une modification de la perméabilité des membranes cellulaires. Or, selon Viarengo (1985), Hg et Cd peuvent déséquilibrer la balance ionique en altérant les caractéristiques de perméabilité des membranes cellulaires.

Les flux ioniques actifs sont assurés par l'activité des ATPases, notamment des Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPases en ce qui concerne Na<sup>+</sup>. Ces activités montrent *in vitro* une inhibition en présence de Cd, déjà rapportée pour différents types cellulaires tant chez les poissons

(Kinne-Saffran et al., 1986; Watson et Benson, 1987) que chez les amphibiens (Takada et Hayashi, 1978) ou les mammifères (Hexum, 1974; Gonick et al., 1980; Lai et al., 1980; Diezi et al., 1988). Il semblerait cependant que les Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPases branchiales de l'anguille soient plus sensibles au Cd que celles des tétrapodes (Takada et Hayashi, 1978; Gonick et al., 1980; Tokushige et al., 1984; Diezi et al., 1988).

Les perturbations branchiales induites par le Cd se révèlent donc graves pour l'anguille dans la mesure où elles affectent deux fonctions vitales chez ce poisson migrateur: la respiration et l'osmorégulation.

#### 4.3 Perturbations hépatiques induites par le cadmium

Comme dans le cas de la branchie, les perturbations hépatiques induites par le Cd varient en fonction de 3 paramètres: la concentration de l'eau en cadmium, la durée d'exposition et la salinité de l'eau. Là encore, l'effet de la salinité de l'eau se réduit en réalité à un effet dose (modification de la biodisponibilité du cadmium: Cf. 4.1 et 4.2). Les variations observées en fonction de ces 3 paramètres concernent davantage leur chronologie d'apparition et leur amplitude que leur nature.

La plus précoce des réponses hépatocytaires observées concerne les réserves glycogéniques du foie. La modification de forme et de quantité du glycogène se manifeste dans les premières heures de contamination, voire dans les premiers jours, et le glycogène intracellulaire retrouve un aspect normal avant même le retour des poissons en eau non contaminée. Bien que des accumulations de glycogène aient été décrites dans le foie de poissons en provenance de milieux pollués (Krantz et Peters, 1985), une telle séquence permet plutôt de penser que les modifications observées ici chez l'anguille correspondent à une réaction de stress. Cependant, il faut noter qu'une telle augmentation des réserves glycogéniques constitue une réaction inverse de la réaction de stress classiquement observée qui correspond, au contraire à une déplétion du glycogène (Dixon et Hilton, 1985).

En revanche, à plus long terme, des perturbations plus sérieuses sont observées: altérations mitochondriales, dilatation du réticulum endoplasmique et du Golgi, déformation des noyaux... Des signes de dégénérescence analogues ont également été décrits après contamination par le cadmium d'autres téléostéens: dilatation des structures membranaires chez Pimodelus maculatus (Ferri, 1980) et dégénérescences nucléaires chez Channa punctatus (Dubale et Shah, 1979).

La perturbation hépatique la plus sérieuse reste cependant la fibrose périvasculaire qui pourrait être d'origine circulatoire. En effet, il est connu que chez les mammifères, le Cd provoque des hypertensions (Schroeder, 1964; Bernard et Lauwerys, 1984). Or, l'hypertension portale constitue une des principales causes de fibrose périvasculaire (Sicot, 1974). Des fibroses liées à la contamination par le cadmium ont déjà été décrites chez les mammifères (Samarawickrama, 1979). C'est un mécanisme irréversible pouvant conduire à la dégénérescence des hépatocytes par l'impérméabilisation de la barrière des échanges sang / hépatocytes.

#### 4.4 Etude des effets conjugués du cadmium et du benzo(a)pyrène

##### 4.4.1 Perturbations structurales

Les lésions induites par le Cd seul ayant déjà été décrites et discutées précédemment (Cf. 4.2 et 4.3), seules les perturbations observées chez les poissons traités au BaP seront analysées.

Après injection intrapéritonéale, le BaP est pris en charge par la circulation générale et distribué aux divers organes par voie sanguine (Lemaire et al., 1990). Les 3 organes étudiés montrent des sensibilités différentes à l'intoxication par le BaP en relation avec cette distribution et en fonction de leur importance respective dans la métabolisation de ce composé.

La branchie ne présente, 24 h après l'injection de BaP, aucune lésion particulière. En fait, la contamination de la branchie par le BaP injecté par voie intrapéritonéale après 1 jour est relativement faible, comparativement à celle du foie et de l'intestin (Lemaire et al., 1990). Il est donc normal de n'observer aucune lésion précoce de cet organe après seulement 24 h de contamination.

En ce qui concerne l'intestin, le Cd seul (même à long terme) n'induit aucune perturbation structurale de cet organe, ce qui est en accord avec l'absence de pénétration du Cd par voie intestinale ainsi que montré précédemment (Cf. 4.1). En revanche, l'intoxication par le BaP seul entraîne des lésions importantes de l'épithélium absorbant, particulièrement dans la partie apicale des entérocytes, suggérant une pénétration du toxique non pas par voie sanguine, mais par voie digestive. En fait, il est très probable que l'épithélium intestinal ait été contaminé par les métabolites du BaP produits au niveau du foie et éliminés par voie biliaire puis intestinale (Lemaire et al., 1990; sous presse). Par ailleurs, l'importance des lésions observées après double contamination Cd/BaP suggère que l'association métabolites du BaP/Cd permet au métal de franchir la barrière muqueuse protectrice, soit par un mécanisme de pénétration facilitée, soit par une modification des sécrétions muqueuses induite par l'intoxication par le BaP. D'ailleurs, chez Centropristis striata, l'ingestion simultanée de BaP et de Cd favorise la pénétration et l'accumulation du métal dans l'organisme (Fair et Fortner, 1987).

Au niveau hépatique, le BaP induit à court-terme une importante accumulation de lipides correspondant à une séquestration du BaP lipophile, telle qu'elle a été décrite pour un autre composé lipophile, l'atrazine (Biagianti-Risbourg, 1990). Cette stéatose hépatique est associée à une réduction des réserves glycogéniques du foie. Celle-ci peut être interprétée comme une réaction au stress causé par l'intoxication (Dixon et Hilton, 1985). Chez les anguilles cadmiées, le traitement par le BaP conduit à une dégénérescence hépatocytaire plus importante que celle obtenue avec le Cd ou le BaP seuls. Les dégénérescences nucléaires témoignent de l'action hautement toxique du BaP sur un foie déjà profondément altéré par la contamination par le cadmium.

#### 4.4.2 Activités de biotransformation

La quantité de cytochrome P-450 et les activités de biotransformation hépatiques observées chez les anguilles témoins sont proches de celles rapportées pour de nombreuses espèces de poissons (Goksøyr *et al.*, 1987; Lindström-Seppa, 1988; Lemaire, 1990). Il faut cependant noter que les activités de phase II (élimination des métabolites), ici l'activité GST, sont connues pour être faibles chez les poissons, par comparaison avec d'autres vertébrés (Gregus *et al.*, 1983).

Après injection de BaP, seules les activités EROD et BaPMO montrent une induction chez les anguilles non cadmiées. Chez les poissons, les taux de cytochrome P-450 et l'activité NADPHcytochrome c réductase montrent rarement des variations importantes lors d'inductions par des polluants (Lindström-Seppa et Oikari, 1988; Lemaire, 1990). Les activités EROD et BaPMO sont spécifiques de l'isoforme IA1 du cytochrome P-450 qui intervient dans la métabolisation des substrats plans tels que le BaP (Schoor *et al.*, 1988). Cette spécificité explique les forts taux d'induction observés pour ces activités, respectivement 15 et 35 pour l'EROD et la BaPMO. En ce qui concerne la phase II, l'activité GST est généralement faiblement inductible chez les poissons (Bend et James, 1978). Cette absence d'induction peut se révéler grave pour le poisson dans la mesure où cette activité intervient dans l'élimination des métabolites toxiques produits par les monooxygénases. Elle peut conduire à une accumulation plus ou moins durable de métabolites cancérogènes dans les cellules.

Chez l'anguille, la contamination par le Cd amplifie les effets du BaP: l'induction des activités de phase I (EROD et BaPMO) est plus élevée chez les anguilles cadmiées que chez les poissons non cadmiés, alors que l'activité GST est plus faible. En outre, une légère induction du taux de cytochrome P-450 (1,8) est également observée. La plupart des auteurs décrivent un effet inhibiteur du cadmium sur les activités de phase I et leur induction (Fair, 1986; George et Young, 1986), mais toutes ces études concernent des intoxications simultanées par les deux toxiques, à la différence de notre expérience.

Il existe donc une synergie des effets toxiques du Cd et du BaP chez l'anguille. Ces deux xénobiotiques, présents ensemble dans les milieux naturels contaminés sont donc susceptibles d'être responsables de troubles physiologiques et métaboliques importants chez ce poisson migrateur amphihalien, hôte des zones margino-littorales polluées.

## 5. CONCLUSION

Ce travail contribue à fournir des éléments précis quant à la vulnérabilité de l'anguille vis à vis des polluants aquatiques, avec des incidences écologiques, en ce qui concerne leur survie, et des conséquences économiques. En effet, l'anguille constitue une ressource importante sur le littoral méditerranéen, particulièrement dans les étangs du Languedoc-Roussillon où elle représente la première production halieutique (Lecomte-Finiger et Bruslé, 1985). La diminution des populations lagunaires d'anguilles actuellement constatée constitue donc un problème économique important pour ces régions.

La grande sensibilité de l'anguille aux polluants, telle qu'elle a été montrée dans ce travail, et la contamination élevée de certains estuaires, associées à une pêche intensive aussi bien des juvéniles (civelles et anguillettes) que des adultes en avalaison, sont probablement responsables du déclin de cette espèce, rapporté depuis plusieurs années (Working Group on Eel: Perpignan 1985, Bristol 1987, Porto 1989). Cette diminution des stocks a justifié l'inscription de l'anguille européenne dans le "Livre Rouge des espèces menacées du Ministère de l'Environnement en 1987 (Bruslé, 1989).

## 6. REFERENCES

- Amiard-Triquet, C., J.C. Amiard, J.M. Robert, C. Metayer, J. Marchand et J.L. Martin (1983), Etude comparative de l'accumulation biologique de quelques oligoéléments métalliques dans l'estuaire interne de la Loire et les zones néritiques voisines (Baie de Bourgneuf). Cahiers de Biologie Marine, 24:105-188
- Andersen, A.C. (1984), Contribution à l'étude immunohistologique de cellules endocrines chez les organismes marins. Recherches d'éventuelles perturbations hormonales induites par des polluants métalliques. Thèse 3ème cycle Océanographie Biologique Paris VI
- Avella, M., A. Masoni, M. Bornancin et N. Mayer-Gostan (1986), Gill morphology and sodium influx in the rainbow trout (Salmo gairdneri) acclimated to artificial freshwater environments. J.Exp.Zool., 241:159-169
- Bend, J.R. et M.O. James (1978), Xenobiotic metabolism in marine and freshwater species. Biochem.Biophys.Perspect.Mar.Biol., 4:125-188
- Bernard, A. et R. Lauwers (1984), Cadmium in human population. Experientia, 40:143-152
- Betti, M., M.P. Colombini, R. Fuoco et P. Papoff (1985), Determination of heavy metals in fresh and sea waters of S. Rossore Park (Pisa). Mar.Chem., 17:313-322
- Biagianti-Risbourg, S. (1990), Contribution à l'étude du foie des juvéniles de muges (Téléostéens, Mugilidés) contaminés expérimentalement par l'atrazine (S-triazine, herbicide): approche ultrastructurale et métabolique: intérêt en écotoxicologie. Thèse d'Etat, Université de Perpignan, 451 p.
- Bornancin, M., J. Isaia et A. Masoni (1985), A re-examination of the technique of isolated perfused head. Comp.Biochem.Physiol., 81A:35-41
- Bradford, M.M. (1976), A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal.Biochem., 72:248-254
- Bruslé, J. (1989), L'anguille européenne (Anguilla anguilla), une espèce jugée commune jusqu'à la dernière décennie, mérite-t-elle d'acquiescer aujourd'hui le statut d'espèce menacée? Bull.Soc.Zool.France, 114:61-73

- Burke, M.D. et R.T. Mayer (1974), Ethoxyresorufin: direct fluorimetric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene. Drug Metab.Disp., 5:1-8
- Cauwet, G. et J.M. Fernandez (1984), La pollution par le cadmium en Méditerranée occidentale. Rapport PIREN, ATP Déchets, 28 p.
- Crespo, S. et R. Sala (1986), Ultrastructural alterations of the dogfish (Scyliorhinus canicula) gill related to experimental aquatic zinc pollution. Dis.Aquat.Org., 1:99-104
- Crespo, S., G. Nonnotte, D.A. Colin, C. Leray, L. Nonnotte et A. Aubrée (1986), Morphological and functional alterations induced in trout intestine by dietary cadmium and lead. J.Fish Biol., 28:69-80
- Dallinger, R., F. Prosi, H. Segner et H. Back (1987), Contaminated food and uptake of heavy metals by fish: a review and proposal for further research. Oecologia, 73:91-98
- Diezi, J., P. Hausel et E. Felley-Bosco (1988), Effects of cadmium ions on Na/K-ATPase activity in a defined segment of the rabbit proximal tubule. Arch.Toxicol.Suppl., 12:125-128
- Dixon, D.G. et J.W. Hilton (1985), Effects of available dietary carbohydrate and water temperature on the chronic toxicity of waterborne copper to rainbow trout (Salmo gairdneri). Can.J.Fish.Aquat.Sci., 42:1007-1013
- Dubale, M.S. et P. Shah (1979), Toxic effect of cadmium nitrate on the liver of Channa punctatus. Experientia, 35:643-644
- Eisler, R. (1974), Radiocadmium exchange with seawater by Fundulus heteroclitus (L.) (Pisces: Cyprinodontidae). J.Fish Biol., 6:601-612
- Establier, R. et M. Gutierrez (1980), Acumulacion de cadmio a partir del agua de mar por el robalo Dicentrarchus labrax, y la dorada, Sparus aurata, y sus efectos histopatologicos. Inv.Pesq., 44(2):471-483
- Evans, D.H. (1987), The fish gill: site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. Environ.Health.Persp., 71:47-58
- Fair, P.H. (1986), Interaction of benzo(a)pyrene and cadmium on GSH-S-transferase and benzo(a)pyrene hydroxylase on the black sea bass (Centropristis striata). Arch.Environ.Contam.Toxicol., 15:257-263
- Fair, P.H. et A.R. Fortner (1987), Effect of ingested benzo(a)pyrene and cadmium on tissue accumulation, hydroxylase activity, and intestinal morphology of the black sea bass, Centropristis striata. Environ.Res., 42:185-195
- Ferri, S. (1980), Effects of cadmium on Golgi complex of freshwater teleost (Pimelodus maculatus) hepatocytes. Protoplasma, 103:99-103
- George, S.G. et P. Young (1986), The time-course of effects of cadmium and 3-methylcholanthrene on activities of enzymes of xenobiotic metabolism and metallothionein levels in the plaice, Pleuronectes platessa. Comp.Biochem.Physiol., 83C:37-44

- Giles, M.A. (1984), Electrolyte and water balance in plasma and urine of rainbow trout (Salmo gairdneri) during chronic exposure to cadmium. Can.J.Fish.Aquat.Sci., 41:1678-1685
- Goksøyr, A., T. Andersson, T. Hansson, J. Klungsoyr, Y. Zhang et L. Forlin (1987), Species characteristics of the hepatic xenobiotic and steroid biotransformation systems of two teleost fish, atlantic cod (Gadus morhua) and rainbow trout (Salmo gairdneri). Toxicol.Appl.Pharmacol., 89:347-360
- Gonick, H.C., S. Indraprasit, V.J. Rosen, H. Neustein, R. Van de Velde et S.R.V. Raghavan (1980), Experimental Fanconi syndrome. III- Effects of cadmium on renal tubular function, the ATP-Na-K-ATPase system and renal tubular ultrastructure. Mineral Electrolyte Metab., 3:21-35
- Gony, S., R. Lecomte-Finiger, D. Faguet, S. Biagianti et J. Bruslé (1988), Etude expérimentale de l'action du cadmium sur les juvéniles d'anguille: biologie du développement et cytopathologie. Océanis, 14(1):141-148
- Gregus, Z., J.B. Watkins, T.N. Thompson, M.J. Harvey, K. Rozman et C.D. Klaasen (1983), Hepatic phase I and phase II biotransformation in quail and trout: comparison commonly used in toxicity testing. Toxicol.Appl.Pharmacol., 67:430-441
- Habig, W.H., M.J. Pabst et W.B. Jakoby (1974), Glutathion-S-transférases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J.Biol.Chem., 249(22):7130-7139
- Halsband, E., I. Halsband, B. Romestand, A. Dzuvic et H. Pump (1984), Investigations on the effects of cadmium, calcium and parathormon on the blood parameters, skeleton and histomorphological deterioration of organs of rainbow trout (Salmo gairdneri). Bull.Eur.Ass.Fish.Pathol., 4(4):67
- Henkel, R.D., J.L. Vandenberg et R.A. Walsh (1988), A microassay for ATPase. Anal.Biochem., 169:312-318
- Hervé, P. et J. Bruslé (1979), Les échanges migratoires entre les étangs littoraux et la mer sur la côte catalane française. Rapp.P.-V.Réun. CIESM, 25/26(10):31-33
- Hexum, T.D. (1974), Studies on the reaction catalyzed by transport (Na,K) adenosine triphosphatase. I- Effects of divalent metals. Biochem. Pharmacol., 23:3441-3447
- Houston, A.H. et J.E. Keen (1984), Cadmium inhibition of erythropoiesis in goldfish, Carassius auratus. Can.J.Fish.Aquat.Sci., 41:1829-1834
- Humbert, W., R. Kirsh et V. Simonneaux (1986), Is mucus involved in biocrystallization?. Study of the intestinal mucus of the seawater eel Anguilla anguilla L. Cell Tiss.Res., 245:599-604

- Kinne-Saffran, E., H. Schutz, B. Scholermann, D. Girard et R. Kinne (1986), Effect of cadmium on epithelial transport systems in Squalus acanthias: studies with isolated plasma membrane vesicles. Bull.Mount Des.Isl.Biol.Lab., 26:15-17
- Kosumi, N. et Y. Sekine (1986), Excretion of cadmium by the Himehata Orizias latipes. Bull.Jap.Soc.Sci.Fish., 52(10):1787-1790
- Krantz, H. et N. Peters (1985), Pathological conditions in the liver of ruffe Gymnocephalus cernua (L.) from the Elbe estuary. J.Fish Dis., 8:13-24
- Lai, C.K., J.F. Guest, T.K.C. Leung, L. Lim et A.M. Davison (1980), The effects of cadmium, manganese and aluminium on sodium-potassium activated and magnesium-activated adenosine triphosphatase activity and choline uptake in rat brain synaptosome. Biochem.Pharmacol., 29:141-146
- Lecomte-Fininger, R. et J. Bruslé (1985), L'anguille Anguilla anguilla des lagunes du Languedoc-Roussillon: intérêt biologique et valeur halieutique. Vie Milieu, 34:185-194
- Lemaire, P. (1990), Caractérisation et induction des enzymes de biotransformation chez un poisson marin, le loup (Dicentrarchus labrax). Thèse de Doctorat de l'Université de Paris VI, 193 p.
- Lemaire, P., A. Mathieu, S. Carriere, P. Draï, J. Giudicelli et M. Lafaurie, (1990), The uptake metabolism and biological half-life of benzo(a) pyrene in different tissues of sea bass, Dicentrarchus labrax. Ecotox.Environ.Saf., 20:223-233
- Lindstrom-Seppa, P. (1988), Biomonitoring of oil spill in boreal archipelago by xenobiotic biotransformation in perch (Perca fluviatilis). Ecotox. Environ.Saf., 15:162-170
- Lindstrom-Seppa, P. et A. Oikari (1988), Hepatic xenobiotic biotransformation in fishes exposed to pulp mill effluents. Water Sci.Tech., 20:167-170
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr et R.J. Randall (1951), Protein measurement with folin phenol reagent. J.Biol.Chem., 193:265-275
- Mallat, J. (1985), Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. Can.J.Fish.Aquat.Sci., 42:630-648
- Masoni, A., J. Isaia, F. Sola et M. Bornancin (1984), Adaptation de Salmo gairdneri à des milieux faiblement ionisés: conséquences sur la morphologie et la physiologie de l'épithélium branchial. Ichthyophysiol.Acta, 8:98-114
- Masters, B.S.S., C.H. Williams and H. Kamin (1967), The preparation and properties of microsomal TNPH-cytochrome c reductase from pig liver. In: Méthods in enzymology, edited by S. Fleischer et L. Packer, Vol. 10, pp.565-673
- Mayer-Gostan, N. et S. Lemaire (1991), Measurements of fish gill ATPase using microplates. Comp.Biochem.Physiol., 98B (2:3):323-326

- Nava, M.E. et F.R. Engelhardt (1982), Induction of mixed function oxidases by petroleum in the American eel, Anguilla rostrata. Arch.Environ. Contam.Toxicol., 11:141-145
- Nebert, D.W. et H.V. Gelboin (1968), Substrate inducible microsomal arylhydrocarbon hydroxylase -II. Cellular responses during enzyme induction. J.Biol.Chem., 244:6242-6249
- Noel-Lambot, F. et J.M. Bouquegneau (1977), Comparative study of toxicity, uptake and distribution of cadmium and mercury in the sea water adapted eel Anguilla anguilla. Bull.Environ.Contam.Toxicol., 18:418-424
- Noel-Lambot, F. (1981), Presence in the intestinal lumen of marine fish of corpuscles with high cadmium-, zinc- and copper-binding capacity: a possible mechanism of heavy metal tolerance. Mar.Ecol.Prog.Ser., 4:175-181
- Olivereau, M. (1971), Effet de l'adaptation à un milieu privé d'électrolytes sur les cellules à chlorures de la branchie de l'anguille. C.R.séances Soc.Biol., 165(5):1009-1013
- Omura, T. et R. Sato (1964a), The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. J.Biol.Chem., 239:2370-2378
- Omura, T. et R. Sato (1964b), The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification and properties. J.Biol.Chem., 239:23779-2385
- Part, P. et O. Svanberg (1981), Uptake of cadmium in perfused rainbow trout (Salmo gairdneri) gills. Can.J.Aquat.Sci., 88:917-923
- Part, P. (1983), Cadmium uptake in perfused rainbow trout gills. Mechanism and effects of water quality. Acta Univ. Ups. Abstracts of Uppsala Dissertations from the Faculty of Sciences 707. Uppsala. 48 p.
- Part, P. et R.A.C. Lock (1983), Diffusion of calcium, cadmium and mercury in a mucous solution from rainbow trout. Comp.Biochem.Physiol., 76C:259- 263
- Payan, P. et A.J. Matty (1975), The characteristics of ammonia excretion by isolated perfused head of trout. Effects of CO<sub>2</sub>-free ringer and temperature. J.Comp.Physiol., 104:33-48
- Pentreath, R.J. (1977), The accumulation of cadmium by the plaice Pleuronectes platessa L. and the thornback ray, Raja clavata. J.Exp.Mar.Biol.Ecol., 30:223-232
- Ray, S. (1984), Bioaccumulation of cadmium in marine organisms. Experientia, 40(1):14-23
- Reynolds, E.S. (1963), The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy. J.Cell Biol., 17:208-212

- Rhodes, L., E. Casillas, B. Mc Knight, W. Gronlund, M. Myers, O.P Olson et B. Mc Cain (1985), Interactive effects of cadmium, polychlorinated biphenyls, and fuel oil on experimentally exposed English sole (Parophrys vetulus). Can.J.Fish.Aquat.Sci., 42(12):1870-1880
- Richardson, K.C., L. Jarret et E.H. Finke (1960), Embedding in epoxy resin of ultrathin sectioning in electron microscopy. Stain.Technol., 35:313-323
- Samarawickrama, G.P. (1979), In: The chemistry, biochemistry and biology of cadmium, edited by M. Webb, Elsevier, North Holland, Amsterdam, 341 p.
- Sardet, C., M. Pisam et J. Maetz (1979), The surface epithelium of teleostean fish gills. Cellular and junctional adaptations of the chloride cell in relation to salt adaptation. J.Cell Biol., 80:96-117
- Schweiger, G. (1957), Die toxikologische einwirkung von Schwermetall-salzen auf fische und fishnahtiere. Arch.Fischereiwiss., 13:54-78
- Schoor, W.P., D.E. Williams et J.J. Lech (1988), Combined use of biochemical indicators to assess sublethal pollution effects on the gulf killifish (Fundulus grandis). Arch.Environ.Contam.Toxicol., 17:437-441
- Schroeder, H.A. (1964), Cadmium hypertension in rats. Am.J.Physiol., 207:62-66
- Shephard, K.L. (1981), The influence of mucus on the diffusion of ions across fish epidermis. Physiol.Zool., 55:224-229
- Sicot, C. (1974), Les cirrhoses. Ed. Laboratoire SEARLE, 82 p.
- Skidmore, J.F. (1970), Respiration and osmoregulation in rainbow trout with gills damaged by zinc sulphate. J.Exp.Biol., 52:481-494
- Spry, D.J. et C.M. Wood (1984), Acid-base, plasma ion and blood gas changes in rainbow trout during short term toxic zinc exposure. J.Comp. Physiol., 154:149-158
- Spry, D.J. et C.M. Wood (1985), Ion fluxes rates, acid-base status and blood gases in rainbow trout, Salmo gairdneri, exposed to toxic zinc in natural soft water. Can.J.Fish.Aquat.Sci., 42:1332-1341
- Takada, M. et H. Hayashi (1978), Effects of cadmium ion on the Na, K-ATPase of microsomes obtained from frog skin. Jap.J.Physiol., 28:473-483
- Tokushige, A., H. Higashino, B. Searle, H. Tamura, M. Kino, J.D. Bogen et A. Aviv (1984), Cadmium effect on the Na, K-ATPase system in cultured vascular smooth muscle cells. Hypertension, 6(1):20-26
- Tort, L., P. Torres et J. Balasch (1984), Short term cadmium effects on gill tissue metabolism. Mar.Pollut.Bull., 15(12):448-450
- Van der Putte, I. et P. Part (1982), Oxygen and chromium transfer in perfused gills of rainbow trout (Salmo gairdneri) exposed to hexavalent chromium at two different pH levels. Aquat.Toxicol., 2:31-45

Verboost, P.M., G. Flik, R.A.C. Lock et S. Wendelaar-Bonga (1987), Cadmium inhibits plasma membrane calcium transport. J.Membrane Biol., 102:97-104

Viarengo, A. (1985), Biochemical effects of trace-metals. Mar.Pollut.Bull., 16(4):153-158

Watson, C.F. et W.H. Benson (1987), Comparative activity of gill ATPase in three freshwater teleost exposed to cadmium. Ecotoxicol.Environ.Saf., 14(3):252-259

Westernhagen, H., V. Dethlefsen, H. Rosenthal, G. Furstenberg et J. Klinckmann (1978), Fate and effects of cadmium in an experimental marine ecosystem. Helgol.wiss.Meeresunters, 31:471-484

Woltering, D.M. (1984), The growth response in fish chronic and early life stage toxicity tests: a critical review. Aquat.Toxicol., 5:1-21

## ETUDE EXPERIMENTALE DES EFFETS DU CADMIUM ET DU MERCURE SUR LES OEUFS FECONDES DE LA TRUITE ARC-EN-CIEL (Salmo gairdneri)

par

M. KESSABI, Y. SABHI et A. EL HRAIKI

Département de Pharmacie, Pharmacologie, Toxicologie et Biochimie  
Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II,  
B.P. 6202, Rabat-Instituts, Adgal, Rabat, Maroc

### RESUME

Des lots de 100 à 250 oeufs fécondés de truite arc-en-ciel ont été exposés, pendant la période d'incubation (23 j.), à des concentrations de 0, 50, 100, 250, 400, 500, 750 et 1000  $\mu\text{g Cd l}^{-1}$  ou de 0, 5, 10, 50, 200, 300 et 500  $\mu\text{g Hg l}^{-1}$ .

Les résultats montrent que, quelque soit leurs concentrations, le cadmium et le mercure altèrent, d'une manière générale, l'embryogenèse, retardent le temps d'éclosion, et induisent des malformations congénitales. Les deux métaux affectent également le taux d'éclosion et la viabilité des alevins à la naissance. D'autres anomalies, dont l'albinisme, ont été enregistrées. L'intensité de la toxicité des deux métaux a été corrélée à la concentration du métal: l'évolution du taux de mortalité en fonction de la durée d'exposition a montré, que pour les fortes concentrations de cadmium ( $>750 \mu\text{g Cd l}^{-1}$ ) ou de mercure ( $>50 \mu\text{g Hg l}^{-1}$ ), la progression de mortalité est parabolique; pour les faibles concentrations, en revanche, la cinétique est linéaire pour le cadmium, et sigmoïde pour le mercure.

### 1. INTRODUCTION

En toxicologie aquatique de nombreuses études (Von Westernhagen et al., 1975; Spehar, 1976; Sauter et al., 1976; Weis et Weis, 1977; Gary et al., 1982) ont été réalisées sur la qualité des eaux et les moyens de contrôle de leur contamination; elles se sont attachées particulièrement aux stades précoces de développement de la truite arc-en-ciel (Salmo gairdneri) (Macek et Slight, 1977; McKim et al., 1978) et d'autres espèces d'eau douce. Ces animaux sont apparus comme un système sensible et un bon modèle expérimental (Derr and Zabik, 1972; Calabrese et al., 1973; Eaton, 1974; Goodman et al., 1976; McKim et al., 1976; McKim, 1977; Macek et Slight, 1977; Middaugh et Dean, 1977; Nebecker et al., 1977; Eaton et al., 1978; Calamari et al., 1979).

Des études d'embryotoxicité ont été poursuivies depuis le stade de fertilisation jusqu'au stade-oeil (13e-15e jours) ou jusqu'à l'éclosion (20e-23e jours) (Burkhalter et Kaya, 1977; Calamari et Marchetti, 1978; Calamari et al., 1979) ou au stade alevin avec sac vitellin (Calamari et al., 1981).

Sinley et al. (1974) ont considéré que la mortalité à l'éclosion est un critère sensible et fiable pour la détermination de la CMAT (Concentration maximale acceptable du toxique) dans le cas du zinc. Les oeufs, au stade du frayage, sont plus sensibles aux composés mercuriels (Ward et Parrish, 1980), au chrome et au cadmium (Benoit, 1976). Ces métaux affectent les paramètres de reproduction et induisent des malformations congénitales.

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets du mercure et du cadmium sur les oeufs fécondés de truite arc-en-ciel, pendant la période d'incubation. Les études toxicologiques ont porté sur l'exposition des échantillons d'oeufs pendant 23 jours à des concentrations croissantes de cadmium ou de mercure. Les observations ont concerné les troubles physico-pathologiques et les malformations congénitales.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1 Animaux

Les expérimentations ont été effectuées sur des oeufs provenant de géniteurs de truite arc-en-ciel (Salmo gairdneri) âgés de trois ans, possédant les paramètres de reproduction reproduits sur le tableau 1. Les poissons ont été acclimatés dans des aquariums d'eau douce à flux ouvert, dont les facteurs physico-chimiques ont été déterminés initialement, et contrôlés pendant l'expérimentation (tableau 2); les animaux ont été soumis au frayage séparé. La production d'oeufs et de laitance (spermatozoïdes) a été effectuée artificiellement.

### 2.2 Fécondation

La fécondation a été réalisée, de manière artificielle, en versant la laitance de plusieurs mâles sur les oeufs. Les oeufs non fécondés ont été éliminés et ceux fécondés répartis en lots de 100 à 250 oeufs dans des bouteilles en plastique de 1,5 litres, ce qui assurait une bonne aération et une uniformité des conditions expérimentales. Pendant toute la période d'incubation (soit 23 jours dans les conditions locales) (fig. 1), les oeufs ont été exposés à des concentrations de 0, 50, 100, 250, 400, 500, 750 et 1000  $\mu\text{g Cd l}^{-1}$ , ou de 0, 5, 10, 50, 200, 300 et 500  $\mu\text{g Hg l}^{-1}$ . Le renouvellement de l'eau a été effectué chaque jour, afin de maintenir constante la concentration du toxique. Pendant le développement embryonnaire, la température d'incubation de l'eau des aquariums a été de 13,5EC, et la photopériode de 12 h. Le contrôle des concentrations des toxiques a été effectué par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme (Varian Techtron, modèle 1200).

### 2.3 Expression des résultats

Les pourcentages des oeufs éclos vivants, éclos retardés, et les mortalités avant et au moment de l'éclosion, ainsi que les pourcentages relatifs aux malformations, ont été déterminés, comparativement avec les témoins, en appliquant la formule d'Abbot (Finney, 1971):

$$R = \frac{\% \text{ de réponse essais} - \% \text{ de réponse contrôle}}{100 - \% \text{ de réponse contrôle}} \times 100$$

## 3. RESULTATS

### 3.1 Mortalités

Les mortalités ont été étudiées en fonction du temps d'exposition couvrant toute la période d'incubation des oeufs (figures 2 et 3). Pour les

Tableau 1

Paramètres de reproduction des géniteurs utilisés (*Salmo gairdneri*).

Poissons géniteurs		Poids (g)	longueur (cm)	Gamètes		Rapport gonado-somatique	Facteur de fécondité (1)
				Quantité	nombre total		
Mâles	1	320	32	11 ml	33 $10^9$	-	34
	2	330	30,5	8 ml	42.4 $10^9$	-	26
	3	450	23	10 ml	66 $10^9$	-	20
Femelles	1	330	30	67 g	1005	20.31	3045
	2	360	32,5	65 g	975	19.9	2708
	3	320	28	68 g	1020	21.2	3887

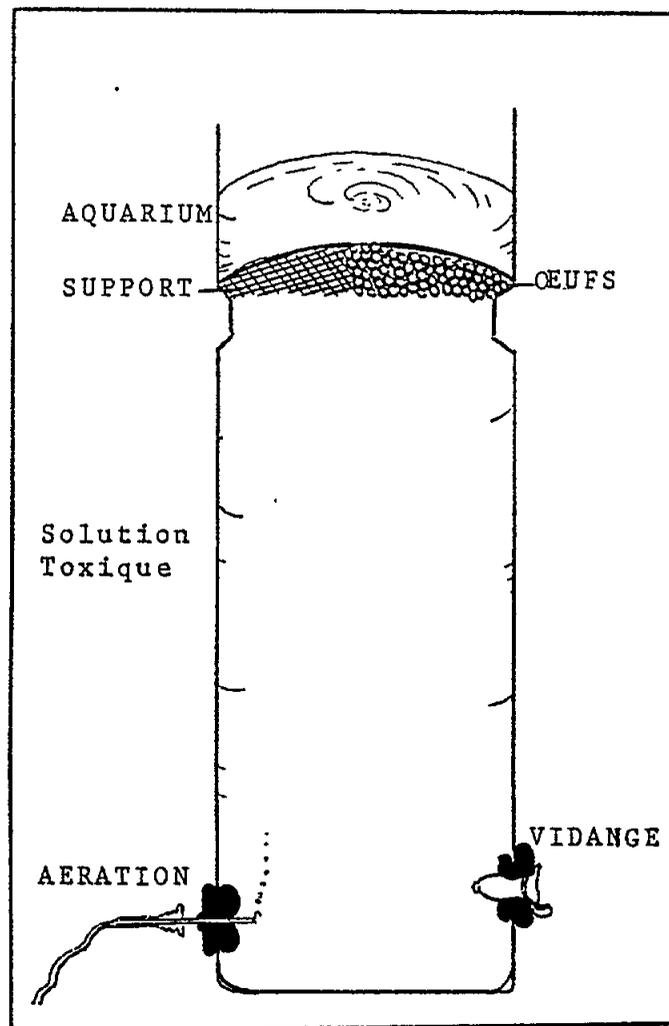


Fig. 1 Système d'incubation des oeufs de truite

Tableau 2

Paramètres physico-chimiques de l'eau des aquariums.

Paramètres	Température (°C)	pH	conductivité à 20°C (μS cm <sup>-1</sup> )	Turbidité (NTU)	Dureté (még l <sup>-1</sup> )
Moyenne	13,5	7,5	600	0,6	6,5

Ca <sup>++</sup> (még l <sup>-1</sup> )	Na <sup>+</sup> (még l <sup>-1</sup> )	K <sup>+</sup> (még l <sup>-1</sup> )	Cl <sup>-</sup> (még l <sup>-1</sup> )	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> (még l <sup>-1</sup> )	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (még l <sup>-1</sup> )	DCO (mg l <sup>-1</sup> )
3,5	0,35	0,035	0,18	0,16	6,3	8,4

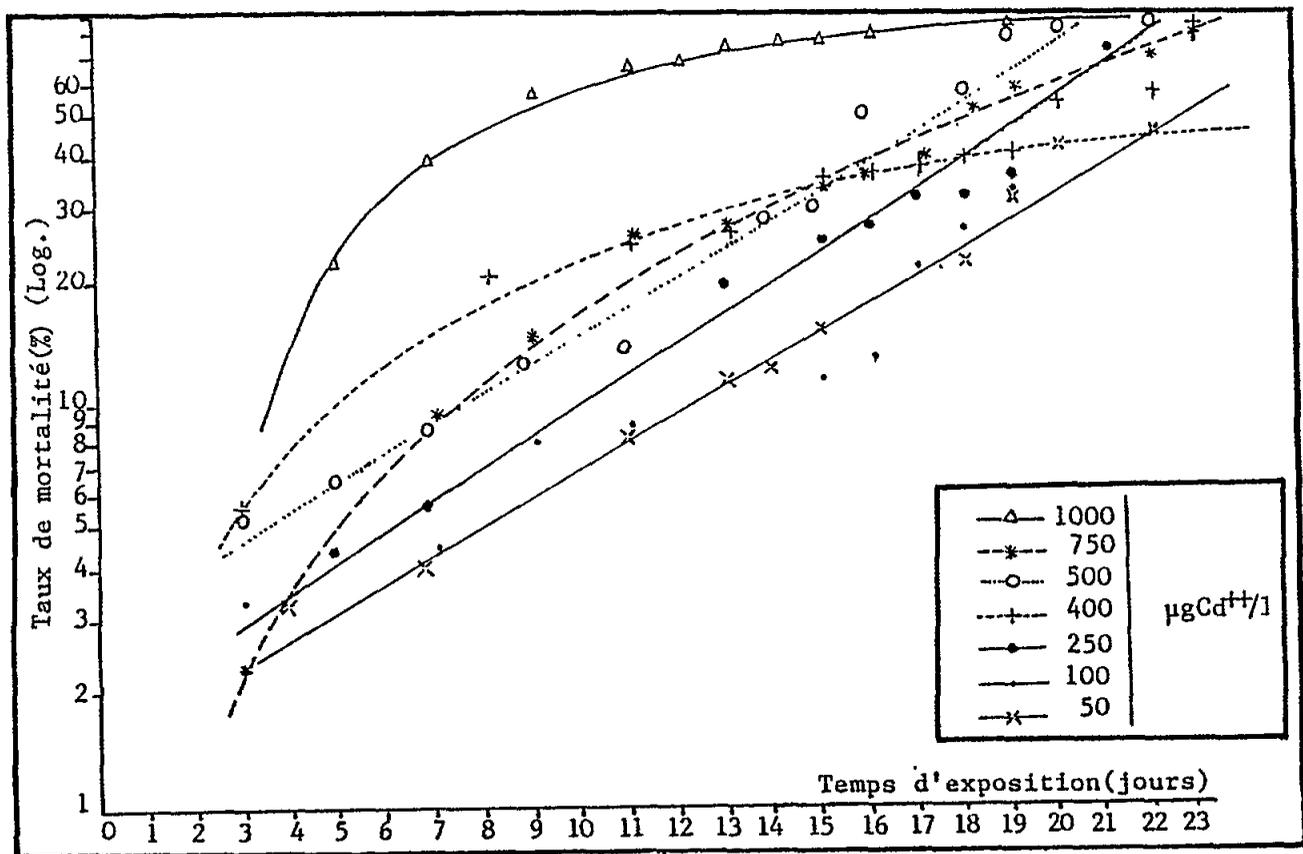


Fig. 2 Evolution du taux de mortalité (%) des embryons de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) en fonction du temps d'exposition au cadmium (μg Cd l<sup>-1</sup>)

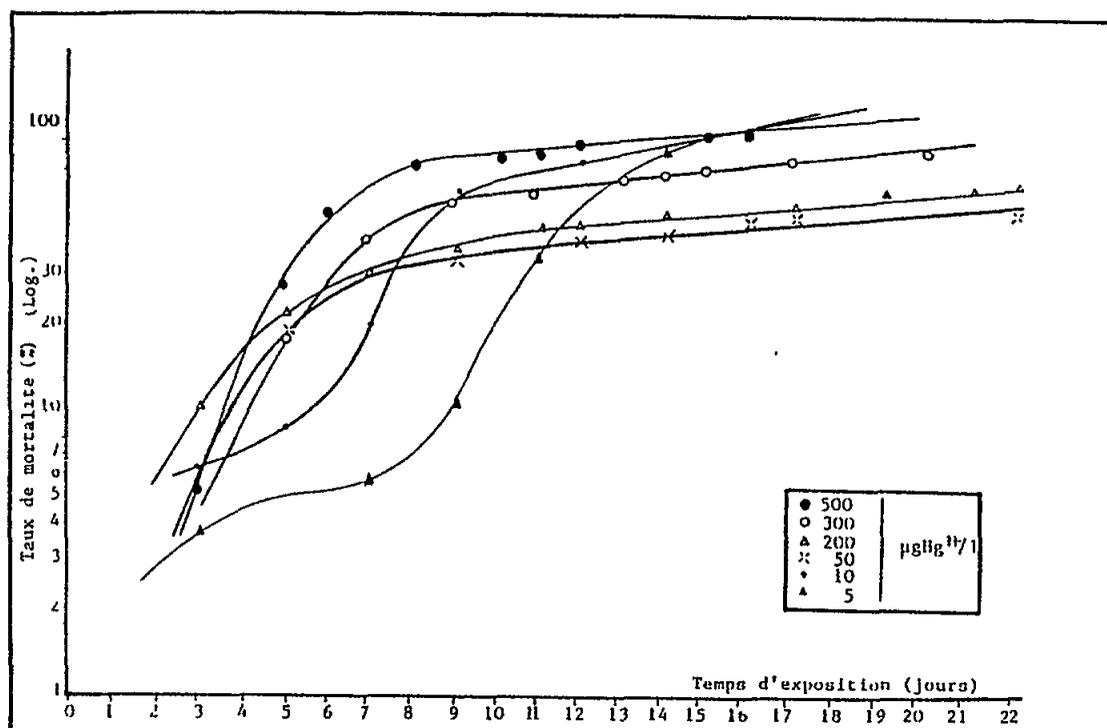


Fig. 3 Evolution du taux de mortalité (%) des embryons de truite arc-en-ciel en fonction du temps d'exposition au mercure ( $\mu\text{g Hg l}^{-1}$ )

fortes concentrations de Cd ( $>750 \mu\text{g Cd l}^{-1}$ ) ou de Hg ( $>50 \mu\text{g Hg l}^{-1}$ ), la progression semi-logarithmique du taux de mortalité est parabolique. Cependant, dans le cas des faibles concentrations, la cinétique est linéaire pour le cadmium et sigmoïde pour le mercure. Le taux de mortalité varie de 52 à 100% pour le cadmium, et de 49 à 100% pour le mercure (figures 2, 3, 4 et 5; tableau 3). En revanche, la concentration de  $50 \mu\text{g l}^{-1}$  de cadmium ou de mercure est considérée comme létale médiane, pour les durées de 19 et 22 jours d'exposition, respectivement, pour le mercure et pour le cadmium.

### 3.2 Malformations embryonnaires

Des malformations ont été observées dès les premières 48 heures après l'éclosion; les taux de malformations enregistrés, sont reproduits sur le tableau 3 et les figures 6 et 7. Les diverses malformations observées à l'éclosion sont de type spiralé, tronqué (base inférieure du tronc principalement) et elles comprennent aussi la persistance de la vésicule de resorption, la bicéphalie et l'albinisme. N'ayant trouvé aucun cas tératogène dans les aquariums témoins, on a réalisé en revanche des observations dans les mêmes conditions, sur de grands aquariums d'élevage de 300 à 500 litres, contenant entre 16.000 et 20.000 alevins, et on a constaté que le taux de malformations y a été 1.000 fois inférieur par rapport aux lots expérimentaux.

### 3.3 Troubles physiopathologiques

Les troubles physiopathologiques ont concerné le nombre total d'alevins morts observés depuis la fécondation jusqu'à l'éclosion, les éclos

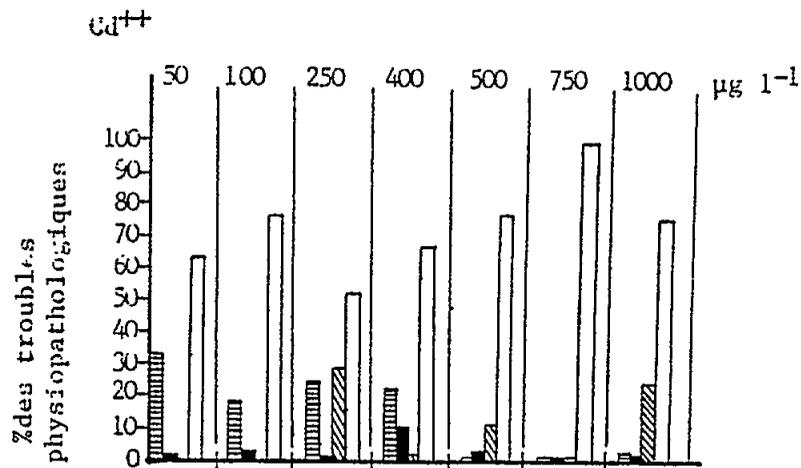


Fig. 4 Effets du cadmium sur certains troubles physiopathologiques (EV, ER, ME, MAE) de la truite arc-en-ciel

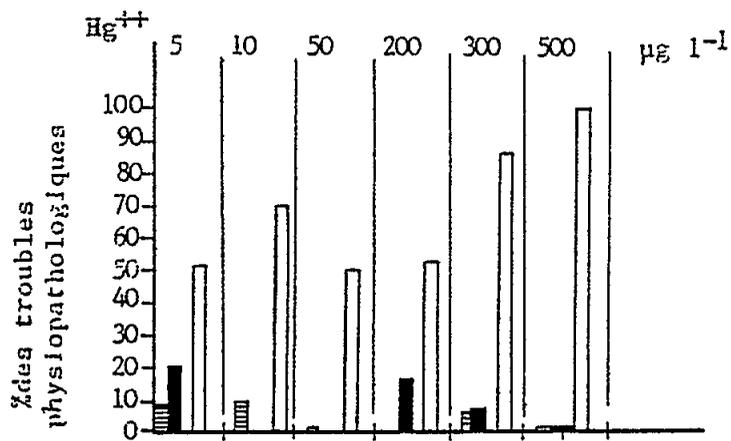


Fig. 5 Effets du mercure sur certains troubles physiopathologiques (EV, ER, ME, MAE) de la truite arc-en-ciel

-  EV : Eclos vivants
-  ER : Eclos retardés
-  ME : Mortalité au moment de l'éclosion
-  MAE : Mortalité avant l'éclosion

# Cd

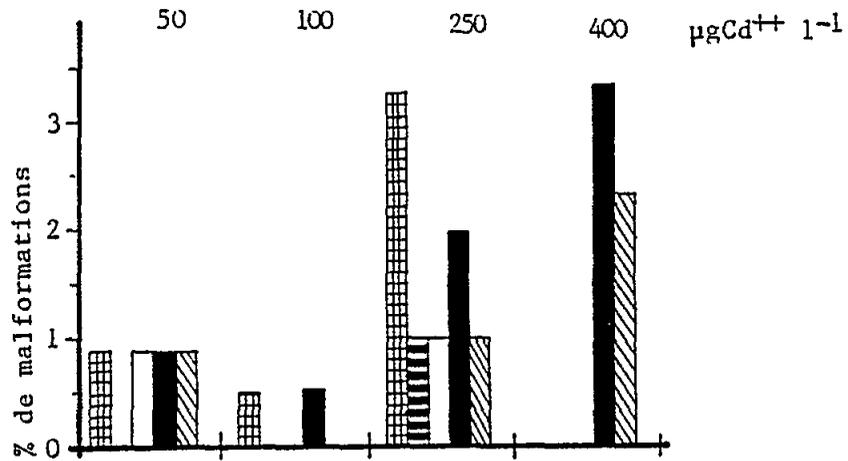


Fig. 6 Effets du cadmium sur certains caractères congénitaux de la truite arc-en-ciel

# Hg

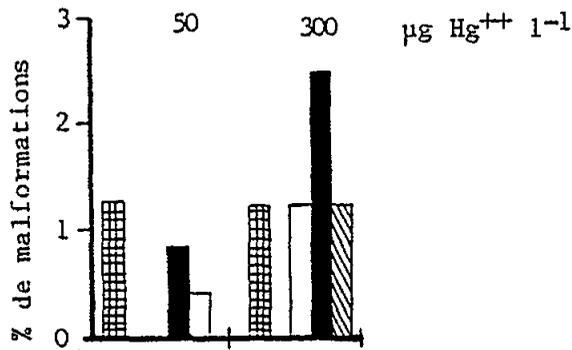


Fig. 7 Effets du mercure sur certains caractères congénitaux de la truite arc-en-ciel

-  Albinisme
-  Spirales
-  Tronqués
-  Vésicule NR\*
-  Bicéphalie

Type de malformation ou mutation

NR\*: Non résorbée

Tableau 3

Troubles physiopathologiques et malformations congénitales,  
en fonction des concentrations du cadmium, du mercure,  
du sélénium ou du plomb ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ).

Métal	Conc $\mu\text{g l}^{-1}$	Troubles physiopathologiques						Malformations congénitales					Total
		EV	ER	TR	ME	MAE	MT	AL	SP	Tr	VnR	2T	
Cd <sup>++</sup>	50	33,63	2,70	2-3	0	63,60	63,60	0,90	0	0,90	0,90	0,90	110
	100	19,53	3,37	2-3	0	77,10	77,10	0,50	0	0	0,53	0	189
	250	25	1	2	28,80	52,20	61	3,26	1	1	2	1	92
	400	22,60	10,60	2	1,58	66,20	66,78	0	0	0	3,37	2,33	89
	500	1,20	2,70	2-3	11,70	77,50	89,20	0	0	0	0	0	111
	750	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0	0	76
	1000	2,40	0,80	2	25,60	71,10	97,70	0	0	0	0	0	125
Hg <sup>++</sup>	5	9,70	21,40	2	1,94	50,70	65,60	0	0	0	0	0	103
	10	10	0	0	0	70	80	0	0	0	0	0	200
	50	1,72	0	0	0,43	49,60	50	1,29	0	0	0,86	0,43	232
	200	0	17,30	2-3	0	52,70	52,70	0	0	0	0	0	243
	300	6,23	7,50	2	1,25	86,30	67,50	1,25	0	1,25	2,5	1,25	80
	500	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0	0	200

Conc: Concentration du métal lourd

EV: Eclos vivants (%) AL: Albinisme (%)

ER: Eclos retardés (%) SP: Spiralés (%)

TR: Temps de retard de l'éclosion (jours)

ME: Morts à l'éclosion (%)

MAE: Morts avant l'éclosion (%)

MT: Morts totaux (%)

Tr: Tronqués (%)

VnR: Vésicule de résorption persistante (%)

2T: Bicéphalie

vivants (comprenant les alevins sains et malformés); ils sont relevés sur le tableau 3 et les figures 4 et 5. Quelle que soit la concentration du métal, le taux de mortalité de pré-éclosion, noté lors de l'exposition au cadmium, varie entre 50 et 70% (tableau 3, figure 4). Le taux de mortalité au moment de l'éclosion est très marqué dans le cas de l'exposition au cadmium; il atteint 30% pour la concentration de  $250 \mu\text{g Cd l}^{-1}$ , alors que dans le cas du mercure la mortalité ne dépasse pas 2% (observé pour la concentration de  $5 \mu\text{g Hg l}^{-1}$ ). Les éclos retardés (2 à 3 jours par rapport aux témoins) sont fréquents dans le cas de l'exposition au mercure (tableau 3). Dans le cas des éclos normaux, le nombre d'individus est très réduit par rapport aux témoins, il semble (tableau 3, figures 4 et 5) que le mercure affecte le taux d'éclosion (10% pour la concentration  $50 \mu\text{g Hg l}^{-1}$  d'éclos vivants) alors que dans le cas du cadmium il atteint 33% pour la même concentration.

#### 4. DISCUSSION

Les effets toxiques des métaux lourds ont été rapportés et reproduits expérimentalement depuis plusieurs années (Francis et al., 1979). Le cadmium et le mercure ont fait l'objet de multiples études toxicologiques, aussi bien chez les organismes terrestres qu'aquatiques. Ribas et Schmidt (1973) ont constaté que le cadmium pénétrait dans la circulation intravitelline des embryons de poulet, entraînant des effets tératogènes. Microscopiquement, les cellules se dissocient et meurent. L'atteinte supravitelline induit la mort prématurées de l'embryon.

Le sulfate et le chlorure de cadmium sont tératogènes chez le rat Wistar et le Hamster (Barr, 1973). Chez le hamster, le cadmium peut traverser la barrière foeto-placentaire (Ferm et al., 1969) et l'endommager, puis atteindre le fœtus (Friberg et al., 1971), altérer progressivement le placenta (Parizek, 1965), et affecter le mésoderme de la tête, entraînant le syndrome de "la fonte unilatérale et bilatérale des lèvres et du palais buccaux" (Mulvihill et al., 1970).

Dans le cas du mercure, la plupart des malformations et des lésions affectant l'embryon sont causées par le méthylmercure (Lofroth, 1968; Fujita et Kumamoto, 1969; Harris et al., 1972; Spyker et Smithberg, 1972; Gale and Ferm, 1973).

Les résultats expérimentaux dans notre cas montrent que la toxicité du mercure pour les oeufs de truite arc-en-ciel paraît être plus intense que celle du cadmium, car les perturbations sont notables dès la concentration de  $5 \mu\text{g l}^{-1}$ . En revanche, la toxicité du cadmium semble polyvalente, en raison de malformations congénitales plus variées (persistance de la vésicule de résorption, formes tronquées et spiralées, et bicéphalie), de mutations (albinisme) et de l'effet sur les différents paramètres physiopathologiques (taux d'éclosion, retard du moment de l'éclosion, mortalité précoce, et avortement). Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par Weis et Weis (1977) chez Fundulus heteroclitus, McKim et al. (1976) chez Salvelinus fontinalis ( $\text{CH}_3\text{-Hg}$ ), Benoit et Holcombe (1978) et Rosenthal et Alderdice (1976) chez Pimephales promelas (Zn), McKim et al. (1978) chez 8 espèces différentes d'eau douce (Cd). L'absence de corrélation linéaire entre la concentration des deux toxiques et l'apparition de malformations embryonnaires est conforme aux constatations antérieures de Francis et al. (1979).

La toxicocinétique de mortalité paraît plus rapide dans le cas du cadmium; en effet, dès les premiers jours d'exposition à ce métal, la mortalité apparaît, et son taux augmente progressivement; en outre, il existe une corrélation semi-logarithmique linéaire entre l'intensité du toxique et la concentration. Par contre, pour certaines concentrations de mercure, la réponse n'apparaît qu'après un temps d'exposition relativement long (quelques jours), et une fois le processus déclenché, l'effet toxique se manifeste plus intensément, d'où l'inflexion accentuée des cinétiques sigmoïdes ( $5$  et  $10 \mu\text{g Hg l}^{-1}$ ). Dans ces conditions, on peut dire que la réaction des oeufs est sélective: le cadmium y diffuse plus facilement que le mercure métallique.

Les effets du cadmium et du mercure sont, en revanche, comparables en ce qui concerne l'apparition des malformations induites et la perturbation des paramètres biologiques, à savoir notamment le taux de fécondité, le taux d'éclosion, le retard à l'éclosion, la diminution du taux de viabilité et l'apparition de malformations embryonnaires. Ces phénomènes peuvent entraîner la mort des individus pendant l'embryogenèse ou à l'éclosion, entraînant l'avortement.

Il reste à comprendre et à expliquer le mécanisme d'action de ces deux métaux qui agissent sur les divers paramètres biologiques de l'embryon. En effet, plusieurs investigations relatives à la mutagénicité des métaux lourds ont été réalisées (Scharpf *et al.*, 1972; Calabrese *et al.*, 1973; Benoit *et al.*, 1976; Burkhalter et Kaya, 1977; Middaugh et Dean, 1977; Benoit et Holcombe, 1978). Les mutations paraissent fréquentes au moment de la fécondation aussi bien chez l'ovule que chez les spermatozoïdes. La combinaison génétique ultérieure ne pourrait avoir lieu, et la mort survient aux premiers stades de divisions embryonnaires. La mutation dans le matériel génétique ne semble pas affecter l'embryogenèse de manière précoce, cependant, il peut en résulter la mort de l'embryon pendant la période suivante du développement (Curtis et Klassen, 1980). A un stade plus tardif du développement du poisson, les anomalies seraient congénitales et les effets carcinogènes sont suivis par la mort de l'embryon; ces phénomènes seraient des conséquences de mutations (Casarett et Doull, 1984). Des expérimentations (Lennart Dencker, 1975) ont montré que le cadmium peut traverser la cavité du sac vitellin jusqu'à la gouttière primitive où il est adsorbé avant la fermeture du conduit vitellin; ceci expliquerait l'apparition de plusieurs malformations causées par le cadmium pendant les premiers jours du développement embryonnaire. Le cadmium s'accumule dans les divers compartiments, comme le sac vitellin, le corps allantoïdien, provoquant par la suite des troubles nutritionnels (Lennart Dencker, 1975). Le cadmium est un tératogène à site spécifique (Schroeder et Mitchener, 1971; Scharpf *et al.*, 1972; Barr, 1973).

Ces effets sont les conséquences d'effets spécifiques sur le métabolisme et probablement sur un ou plusieurs enzymes, ou des systèmes hormonaux (Weis et Weis, 1977). L'intensité des effets tératogènes du cadmium et du mercure n'est pas forcément spécifique; car, les caractéristiques des malformations dépendent en premier lieu de l'événement organogénétique en cours à un instant donné. Aussi, la diversité des malformations peut-elle résulter d'un simple stimulus tératogène produit à des périodes critiques de l'embryogenèse (Harris *et al.*, 1972; Scharpf *et al.*, 1972; Barr, 1973; Calabrese *et al.*, 1973; Von Westernhagen *et al.*, 1975; Benoit, 1976; Middaugh et Dean, 1977; Weis et Weis 1977; Calamari et Marchetti, 1978).

## 5. CONCLUSION

Les effets toxiques du cadmium et du mercure sur les oeufs fécondés se manifestent chez la truite arc-en-ciel par l'altération de différents systèmes biologiques de l'organisme. Il a déjà été démontré qu'une exposition prolongée aux métaux lourds (Hg, Cd notamment) peut avoir des effets toxiques sur le zygote. En effet, les ions métalliques peuvent affecter les systèmes enzymatiques et altérer la poursuite du développement de l'organisme. Dans la présente expérimentation on s'est approché au plus près du modèle de contamination des systèmes aquatiques dans l'environnement. Le cadmium et le mercure sont des métaux lourds susceptibles d'entraîner plusieurs phénomènes embryotoxiques chez la truite arc-en-ciel; cette espèce paraît très sensible, et peut mourir à la suite d'une exposition prolongée à ces deux métaux. Les effets semblables des deux métaux sur la truite, au stade embryonnaire, dans des conditions expérimentales, peuvent être considérés comme une preuve de leurs convergences écotoxicologiques.

## 6. REFERENCES

- Barr, M.Jr. (1973), The teratogenicity of cadmium chloride in two stocks of wistar rats. Teratology, 7:237-242
- Benoit, D.A. (1976), Toxic effects of hexavalent chromium on brook trout (Salvelinus fontinalis), and rainbow trout (Salmo gairdneri). Water Res., 10:497-500
- Benoit, D.A., E.N. Leonard, G.M. Christensen et E.P. Hunt (1976), Toxic effects of cadmium on three generations of brook trout (Salvelinus fontinalis), J.Trans.Am.Fish.Soc.Am.Fish.Soc., 105:500-560
- Benoit, D.A. et G.W. Holcombe (1978), Toxic effects of zinc on fathead minnow (Pimephale promelas) in soft water. J.Fish Biol., 13:701-708
- Burkhalter, D.E. et C.M. Kaya (1977), Effects of prolonged exposure to ammonia on fertilized eggs and sac fry of rainbow trout (Salmo gairdneri). J.Trans.Am.Fish.Soc., 106:470-475
- Calabrese, A., R.S. Colier, D.A. Nelson et J.R. Maclinnnes (1973), The toxicity of heavy metals to embryos of the American oyster (Crassostrea virginica). J.Mar.Biol., 18:162-166
- Calamari, D. et R. Marchetti (1978), Relevance of studies on developmental and young stages of Salmo gairdneri in establishing water quality criteria for Fisheries. J.Ber.Umweltbundesant, 10:201-210
- Calamari, D., S. Galassi et R. Da Gasso (1979), A system of tests for assessment of toxic effects on aquatic life: an experimental preliminary approach. Ecotoxicol.and Environ.Safety, 3:51-89
- Calamari, D., R. Marchetti et G. Vailati (1981), Effects of long-term exposure of ammonia on the developmental stages of rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson). Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 178:81-86

- Curtis, D. et C.D. Klassen (1980), Principles of toxicology Syllabus Hatfield Marine Science Center, cited in: The basic science of poisons, New York, McMillan Publishing Inc., (1984), pp.11-38
- Casarett, et J. Doull (1984), Factors influencing toxicity. In: Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons, edited by J. Doull, C.D. Klassen and M.O. Amdur, 2nd ed., New York, McMillan Publishing Co., 735 p.
- Derr, S.K. et M.J. Zabik (1972), Biologically active compounds in the aquatic environment: The effect of DDE on the egg viability of Chironomus tentans. Bull.Environ.Contam.Toxicol., 7:336-368
- Eaton, J.G. (1974), Chronic cadmium toxicity on the blue gill (Lepomis macrochirus Rafinesque) Trans.Am.Fish.Soc., 103:729-735
- Eaton, J.G., J.M. McKim et G.W. Holcombe (1978), Metal toxicity to embryos and larvae of seven fresh water fish species, I: Cadmium. Bull.Environ.Contam.Toxicol., 19:95-103
- Ferm, V.H., D.P. Hanlon et Urban (1969), The permeability of the hamster placenta radioactive cadmium. J.Embryol.Exper.Morphol., 22:107-113
- Finney, D.J. (1971), Probit analysis. A statistical treatment of sigmoid response. 2nd ed., Cambridge. MA., 333 p.
- Francis, L., Earl et Th.J. Vish (1979), Teratology of heavy metals. In: Toxicity of heavy metals to the environment, edited by F.W. Oheme, New York and Basel, Marcel Dekker Inc., Part 2, pp.517-970
- Friberg, L., Piscator et G. Nordberg (1971), Cadmium in the environment, CRC. Press, P. Cleveland, 110. In: Toxicity of heavy metals in the environment, edited by F.W. Oheme, New York and Basel, Marcel Dekker Inc., Part 2, pp.517-970
- Fujita, E. et J. Kumamoto (1969), Effect of methylmercury on rat pregnancy. Med.Soc.J.Med.Soc., 43:47
- Gale, T.F. et V.H. Ferm (1973), Skeletal malformations resulting from cadmium treatment in the hamster. J.Biol.Neonate, 10:149-160
- Gary, M. Rand. San R. Petrocelli (1982), Fundamental of Aquatic toxicology "Methods and Applications". Washington, Hemisphere Publishing Corporation, 659 p.
- Goodman, I.R., D.J. Hansen, J.A. Couch et J. Forester (1976), Effects of heptachlor toxaphene on laboratory reared embryos and fry of the sheepshead minnow, 13th Ann. Conf. South East Assoc. Game Fish. Comm., pp.192-202
- Harris, S.P., J.G. Wilson et R.H. Printz (1972), Methylmercuric chloride teratogenicity, J.Teratol., 6:139

- Lennart Dencker, (1975), Possible mechanisms of cadmium foetotoxicity in golden hamsters and mice: uptake by the foetotoxicity, placenta and ovary, J.Report.Fert., 44:461-471
- Lofroth, (1968), Ecological research Comm.Bull. No. 4, Swedish Natural Science Research Council. Stockholm, 1 p.
- Macek, K.J. et B.H. Slight (1977), Utility of toxicity tests with embryos and fry of fish in evaluating hazards associated with the chronic toxicity of chemicals to fishes. In: Aquatic toxicology hazard evaluation, edited by F.L. Mayer and J.L. Hamelink, ASTM, STP 634, Philadelphia: ASTM, pp.133-146
- McKim, J.M. (1977), Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long term toxicity. J.Fish.Res.Board Can., 34:1148-1154
- McKim, J.M., G.W. Holcombe, G.F. Olson et E.P. Hunt (1976), Long term effects of methylmercuric chloride on three generations of brook trout (Salvelinus fontinalis). Toxicity accumulation, distribution and elimination, J.Fish Res.Bd.Can., 33:2726-2739
- McKim, J.M., J.G. Eaton et G.W. Holcombe (1978), Metal toxicity to embryos and larvae of eight species of fresh water fish II: Copper Bull. Environ.Contam.Toxicol., 9:608-616
- Middaugh, D.P. et J.M. Dean (1977), Comparative sensitivity of eggs, larvae and adults of the estuarine teleosts, Fundulus heteroclitus and Menidia menidia to cadmium. Bull.Environ.Contam.Toxicol., 17:645-651
- Mulvihill, J.E., S.H. Gamm et V.H. Ferm (1970), J.Embryol Exp.Morphol., Vol. 24, 393 p. In: Toxicity of heavy metals in the environment, edited by F.W. Oheme, New York and Basel, Marcel Dekker Inc., Part 2, pp.517-970
- Nebecker, A.V., J.D. Andros, J.K. McCrady et D.G. Stevens (1977), Survival of steelhead trout (Salmo gairdneri) eggs, embryos and fry in air-super-saturated water. J.Fish Res.Bd.Can., 35:261-264
- Parizek, J. (1965), The peculiar toxicity of cadmium during pregnancy, an experimental "toxaemia of pregnancy" induced by cadmium salts, J.Reprod.Fert., 9:111-112
- Ribas, B. et W. Schmidt (1973), Gengenbaurs Morphol. Jahrb., Vol. 119, 358 p. In: Toxicity of heavy metals in the environment, edited by F.W. Oheme, New York and Basel, Marcel Dekker Inc., Part 2, pp.517-970
- Rosenthal, H. et D.F. Alderdice (1976), Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollutional, on marine fish eggs and larvae. J.Fish.Res.Bd.Can., 33:2047-2065
- Sauter, S., K.S. Buxton, K.J. Macek et S.R. Petrocelli (1976), Effects of exposure to heavy metals on selected freshwater fish. U.S.EPA. 600/3, pp.76-105

- Scharpf, L.G.Jr., I.D. Hill, P.L. Wright, J.B. Plank, M.L. Keplinger et J.G. Calander (1972), Effects of sodium nitrilotriacetate on toxicity, teratogenicity and tissue distribution of cadmium. Nature (Lond.), 23:231-234
- Schroeder, H.A. et M. Mitchener (1971), Toxic effects of trace elements on the reproduction of mice and rats. Arch.Envir.Hlth., 23:102-106
- Sinley, J.R., J.P.Jr. Geoetl et P.M. Davides (1974), Bull.Environ.Contam.Toxicol., Vol. 12, 193 p. In: Toxicity of heavy metals in the environment, edited by F.W. Oheme, New York and Basel, Marcel Dekker Inc., Part 2, pp.517-970
- Spehar, R.L. (1976), Cadmium and zinc toxicity to Jordanella floridae, J.Fish.Res.Bd.Can., 33:1939-1945
- Spyker, J.M. et M. Smithberg (1972), Effect of methylmercury in embryo's growth of mice. J.Teratol., 5:181
- Von Westernhagen, H., V. Dithlefsen et Rosenthal (1975), Combined effects of cadmium and salinity on development and survival of garpike eggs. Helgol.Meeresunters., 27:268-285
- Ward, G.S. et P.R. Parrish (1980), Evaluation of early life stage toxicity tests with embryos and juveniles of sheepshead minnows (Cyprinodon variegatus). In: Aquatic toxicology, edited by J.G. Eaton, P.R. Parrish and A.C. Hendricks, Vol. ASTM STP 707, pp.243-247. Philadelphia: ASTM
- Weis, P. et J.S. Weis (1977), Methyl mercury teratogenesis in the killifish Fundulus heteroclitus. Teratology, 16:321-324

TOXICITE, PERSISTANCE ET BIOACCUMULATION DU CHROME CHEZ DEUX  
ORGANISMES MARINS COMESTIBLES: LA MOULE Mytilus edulis ET LE  
CRABE Liocarcinus puber. ASPECTS STRUCTURAUX,  
ULTRASTRUCTURAUX ET MICROANALYTIQUES

par

Colette CHASSARD-BOUCHAUD

Laboratoire de Biologie et Physiologie des Organismes Marins,  
Université Pierre et Marie Curie, 4 place Jussieu,  
75252 Paris Cedex 05, France

Laboratoire de Biophysique de la Faculté de Médecine,  
Centre de Microanalyse appliquée à la Biologie,  
6 rue du Général Sarrail, 94000 Créteil, France

## R E S U M E

Les modalités de toxicité, de persistance et de bioaccumulation du chrome sont étudiées chez la moule Mytilus edulis d'une part et chez le crabe Liocarcinus puber d'autre part. Pour comprendre les mécanismes intervenant à l'échelle de l'organe, de la cellule et de l'organite, deux méthodes complémentaires de microanalyse sont utilisées: la spectrométrie de masse à l'aide du microscope ionique et la spectrométrie des rayons X, à l'aide de la microsonde Camebax associée à un microscope électronique à transmission.

Chez M. edulis, les organes ou tissus cibles sont, par ordre d'intensité décroissante: le rein, la branchie, le muscle, le byssus, le palpe labial et la glande digestive. Chez L. puber, les tissus cibles sont le muscle et la branchie.

Les organites cibles de bioconcentration sont, chez la moule, les lysosomes, alors que chez le crabe, aucune réponse positive n'a été obtenue dans les lysosomes et dans les sphérocristaux. Par contre des microdépôts de chrome ont été détectés dans le byssus de la moule et dans les tissus musculaires des deux espèces.

Ces résultats conduisent à plusieurs conclusions. En particulier le fait que le byssus de la moule peut être utilisé comme excellent bioindicateur de la contamination du milieu: il est en effet facile à prélever. En outre l'existence de microdépôts de chrome présents à l'état libre dans le cytoplasme car non piégés par des organites et non isolés du milieu cellulaire, permet d'expliquer, en partie, la cytotoxicité élevée de ce métal.

## 1. INTRODUCTION

Le chrome est un des éléments de la classification périodique qui affecte l'homme et son environnement de trois façons: a) comme composant de base utilisé en technologie; b) comme élément toxique pour les chaînes alimentaires, de par sa présence naturelle ou d'origine anthropogénique; et c) comme constituant essentiel, nécessaire aux fonctions physiologiques

vitales (Mertz, 1969). A l'échelle mondiale, les rejets industriels de chrome dans les écosystèmes aquatiques atteignent des valeurs élevées, de l'ordre de 142.000 tonnes par an, inférieures à celles du plomb estimées à 138.000 tonnes (Nriagu et al., 1988).

Lorsque l'on étudie ce métal, de nombreux facteurs doivent être pris en compte tels que, la valence, la forme chimique et le degré de concentration par exemple. Le chrome est naturellement présent dans l'environnement presque exclusivement à l'état trivalent et sa concentration dans l'eau de mer varie entre 0.3 et 0.6 ppb (Riley et al., 1971).

Alors qu'il existe une abondante littérature relative à la toxicité du chrome vis-à-vis des Mammifères, il n'existe comparativement que peu de données relatives au comportement de ce métal dans les systèmes biologiques aquatiques et notamment marins (Fukai et al., 1965). D'une façon générale, les résultats publiés par les différents auteurs concernent l'ensemble des parties molles des moules par exemple, sans distinction à l'échelon de l'organe ou de la cellule (Schulz-Baldes et al., 1983).

Notre objectif est de déterminer la cinétique de bioaccumulation du chrome: capture, stockage et excrétion chez des organismes marins couramment consommés par l'homme tels que la moule, Mytilus edulis (Mollusque Bivalve) et le crabe, Liocarcinus puber (Crustacé Décapode). Il est bien connu que ces deux espèces sont de bons indicateurs de la composition du milieu et en particulier de sa contamination éventuelle par des métaux toxiques (Johnston, 1976). Pour tenter de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu par ces deux organismes pour métaboliser le chrome, notre étude a pour but d'évaluer les phénomènes à l'échelle de l'organe ou du tissu, de la cellule et enfin de l'organite.

On sait que les sels de chrome sont actifs à des concentrations extrêmement faibles et toxiques pour les poissons à la dose trace de 0,1 ppm (Strik et al., 1975). En conséquence, les investigations portant sur la toxicité de ce métal nécessitent une instrumentation analytique particulièrement sensible. Les méthodes d'analyse globale couramment utilisées ne sont pas suffisantes pour plusieurs raisons. Il n'est pas possible en effet de distinguer le métal absorbé de celui qui est réellement absorbé et métabolisé. De grandes quantités de matériel biologique sont souvent nécessaires. Enfin, les analyses sont longues. Pour atteindre l'objectif proposé, nous disposons actuellement de techniques microanalytiques particulièrement bien adaptées (Chassard-Bouchaud, 1987).

Il s'agit de deux techniques: la spectrométrie de masse par émission ionique secondaire proposée par Castaing et Slodzian en 1962 et de la spectrométrie des rayons X due à Castaing (1951). En fait ces méthodes relativement anciennes subissent progressivement et continuellement des améliorations technologiques qui les rendent de plus en plus performantes dans le domaine de l'écotoxicologie et de l'environnement marin (Chassard-Bouchaud, 1991). L'utilisation simultanée de ces deux méthodes permet une identification morphologique et chimique des constituants cellulaires présents dans une coupe histologique. Bien que la spectrométrie des rayons X soit la méthode la plus couramment utilisée, elle ne permet pas de résoudre un certain nombre de problèmes biologiques à cause de sa sensibilité relativement peu élevée; mais par contre les observations ultrastructurales sont possibles.

En outre, un système informatisé de traitement d'images a été mis au point (Cavellier et al., 1988) et associé au microscope ionique. Ce système basé sur la post-acquisition des images permet en particulier d'obtenir une corrélation entre les différentes images correspondant respectivement aux différents éléments détectés et d'en établir une cartographie précise.

Des résultats préliminaires ont déjà été obtenus sur les aspects cellulaires et subcellulaires de la concentration du chrome chez Mytilus edulis (Chassard-Bouchaud et Galle, 1988). Puis nous avons approfondi nos investigations sur cette même espèce en abordant plus largement les processus de capture, de distribution et d'excrétion du métal en microanalyse (Chassard- Bouchaud et al., 1989).

Le présent rapport porte sur les résultats obtenus chez Mytilus edulis, bivalve filtreur se nourrissant principalement de particules en suspension. Il porte aussi sur les résultats obtenus chez Liocarcinus puber, décapode benthique à régime omnivore. En fin d'exposé, nous comparerons les sites respectifs de bioaccumulation du chrome et les modalités observées à l'échelle cellulaire et subcellulaire, dans les deux espèces.

## 2. MATERIELS ET METHODES

### 2.1 Matériel biologique

Des échantillons de Mytilus edulis, d'une taille comprise entre 4 et 5 cm, récoltés dans les eaux côtières de Roscoff (Bretagne) sont maintenus pendant 14 jours dans une solution d'eau de mer contenant du chlorure de chrome ( $\text{CrCl}_3$ ), à une concentration de 10 ppm et à une température de 12°C. A l'issue de cette période, les différents organes: muscle, branchie, palpe labial, glande digestive, rein et byssus sont disséqués et fixés au glutaraldehyde (3%), dans un tampon cacodylate 0,4 M à pH 7,8. Après déshydratation et passage dans l'oxyde de propylène, on effectue une inclusion dans l'épon. Les coupes destinées à la microscopie électronique subissent la double coloration acétate d'uranyle, citrate de plomb; celles destinées à la microanalyse ne le sont pas.

Des échantillons de Liocarcinus puber, d'une largeur de carapace comprise entre 4 et 5 cm, récoltés dans les eaux côtières de Villefranche-sur-Mer (Provence) sont maintenus dans les mêmes conditions d'élevage que celles décrites pour la moule. Les tissus et organes suivants sont prélevés: branchie, glande digestive et muscle et traités comme ceux de la moule.

### 2.2 Méthodes

#### 2.2.1 Instrumentation

##### Microscopie électronique

Un microscope électronique à transmission Philips EM 300 est utilisé pour l'étude ultrastructurale des tissus.

### Spectrométrie des rayons X: microsonde électronique

La microsonde électronique (Fig. 1) couplée à un microscope électronique à transmission permet d'effectuer cette analyse sur des coupes ultrafines de tissu, visualisées à l'échelle ultrastructurale. Après repérage de l'organite à utiliser, une très fine sonde électronique, généralement de 0,1 à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre est dirigée sur la zone d'intérêt. Sous l'influence de ce bombardement, les atomes présents dans l'organite émettent un rayonnement X dans le spectre comporte des raies caractéristiques. La longueur d'onde de ces raies est en effet caractéristique de l'atome émetteur. La mesure de ces longueurs d'onde, faite avec un spectromètre de rayons X permet donc de déterminer la nature des atomes présents sous la microsonde et l'intensité de l'émission permet d'apprécier leur concentration.

Les concentrations minimum détectables sont de l'ordre de cent à quelques centaines de ppm pour les éléments de nE atomique  $Z > 11$  et de quelques pour cent pour les éléments plus légers. Les éléments de nE atomique inférieur à 5 ne sont pas détectables. La résolution spatiale est de l'ordre de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$ .

### Spectrométrie de masse par émission ionique secondaire: microscope ionique

La figure 2 schématise le principe de la méthode. La surface du spécimen (coupe histologique) est bombardée par un faisceau d'ions primaires. Le diamètre de la zone d'impact est de 250  $\mu\text{m}$ . Sous l'influence de ce bombardement, les atomes des couches atomiques les plus superficielles sont progressivement arrachés et l'échantillon est progressivement érodé, au rythme d'une couche atomique par seconde environ. Certains de ces atomes sont émis sous forme de particules chargées: ces ions émis par la surface du spécimen sont appelés ions secondaires, ils sont accélérés par une différence de potentiel et focalisés en un faisceau qui transporte l'image globale de tous les ions arrachés à un instant donné. Un spectromètre de masse, constitué d'un déflecteur électrostatique et d'un prisme magnétique courbe ensuite la trajectoire de ces ions; ce spectromètre a été conçu de façon telle que la qualité des images n'est pas altérée lors de ces déviations. A la sortie du spectromètre de masse, le faisceau initial transportant l'image globale est ainsi séparé en autant de faisceaux secondaires qu'il y avait à l'entrée d'ions d'une charge spécifique donnée. L'un de ces faisceaux transportant l'image d'une seule variété d'ions peut être sélectionné et dirigé sur un système de visualisation comportant un écran fluorescent sur lequel l'image analytique apparaît. Les trois images obtenues ici montrent respectivement la distribution de l'aluminium (masse 27), du calcium (masse 40) et du fer (masse 56). La figure 3 présente le schéma du microscope ionique CAMECA SMI 300. Cet instrument permet donc d'obtenir directement des images représentant la carte de distribution de chaque élément réparti au sein d'une coupe histologique. Ces "images analytiques" sont obtenues avec une résolution de l'ordre de 0,5  $\mu\text{m}$ . L'intérêt principal de cette méthode est sa très haute sensibilité; en effet un élément comme l'aluminium peut être détecté dans une coupe histologique et l'image de sa répartition microscopique est obtenue, même à des concentrations extrêmement faibles, inférieures à 0,1 ppm, dans des volumes de l'ordre du micron cube, soit une sensibilité environ 1000 fois plus élevée que celle obtenue avec une microsonde électronique.

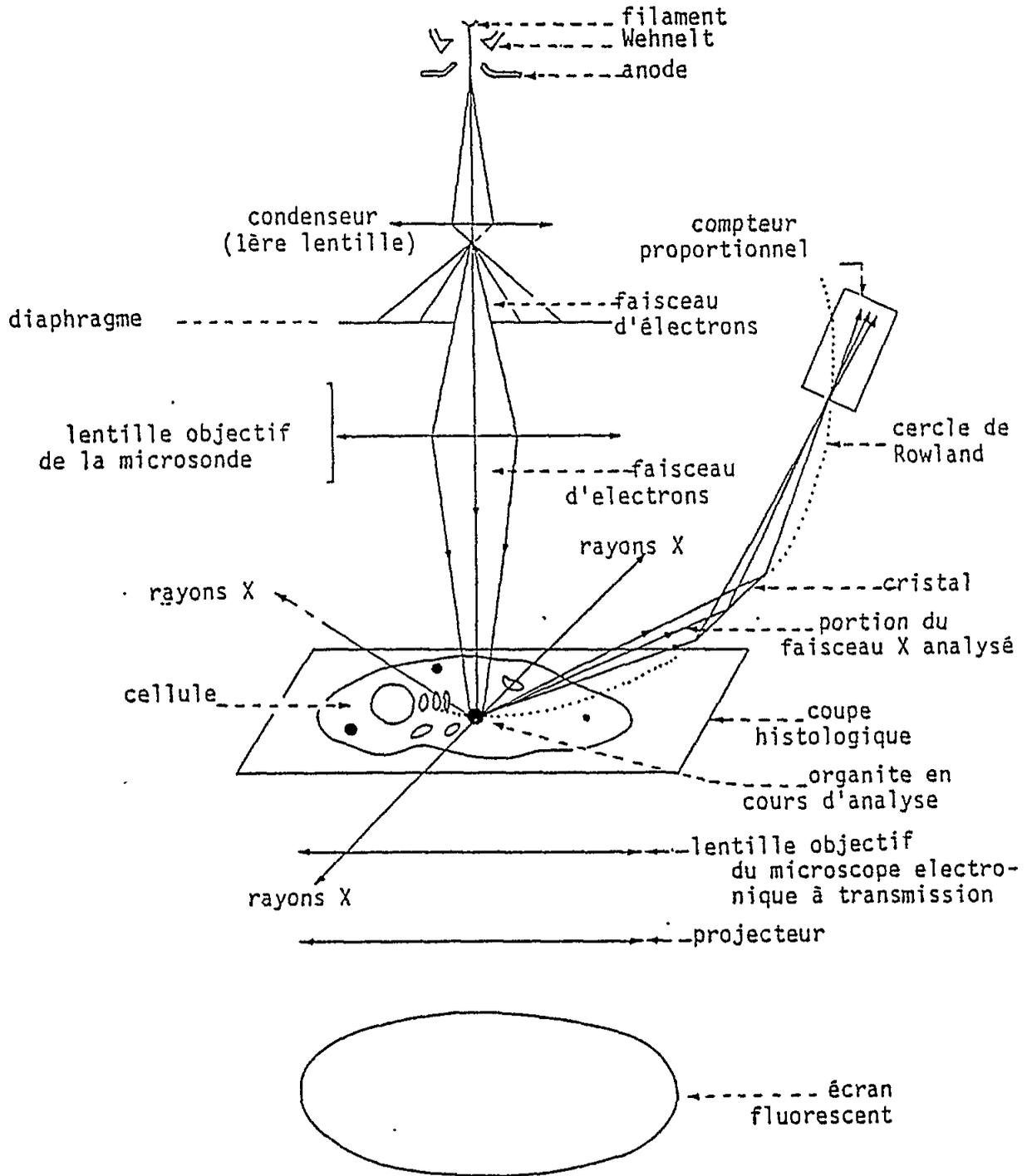


Fig. 1 Schéma de la microsonde électronique CAMEBAX à spectromètre de rayons X dispersif en longueur d'ondes. Le microscope électronique à transmission, associé à la platine porte-échantillon permet l'observation en ultrastructure. Le faisceau est focalisé sur un organe en cours d'analyse

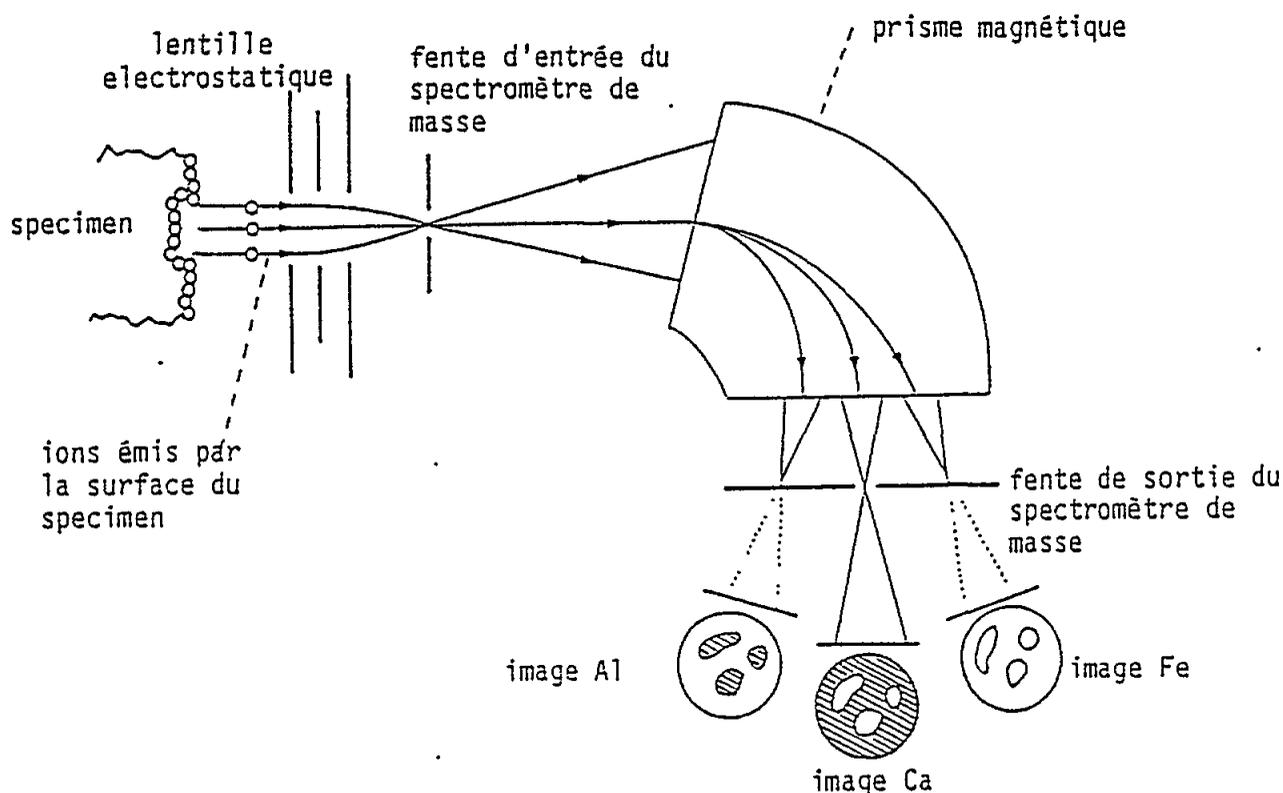


Fig. 2 Schéma de principe de la microscopie ionique

Pour un certain nombre d'éléments et en particulier pour le chrome, il est nécessaire de faire de la haute résolution en masse, en mode spectral, à la masse 52 pour faire la distinction entre l'ion  $^{52}\text{Cr}^+$  et les ions polyatomiques (principalement  $\text{CaC}$ :  $40 + 12$ ). La figure 4 présente les spectres obtenus à la masse 52.

#### Traitement informatique des images ioniques

L'instrument utilisé est le NUMELEC PERICOLOR 2001 associé à une caméra branchée sur le microscope ionique CAMECA SMI 300. Cette caméra permet de filmer l'écran fluorescent du microscope par une fenêtre de visée en utilisant un objectif de 100 mm (f/2.2.). La figure 5 présente le principe de ce système informatisé de numérisation et de traitement des images ioniques.

#### 2.2.2 Conditions d'analyse

##### Microanalyse par spectrométrie des rayons X

Les coupes ultrafines sont déposées sur grilles de cuivre, carbonées, puis observées à l'aide de la sonde CAMEBAX couplée à un microscope

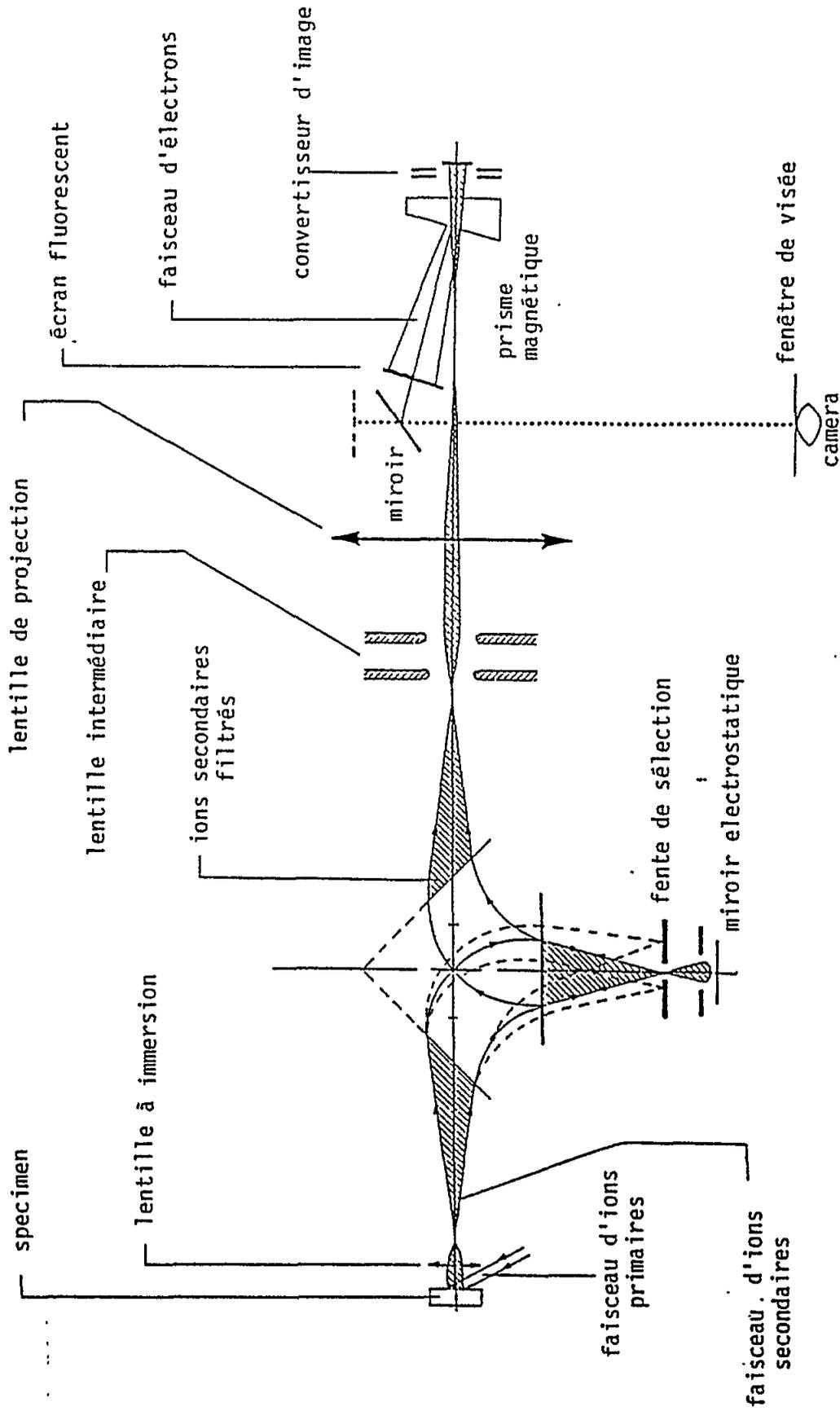


Fig. 3 Schéma du microscope ionique CAMECA SMI 300. Il est équipé du secteur électrostatique permettant d'atteindre une haute réalisation en masse de 3000 en mode spectral. Le trajet des ions en mode image est différent, il est obtenu en basse résolution en masse

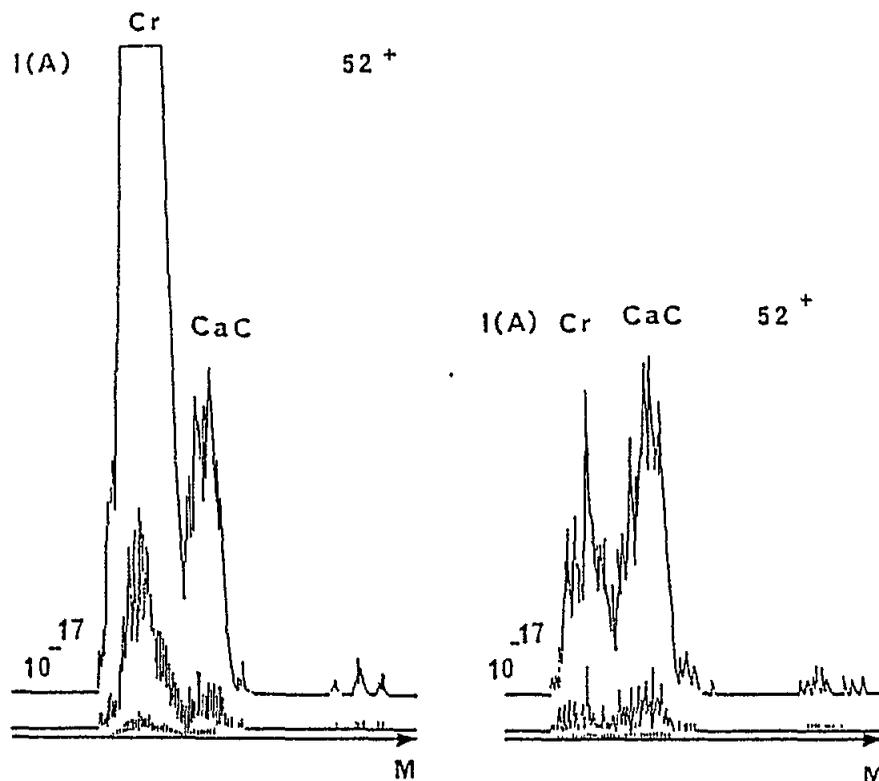


Fig. 4 Spectres ioniques en haute résolution en masse (M) obtenus à la masse 52. A gauche, l'ion Cr est nettement prédominant par rapport aux ions polyatomiques CaC. A droite, la contribution des ions polyatomiques CaC est prédominante

électronique à transmission. L'appareil est équipé de deux spectromètres du type dispersif en longueur d'onde qui comportent les cristaux TAP, ODPB, PET et LIF. Les conditions d'analyse sont les suivantes: tension d'accélération de 20 kV, courant de sonde de 100 nA, diamètre de sonde de 50nm environ.

La concentration relative du métal dans les organites intracellulaires est évaluée par comptage pendant 50 s. du nombre de coups enregistrés sur la raie  $K\alpha$  du chrome (Cr) du phosphore (P) et du soufre (S). Les moyennes sont faites à partir de comptage sur 20 organites analogues de 10 échantillons.

#### Microanalyse par émission ionique secondaire

Les coupes semi-fines sont déposées sur une lame d'or poli extra pur puis observées à l'aide du microscope ionique SMI 300 (CAMECA). Les conditions d'analyse sont les suivantes: bombardement par un faisceau d'ions primaires ( $O_2^+$ ) avec un courant de 500 à 800 nA; diaphragme de contraste de la lentille à immersion: 200  $\mu\text{g}$ ; résolution sur l'image: 1  $\mu\text{g}$  environ; résolution en masse: 300 sur image; champ observé de 250  $\mu\text{m}$  de diamètre; champ de mesure: 60  $\mu\text{m}$  de diamètre; tension objet: 4,5kV.

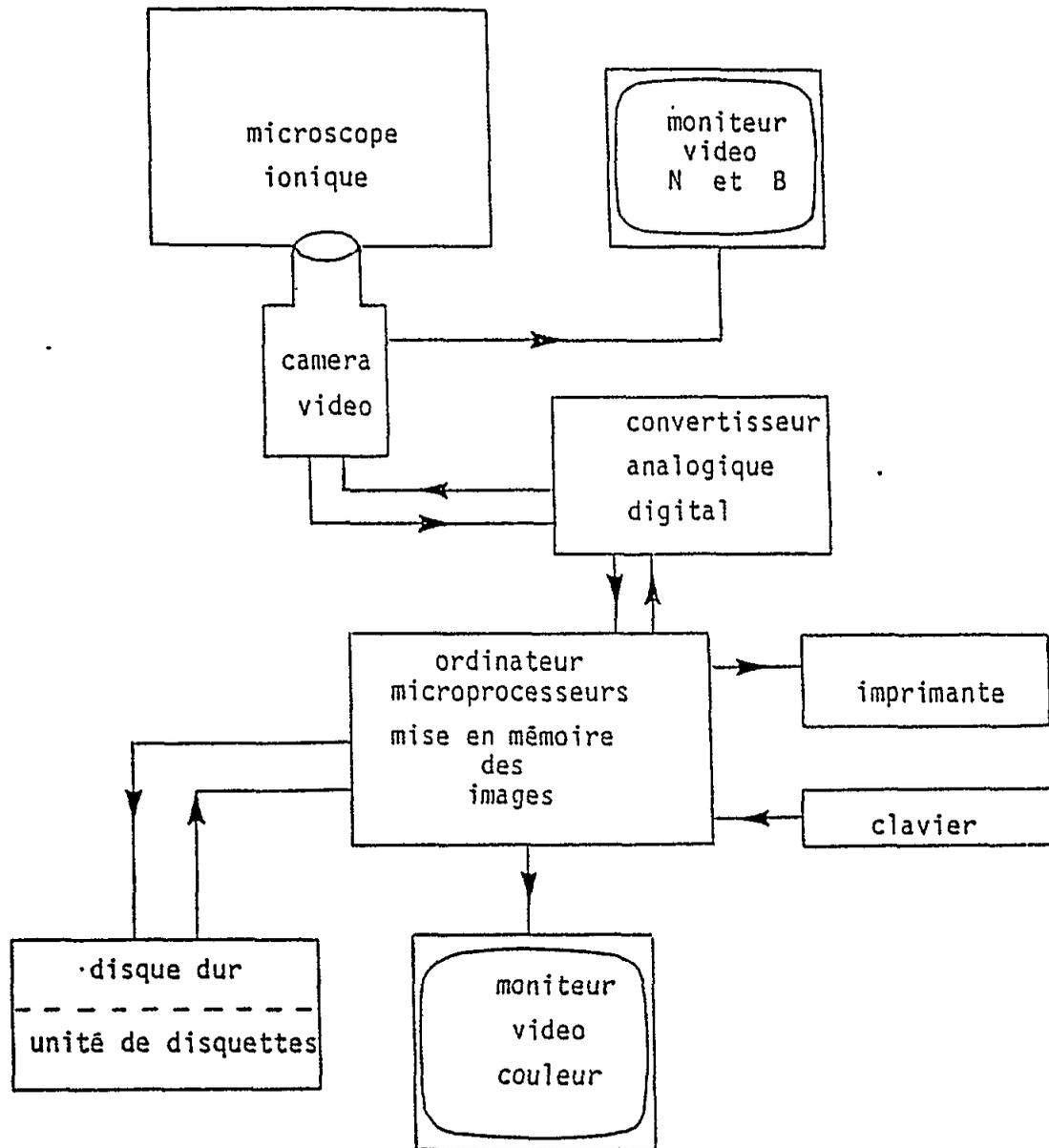


Fig. 5 Schéma du système informatisé de numérisation et de traitement d'images, associé au microscope ionique

### 3. RESULTATS

#### 3.1 Mytilus edulis

Nous examinerons successivement les résultats obtenus sur chaque tissu et organe, puis nous en ferons une synthèse pour comprendre le métabolisme du chrome chez la Moule.

### 3.1.1 Branchie

La figure 6 présente des filaments branchiaux de moule intoxiquée par le chrome: ils sont atrophiés et déformés. Les images ioniques (Figs 7 et 8) montrent la localisation du chrome dans des sites ponctuels correspondant aux lysosomes. En effet sur les micrographies électroniques (Figs 9 et 10) les lysosomes apparaissent avec des microgranules constitués de chrome associé à du phosphore. Les mesures obtenues sur ces organites, concernant Cr, P et S sont résumées sur la figure 11.



Fig. 6 M. edulis. Branchie. Micrographie photonique montrant les cellules endothéliales (ec) et les espaces interfilamentaires envahis par les amœbocytes granulaires (a). x 800

### 3.1.2 Palpe labial

La figure 12 présente un filament labial de moule intoxiquée par le chrome. Les images ioniques (Fig. 13) montrent la localisation du chrome dans des sites ponctuels correspondant, ici encore aux lysosomes. Ces organites apparaissent parfaitement sur les micrographies électroniques (Fig. 14) où le chrome associé à du phosphore se présente sous forme d'aiguilles et de microgranules. Les mesures obtenues sont résumées sur la figure 11.

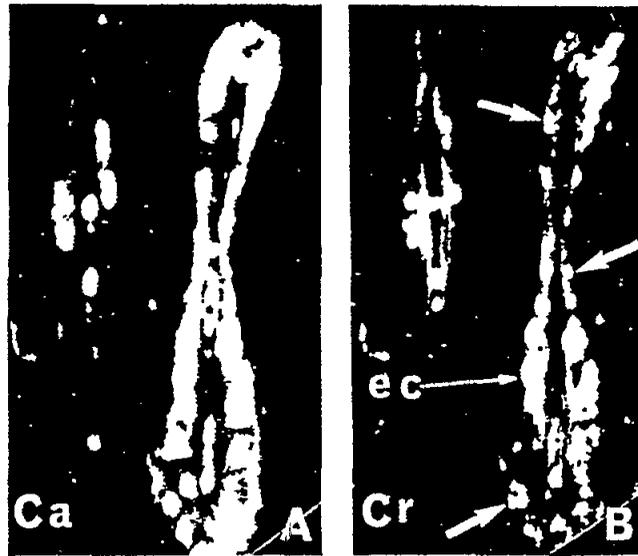


Fig. 7 M. edulis. Branchie. Photo ionique montrant en A, l'image calcium qui donne la topographie de la coupe et en B, l'image chrome d'émission du métal (flèches). Les petits points brillants correspondent aux lysosomes. x 800

### 3.1.3 Glande digestive

Les images ioniques obtenues sur cet organe montrent une émission de chrome particulièrement faible confirmée par l'observation des spectres obtenus. Corrélativement, on observe sur les micrographies électroniques (Fig. 15) des lysosomes à contenu peu dense, pauvre en chrome comme le montrent (Fig. 11), les comptages obtenus.

### 3.1.4 Rein

Les images ioniques obtenues sur cet organe font apparaître une forte émission de chrome, confirmée par l'observation des spectres obtenus. La figure 16 qui présente une micrographie électronique démontre parfaitement le phénomène. Les teneurs mesurées sont les plus hautes dans cet organe (Fig. 11), où le chrome est associé à de faibles quantités de phosphore et de soufre, comme nous l'avons déjà exposé, à propos de la branchie. Les lysosomes sont nombreux, riches en microparticules de chrome (Fig. 17) et l'excrétion du métal est nettement mise en évidence sur la micrographie.

### 3.1.5 Byssus

Nous avons analysé la "région élastique" telle qu'elle a été définie par les auteurs (Benedit et al., 1986). Cette zone est constituée de microfilaments denses aux électrons, qui analysés en microscopie électronique

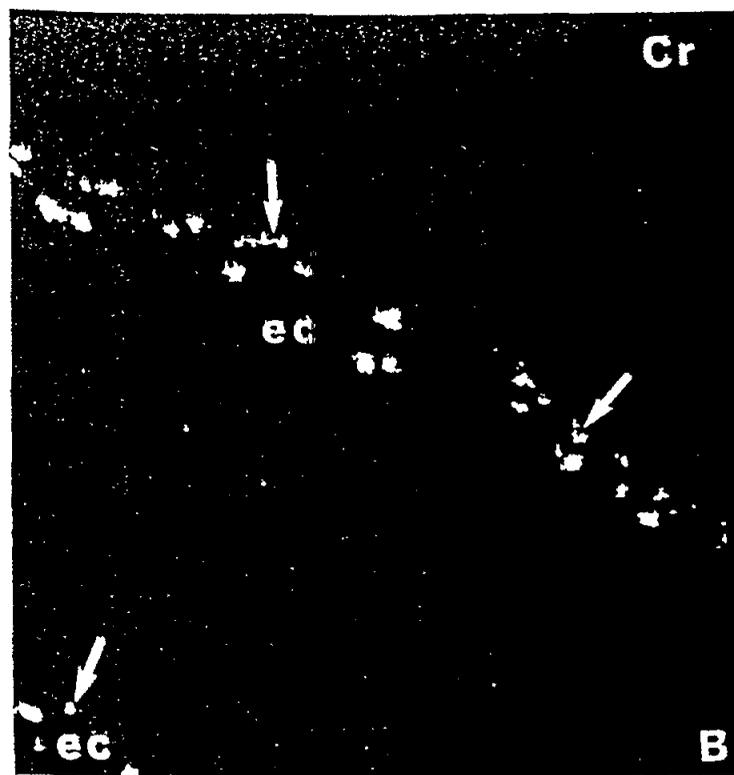
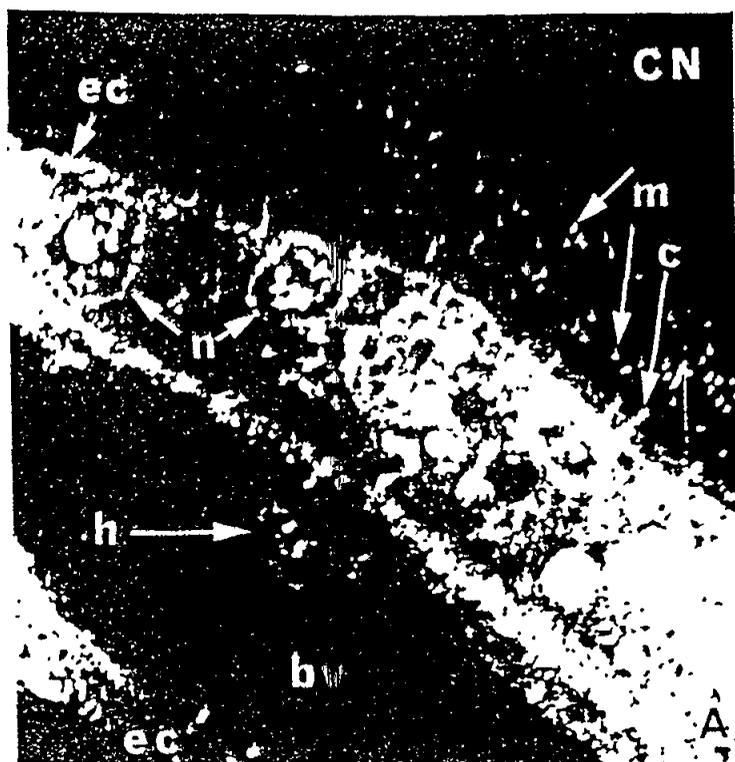


Fig. 8 *M. edulis*. Branchie. Images ioniques obtenues sur la même coupe. A: image CN montrant la topographie du tissu: cellules épithéliales (ec), noyaux (n), microvilli (m) et cils (c). Noter la présence d'un amoebocyte (h). B: image Cr montrant une importante émission du métal au niveau de points brillants correspondant à des lysosomes (flèches). x 2000



Fig. 9 *M. edulis*. Branchie. Micrographie électronique de filament montrant les cellules épithéliales (ec), noyaux (n), cils (c) et microvilli (m). Les lysosomes (l) contiennent des microgranules denses de Cr, P et S. x16400

à transmission et en microsonde (Fig. 18) révèlent l'existence de microgranules riches en chrome (Fig. 11) mais non délimités par une membrane et donc libres dans le cytoplasme, ce qui n'était pas le cas des bioaccumulations intralysosomales observées dans les autres tissus ou organes.

Dans cet organe, nous avons aussi détecté une fine couche de microaiguilles de chrome, localisée en surface des filaments du byssus, donc seulement absorbée et en situation extracellulaire. Ainsi, au niveau du byssus deux sites de localisation du chrome sont particulièrement nets: un site interne, correspondant à du métal incorporé au tissu et un site externe correspondant à une simple absorption.

### 3.1.6 Muscle

Des prélèvements ont été effectués sur le muscle adducteur postérieur que nous avons ensuite analysé en ultrastructure et à l'aide de la microsonde. Les micrographies électroniques de la figure 19 présentent les résultats obtenus. Dans le cytoplasme qui entoure les myofibrilles elles-mêmes, on distingue nettement des microprécipités, non contenus dans des organites limités par une membrane et qui sont des microdépôts de chrome

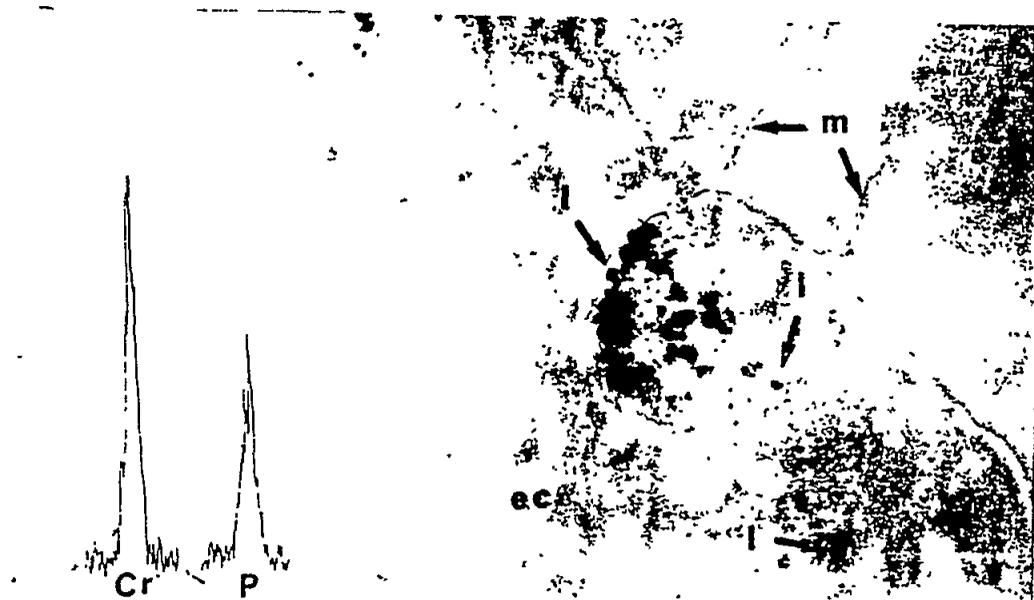


Fig. 10 *M. edulis*. Branchie. Micrographie électronique de filament (matériel non osmié et non coloré) montrant une cellule épithéliale (ec) contenant des lysosomes (l) avec des microgranules denses de Cr, P et S. m: microvilli. Encart: spectre d'émission de raies X de Cr et P obtenu sur ces lysosomes. x 40000

associé à du phosphore. La concentration est importante (Fig. 11), plus importante que celle observée dans le palpe labial, la glande digestive ou le byssus.

### 3.1.7 Gonades

Les gonades d'individus mâles et femelles ont été examinées en ultrastructure et les microanalyses ont été faites à l'aide des deux méthodes microanalytiques. Aucune détection notable de chrome n'a pu être observée dans les différents sites des cellules reproductrices.

### 3.1.8 Amoebocytes

Les amoebocytes sont des cellules amiboïdes mobiles présentes dans tout le système vasculaire de la moule et capable grâce à leurs pseudopodes, de s'infiltrer dans les différents organes et tissus. Leur fonction est essentiellement phagocytaire: elles sont capables, en effet, d'ingérer les particules d'origine exogène et toxiques pour l'organisme. Leur rôle dans la bioaccumulation de ces particules notamment riches en chrome a pu être observé. Chrome, phosphore et soufre sont concentrés dans des hétérophagolysosomes, organites ayant pour origine des lysosomes primaires, puis secondaires qui ont capté les métaux et les ont insolubilisés.

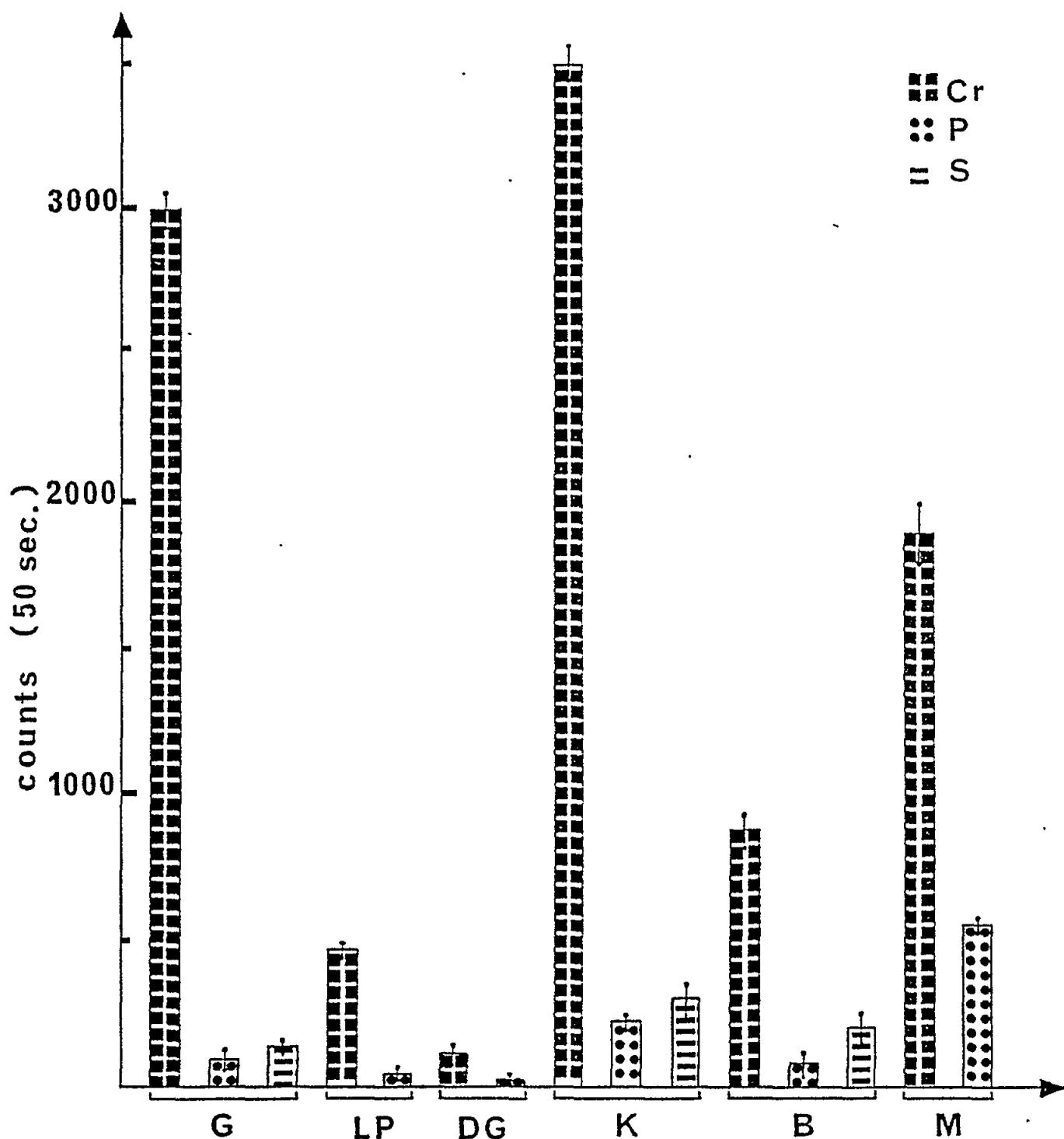


Fig. 11 *M. edulis*. Distribution du chrome (Cr), phosphore (P) et soufre (S) dans les différents tissus, obtenue par spectrométrie des rayons X (sonde Camebax). Les éléments sont concentrés dans les lysosomes des branchies (G), des palpes labiaux (LP), de la glande digestive (DG) et du rein (K), ainsi que dans des granules non limités par des membranes, dans le byssus (B) et dans les muscles (M)



Fig. 12 M. edulis. Palpe labial. Micrographie photonique montrant les cellules épithéliales (ec) garnies de cils (c). h: amœbocyte. x 800

### 3.2 Liocarcinus puber

Nous examinerons successivement les résultats obtenus sur chaque tissu et organe, puis, comme dans le cas de Mytilus edulis, nous en ferons une synthèse pour comprendre le métabolisme du chrome chez le Crabe.

#### 3.2.1 Branchie

La figure 20 présente deux images ioniques obtenues sur la même coupe transversale de filament branchial. On reconnaît essentiellement l'épithélium recouvert par l'exosquelette encore appelé tégument ou cuticule. De très rares points émissifs en chrome sont à peine visibles dans l'épithélium. Par contre, au niveau de la cuticule, l'émission de chrome est très forte: elle forme un liseré continu qui cerne totalement le filament branchial.

Grâce à la microsonde Camebax, nous pouvons affiner ces résultats en effectuant des microanalyses à l'échelle ultrastructurale.

La micrographie électronique de la figure 22 permet de reconnaître l'épithélium, riche en mitochondries, recouvert par la cuticule pluristratifiée, présentant à sa surface un fin liseré, légèrement opaque aux électrons.

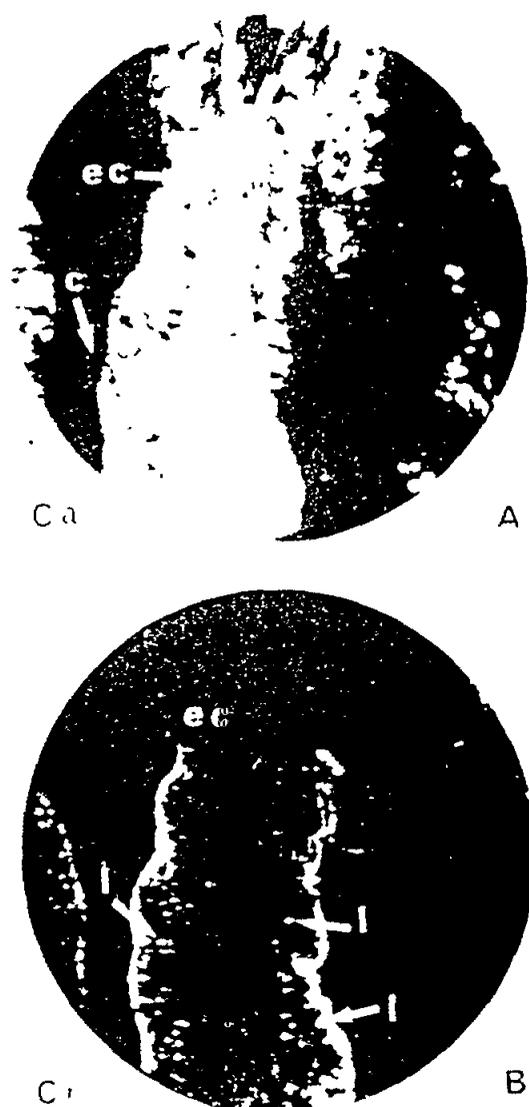


Fig. 13 M. edulis. Palpe labial. Images ioniques obtenues sur la même coupe. A: image calcium qui donne la topographie de la coupe: cellules épithéliales (ec) garnies de cils (c). B: image chrome montrant l'émission du métal par des points brillants correspondant aux lysosomes (l). x 800

La microanalyse de ces différentes zones de la lamelle branchiale donne les résultats suivants, résumés dans la figure 21. Dans l'épithélium, les lysosomes contiennent un peu de phosphore mais le chrome reste en-dessous des limites de détection. Des résultats analogues sont obtenus à partir de la cuticule. Seul le liseré de surface contient une quantité significative de chrome associé à du phosphore. Ainsi, au niveau de l'exosquelette on observe une adsorption du métal qui ne semble pas s'intégrer aux couches épithéliales sous-jacentes. Peut-être les teneurs en chrome se situent-elles en dessous des limites de détection dans ces zones épithéliales?



Fig. 14 *M. edulis*. Palpe labial. Micrographies électroniques. En haut, cellules épithéliales avec cils (c), noyaux (n) et lysosomes (l) localisés le long de la bordure cellulaire et contenant du chrome associé à du phosphore. x 5000. En bas, zone vue à un plus fort grossissement montrant 3 lysosomes (l) contenant des précipités de chrome et de phosphore. Encart: spectre d'émission de raies X de Cr et de P obtenu sur ces lysosomes. x 44000



Fig. 15 M. edulis. Glande digestive. Micrographie électronique montrant des lysosomes (l) contenant quelques microgranules de chrome et de phosphore. m: microvilli, n: noyau. x 20000

### 3.2.2 Glande digestive

La micrographie électronique de la figure 24 illustre l'ultrastructure du tissu. Les cellules épithéliales riches notamment en mitochondries présentent à leur face apicale une bande continue de microvilli qui augmentent considérablement la surface d'absorption.

Les images ioniques obtenues n'ont pas permis de déceler la présence de chrome dans ce tissu. Les microanalyses effectuées grâce à la microsonde Camebax, ont porté sur les organites bien connus pour leur capacité de bioaccumulation de métaux, comme nous le verrons plus loin dans la discussion; il s'agit des sphérocristaux, organiques sphériques comportant des couches périphériques concentriques phosphocalciques et des lysosomes. L'analyse respective de ces deux types d'organites n'a donné aucune réponse positive quant à la présence de chrome. La figure 21 présente les résultats obtenus et montre que seul le phosphore est détectable.

### 3.2.3 Muscle

Les images ioniques de ce tissu révèlent la présence de nombreux sites ponctuels d'émission de chrome. La micrographie électronique de la figure 25 montre les myofibrilles constituant la fibre musculaire. Au sein de ces

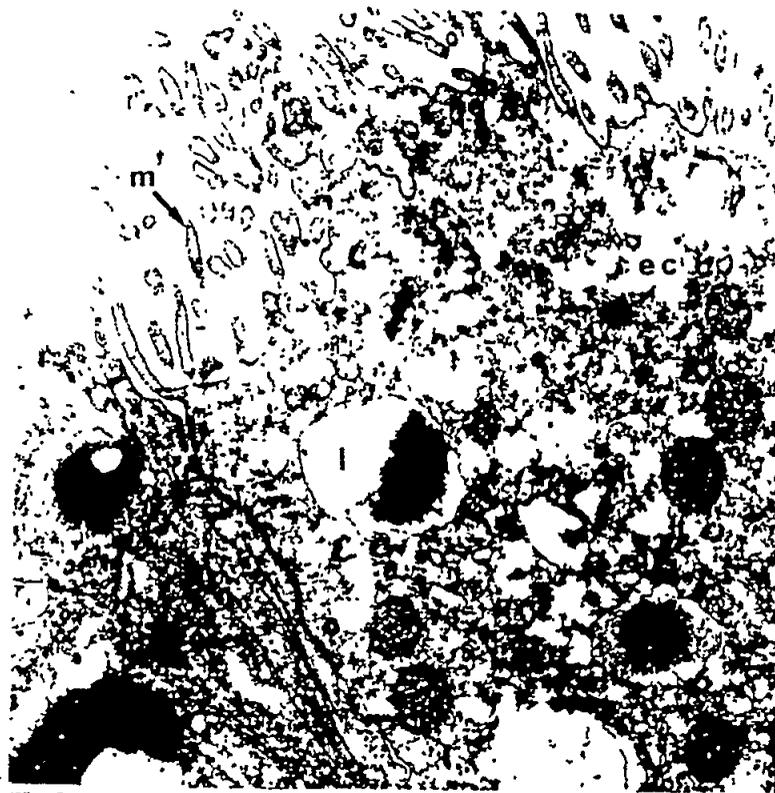


Fig. 16 M. edulis. Rein. Micrographie électronique montrant les cellules épithéliales (ec) avec microvilli (m) et lysosomes (l) contenant chrome, phosphore et soufre. Noter la présence de vésicules d'exocytose (étoiles) par lesquelles les métaux sont éliminés du rein. x 16000

myofibrilles on distingue nettement des microprécipités denses aux électrons et qui ne sont pas localisés dans des organites limités par une membrane. La microsonde Camebax permet de dire que ces microgranules sont constitués de chrome associé à du phosphore. Leur intensité d'émission est la plus forte mesurée dans les tissus du crabe, comme le montre la figure 21.

Des observations faites en microscopie électronique, dans le hyaloplasme entourant les myofibrilles, permettent, à un fort grossissement et sur du matériel non osmié et non coloré, de voir la structure fine de ces précipités (Fig. 23): il s'agit de formations paracristallines et de microaiguilles opaques aux électrons.

#### 3.2.4 Amoebocytes

Comme dans le cas de la Moule, nous avons observé chez le Crabe, la présence de nombreux amoebocytes, en particulier dans les branchies. Le chrome a été détecté dans leurs volumineux hétérophagolysosomes où le métal y a été insolubilisé. Leur rôle dans la bioaccumulation de particules toxiques, d'origine exogène est mis en évidence, de façon comparable à celui qu'ils ont chez la Moule.



Fig. 17 M. edulis. Rein. Micrographies électroniques. A: cellules épithéliales (ec) avec microvilli (m) et lysosomes (l) localisés le long de la bordure cellulaire et contenant chrome, phosphore et soufre. Noter les précipités denses (flèches) qui sont rejetés par le rein. x 22000. B: partie de A vue à un plus fort grossissement montrant les lysosomes (l) x 44000. Encart: spectre d'émission de raies X de Cr et P obtenu sur ces lysosomes

#### 4. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Nous avons examiné les modalités de bioaccumulation du chrome, chez la moule Mytilus edulis d'une part et chez le crabe Liocarcinus puber d'autre part, à l'échelle de l'organe, de la cellule et de l'organite, en utilisant deux méthodes complémentaires de microanalyse: la spectrométrie des rayons X, à l'aide de la microsonde Camebax et la spectrométrie de masse, à l'aide du microscope ionique.

Chez M. edulis, les organes ou tissus cibles de concentration du métal sont essentiellement et par ordre d'intensité décroissante: le rein, la branchie, le muscle, le byssus, le palpe labial et la glande digestive.

Chez L. puber, dans le cadre de nos observations, les tissus cibles sont le muscle et la branchie, avec des valeurs comparables. Dans la glande digestive, aucune détection de chrome n'a été obtenue.



Fig. 18 M. edulis. Byssus. Micrographie électronique montrant des grains denses (flèches) contenant chrome, phosphore et soufre. x 11000

Les organites cibles de bioconcentration sont, chez la Moule, les lysosomes, chez le Crabe aucune réponse positive n'a pu être obtenue ni dans les lysosomes, ni dans les sphérocristaux. La bioconcentration est aussi observée dans des microdépôts du byssus de la Moule ainsi que dans les tissus musculaires du Bivalve et du Crustacé, qui ne sont pas inclus dans des organites limités par une membrane.

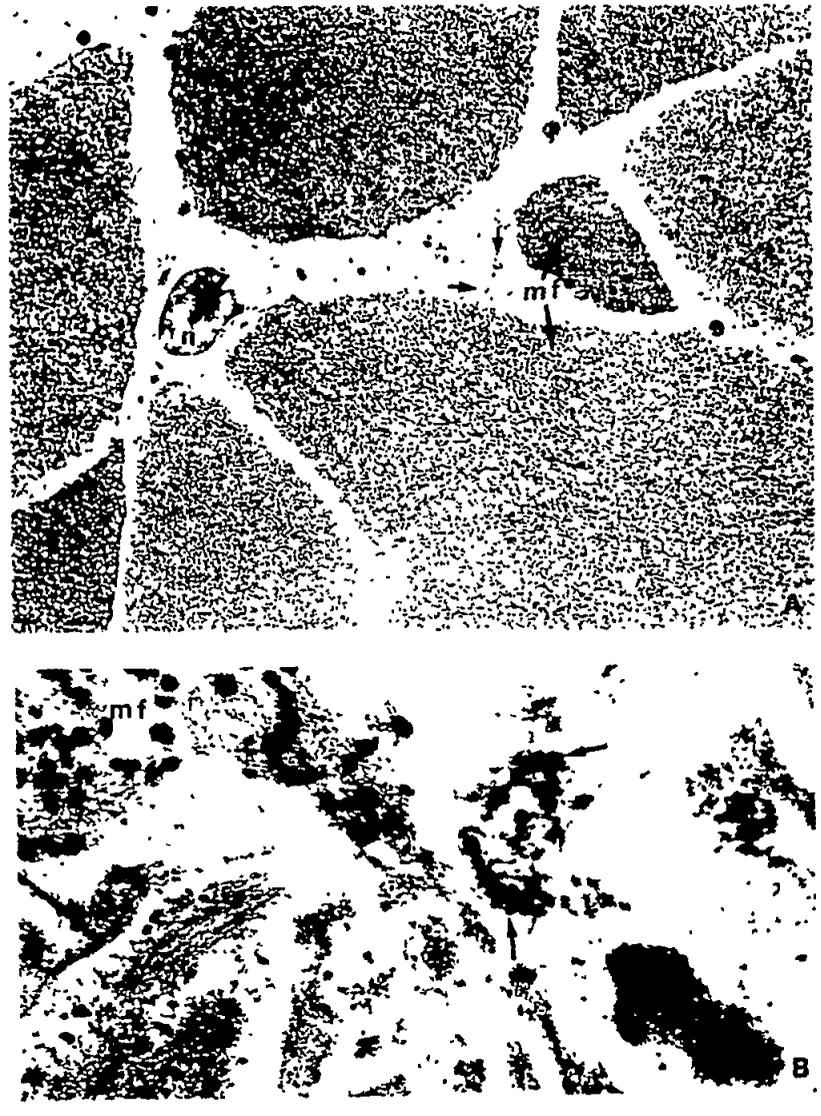


Fig. 19 *M. edulis*. Muscle. Micrographies électroniques de fibre musculaire. A: la fibre est constituée de myofibrilles (mf) dont le cytoplasme renferme des microprécipités (flèches) de chrome associé à du phosphore. n: noyau. x 5000. B: microprécipités vus à plus fort grossissement. x 44000

La glande digestive des Invertébrés et en particulier des Mollusques et des Crustacés, est l'organe principal de bioaccumulation des métaux. A l'aide des mêmes techniques microanalytiques nous avons pu montrer ce rôle prépondérant de la glande digestive de la Moule, dans les processus de bioconcentration du lithium (Chassard-Bouchaud *et al.*, 1984), de l'aluminium (Chassard-Bouchaud et Galle, 1986) de l'argent et du plomb (Chassard-Bouchaud

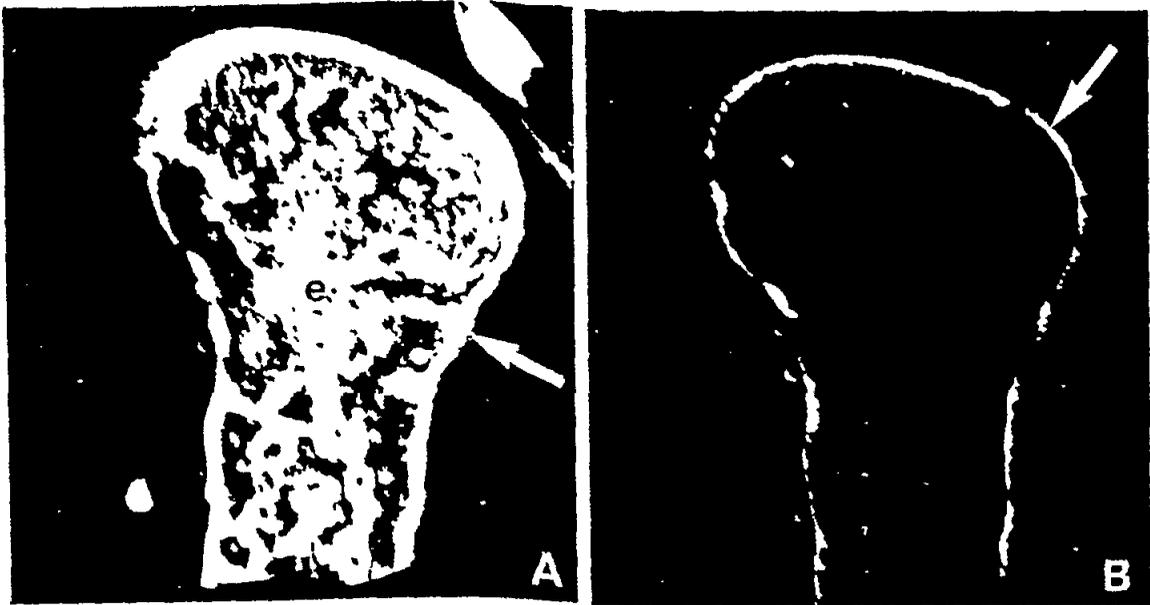


Fig. 20 L. puber. Branchie. Images ioniques obtenues sur la même coupe transversale de filament. A: image calcium montrant la topographie de la coupe avec épithélium (e) et cuticule (flèche). B: image chrome montrant la localisation exclusive du métal au niveau de la surface cuticulaire (flèche). x 800

et al., 1985), des lanthanides (Chassard-Bouchaud et Hallegot, 1984) et des actinides comme le plutonium (Calmet et al., 1987). En ce qui concerne le chrome, les résultats présentés ici démontrent que ce métal a un comportement totalement différent; en effet, chez la Moule, la glande digestive ne concentre pratiquement pas le métal et chez le Crabe, elle ne le concentre pas du tout.

Le rein de la Moule présente les concentrations de chrome les plus élevées: il apparaît donc comme le site prédominant de bioaccumulation. Dans ce cas spécifique, il semble que le rein, saturé de chrome est incapable de maintenir sa fonction d'excrétion et adopte une fonction de stockage. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par George et Pirie (1980) qui concluent que le rein est l'organe majeur de stockage du zinc.

La présence de chrome dans le tissu musculaire a été signalée chez les Poissons (Elwood et al., 1980) et chez quelques Crustacés tels que l'Ecrevisse (Hernandez et al., 1986) et le crabe Xantho hydrophilus (Peternac et al., 1986); mais dans ces deux cas, précisément les taux de concentration étaient très faibles alors que chez L. puber, le muscle est l'organe majeur de bioaccumulation du chrome.

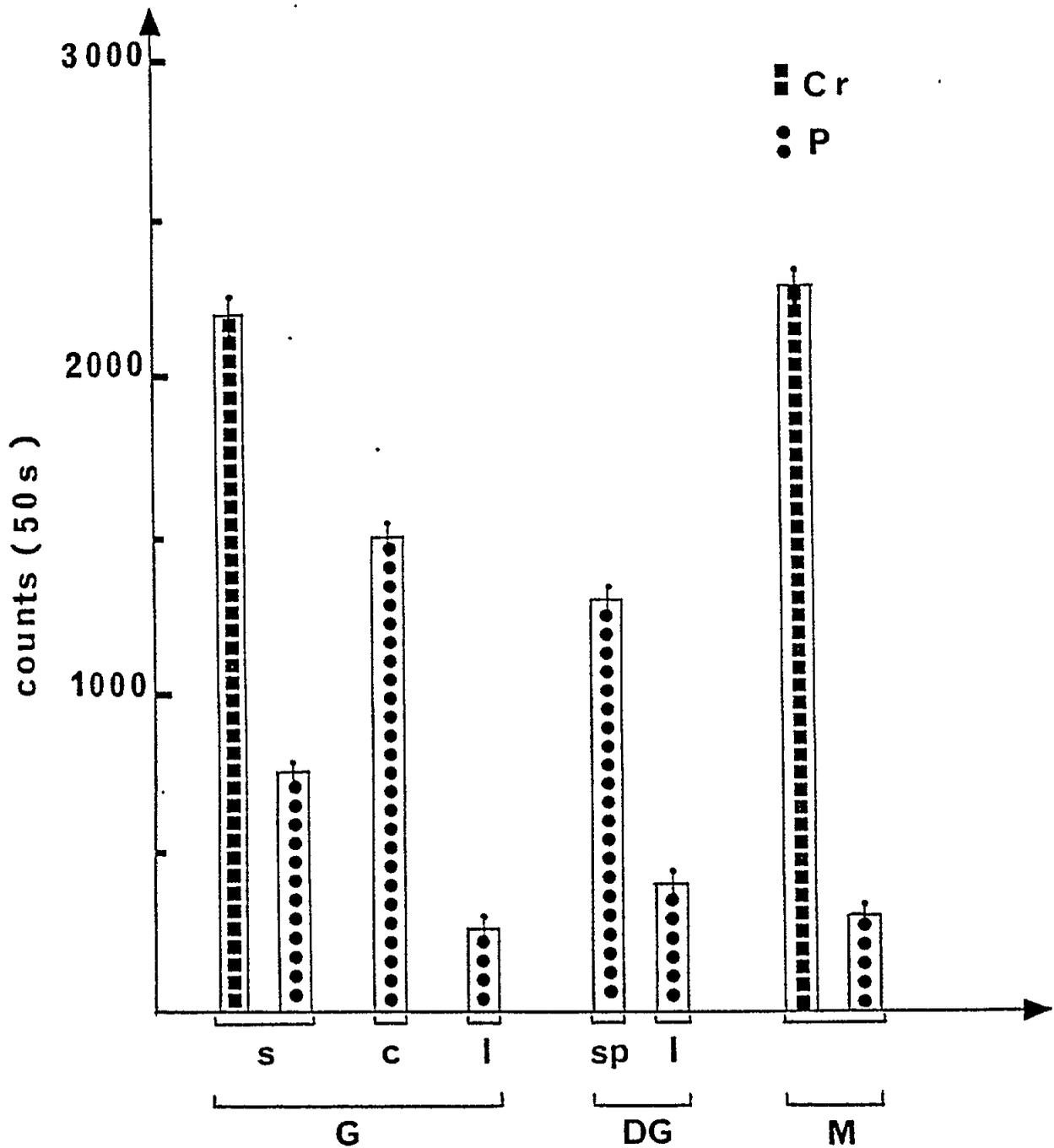


Fig. 21 *L. puber*. Distribution du chrome (Cr) et du phosphore (P) dans les différents tissus, obtenue par spectrométrie des rayons X (sonde Camebax). Dans la branchie (G), le chrome n'est détecté qu'en surface (s) et associé à du phosphore; P est seul présent dans la cuticule (c) et dans les lysosomes (l). Dans la glande digestive (DG) les organites, lysosomes (l) et sphérocristaux (sp) ne contiennent que du phosphore. Dans le muscle (M), Cr est abondant et associé à P

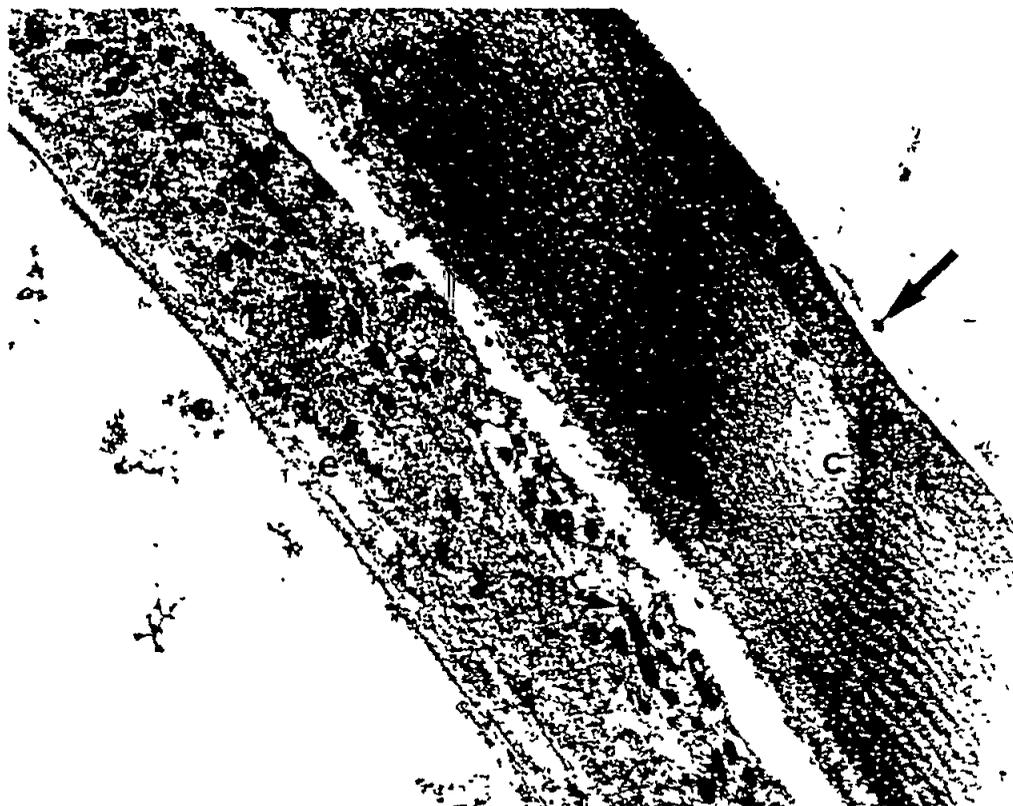


Fig. 22 L. puber. Branchie. Micrographie électronique montrant la cuticule (c) avec un liseré plus dense en surface contenant du chrome (flèche). Dans l'épithélium (e) on constate l'existence de nombreuses mitochondries (m). x 20000

Le rôle du byssus, en tant que tissu de bioaccumulation a été démontré par Coombs et Keller (1981) qui se demandaient si les métaux détectés étaient simplement adsorbés ou incorporés dans la matrice. Nos résultats confirment ce rôle de bioaccumulation et en outre démontrent à la fois une adsorption et une incorporation intratissulaire.

Dans les lysosomes de la Moule le chrome est insolubilisé et associé à du phosphore et à du soufre. La formation de phosphate de chrome est le résultat d'une réaction enzymatique phosphatasique acide, comme cela a été antérieurement démontré (Berry et al., 1982). La présence de soufre pourrait s'expliquer par l'existence possible de metallothionéines décrites chez la Moule (Noël-Lambot, 1976).

La présence de microdéposés de chrome directement dans le cytoplasme, est probablement une des raisons pour lesquelles ce métal est très cytotoxique. En effet la présence d'une membrane autour d'organites tels que



Fig. 23 L. puber. Muscle. Micrographie électronique (matériel non osmié et non coloré) montrant la présence de microaiguilles et de microprécipités (flèches) de chrome associé à du phosphore. Les membranes des lysosomes ne sont pas visibles. x 50000

les lysosomes, permet de soustraire les éléments toxiques, en les piégeant, en les isolant du milieu cellulaire, et d'em pêcher leur diffusion dans le hyaloplasme.

En conclusion l'ensemble des résultats que nous avons obtenus sur la toxicité, la persistance et la bioaccumulation du chrome, chez la Moule Mytilus edulis d'une part et chez le Crabe Liocarcinus puber d'autre part, sont concordants en ce qui concerne les organes et tissus sites de localisation. Cette étude poursuivie à l'échelle cellulaire et subcellulaire nous permet de mieux comprendre les modalités d'action du métal sur ces deux organismes marins et d'évaluer les conséquences éventuelles d'une contamination potentielle des chaînes conduisant au consommateur final: l'Homme.

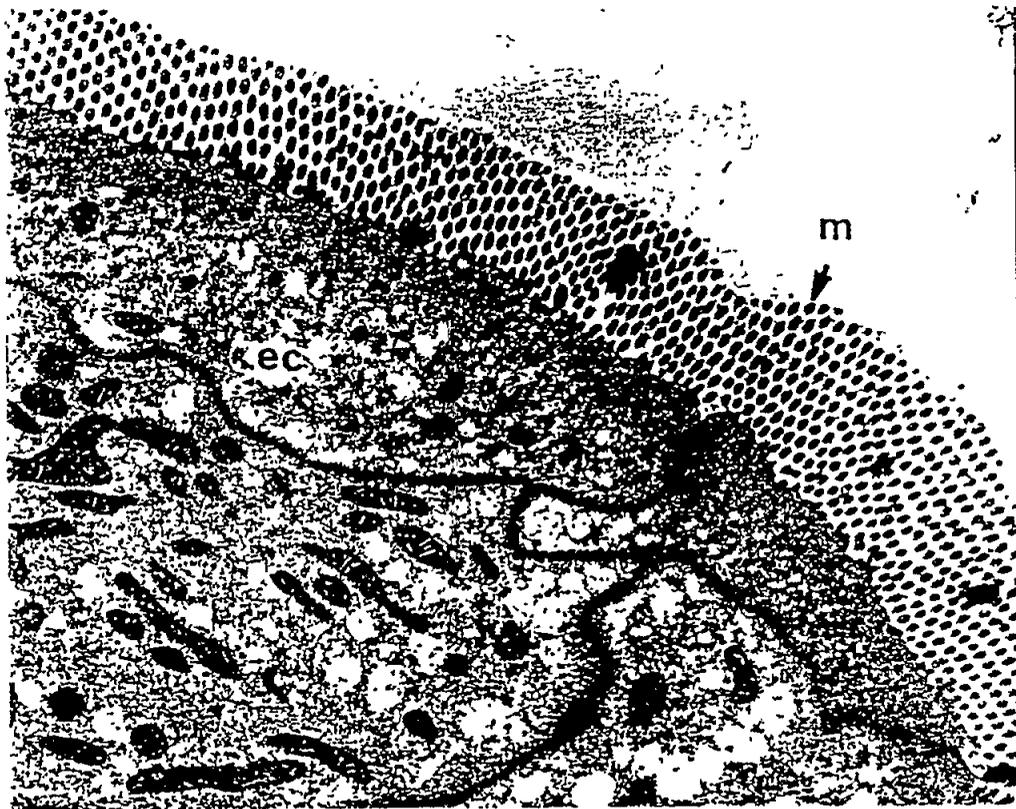


Fig. 24 L. puber. Glande digestive. Micrographie électronique montrant les cellules épithéliales (ec) avec les microvilli (m). x 30000

## 5. REMERCIEMENTS

Le projet a été exécuté dans le cadre du programme MED POL et une contribution du Fonds d'affectation spéciale pour la Méditerranée a été reçue par la FAO. Il était l'objet du contrat FRA/24-G.

Ce travail a été réalisé avec le soutien financier partiel du CNRS et de l'INSERM (SC 27). Nous remercions F. Escaig, P. Boumati et F. Kleinbauer pour leur collaboration scientifique et technique et G. Plessard pour la réalisation des dessins et graphiques.

L'ensemble du travail de microanalyse a été réalisé au Centre de Microanalyse appliquée à la Biologie du CNRS et de l'INSERM à Créteil et la Microscopie Electronique effectuée au Laboratoire de Microscopie Electronique appliquée à la Biologie, de l'Université P. et M. Curie de Paris.

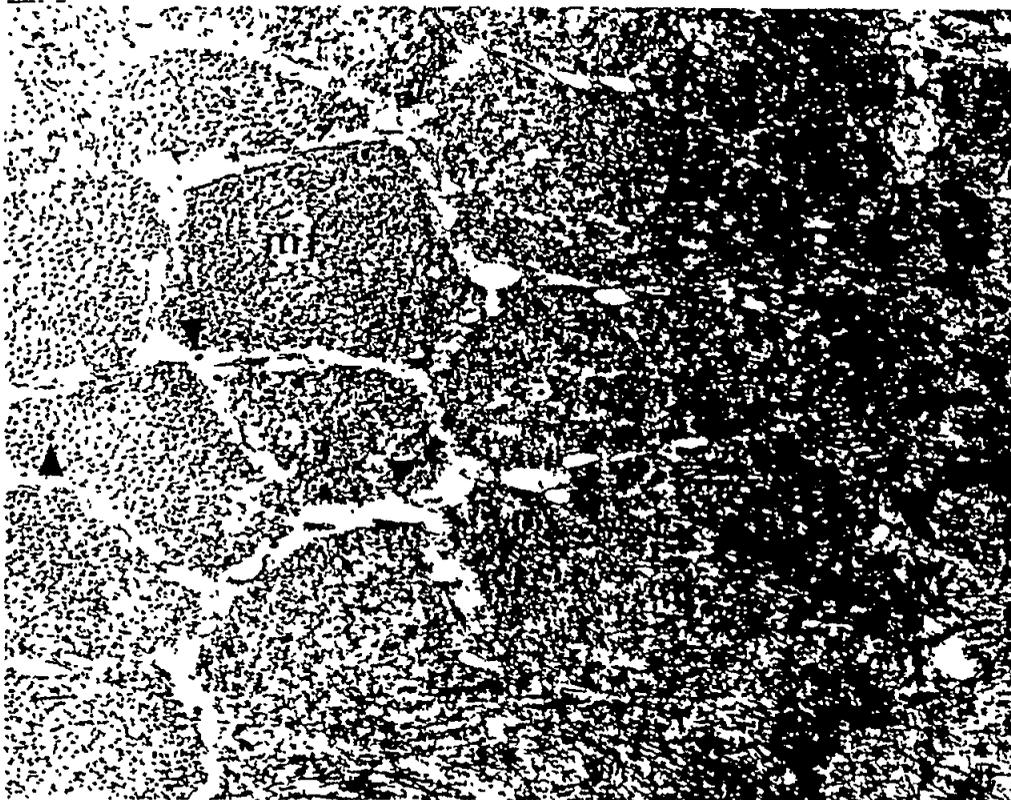


Fig. 25 L. puber. Muscle. Micrographie électronique montrant les myofibrilles (mf) au sein desquelles se trouvent des microgranules de chrome associé à du phosphore (flèches), non limités par une membrane. x 20000

## 6. REFERENCES

- Benedict, C.V. et J.H. Waite (1986), Composition and ultrastructure of the byssus of Mytilus edulis. J.of Morphology, 189:261-270
- Berry, J.P., J. Hourdry, M. Sternberg et P. Galle (1982), Aluminium phosphate visualization of acid phosphatase activity: a biochemical and X-ray microanalysis study. J.Histochem.Cytochem., 30(1):86-90
- Calmet, R., S. Charmasson, J.M. Willemot, M. Verry, C. Chassard-Bouchaud, R.L. Inglebert, M. Outrequin et P. Galle (1987), Suivi des niveaux de plutonium 239-240 dans des moules Mytilus sp. prélevées sur le littoral français (1983-1984): études radiochimiques et microanalytiques. C.R.Acad.Sc.Paris, 304, série III, 9:199-206

- Castaing, R. (1951), Application des sondes électroniques à une méthode d'analyse ponctuelle et cristallographique. Thèse doctorat d'Etat, ONERA ed. Paris, 60 p.
- Castaing, R. et G. Slodzian (1962), Microanalyse par émission ionique secondaire. J.de Microscopie, 1:395-410
- Cavellier, J.F., F. Escaig, P. Boumati, P. Gaume et P. Hallegot (1988), Numerization and digital processing of images in secondary ion microscopy. In: Secondary ion mass spectrometry, SIMS VI, edited by A. Benninghoven, A.M. Huber and H.W. Werner, New York, John Wiley and sons, pp.385-388
- Chassard-Bouchaud, C. et P. Hallegot (1984), Bioaccumulation de lanthane par des moules Mytilus edulis récoltées sur les côtes françaises. Microanalyse par spectrographie des rayons X et par émission ionique secondaire. C.R.Acad.Sc.Paris, 298, série III, 20:567-572
- Chassard-Bouchaud, C., P. Galle, F. Escaig et M. Miyawaki (1984), Bioaccumulation de lithium par les organismes marins des zones côtières européennes, américaines et asiatiques: étude microanalytique par émission ionique secondaire. C.R.Acad.Sc. Paris, 229, série III, 18:719-724
- Chassard-Bouchaud, C., P. Galle et F. Escaig (1985), Mise en évidence d'une contamination par l'argent et le plomb de l'huitre Crassostrea gigas et de la moule Mytilus edulis dans les eaux côtières françaises. Etude microanalytique par émission ionique secondaire. C.R.Acad.Sc.Paris, 300, série III, 1:3-8
- Chassard-Bouchaud, C. et P. Galle (1986), Bioaccumulation d'aluminium par les organismes marins. Mise en évidence par microscopie corpusculaire analytique. C.R.Acad.Sc.Paris, 302, série III, 2:55-61
- Chassard-Bouchaud, C. (1987), Ions microscopes nad microprobes in marine pollution research. Anal.Chim.Acta, 195:307-315
- Chassard-Bouchaud, C. et P. Galle (1988), Sites cellulaires de concentration du chrome chez la moule Mytilus edulis: données préliminaires. C.R.Acad.Sc.Paris, 306, série III: 467-473
- Chassard-Bouchaud, C., J.F. Boutin, P. Hallegot et P. Galle (1989), Chromium uptake, distribution and loss in the mussel Mytilus edulis: a structural, ultrastructural and microanalytical study. Dis.Aquat.Org., 7:117-136
- Chassard-Bouchaud, C. (1991), Microanalytical techniques in toxicological investigations. In: Ecotoxicology and the marine environment, edited by P.D. Abel and V. Axiak, New York, Ellis Horwood, pp.176-200
- Coombs, T.L. et P.J. Keller (1981), Mytilus byssal threads as an environment marker for metals. Aquatic Toxicol., 1:291-300

- Elwood, J.W., J.J. Beauchamp et C.P. Allen (1980), Chromium levels in fish from a lake chronically contaminated with chromates from cooling towers. Int.J.Environmental Studies, 14:289-298
- Fukai, R. et D. Broquet (1965), Distribution of chromium in marine organisms. Bull.Inst.Ocean., 65(1336):3-19
- George, S.G. et B.J.S. Pirie (1980), Metabolism of zinc in the mussel Mytilus edulis (L): a combined ultrastructural and biochemical study. J.Mar.Biol.Ass.UK., 60:575-590
- Hernandez, F., J. Diaz, J. Medina, J. Delramo et A. Pastor (1986), Determination of chromium treated crayfish Procambarus clarkii by electrothermal AAS: study of Cr accumulation in different tissues. Bull.EnvIRON.Contam.Toxicol., 36:851-857
- Johnston, R. (1976), Marine Pollution. Academic Press, 729 p.
- Mertz, W. (1969), Chromium occurrence and function in biological systems. Physiol.Reviews, 49:163-239
- Noël-Lambot, F. (1976), Distribution of cadmium, zinc and copper in the mussel Mytilus edulis. Existence of cadmium-binding proteins similar to metallothioneins. Experientia, 32:324-325
- Nriagu, J.O. et J.M. Pacyna (1988), Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. Nature, 333:134-139
- Peternac, B. et T. Legoviæ (1986), Uptake, distribution and loss of chromium in the crab Xantho hydrophilus. Mar.Biol., 91:467-471
- Riley, J.P. et R. Chester (1971), Introduction to marine chemistry. New York, Academic Press, 402 p.
- Schulz-Baldes, M., E. Rehm et H. Farke (1983), Field experiments on the fate of lead and chromium in an intertidal benthic mesocosm, the Bremerhaven Caisson. Mar.Biol., 75:307-318
- Strik, J.J., H.H. De Longh, J.W. Vanrijn et T.P. Wuite (1975), Sublethal effects of toxic chemicals on aquatic animals. Elsevier, Amsterdam, pp.31-41

L'ICHTYOPLANCTON DES EAUX COTIERES LIBANAISES:  
COMPOSITION ET DISTRIBUTION DES OEUFS ET LARVES DE TELEOSTENS

par

S. LAKKIS et R. ZEIDANE

Centre de Recherches Marines (CNRSL),  
Faculté des Sciences (Univ. Libanaise)  
B.P. 123, Jounieh, Liban

RESUME

La composition des oeufs et larves de poissons collectés à l'aide de filets Bongo de 300 et 500 microns entre 1986 et 1989 dans les eaux côtières libanaises (Bassin Levantin), montre 86 espèces appartenant à 52 familles de Téléostéens. La moyenne annuelle générale de la densité en oeufs était de 140/100 m<sup>3</sup> et en larves 40/100 m<sup>3</sup>. 50% environ des larves capturées étaient de petite taille (4-6 mm), 30 formes larvaires n'ont pu être déterminées. Les trois formes larvaires de Lampacyctus pusillus, L. crocodilus et Centrolophus niger ne sont pas mentionnés en tant qu'adultes dans la région. Parmi les espèces d'origine indo-pacifique et érythréenne rencontrées, nous avons Holocentrus ruber, Selar djeddaba, Siganus sp., Cynoglossus sinusarabici? et Stephanolepis diaspros. Les variations saisonnières, hebdomadaires et journalières ont été observées, ainsi que les migrations nyctémérales. Les périodes de ponte chez les poissons les plus fréquents ont été notées.

1. INTRODUCTION

Si l'ichtyoplancton de la Méditerranée occidentale et de l'Adriatique est assez bien connu, il n'en est pas de même pour ce qui est du Bassin Levantin. Parmi les travaux concernant le Bassin occidental, signalons ceux d'Aboussouan (1964) dans le golfe de Marseille, de Palomera et Rubies (1979) sur les côtes catalanes, Thomopoulos (1954) et Sardou (1970, 1981) à Villefranche-sur-mer. Le détroit siculo-tunisien et les eaux tunisiennes ont été explorés sur ce plan par Ktari-Chacroun (1979). En Adriatique, Regner (1981) a surtout étudié la ponte et la dynamique des populations de sardines et de l'anchois. Tout récemment, Palomera (1990) a étudié la répartition des oeufs et des larves d'anchois sur les côtes catalanes, alors qu'en mer Thyrrénienne, Giovanardi et Romanelli (1990) ont fait quelques observations sur la répartition des larves de téléostéens. Albertelle et al. (1990) ont eux aussi étudié les oeufs et larves de sardines et d'anchois en mer Ligure.

Si la faune ichtyologique de la côte libanaise est relativement connue (Gruvel, 1931; George et al., 1964; Mouneimné, 1977), par contre, l'ichtyoplancton n'a fait l'objet que de rares observations (Lakkis et Zeidane, 1988; 1989). D'autres régions de la Méditerranée orientale ont été aussi peu explorées sur ce plan; les travaux de Demir (1958, 1959, 1968, 1972) sont les premières observations dans les eaux du Bosphore et de la mer Marmara. Plus récemment des recherches sur la composition et le développement des oeufs d'anchois et de sardines dans la baie d'Izmir ont été entrepris (Cihangir, 1990; Mater et al., 1990).

En mer Egée quelques travaux intéressants sont effectués (Papasissi et Lykakis, 1990), notamment le projet de Data Bank pour la détermination automatique des larves en Méditerranée (Papasissi et Froese, 1990). Les eaux égyptiennes n'ont fait l'objet que d'observations fragmentaires sur quelques espèces de poissons (Dowidar et El-Rashidi, 1988; El-Rasidy et Dowidar, 1990).

Etant donnée l'importance sur le plan biologique et économique des larves de poisson au sein du plancton des eaux libanaises (Lakkis, 1971), nous avons trouvé l'intérêt à pousser nos observations sur la composition et la distribution de l'ichtyoplancton de ce secteur du Bassin Levantin. Dans un récent travail, nous avons entamé une étude qui a permis de reconnaître 61 espèces appartenant à 40 familles de téléostens (Lakkis et Zeidane, 1988; 1989).

Dans cet article, nous allons présenter les résultats des pêches mensuelles, hebdomadaires et journalières entreprises en 1988-89, en plus des données déjà obtenues auparavant. La composition ainsi que les distributions spatio-temporelles des oeufs et larves avec une observation particulière pour les périodes de ponte des principales espèces et familles.

## 2. MATERIEL ET METHODES

Des pêches régulières mensuelles ont déjà été effectuées entre 1986 et 1989 à l'aide de deux filets WP2 de 300 et 500 microns, couplés sur un système Bongo de 60 cm de diamètre d'ouverture chacun. Un autre couple de filets de 50 et 200 microns de maille et de 40 cm de diamètre a été utilisé parallèlement au premier pour récolter du micro et du macroplancton. Des prélèvements hebdomadaires et journaliers ont été également entrepris durant les périodes de ponte ou de grande densité de l'ichtyoplancton. Six stations ont été fixées où des traits obliques 10-0 m et 50-0 m ont été effectués ainsi que des pêches de surface. Les mesures hydrologiques (température, salinité, transparence de l'eau) ont été simultanément notées. Les données relatives aux stations et aux pêches sont rapportées à la figure 1 et au tableau 1.

Les pêches hebdomadaires ont été effectuées entre 13 mars et 30 juin, ainsi qu'entre septembre et novembre 1989. Les pêches journalières ont été faites entre 13 janvier et 4 février 1989 à la station J 1 entre 6 h et 3 h du matin. L'ensemble des pêches a fourni 279 échantillons. L'identification des oeufs et des larves a été effectuée en se référant aux principaux travaux dont (D'Ancona et al., 1931-1956; Ehrenbaum, 1905-1909; De Gaetani, 1940; Aboussouan, 1964, 1990; Marinaro, 1971; Russel, 1976; Jones, 1978, Hardy, 1978). La détermination jusqu'à l'espèce (si possible) a été faite pour les oeufs aussi bien que les formes larvaires. Toutefois, étant donné les manques de référence et la petite taille chez la plupart des larves capturées, il était difficile d'effectuer les identifications de tous les spécimens récoltés; en effet au moins une trentaine d'espèces sont restées ainsi indéterminées. Parallèlement aux identifications, les résultats quantitatifs (numération) nous ont permis d'obtenir des données sur les variations spatio-temporelles d'abondance des principales espèces et familles.

### 2.1 Caractéristiques hydrologiques des stations

Les résultats détaillés des données hydrologiques et hydrobiologiques des pêches ont été publiées dans des travaux précédents (Lakkis et Zeidane, 1987; 1989). Les eaux côtières libanaises sont caractérisées par deux phases

Tableau 1

Caractéristiques et données sur les pêches planctoniques effectuées dans les six stations des eaux côtières libanaises entre 1986-1989.

STATIONS	LOCALITE eau	PECHES niveau	PERIODICITE	NOMBRES d'échantillons
P	Port de Jounieh (polluée)	0 m	Mensuelle	69
J 1	Baie de Jounieh (fond sablo-vaseux)	0 m, 50m	Mensuelle Hebdo, journ	74
T	Tabarja (fond rocheux)	0 m, 50m	Mensuelle	45
K	Nahr el Kalb (fleuve)	0 m, 50m	Mensuelle	49
D	Daoura (polluée)	0 m, 10 m	Mensuelle	14
G 2	Baie St Georges (300 m sableux)	0 m, 10, 50m	Mensuelle	28

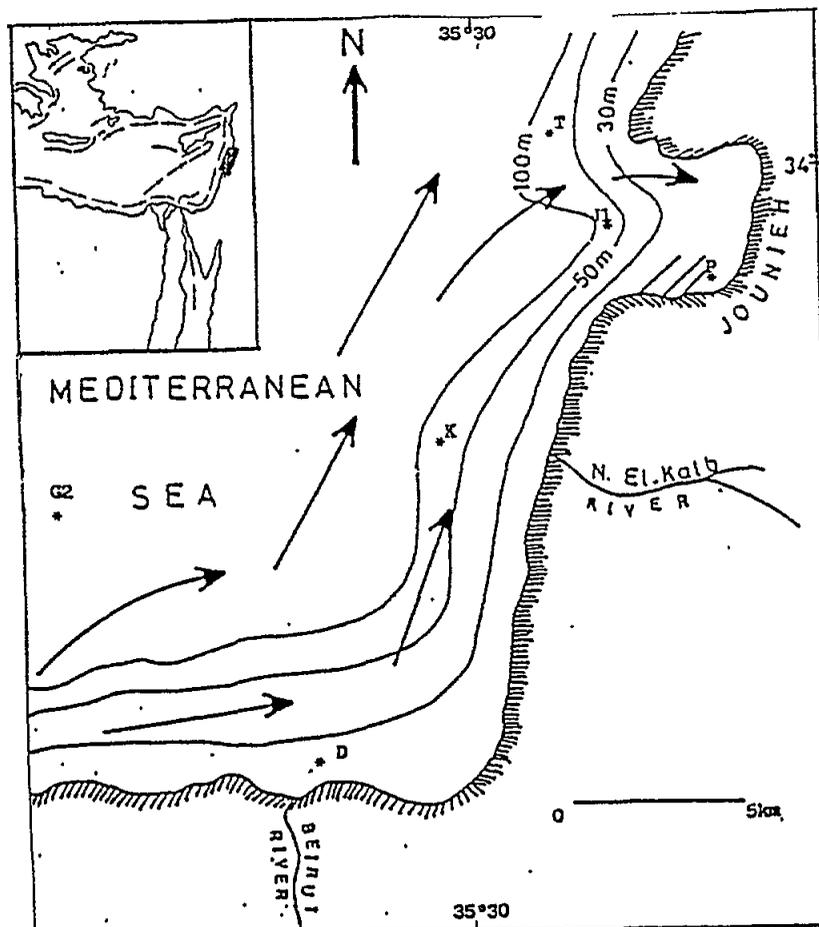


Fig. 1 Emplacement des stations prospectées sur la côte libanaise entre 1986 et 1989 pour l'étude de l'ichtyoplancton. Les flèches indiquent la direction générale des courants de surface. Les stations D (daoura) et P (Port de Jounieh) se trouvent dans des zones polluées (voir texte)

thermiques annuelles: une phase hivernale courte (décembre-mars) marquée par une homothermie verticale et une température variant entre 17EC et 20EC en surface et une salinité modérée moyenne de 38,90%. La phase estivale chaude, plus longue (mai-novembre), est caractérisée par un échauffement intense en surface avec une température maximale de 31EC (en août-septembre), accompagnée d'une stratification des couches d'eau et d'une thermocline accentuée entre 35 et 100 m. La salinité marque 39,50%, une des plus élevées en Méditerranée. Les variations thermiques sont négligeables entre les stations, par contre la salinité dans les stations côtières est légèrement inférieure à celle des stations du large. La salinité à la station K est directement affectée par le débit d'eau douce de la rivière Nahr el Kalb, qui, en hiver affecte aussi des zones situées au nord de l'embouchure aussi loin que les stations J 1 et T.

### 3. RESULTATS

La liste des taxons (tableau 2 annexe) montre la répartition saisonnière en abondance des oeufs et larves de poissons déterminés.

Tableau 2 (Annexe)

Composition et distribution mensuelle de l'abondance des oeufs et larves de poissons des eaux côtières libanaises entre 1986 et 1989. Les chiffres représentent les moyennes mensuelles rapportées en individus/100 m<sup>3</sup> d'eau filtrée.  
O = oeufs; L = larves; + = présent.

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	O	L
1- <u>Sardina pilchardus</u> (Walbaum)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	+	+
2- <u>Sardinella aurita</u> Valenciennes	1	0	1	1	3	1	1	0	3	0	0	0	+	+
3- <u>Engraulis encrasicolus</u> (Linné)	0	0	0	1	28	40	85	62	58	2	1	0	+	+
4- <u>Gonostoma denudatum</u> Rafinesque	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
5- <u>Cyclothone braueri</u> Jesp. et Taan.	0	0	1	5	1	0	0	0	0	0	1	0	-	+
6- <u>C. microdon pygmaea</u> Jesp. et Taan.	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
7- <u>Vinciguerra sp.</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	+	-
8- <u>Stomias boa</u> Risso	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	-	+
9- <u>Stomiidae sp.</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
10- <u>Synodus saurus</u> (Linné)	0	0	0	0	1	8	0	0	1	0	0	0	+	+
11- <u>Diogenichthys sp.</u>	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	-	+
12- <u>Lobianchia</u> (Diaphus) <u>dofleini?</u> (Zygmayer)	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
13- <u>Lampanyctus crocodilus</u> Risso	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
14- <u>L. pusillus</u> Johns	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
15- <u>Ceratoscopelus maderensis</u> Lowe	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	-	+
16- <u>Lestidium pseudosphyraenoides</u> (Ege)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
17- <u>Notolepis rissoi</u> Bonap	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
18- <u>Sudis hyalina</u> Rafinesque	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
19- <u>Lycodontis unicolor</u> (Delaroche)	0	0	0	0	0	0	1	2	3	1	1	0	-	+
20- <u>Ariosoma balearicum</u> (Delaroche)	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	+	+
21- <u>Dalophis imberbis</u> (Delaroche)	0	0	0	0	0	15	1	1	2	1	1	0	+	+

Tableau 2 (Annexe) (Cont.)

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	O	L
22- <u>Caecula caeca</u> (Linné)	0	0	0	0	5	1	1	0	3	1	1	0	+	-
23- <u>Hyporhamphus sp.</u> ?	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
24- <u>Macroramphosus scolopax</u> (Linné)	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	-	+
25- <u>Hippocampus ramulosus</u> Leach	0	0	10	0	1	1	1	0	0	0	0	0	-	+
26-Gadidae	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
27- <u>Merluccius merluccius</u> (Linné)?	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
28- <u>Holocentrus ruber</u> (Forsskal)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	-	+
29- <u>Zeus faber</u> Linné	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	+	-
30- <u>Serranus cabrilla</u> (Linné)	0	0	0	3	1	9	6	1	0	0	0	0	+	+
31- <u>Serranus hepatus</u> (Linné)	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	+	+
32- <u>Serranus scriba</u> (Linné)	0	0	1	1	3	11	5	1	0	0	0	0	+	+
33- <u>Anthias anthias</u> (Linné)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	-	+
34- <u>Dicentrarchus labrax</u> (Linné)?	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
35- <u>Depinephelus sp.</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	-	+
36- <u>Apogon nigripinnis</u> Cuvier	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	-	+
37- <u>Sillago sihama</u> (Forsskal)?	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
38- <u>Pomatomus saltator</u> (Linné)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	-	+
39- <u>Caranx crysox</u> (Mitchill)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
40- <u>Selar djeddaba</u> (Forsskal)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
41- <u>Seriola dumerilii</u> (Risso)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
42- <u>Trachurus mediterraneus</u> (Steindachner)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	-	+
43- <u>Sciaena umbra</u> Linné	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
44- <u>Mullus barbatus</u> Linné	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	+	+
45- <u>Sparus pagrus</u> Linné	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	-	+
46- <u>Boops boops</u> (Linné)	0	1	7	10	1	0	0	0	0	0	0	0	-	+
47- <u>Oblada melanura</u> (Linné)	0	0	0	1	15	1	0	0	0	0	0	0	-	+
48- <u>Pagellus acarne</u> (Risso)	0	0	1	75	1	1	0	0	3	0	0	0	-	+
49- <u>Diplodus sargus</u> (Linné)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	-	+
50- <u>Sparidae spp.</u>	1	3	1	1	1	7	6	5	5	3	0	0	-	+
51- <u>Spicara smaris</u> (Linné)	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
52- <u>Chromis chromis</u> (Linné)	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	-	+
53- <u>Coris julis</u> (Linné)	0	0	0	1	145	48	13	1	0	0	0	0	+	+
54- <u>Thalassoma pavo</u> (Linné)	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	+	+
55- <u>Xyrichtys novacula</u> (Linné)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	+	+
56- <u>Labridae sp.</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-	+
57- <u>Symphodus sp.</u>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
58- <u>Sparisoma cretense</u> (Linné)	0	0	1	1	1	30	9	1	0	0	0	0	+	+
59- <u>Trachinus vipera</u> Cuvier	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
60- <u>Uranoscopus scaber</u> Linné	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	+	-
61- <u>Siganus sp.</u>	0	0	0	0	0	8	1	0	0	0	0	0	-	+
62- <u>Lepidopus caudatus</u> (Euphrasen)	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	+	-
63- <u>Scomber japonicus</u> Houttuyn	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	-	+
64- <u>Euthynnus quadripunctatus</u> (Geoffroy St. Hilaire)	0	0	0	0	1	3	16	2	0	0	0	0	+	+
65- <u>Gobius niger</u> Linné + Gobiidae	5	20	55	87	15	1	10	3	0	3	0	0	-	+
66-Gallionymidae	0	0	0	0	1	1	4	0	6	0	55	3	+	+
67-Blenniidae	1	1	1	4	12	10	0	0	4	0	0	0	-	+
68-Triptyerygiidae?	0	0	8	30	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
69- <u>Ophidium barbatum</u> Linné	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	+	+
70- <u>Parophidion vasali</u> (Risso)	0	0	0	1	1	3	0	1	0	0	2	0	+	+
71- <u>Sphyræan sp.</u>	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	-	+
72- <u>Scorpaena porcus</u> Linné	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
73- <u>Scorpaena scrofa</u> Linné	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
74- <u>Eutrigla gurnardus</u> (Linné)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
75- <u>Trigla lucerna</u> Linné	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	+	-
76- <u>Lepidotrigla cavillone</u> (Lacép.)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
77- <u>Arnoglossus spp.</u>	0	1	0	1	25	15	15	0	4	0	0	0	+	+
78- <u>Solea vulgaris aegyptiaca</u> Chabanaud	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-	+
79- <u>Buglossidium luteum</u> (Risso)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	+	-
80- <u>Microchirus variegatus</u> Donovan	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	+	-
81- <u>Soleidae sp.</u>	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	+	-
82- <u>Symphurus nigrescen</u> Rafinesque	0	1	0	0	119	0	0	0	0	0	0	0	+	+
83- <u>Cynoglossus sp.</u>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+
84- <u>Stephanolepis diaspros</u> Fraser-Brunner	0	0	0	0	0	1	1	1	2	0	6	0	-	+
85- <u>Lepadogaster sp.</u>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	-	+
86- <u>Diplecoaster bimaculata</u> Bonaterre	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	-	+

### 3.1 Importance des différentes familles

Les quatre groupes dont la densité constitue 15 à 50% de l'ensemble de l'ichtyoplancton sont:

- Oeufs à embryon partiel ou non fécondé
- Oeufs et larves d'Engraulis encrasicolus
- Oeufs et larves de Coris julis
- Oeufs et larves de Sparidae

Les taxons contribuant à la richesse larvaire dans une proportion de 10 à 40% sont: les Gobiidae, les Sparidae, les Myctophidae et d'autres larves indéterminées. Les familles dont l'abondance constitue 1 à 3% de l'ensemble de l'ichtyoplancton sont: les Thunnidae, Clupeidae, Apodes, Serranidae, Cynoglossidae et Bothidae. Toutes les autres familles contribuent uniquement 1-3% de l'ensemble du peuplement.

### 3.2 Distributions saisonnières

Sur les six stations prospectées, la moyenne annuelle générale des oeufs était de 320/100 m<sup>3</sup> alors que les larves n'étaient que 26/100 m<sup>3</sup>. La période de ponte est située entre avril et novembre pour la plupart des familles. L'effectif moyen en oeufs en hiver (décembre, janvier, février) chutait à 3 individus/100 m<sup>3</sup>. Par contre, l'abondance larvaire garde un palier tous les mois avec une diminution marquée entre octobre et novembre.

#### a) Hiver (décembre, janvier, février)

Trois pics d'abondance larvaire sont observés durant la série de pêches journalières (fig. 2): un pic le 17 janvier (66 ind./100 m<sup>3</sup>), dû surtout à Lampanyctus pusillus et à Diogenyctys sp. (poissons mesopélagiques). Les deux autres pics sont dûs aux larves de Gobiidae (poissons littoraux). Parmi les formes faiblement représentées en hiver (1-5 ind./100 m<sup>3</sup>), notons les larves de Blenniidae, de Scorpaena ainsi que des oeufs de Trachinus. Parmi les poissons bathypélagiques dont les larves sont assez abondantes en hiver, signalons Gonostoma denudatum. Par ailleurs, des larves isolées de Paralepididae et des oeufs d'Arnoglossus, de Soleidae et de Symphurus nigrescens (poissons du plateau continental), ont été capturés.

#### b) Printemps (mars, avril, mai)

Les pêches hebdomadaires effectuées au cours du printemps 1989 nous ont fourni 18 types d'oeufs et 40 formes larvaires, marquant ainsi une richesse printanière particulière pour la saison, tant du point de vue richesse spécifique que du point de vue abondance. Si la biomasse du zooplancton est plus importante à 3 h du matin qu'à 6 h (fig. 3), ceci est aussi vrai pour l'effectif larvaire (fig. 4). Par contre, la densité des oeufs ne semble pas subir des migrations nyctémérales comme la plupart des zooplanctontes (fig. 5). Faut-il d'ailleurs rappeler que la passivité des oeufs dans la flottaison, contrairement aux larves, fait qu'ils dérivent au gré des courants et restent ainsi confinés en surface. Ainsi deux groupes de densité printanière sont définis:

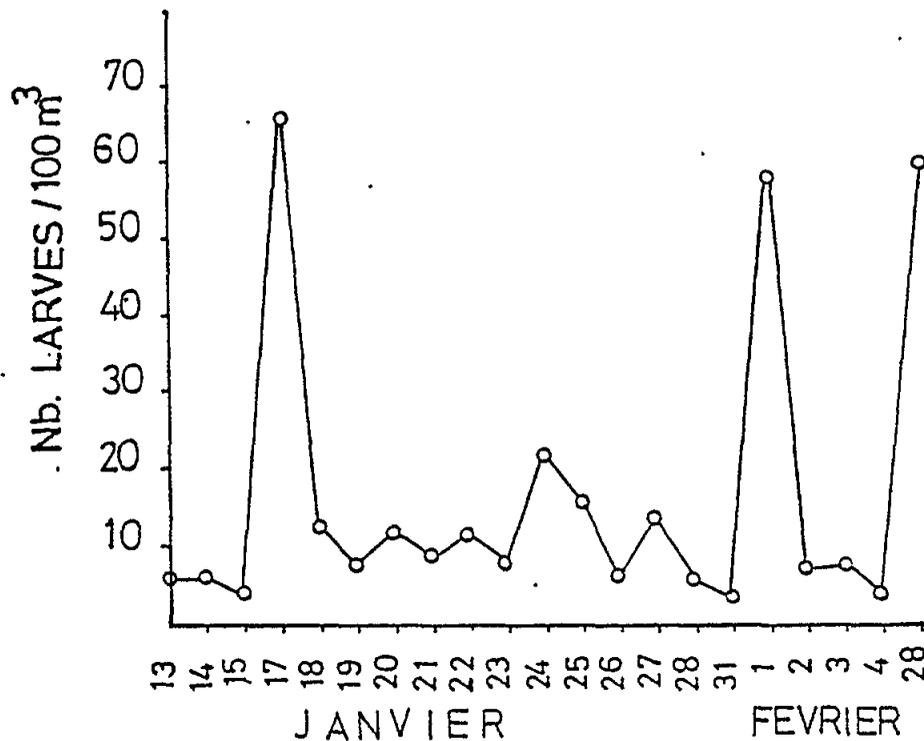


Fig. 2 Variations journalières des larves pendant la série hivernale du 13 janvier au 28 février 1989

-Densité élevée (10-65 ind./100 m<sup>3</sup>)

Ce groupe comprend des oeufs non identifiables ou non fécondés ou des oeufs à embryon partiel, des larves de Gobius niger, de Blenniidae, des oeufs d'Arnoglossus et de Symphurus nigrescens, ainsi que des oeufs de Coris julis, de Scaridae (espèces démersales néritiques).

-Densité faible (1-10 ind./100 m<sup>3</sup>)

Dans ce groupe figurent des oeufs de poissons pélagiques tels que Sardinella aurita, Engraulis encrasicolus, des larves de Sparidae (démersaux néritiques) ainsi que des Soleidae, en plus d'une vingtaine de larves indéterminées.

c) Eté (juin, juillet, août)

Trois groupes de densité ont été définis au cours de cette période:

-Densité élevée (10-70 ind./100 m<sup>3</sup>)

Ce groupe comprend des oeufs d'Engraulis, des oeufs d'Apodes et d'Arnoglossus.

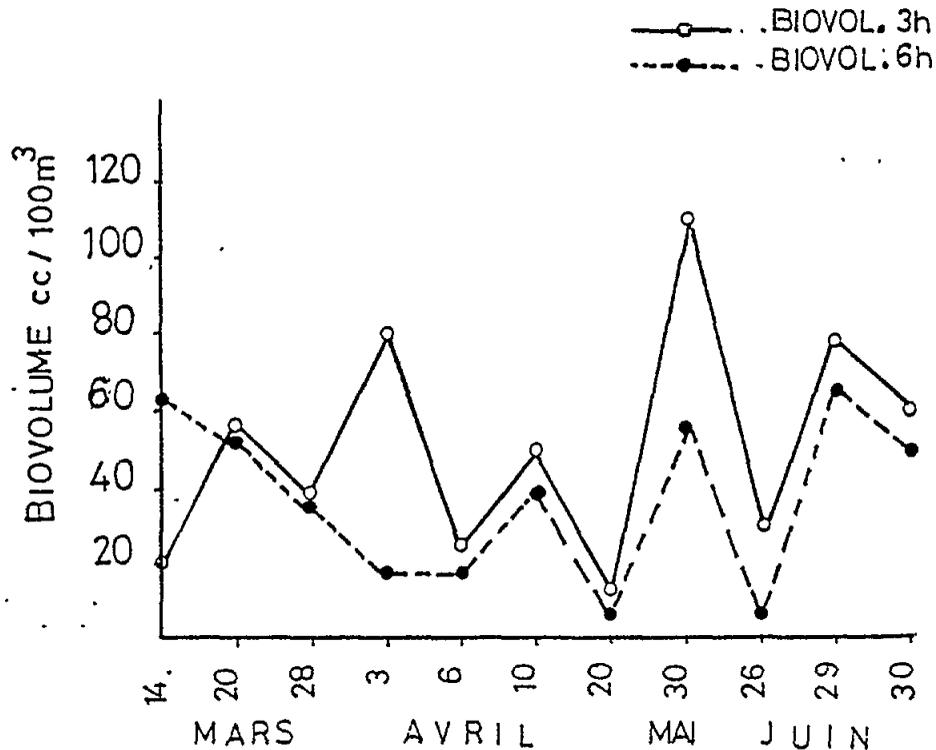


Fig. 3 Variations nycthémerales du biovolume planctonique sédimenté exprimé en cc/100 m<sup>3</sup> au cours des pêches hebdomadaires entre le 14 mars et 30 juin 1989 à la station J 1.

-Densité moyenne (1-10 ind./100 m<sup>3</sup>)

-----  
Signalons dans ce groupe surtout des oeufs de Sardinella aurita, de Synodus saurus, des oeufs de Thunnidae, de Callionymidae, d'Ophiidae et des larves de Siganus (les 3 dernières étant des poissons démersaux néritiques).

-Densité faible (< 1/100 m<sup>3</sup>)

-----  
Dans cette catégorie nous avons noté des oeufs et larves de Sardina pilchardus, des larves de Sparidae et de Stephanolepis diaspros (démersale néritique).

d) Automne (septembre, octobre, novembre)

Trois groupes sont définis suivant la densité:

-Densité élevée (10-80 ind.100 m<sup>3</sup>)

-----  
Les plus nombreux sont les oeufs de Callionymidae ainsi que des oeufs non fécondés ou à embryon partiel, puis des larves de Stephanolepis diaspros.

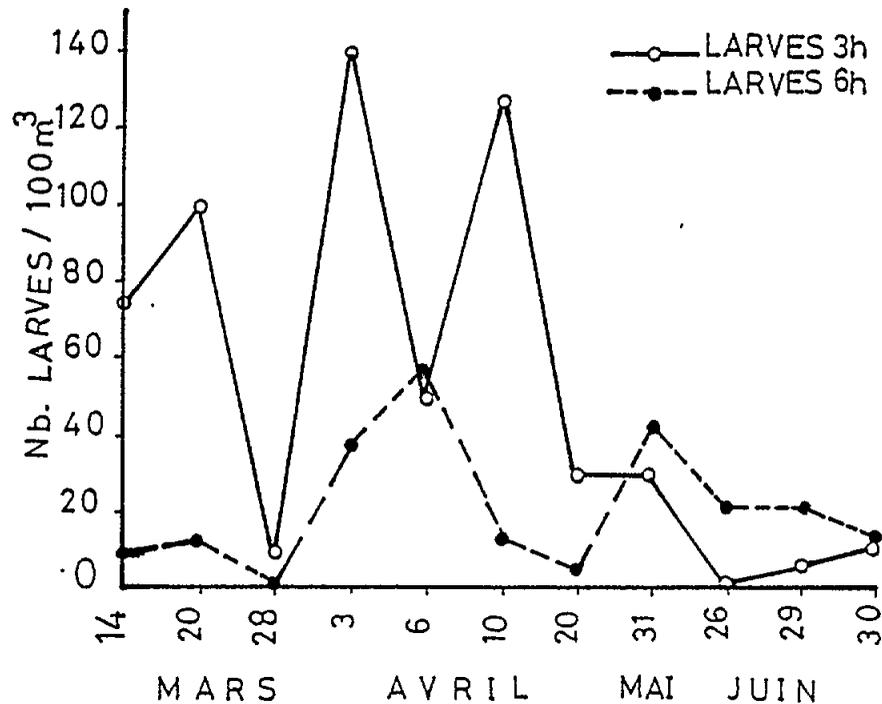


Fig. 4 Variations nycthémérales d'abondance des larves au cours des pêches hebdomadaires effectuées en J 1 entre 14 mars et 30 juin 1989

-Densité moyenne (1-10 ind./100 m<sup>3</sup>)

Nous avons dans ce groupe des oeufs d'Apodes, d'Ophiidae et d'Engraulis; ces oeufs sont probablement des restes des pontes estivales.

-Densité faible (< 1 ind./100 m<sup>3</sup>)

Quelques individus isolés d'espèces mésopélagiques sont capturés, ainsi que des larves d'Epinephelus, de Labridae et de Blenniidae.

### 3.3 Répartition verticale

Le tableau 3 donne les moyennes générales sur les quatre années d'observation aux trois niveaux bathymétriques 0,10-0 m et 50-0 m aussi bien pour les oeufs que pour les larves. Les oeufs essentiellement concentrés en surface (300 individus/100 m<sup>3</sup>) sont presque également répartis aux niveaux inférieurs de 10 et 50 m (60 et 58/100 m<sup>3</sup> respectivement). Par contre, les larves ne semblent pas montrer des différences significatives entre les trois niveaux considérés (fig. 6 et fig. 7).

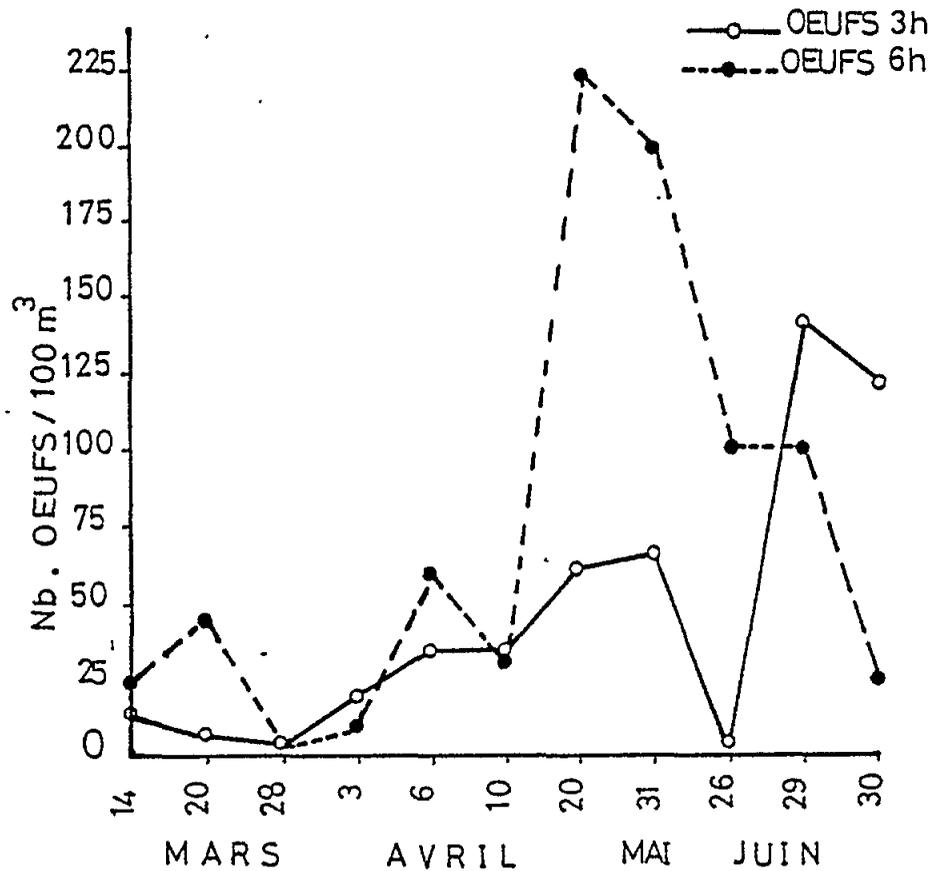


Fig. 5 Variations nycthémerales d'abondance des oeufs au cours des pêches hebdomadaires effectuées entre le 14 mars et le 30 juin de 1989

Tableau 3

Distribution mensuelle des oeufs et des larves aux trois niveaux, 0 m., 10 m. et 50 m. à la station J 1 au cours des années 1986-89 (moyennes combinées). Les nombres sont rapportés en individus/100 m<sup>3</sup>.

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
<b>Oeufs</b>												
0 m.	0	63	80	560	663	737	485	609	196	18	200	0
10 m.	2	16	115	66	158	86	35	8	190	15	17	17
50 m.	1	11	29	91	66	41	141	267	37	4	6	1
<b>Larves</b>												
0 m.	0	18	1	0	26	47	102	168	90	0	1	22
10 m.	11	40	14	20	198	29	54	51	37	7	4	18
50 m.	3	114	11	37	54	24	62	37	10	6	21	11

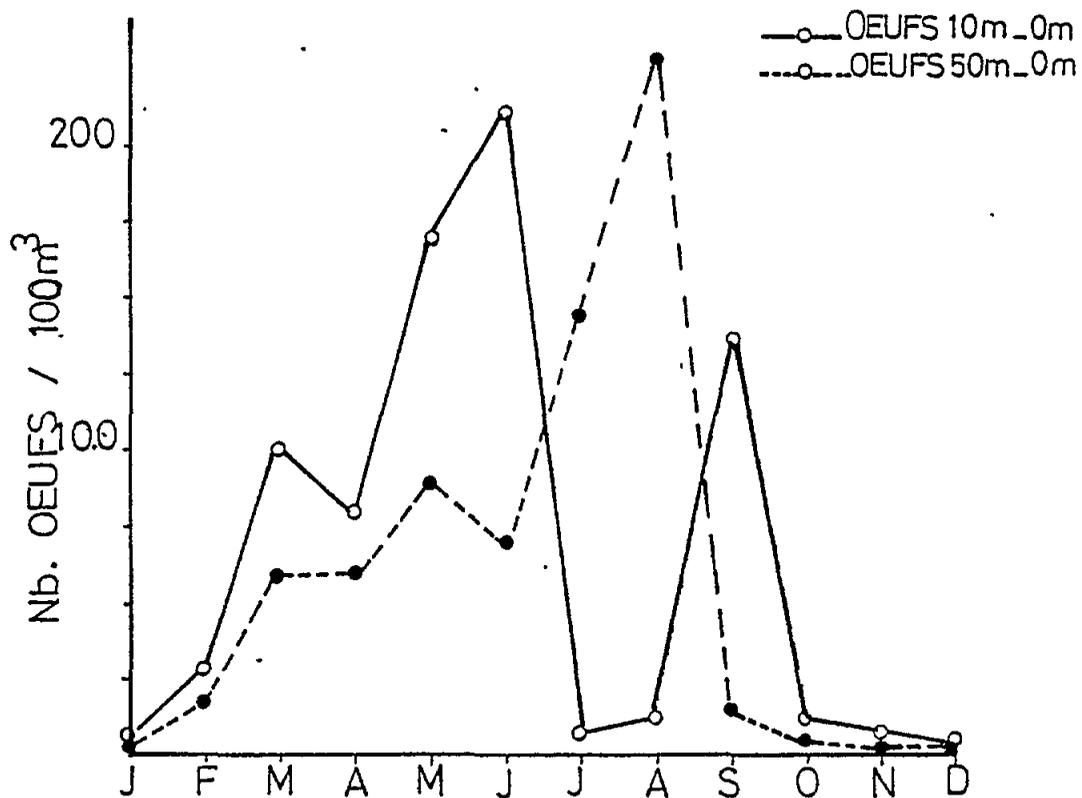


Fig. 6 Variations mensuelles de l'abondance des oeufs aux niveaux 10-0 m et 50-0 m à la station J 1 au cours de 1988-89

Durant l'année 1989, la moyenne générale des effectifs larvaires était légèrement supérieure dans la couche 50-0 m (fig. 7). La répartition verticale des oeufs, par familles, est donnée au tableau 4. Les oeufs des principales familles démersales néritiques (*Sparidae*, *Serranidae*, *Coris julis*) se rencontrent dans la couche 10-0 m., qui est aussi le niveau où la concentration en oeufs est plus forte qu'au niveau 50-0 m. Par contre les oeufs des poissons pélagiques se rencontrent surtout près de la surface, à l'exception toutefois d'*Engraulis* qui elle est plus abondante dans la couche sous-jacente 10-0 m. Ces observations corroborent avec celles de Turki et Ktari-Chacroun (1985) pour les eaux tunisiennes. Les oeufs des poissons démersaux du talus continental, tels que *ArnoGLOSSUS* et les *Apodes*, sont essentiellement abondants dans les couches plus profondes, 50-0 m.

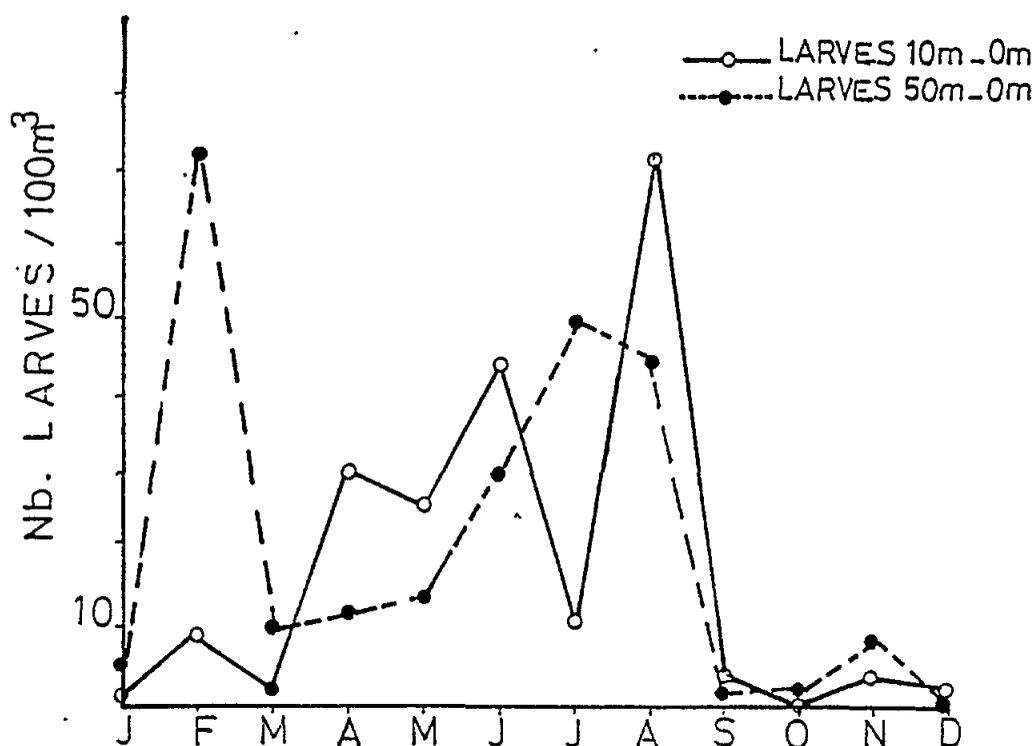


Fig. 7 Variations mensuelles de l'abondance des larves aux niveaux 10-0 m et 50-0 m à la station J 1 au cours de 1988-89

Tableau 4

Répartition verticale des oeufs des principales familles et espèces présentes dans l'ichtyoplancton des eaux libanaises entre 1986-1989. Les chiffres sont rapportés au nombre d'individus/100 m<sup>3</sup> (moyennes générales).

FAMILLES/NIVEAUX	0 m.	10-0 m.	50-0 m.
Oeufs non fécondés ou à embryon partiel, non ident.	89	471	334
<u>Coris julis</u>	85	174	84
<u>Serranidae</u>	10	24	7
<u>Clupeidae</u>	32	18	0
<u>Engraulis encrasicolus</u>	162	327	94
<u>Thunnidae</u>	65	-	-
<u>Arnoglossus</u>	5	-	23
<u>Apodes</u>	-	-	36

### 3.4 Mesure des tailles larvaires (fig. 8)

Sur 1762 specimens de larves mesurés appartenant à 18 familles, quatre groupes de taille ont été répartis.

a) Taille comprise entre 1 et 3 mm.

-----  
Ce groupe constitue 25% de l'ensemble des larves examinées, il s'agit des quatre familles: Engraulidae, Blennidae, Callionymidae et Stephanolepis diaspros. Plusieurs autres larves et prélarves indéterminées font partie de ce groupe.

b) Taille entre 7 et 9 mm.

-----  
Ce groupe comprend 20% des larves mesurées surtout les Paralepididae.

c) Taille entre 16 et 18 mm.

-----  
Ce groupe comprend surtout les larves de Clupeidae.

d) Taille entre 31 et 34 mm.

-----  
Dans ce groupe de grande taille, nous avons recueilli deux specimens de Stephanolepis de 31 mm et un specimen de Stomias boa de 34 mm.

Notons que le grand pourcentage des larves de petite taille (4-6 mm) est dû à l'inefficacité des méthodes de pêche, notamment la vitesse trop faible du bateau et l'absence d'un treuil utile. A cette taille les larves sont difficilement reconnaissables, d'où le grand nombre de larves restées indéterminées dans les prélèvements.

### 3.5 Comparaison entre la station D (zone polluée) et les autres stations

Le plancton dans cette zone fortement polluée (pollution organique et domestique, émissaires urbains, hydrocarbures, chimique et industrielle) est soumis à une perturbation permanente. Dans ce biotope, le plancton est appauvri, notamment le phytoplancton et le microplancton (Lakkis et Zeidane, 1987). Cette station rappelle aussi celle du petit port de Jounieh (P), où les chaînes de Chaetoros ainsi que plusieurs formes de tintinnides (Codonellopsis morchella), pourtant dominantes au large, y sont quasi absentes. Par contre, le zooplancton montre parfois une abondance plus élevée que dans les autres stations côtières; mais la plupart des espèces, pour éviter la couche superficielle très polluée, s'accumulent dans les couches sous-jacentes, comme l'indiquent les résultats du tableau 5.

Pour ce qui est de l'ichtyoplancton à la station D, la moyenne annuelle élevée d'oeufs collectés (403 ind./100 m<sup>3</sup>) et celle de la station P (471/100 m<sup>3</sup>), sont semblables; cette forte densité est due surtout à l'accumulation d'oeufs non fécondés ou embryon partiel dans ces deux zones perturbées. A la station J 1, située à l'entrée de la baie de Jounieh, la densité en oeufs y étaient la plus élevée de toutes (614/100 m<sup>3</sup>); cela indique que cette zone serait une aire de ponte favorable pour plusieurs espèces. Si la moyenne annuelle en oeufs est normale à la station D, par contre la diversité spécifique y est plus faible. Au tableau 6, nous rapportons les distributions par station des oeufs et des larves.

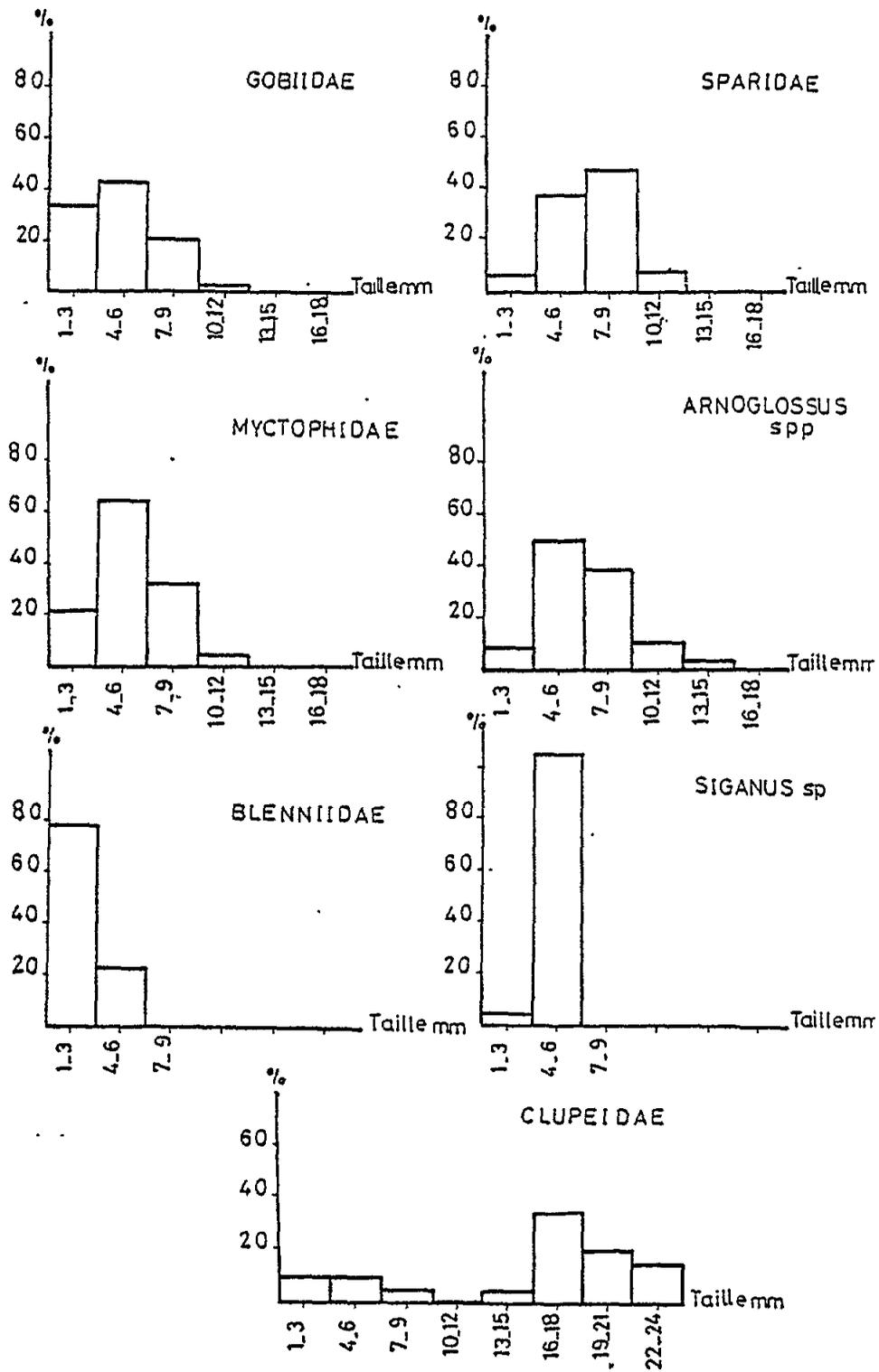


Fig. 8 Histogrammes de fréquence de la taille des larves des principales familles des poissons libanais au cours de 1988-89

Tableau 5

Répartition du zooplancton à la station D au cours de 1989.  
Moyennes d'abondance, rapportées en individus/m<sup>3</sup>.

MOIS/NIVEAUX	0 m.	10-5 m.
Janvier	502	1806
Mars	38	2373
Avril	59	619
Novembre	997	12051

Tableau 6

Répartition spatiale (par station) et diversité spécifique aux six stations étudiées entre 1986 et 1989 (moyennes combinées).

STATIONS	P	J 1	T	K	D	G 2
Oeufs	471	614	110	64	403	52
Larves	29	13	25	23	28	15
N.Espèces	4	11	8	9	5	6
Diversité	1,48	3,94	3,75	4,64	1,90	3,33

Une étude comparative au niveau des taxons nous permet de noter les remarques suivantes:

- Une grande diversité en oeufs au mois d'avril en D, ce qui confirme que cette station est ouverte aux eaux du large; et malgré la perturbation écologique que subit l'écosystème dans cette zone polluée, plusieurs espèces mésopélagiques arrivent dans cette zone au gré de l'ingression hivernale des eaux du large vers les eaux côtières.
- La diversité spécifique à la station D, en surface, est inférieure à toutes les autres au même niveau (tableau 7); cela explique peut-être l'impact de la pollution sur la structure du peuplement planctonique.
- Si les oeufs d'Engraulis évitent les oeufs pollués en D, par contre les oeufs de Sparidae et de Serranidae sont également répartis entre zones polluées et zones non polluées.
- Des oeufs du talus continental (Cllionymidae, Apodes) font complètement défaut dans les eaux en D alors qu'ils sont capturés, même en petit nombre, dans les autres stations.
- Du point de vue larvaire, les Gobiidae et les Blenniidae (poissons littoraux) sont assez bien représentés à la station D.

Tableau 7

Période de ponte chez les principales espèces et familles de poissons des eaux côtières du Liban durant les années 1986 et 1989.

0 = période de ponte.

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
<u>Sardina pilchardus</u>							0	0	0	0		
<u>Sardinella aurita</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Engraulis encrasicolus</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Vinciguerra sp.</u>										0	0	0
<u>Synodus saurus</u>				0	0	0	0	0				
<u>Lycodontis unicolor</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Ariosoma balearicum</u>							0	0	0	0		
<u>Dalophis imberbis</u>							0	0	0	0		
<u>Caecula caeca</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Zeus faber</u>				0	0	0	0					
<u>Serranus cabrilla</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Serranus hepatus</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Pomatomus saltator</u>				0	0	0	0					
<u>Mullus barbatus</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Sparidae</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Coris julis</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Sparisoma cretense</u>				0	0	0	0	0				
<u>Trachinus vipera</u>	0	0	0	0	0	0						
<u>Lepidopus caudatus</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Euthynnus quadripunctatus</u>				0	0	0	0					
<u>Callionymidae</u>										0	0	0
<u>Ophiodium barbatum</u>				0	0	0	0	0	0			
<u>Parophidion vassali</u>				0	0	0	0	0	0			
<u>Triglidae</u>				0	0	0	0					
<u>Arnoglossus</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Soleidae</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Buglossidium luteum</u>				0	0	0	0					
<u>Symphurus nigrescens</u>				0	0	0	0	0	0	0	0	0

### 3.6 Période de ponte

La richesse en oeufs commence en avril et continue jusqu'en novembre lorsque la température varie entre 22E et 30EC. Deux pics d'abondance marquent cette période de ponte, un en mai et l'autre en novembre. Une pauvreté très nette est signalée en hiver, lorsque la température de l'eau est inférieure à 22EC. Si en baie d'Alger, deux renouvellements qualitatifs de ponte sont notés (Marinaro, 1971), correspondant à deux périodes thermiques séparées par une température de 17EC, par contre quatre renouvellements qualitatifs de ponte sont observés dans les eaux libanaises, confirmant la séparation entre les quatre saisons dans cette région.

Un renouvellement a lieu en hiver (janvier, TE=17E), un autre au début du printemps (mars, TE=19EC), un troisième a lieu au milieu du printemps (mai, TE=24EC) et le quatrième renouvellement en novembre (TE=24EC).

Comme espèces eurythermes, citons Arnoglossus, les Soleidae et les Sparidae qui sont présents toute l'année, sauf entre octobre et décembre. Les Sparidae montrent un pic d'abondance en février et un autre plus important en juin (tableau 7). Les espèces qui contribuent le plus à la richesse en oeufs commencent par émettre lorsque la température atteint 24EC (c'est la moyenne annuelle de la température pour la région). Parmi celles-ci signalons Sardinella aurita, Engraulis encrasicolus, Serranus cabrilla, Coris julis, Sparisoma cretense, Parophidion vassali et les Callionymidae. Certaines espèces sont catégoriquement liées à des eaux chaudes (26-32EC) pour leur période de ponte; parmi elles, nous avons les Apodes, Lepidopus caudatus, les Thunnidae, Sardina pilchardus et Ophidium barbatum. Par contre d'autres espèces sont étroitement liées à des eaux froides pour leur ponte, telles que les Trachinidae, certains Sparidae et Soleidae. Notons qu'Engraulis qui pond dans la baie d'Alger entre avril et octobre, lorsque la température y est entre 17 et 25EC, pond aussi à la même période dans nos eaux levantines, mais avec une température supérieure (TE=24-32EC). Il en est de même pour les Apodes (Marinero, 1971). Le maximum de température (TE=32EC en surface en août-septembre), correspond à l'arrêt de ponte de la plupart des espèces printanières.

#### 4. DISCUSSION ET CONCLUSION

La richesse larvaire hivernale des eaux libanaises est due essentiellement aux Myctophidae, Diogenictys sp., Lampanyctus pusillus et Lobianchia dofleini? Ceci ne semble pas corroborer avec les observations de Maso et Palomera (1984) dans les eaux catalanes où la richesse en espèces mésopélagiques et bathypélagiques (5% des récoltes) est due surtout à Cyclotone braueri (Gonostomidae), occasionnellement rencontrée dans nos eaux. Par contre, les Paralepididae ont une densité semblable dans les deux secteurs antipodes de la Méditerranée.

Une certaine relation entre la richesse planctonique et la densité en oeufs larves est évidente (Palomera et Rubies, 1982). Nous avons aussi observé que la densité du zooplancton, qui est plus grande à 3 h du matin qu'à 6 h, coïncide avec celle de l'abondance des larves. La diversité spécifique de l'ichtyoplancton, contrairement à celle du zooplancton, diminue de la côte vers le large; ceci a été aussi observé dans les eaux de Barcelone (Palomera et Rubies, 1982). La diversité la plus faible est notée dans les stations polluées (P, D), pourtant côtières, alors que la diversité la plus élevée est observée à la station K et non pas en G 2 qui est la station la plus au large (tableau 7), Lakkis et Zeidane (1989).

Durant les quatre années d'observation continue, on peut affirmer que la baie de Jounieh (station J 1) serait une zone de prédilection de ponte pour la majorité des espèces locales, la plupart des oeufs y étant rencontrés. Une étude comparative au niveau larvaire entre les différentes régions méditerranéennes et le secteur libanais du Bassin Levantin nous permet de relever les remarques suivantes:

- a) La rareté des larves Apodes dans le bassin occidental par rapport à la Méditerranée orientale, notamment le Bassin Levantin.
- b) La majorité des poissons néritiques (Labridae, Scaridae, Sparidae, Serranidae) et ceux du talus continental (Bothidae, Soleidae) ont presque la même abondance dans les deux bassins méditerranéens.

- c) La rareté des Gadidae dans le secteur libanais est frappante, alors que cette famille est bien représentée en Méditerranée occidentale.
- d) La période de ponte dans le secteur oriental s'étend d'avril jusqu'en novembre ce qui explique le caractère tempéré chaud des espèces de la région.

Ces observations sur la composition et la distribution spatio-temporelle de l'ichtyoplancton du secteur libanais, loin d'être complètes, contribuent à la connaissance de l'écosystème planctonique du Bassin Levantin. Les améliorations dans les méthodes de pêches et dans la détermination des larves vont nous permettre dans un avenir proche de poursuivre nos recherches dans ce domaine, surtout que l'information sur la biologie de l'ichtyoplancton aide énormément à améliorer les connaissances sur la biologie des pêches et partant sur le rendement en matière de poissons, encore très faible pour la région.

## 5. REMERCIEMENTS

Ce travail a été, en partie, subventionné par l'UNEP/FAO, dans le cadre du Programme MED POL PHASE II. Nous remercions Mr. A. Aboussouan pour l'intérêt qu'il a montré pour ce travail et pour avoir voulu examiner et déterminer plusieurs formes larvaires, ainsi que d'avoir aimablement accepté de revoir et de donner ses critiques sur le manuscrit.

## 6. REFERENCES

- Aboussouan, A. (1964), Contribution à l'étude des oeufs et larves pélagiques des poissons téléostens dans le Golfe de Marseille. Rec.Trav.Stn.Mar. Endoume. Bull., 32:87-171
- Aboussouan, A. (1990), Guide pour l'Identification des Larves de Poissons de la mer Méditerranée. Comm.Int.Explor.Mer.Médit., 59 p.
- Albertelle, G., N. Della Croce et T. Zunni Sertorio (1990), Anchovy and Sardine eggs and larvae on the continental shelf of the Ligurian sea (1985-1989). Rapp.P-V.Réun.CIESM, 32(1):302
- Cihangir, B. (1990), The development rates of european pilchard (Sardina pilchardus Walb. 1972) eggs. Rapp.Comm.Int.Mer.Médit., 32(1):305
- D'Ancona, F. , L. Sanzo, A. Sparta, F. Bertolini, S. Ranzi, G. Montelenti, M. Vialli, E. Padoa, et E. Tortonese (1931-1956), Uova, larve e stade giovanile di Teleostei. Fauna e Flora Golfo Napoli. 38. Monografia, 1064 p.
- De Gaetani, D. (1940), Uova, sviluppo embriionale e stadi post embrionali negli Sparidae, 3. Pagellus acarne. Comitato Thalassiogr.Italiano. Mem. CCXX.
- Demir, N. (1958), Marmara Derin Deniz Balıklarının Yumurta ve lavalari hakkında : I. Hidro Biologi mecmuasi. Seri A, CILT IV, SAYI 3-4

- Demir, N. (1959), Note on the variations of the eggs of anchovy (*E. encrasicolus* Cuv.) from Black, Marmara, Aegean and Mediterranean seas. Publ. of Hydrobiol. Res. Inst., Faculty of Sciences, Univ. of Istanbul, 4(4):180-187
- Demir, N. (1968), The pelagic eggs and larvae of Teleostan fishes in Turkish waters. I. Clupeidae. *Hidro Biologi mecmuasi*, Ser. B, XXXIV, 1-2
- Demir, N. (1972), The abundance and distribution of the eggs and larvae of some Teleost fishes off Plymouth in 1969 and 1970. II. The post larvae of *Callionymus*. *J.Mar.Biol.Assoc.U.K.*, 52:997-1010
- Dowidar, N.M. et H.H. El-Rashidy (1988), Ichthyoplankton of the Egyptian Mediterranean waters, II. Distribution and occurrence of *Pomatomus saltator* larvae. *Rapp.P-V.Réun.CIESM*, 31(2)
- Ehrenbaum, E. (1905-1909), Eier und Larven von Fischen. Nordisches Plankton, 1, 413 p., 148 Figs
- El-Rashidy, H.H. et N.M. Dowidar (1990), Ichthyoplankton of the Egyptian Mediterranean waters. III. Distribution and occurrence of *Sphyræna* larvae. *Rapp.P-V.Réun.CIESM*, 32(1):304
- George, C.J., V.A. Athanassiou et I. Boulos (1964), The fishes of the coastal waters of Lebanon. *Misc.Pap.Nat.Sci. AUB*, 4:1-27
- Giovanardi, O. et M. Romanelli (1990), Preliminary observations on the seasonal presence of Teleostean larvae in the Tyrrhenian sea. *Rapp.P-V.Réun.CIESM*, 32(1):303
- Gruvel, A. (1931), Les Etats de Syrie. Richesses marines et fluviatiles. Exploitation actuelle et avenir. *Bibl.Faune Colon.Franc. Paris*, 453 p.
- Hardy, J.D. Jr. (1978), Development of fishes of the Mid-Atlantic Bight: An Atlas of egg, larval and juvenile stages, Vol. III. *Biol.Serv.Prog. Fish and Wildlife Service, U.S. Dept. of Interior*
- Jones, P.W. (1978), Development of fishes of the Mid-Atlantic Bight: An Atlas of egg, larval and juvenile stages, Vol. I. *Biol.Serv.Prog. Fish and Wildlife Service, U.S. Dept. of Interior*
- Ktari-Chacroun, F. (1979), Distribution des aires de ponte de l'anchois le long des côtes tunisiennes et des canaux Tuniso-Sarde et Siculo-Tunisiens. *Rapp.P-V.Réun.CIESM*, 25-26(10):189-190
- Lakkis, S. (1971), Contribution à l'étude du zooplancton des eaux côtières libanaises. *Mar.Biol.*, 11(2):138-148
- Lakkis, S. et R. Zeidane (1987), Modifications de l'écosystème planctonique par la pollution des eaux côtières libanaises. *FAO Fish.Rep.352. (Suppl.)*, 123-159
- Lakkis, S. et R. Zeidane (1988), L'ichtyoplancton des eaux côtières libanaises: oeufs et larves de Téléostéens. *Rapp.P-V.Réun.CIESM*, 31(2):320

- Lakkis, S. et R. Zeidane (1989), L'ichtyoplancton des eaux côtières libanaises: structure et différenciation écologique. Lebanese Sci.Bull., 5(2):17-42
- Marinaro, J.Y. (1971), Contribution à l'étude des oeufs et larves pélagiques de poissons méditerranéens. V. oeufs pélagiques de la baie d'Alger. Pelagos III, 1, 1-118, Pls. I-xxvii
- Maso, M. et I. Palomera (1984), Distribucion vertical de fases larvarias de peces meso y batipelagicos del Mediterraneo occidental. Inv.Pesp., 48(3):455-468
- Mater, S., O. Ucal et M. Kaya (1990), Investigation on the abundance and distribution of pelagic eggs and larvae of Teleost fishes from Izmir Bay. Rapp.P-V.Réun.CIESM, 32(1):303
- Mouneimne, N. (1977), Liste des poissons de la côte du Liban (Méditerranée Orientale), Cybiurn 3è série (6):105-110
- Palomera, I. (1990), Early life history of anchovy in Catalan coast (NW Mediterranean) Rapp.P-V.Réun.CIESM, 32(1):306
- Palomera, I. et P. Rubies (1979), Icthyoplancton de la mer catalane. Larves de poissons récoltés sur 2 stations fixées devant Barcelone au cours d'un cycle annuel 1975-76. Rapp.P-V.Réun.CIESM, 25-26, 10
- Papasissi, C. et J. Lykakis (1990), Composition of fish larvae from the Gulf of Kisamos (Crete, Greece) in the period of May and July 1989. Rapp.P-V.Réun.CIESM, 32(1):304
- Papasissi, C. et R. Froese (1990), Modern Relational Databases for the identification of fish larvae of the mediterranean sea. Rapp.P-V.Réun.CIESM, 32(1):307
- Regner, S. (1981), Larval stages of the deep sea fishes in the channel area of the Central Adriatic. Biljeske. Notes, 41:1-7
- Russel, F.S. (1976), The eggs and planktonic stages of British marine fishes. Academic Press, London, 524 p.
- Sardou, J. (1970), Période de ponte de quelques Téléostéens dans le région de Villefranche-sur Mer. Journées d'Etude Plancton., pp.141-145
- Sardou, J. (1981), Evolution du plancton dans la baie de Villefranche-sur-Mer à la fin du printemps (mai et juin 1971). Vie et Milieu, 31(1):35-40
- Thomopoulos, A. (1954), Sur quelques oeufs planctoniques de Téléostéens de la baie de Villefranche. Bull.Inst.Oceanogr., 1043:1-15
- Turki, S. et F. Ktari-Chacroun (1985), Icthyoplancton du Golfe de Tunis, Bull.Inst.Natn.Scient.Tech.Oceanogr.Pêches Salambo, 12:5-24

CARACTERISTIQUES HYDROLOGIQUES, STRUCTURES PHYTOPLANCTONIQUES  
ET SUCCESSIONS ÉCOLOGIQUES DANS LA ZONE INFRALITTORALE  
DE LA REGION EST DE LA BAIE D'ALGER

par

F.L. SAMSON-KECHACHA

Institut des Sciences de la Nature  
Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène  
B.P. 39 El-Alia, Alger, Algérie

## 1. INTRODUCTION

En Algérie, des phénomènes d'eaux colorées ou fortement turbides ont été signalés à maintes reprises par les pêcheurs, la protection civile ou la Marine Nationale. L'agent responsable n'a pas toujours été identifié. Les efflorescences les plus spectaculaires ont été le fait de dinoflagellés du genre Noctiluca.

Par ailleurs, l'aquaculture étant quasi inexistante et la consommation de mollusques n'étant pas une grande tradition en Algérie, il n'y a jamais eu, à notre connaissance, d'étude épidémiologique qui mettrait en relation les floraisons de phytoplancton toxique et des intoxications de type diarrhéique.

La région Est de la baie d'Alger entre l'embouchure de l'oued El Hamiz et le Cap Matifou est une zone fortement influencée par les apports de l'oued et aussi par les effluents domestiques provenant de la région d'Alger Plage, Bordj El Bahri, Tamentefoust, région qui subit une forte urbanisation et une densification accélérée de l'habitat.

La dynamique marine en baie d'Alger est caractérisée par l'absence de courants de marée, par des houles de faible amplitude et par une circulation générale anticyclonique. Toutefois, des houles de forte amplitude, de survenue assez rare, peuvent agir dans le domaine littoral et infralittoral. Le banc de Matifou, du fait de sa position, est fortement soumis à l'attaque des houles d'hiver. Par contre, à l'intérieur de la baie, le secteur Tamentefoust-Bordj El Kiffan se place à l'abri du Cap et se trouve donc peu affecté par ces houles (Maouche, 1987). Afin de connaître l'effet des apports extérieurs dans la région, sur l'échelon primaire de l'écosystème, nous avons entrepris une estimation de la qualité du milieu en utilisant une double approche: l'une quantitative, en termes de biomasse, qui apprécie les variations quantitatives du phytoplancton, c'est-à-dire la chlorophylle-a et le carbone organique, la seconde, en termes de composition spécifique, mettant en évidence les variations qualitatives du phytoplancton appréciées grâce aux déterminations cellulaires.

## 2. SITES DE PRELEVEMENT ET METHODES D'ETUDE

Les sites de prélèvement sont situés dans la zone infralittorale (fig. 1). Ils ont été choisis en fonction des populations naturelles qu'ils abritent.

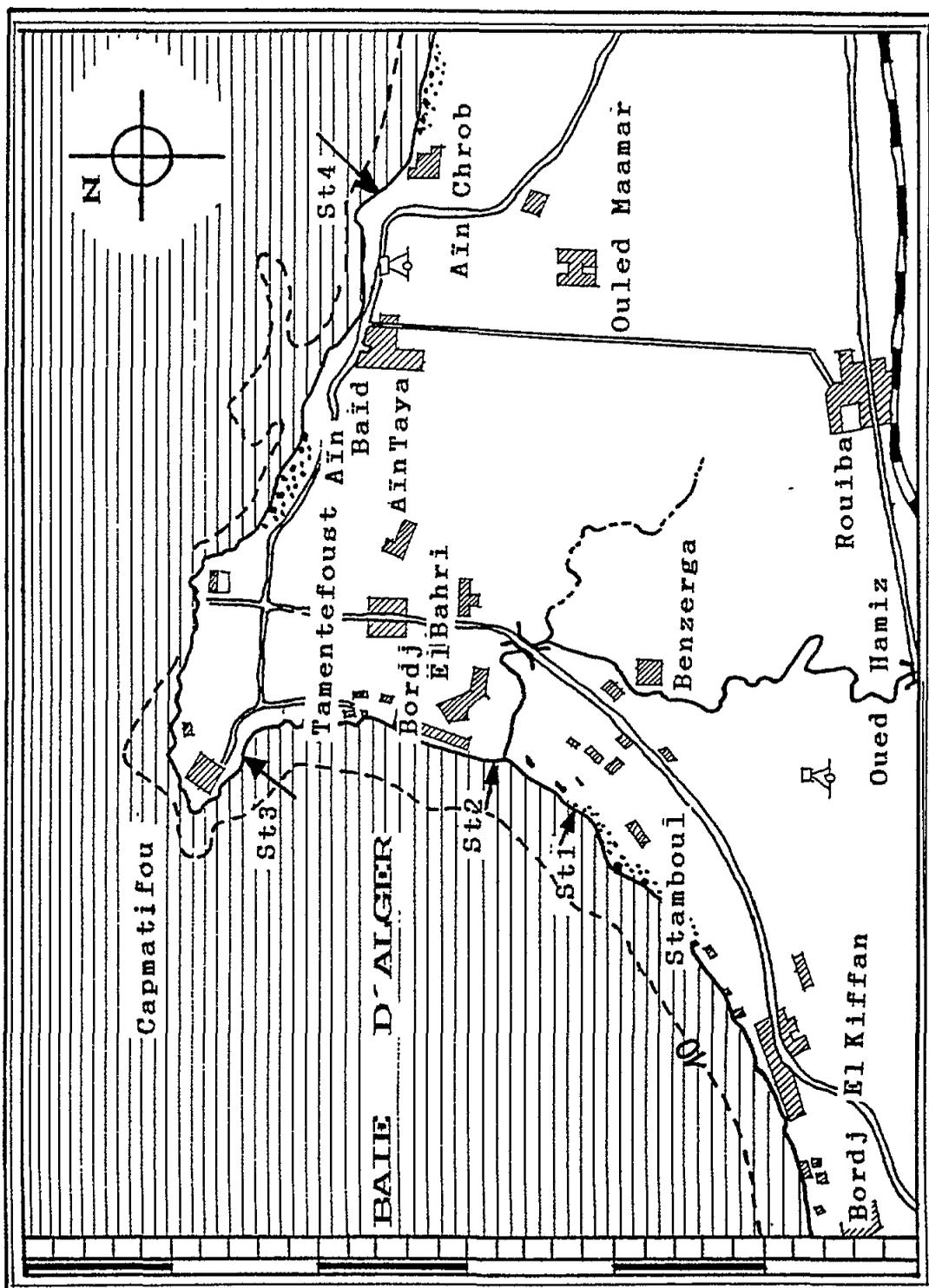


Fig. 1 Localisation des stations de prélèvement

La station 1 est un faciès à Donax trunculus. La station 2 abrite une population de Ruditapes decussatus. Le site 3 est connu pour ses populations de Venus gallina. Enfin la station 4, en dehors de la baie, est un biotope rocheux avec une forte densité de Paracentrotus lividus. Les quatre lieux qui ont fait l'objet de ce travail se distinguent également par leur position vis-à-vis du Cap et leur ouverture sur le large, par la proximité des sources d'apports et donc par la teneur en matières nutritives minérales ou organiques.

Des prélèvements d'eau ont été réalisés une fois par mois, à la bouteille Niskin, aux stations 3 et 4 entre juin 1987 et juin 1988 et aux stations 1, 2 et 3, deux fois par mois, d'avril à juin 1989.

Sur les échantillons prélevés étaient mesurés: la température, la salinité, l'oxygène dissous, les sels nutritifs, les pigments chlorophylliens, le carbone organique particulaire. Les méthodes de mesure utilisées sont celles décrites par Aminot et Chaussepied (1983). Les observations et numérations de cellules phytoplanctoniques sont faites sur des échantillons fixés au lugol et, par la méthode de sédimentation d'UterMöhl (1958).

### 3. RESULTATS

Sur les tableaux 1 et 2 sont regroupés les résultats de mesure des paramètres physico-chimiques.

#### 3.1 Température

La température, la salinité et l'oxygène (fig. 2) sont sous la dépendance de facteurs hydrologiques et météorologiques. L'évolution comparée de ces trois paramètres sur un cycle d'une année permet de distinguer deux semestres:

- Un semestre estival de mai à octobre avec des températures supérieures à 20°C atteignant 28°C en été, des salinités de 36‰ ou plus et une oxygénation souvent déficiente.
- Un semestre hivernal de novembre à avril, avec des dessalures liées aux précipitations et aux crues des oueds, des températures inférieures à 20°C et une teneur en oxygène proche de la saturation.

Ce schéma semestriel du fonctionnement de l'écosystème a été signalé à maintes reprises pour la région (Taleb et Lalami, 1970; Samson-Kechacha, 1981; Aid et al., 1981).

#### 3.2 Teneurs en sels nutritifs

Les teneurs en sels nutritifs sont soumises à de très grandes variations (tableaux 1 et 2); les valeurs les plus élevées pour l'azote ammoniacal, le phosphore et le silicium sont relevées au moment des crues de l'oued El Hamiz. Des valeurs tout à fait exceptionnelles de N-NH<sub>4</sub>, P-PO<sub>4</sub> et

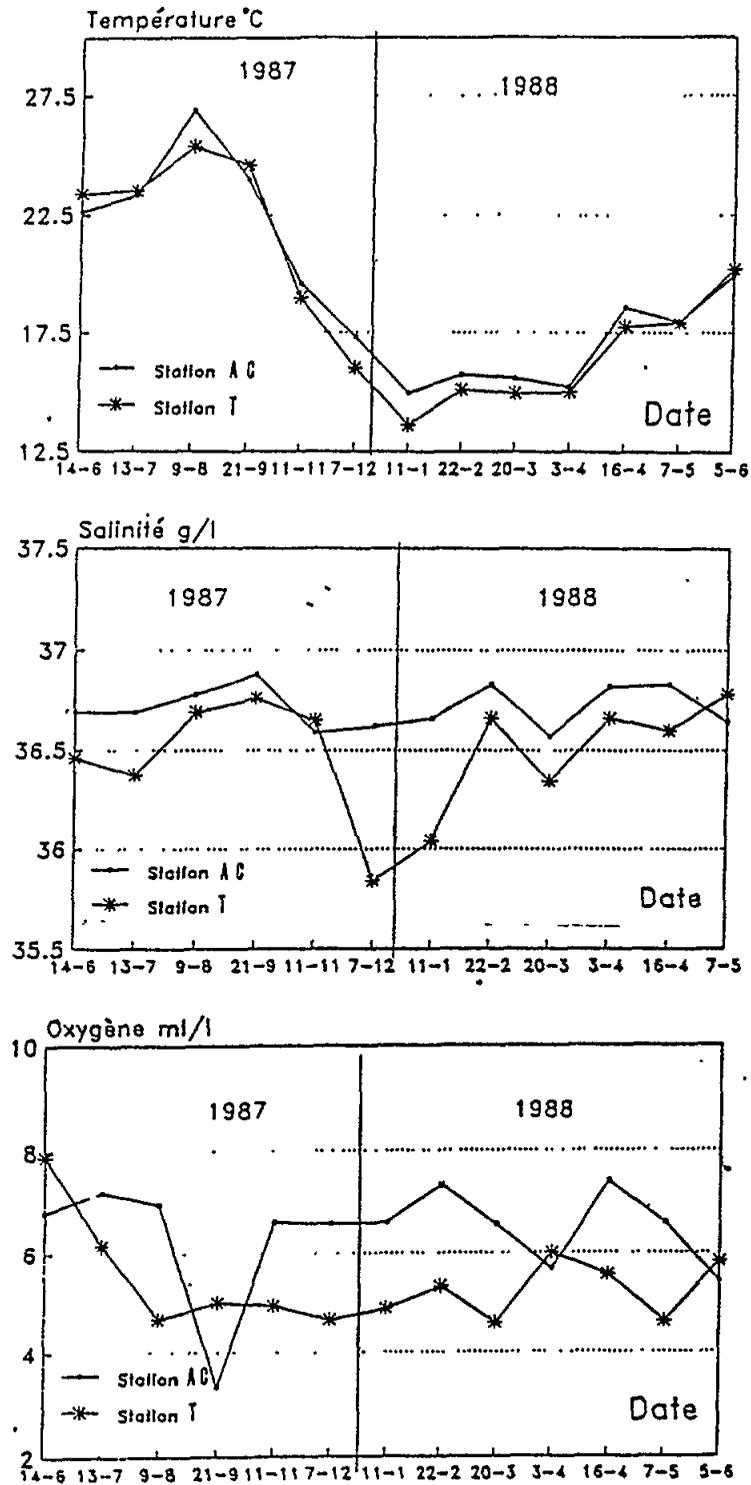


Fig. 2 Evolution annuelle de la température, la salinité et la teneur en oxygène dissous aux deux stations

Si - Si(OH)<sub>4</sub> peuvent survenir lors d'une rupture de canalisations d'eau usées, comme ce fut le cas le 21 mai 1989 à la station 2 (tableau 1); des teneurs en sels nutritifs augmentent aussi et de manière sensible aux stations 3 et 4 avec l'ouverture de la saison estivale (tableau 2).

### 3.3 Charge en carbone particulaire

La charge en carbone particulaire aux stations 2 et 3 (tableau 2) situées dans la zone d'influence de l'oued El Hamiz sont plus élevées que celles des stations 1 et 4 qui semblent plus protégées des crues par leur situation et par le sens des courants qui les maintient hors de l'influence de l'oued.

Tableau 1

Caractéristiques des eaux prélevées entre avril et juin 1989.

Date	T	S	O <sub>2</sub>	P-PO <sub>4</sub>	N-NH <sub>4</sub>	N-NO <sub>3</sub>	Si-Si(OH) <sub>4</sub>	COP	Chl- <u>a</u>
	EC	‰	ml l <sup>-1</sup>	µM l <sup>-1</sup>			µg l <sup>-1</sup>		
<b>ALGER PLAGES SUD (Station 1)</b>									
2 avr	--	34,46	7,01	0,54	34,90	--	37,15	908,3	2,13
8 avr	--	34,49	1,95	0,54	1,36	--	2,80	325,6	4,9
23 avr	17,5	34,87	2,03	2,63	3,52	--	17,40	884,2	0,85
8 mai	19,5	34,46	3,74	1,38	3,84	--	8,06	1015,6	6,83
21 mai	19,0	35,80	5,01	2,54	12,11	--	19,99	1245,0	3,63
3 jui	20,5	35,10	4,56	1,28	1,31	--	5,14	1667,6	1,71
17 jui	20,0	35,45	1,76	1,45	8,24	--	17,44	1555,5	1,07
<b>ALGER PLAGES NORD (Station 2)</b>									
2 avr	--	35,44	--	0,12	5,58	--	7,20	1313,6	1,49
8 avr	--	34,22	2,07	0,87	5,27	--	5,60	447,2	7,90
23 avr	19,0	35,66	2,71	3,0	4,06	--	12,13	809,6	2,77
8 mai	20,5	34,46	2,77	0,91	1,38	26,22	5,55	664,1	0,85
21 mai	18,5	27,92	4,69	32,53	151,6	--	236,1	300,0	5,34
3 jui	19,5	35,45	2,87	0,58	0,51	20,29	6,08	6712,1	0,42
17 jui	23,0	35,19	1,82	0,23	0,48	11,52	10,20	1823,9	0,18
<b>TAMENTEFOUST (Station 3)</b>									
2 avr	--	36,09	4,75	0,09	2,52	--	7,20	739,3	2,77
8 avr	--	33,52	2,32	0,33	2,00	--	7,20	684,7	7,47
23 avr	18,0	35,77	0,49	0,24	0,62	--	3,16	745,5	1,28
8 mai	20,5	34,39	1,53	0,92	1,05	25,79	10,69	1131,2	3,63
21 mai	18,0	35,82	4,65	1,26	12,24	--	11,60	3660,0	4,69
3 jui	20,0	34,94	4,69	1,64	157,0	13,16	35,89	4166,0	0,64
17 jui	21,0	35,99	1,42	0,02	2,87	7,82	10,82	1138,5	0,64

Tableau 2

Caractéristiques des eaux prélevées de juin 1987 à juin 1988.

Date	T	S	O <sub>2</sub>	P-PO <sub>4</sub>	N-NH <sub>4</sub>	COP	Chl- <u>a</u>
	EC	‰	ml l <sup>-1</sup>	μM l <sup>-1</sup>		μg l <sup>-1</sup>	
AIN CHORB (Station 4)							
jui 87	22,6	36,69	6,80	0,35	0,31	199,9	0,11
jul 87	23,3	36,69	7,02	1,33	0,11	199,4	--
aou 87	26,9	36,78	6,95	0,00	0,00	138,0	0,85
sep 87	24,0	36,88	3,32	0,07	0,40	133,0	0,75
nov 87	19,5	96,59	6,61	0,10	0,00	47,0	1,07
déc 87	17,3	36,62	6,58	0,05	0,30	33,2	0,74
jan 88	14,9	36,66	6,60	0,10	0,60	7,2	1,07
fév 88	15,7	36,83	7,33	0,59	0,40	23,5	1,60
mar 88	15,5	36,57	6,55	0,05	1,60	50,7	0,64
avr 88	15,2	36,82	5,68	0,83	--	49,8	1,40
avr 88	18,5	36,83	7,40	--	--	4,6	--
mai 88	17,9	36,64	6,58	1,57	--	133,4	--
jui 88	19,9	--	5,42	1,51	7,10	76,2	0,42
TAMENTEFOUST (Station 3)							
jui 87	23,4	36,46	7,90	0,00	0,00	549,0	23,30
jul 87	23,5	36,37	6,17	0,42	0,31	655,4	--
aou 87	25,4	36,69	4,63	0,63	0,31	288,0	1,30
sep 87	24,6	36,96	5,01	0,35	0,31	284,3	1,30
nov 87	19,9	36,65	4,97	0,54	0,82	437,2	3,40
déc 87	16,0	35,84	4,66	0,25	0,38	148,4	0,65
jan 88	13,5	36,04	4,88	1,42	0,67	93,8	0,85
fév 88	15,0	36,66	5,31	0,10	0,31	54,9	0,74
mar 88	14,9	36,34	4,58	0,73	1,57	100,9	0,64
avr 88	14,9	36,66	6,00	1,86	--	--	--
avr 88	17,7	36,60	5,55	--	--	62,0	--
mai 88	17,9	36,78	4,61	1,81	2,77	86,3	--
jui 88	20,1	--	5,82	7,05	0,441	159,3	5,44

### 3.4 Biomasse phytoplanctonique

La biomasse phytoplanctonique se maintient tout au long de l'année à un niveau intéressant puisque la teneur en chlorophylle-a est de manière quasi permanente supérieure à 0,5 μg l<sup>-1</sup> (tableau 2) (station 1.2.3). Des valeurs exceptionnellement élevées, comme en juin 1987 à la station 3 avec 23,30 μg l<sup>-1</sup> sont l'indice d'une tendance à l'eutrophisation.

Les rapports chl-a / chl-a + Phéoph-a ne dépassent guère 0,49. Cet équilibre entre pigments chlorophylliens et phéopigments caractérise un phytoplancton côtier chargé en éléments détritiques ou bien issu du grazing par les brouteurs (Plante Cuny et Bodoy, 1987), les brouteurs en l'occurrence étant les différentes populations de bivalves.

### 3.5 Structures phytoplanctoniques

L'inventaire floristique a mis en évidence des espèces néritiques telles que Nitzchia closterium et Chaetoceros curvisetus, des espèces océaniques telles que Coscinodiscus sp. et Chaetoceros didymus et enfin des espèces opportunistes telles Skeletonema costatum ou Peridinium trochoideum qualifiées de portuaires (Arfi et al., 1982).

L'évolution annuelle des densités cellulaires reflète celle de la biomasse chlorophyllienne. L'effectif total varie de quelques milliers de cellules par litre en janvier 1988 à plusieurs millions de cellules en juin 1987 à Tamentefoust.

Le maximum de densité cellulaire à la station 3 est comparable à celui du port d'Alger (Gaumer, 1981).

La station 4 apparaît comme une région pauvre à effectif total quasi constant. Sa densité moyenne est comparable à celle de la station S située au large d'Alger (Gaumer, 1981).

La diversité spécifique estimée par l'indice de Shannon-Weaver a permis de retrouver les deux périodes définies par Grall et Jacques (1964) et correspondant aux deux phases saisonnières déjà décrites par les facteurs physico-chimiques.

Autrement dit, nous avons affaire à une période estivale s'étalant de mai à novembre où la diversité spécifique est relativement faible, et à une période hivernale allant de décembre à avril où la densité spécifique la plus élevée concerne la station 1. L'indice de Shannon-Weaver y fluctue entre 2,96 et 5. Les dominances spécifiques y dépassent rarement 20%. Pour la période allant de juin 1987 à juin 1988, c'est la station 4 qui présente une diversité spécifique plus marquée. Ces deux stations (1,4) seraient en stade d'équilibre tel que défini par Margalef (1967). La station 3, Tamentefoust, est celle où l'indice de Shannon-Weaver présente les plus importantes fluctuations. Des valeurs inférieures à 1 sont fréquentes et sont dues à la dominance d'une seule espèce.

La figure 3 représente les proportions par groupe phytoplanctonique. Pour toute la zone étudiée et durant tout le cycle de prélèvements, ce sont les flagellés verts ou les diatomées de petite taille qui dominent le peuplement phytoplanctonique, soit successivement soit conjointement.

Dans neuf prélèvements sur dix, ces deux groupes représentent plus de 65% de l'effectif global. Jacques (1969) considérait les flagellés nus comme éléments majeurs du phytoplancton de la zone euphotique et Gaumer (1981) relève la dominance des diatomées en baie d'Alger surtout à proximité des embouchures d'oued.

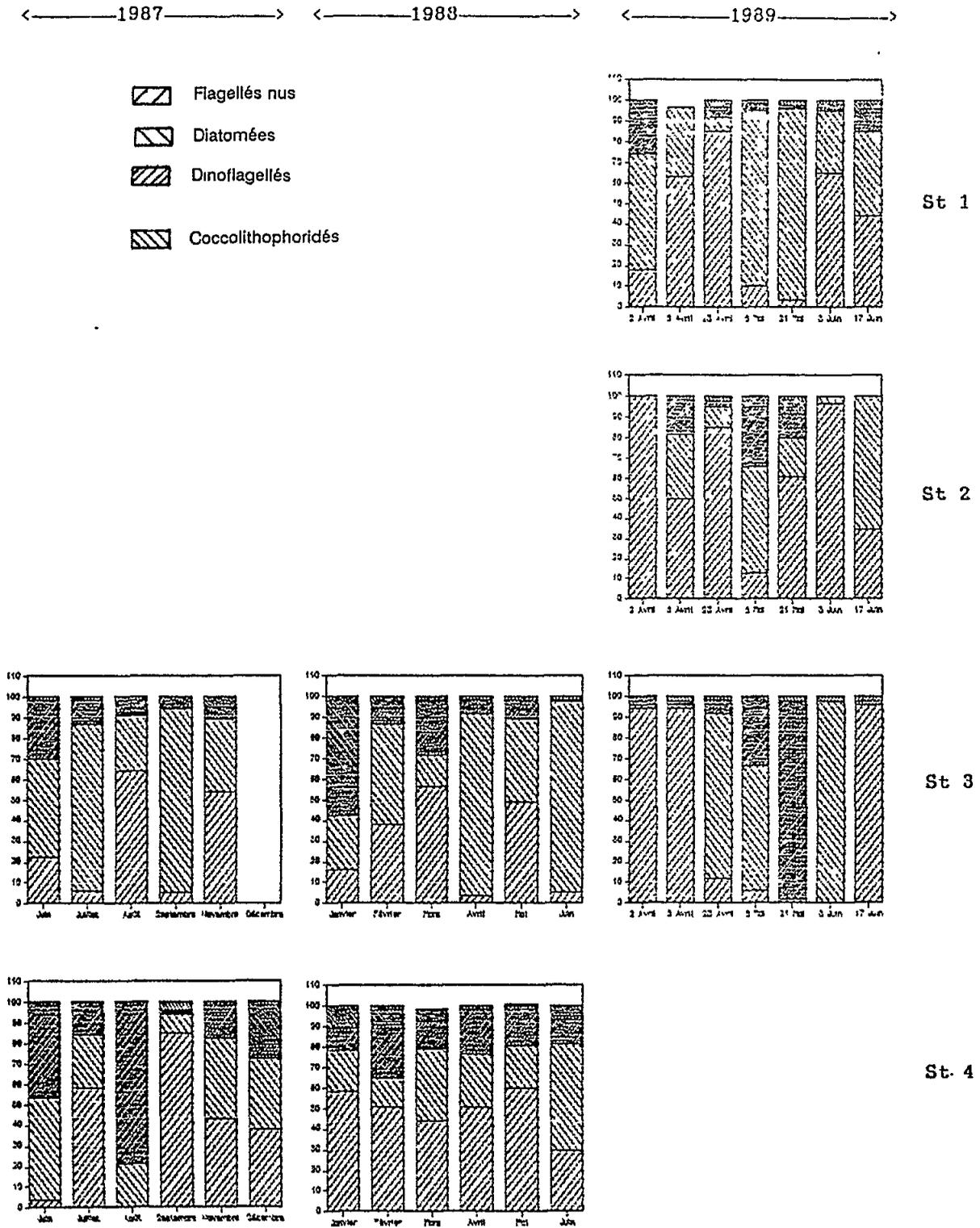


Fig. 3 Proportions relatives des différents groupes phytoplanctoniques en % de l'effectif total

Les dinoflagellés constituent le troisième groupe du point de vue de la fréquence mais ils ne représentent l'essentiel du peuplement que de manière exceptionnelle. Chaque fois qu'une efflorescence a été notée sous forme d'eau fortement turbide et très chargée en chlorophylle, elle était souvent le fait d'une diatomée opportuniste ou de flagellés nus (tableau 3), sauf deux cas particuliers: un bloom de Prorocentrum lima le 8 août 1987 à la station 4 et un autre de Katodinium glaucum le 21 mai 1989 à la station 3.

Tableau 3

Principales floraisons de phytoplancton, dominées par une espèce ou un groupe au cours du cycle de prélèvements avril 1987 - juin 1989.

Station	Date	Agent responsable de la floraison
3	05-04-87	Flagellés verts
4	21-04-87	Flagellés verts
3	14-06-87	<u>Skeletonema costatum</u>
4	13-07-87	Flagellés verts
4	09-08-87	<u>Prorocentrum lima</u>
4	21-08-87	Flagellés verts
3	21-09-87	<u>Skeletonema costatum</u>
4	11-01-88	Flagellés verts
3	23-03-88	Flagellés verts
4	03-05-88	Flagellés verts
3	03-05-88	Flagellés verts
3	06-05-88	<u>Rhizosolenia delicatula</u>
2	02-04-89	Flagellés verts
3	02-04-89	Flagellés verts
2	08-04-89	Flagellés verts
3	08-04-89	Flagellés verts
1	23-04-89	Flagellés verts
2	23-04-89	Flagellés verts
1	08-05-89	<u>Leptocylidricus danicus</u>
1	21-05-89	<u>Leptocylidricus danicus</u>
4	21-05-89	<u>Katodinium glaucum</u>
2	03-06-89	Flagellés verts
3	03-06-89	<u>Skeletonema costatum</u>
3	07-06-89	Flagellés verts

### 3.6 Diagrammes rang-fréquence

Comme le suggère Frontier (1969, 1985), et pour donner une représentation imagée de l'état d'évolution ou de stress de l'écosystème, nous

avons appliqué la méthode des diagrammes rang-fréquence (DRF) à nos données de phytoplancton obtenues aux stations 3 et 4 entre juin 1987 et juin 1988. Cette méthode permet de déterminer le stade de la succession écologique au moment du prélèvement.

Pour la station 3, les stades obtenus en une année sont les suivants:

Date	14/6	13/7	9/8	21/9	9/11	7/12	11/1	22/2	20/3	3/4	16/4	7/5	5/6
Stade	1'	2	2	1	1	-	1	1	1'	2	1	1'	1

Il apparaît qu'à cette station, l'écosystème est fréquemment au stade 1 de la succession écologique. Il évolue parfois jusqu'au stade 2, mais ce dernier est assez fugace. Au cours d'un cycle annuel complet, le stade 3 typique n'a jamais été décrit.

Toutefois, le 14 juin 1987, l'écosystème est assez proche du stade final, avec un DRF assez convexe à sa partie gauche (fig. 4). Skeletonema costatum, Podolampas palmipes et pyramimonas représentent plus de 97% de la population planctonique.

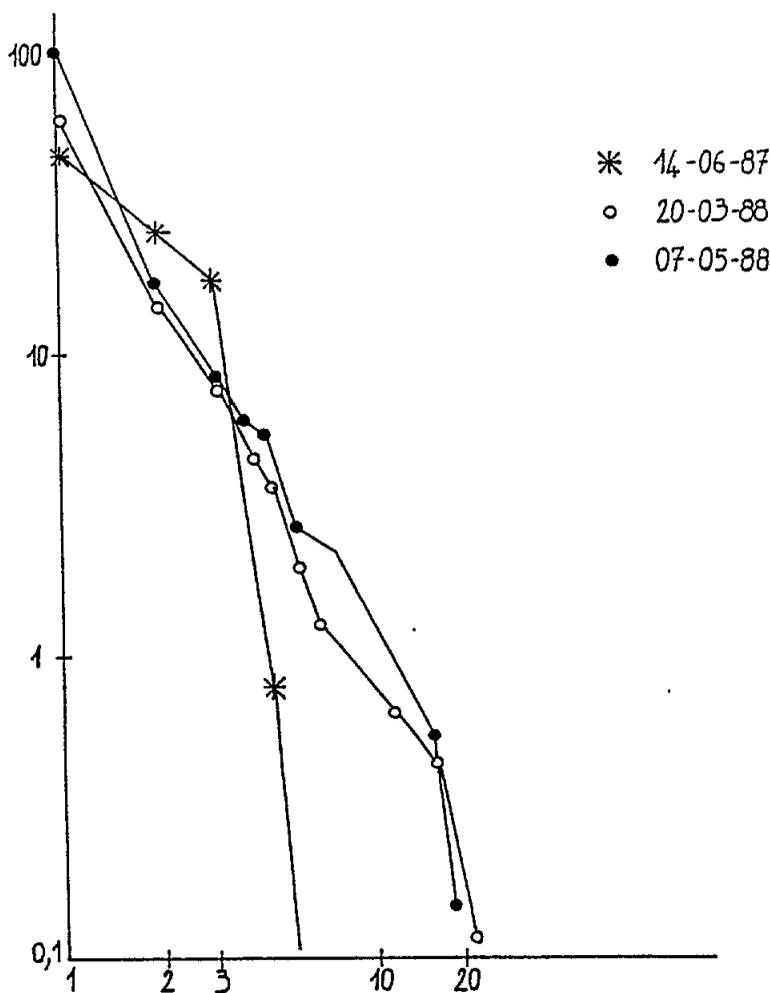


Fig. 4 Diagrammes rang-fréquence montrant le stade 1 à la station 3

De même, en mars et mai 1988, l'allure du DRF rappelle un stade final. La diversité a diminué mais il n'y a pas de dinoflagellés pour confirmer qu'il s'agit d'un stade 3. Fontier (1969) rapporte une allure de ce type à un stade intermédiaire ou "1" qui demeure difficile à situer dans la succession écologique.

Par conséquent, dans le port de Tamentefoust, l'écosystème phytoplanctonique évolue d'un stade 1 à un stade 2 avec parfois un stade intermédiaire, mais il n'atteint pas le climax. Du fait des apports anarchiques en sels nutritifs dans cette station, l'écosystème demeure à un stade immature. Cette rétrogradation de la succession et ce maintien à l'état juvénile sont caractéristiques d'un milieu exploité ou alimenté naturellement ou artificiellement en sels nutritifs (Frontier, 1977). En outre, des espèces telles que Chaetoceros curvisetus, Leptocylindricus danicus et Skeletonema costatum indicatrices du stade 1 (Jacques, 1986) sont fréquentes. Pucher-Petkovic (1983) considère que ces espèces sont indicatrices d'une première phase d'eutrophisation.

A Aïn Chorb (station 4), nous avons pu décrire tous les stades d'une succession écologique.

Date	14/6	13/7	9/8	21/9	9/11	7/12	11/1	22/2	20/3	3/4	16/4	7/5	5/6
Stade	2	1	3	3-1	2	2	1	2	3	2	2	1	2

En août 1987, le DRF évoque celui d'un stade final. Le DRF est rectiligne à ses débuts, puis concave vers la droite. 73% du peuplement microphytique est constitué de péridiniens.

En septembre, le système évolue encore. Le DRF est assez vertical. Les dinoflagellés abondent et le nanoplancton fait son apparition. Une nouvelle succession s'annonce.

De janvier à mars 1988, se déroule une succession complète (fig. 5). En janvier, l'allure du DRF, la présence de Thalassiosira rotula et la dominance du nanoplancton attestent qu'il s'agit d'un stade 1. En février, la courbe est concave. La population est homogène, il s'agit d'un stade 2. En mars, l'évolution se poursuit, les dinoflagellés se multiplient, le stade 3 fait son apparition.

Ain Chorb, ou station 4, montre donc tous les stades d'une succession théorique, ce qui est assez rare. Margalef (1984) rappelle qu'une succession peut être interrompue à tout moment et revenir au point de départ comme cela est souvent le cas dans le Golfe du Lion, lors de la reprise du mistral.

#### 4. CONCLUSION

Dans la zone infralittorale de la région orientale de la baie d'Alger, grâce à un apport continu en matières nutritives dû à l'oued El Hamiz et aux rejets d'eau usées, se maintiennent une biomasse et une production phytoplanctoniques importantes. Cet enrichissement, conjugué à une grande stabilité dans les zones protégées par le Cap Tamentefoust, crée en période estivale une forte baisse de la teneur en oxygène pouvant causer l'asphyxie

des populations de mollusques bivalves présentes à l'état endémique dans toute la région. Ainsi, dans le port de Tamentefoust, le peuplement de Venus gallina recule vers le large en zone plus battue.

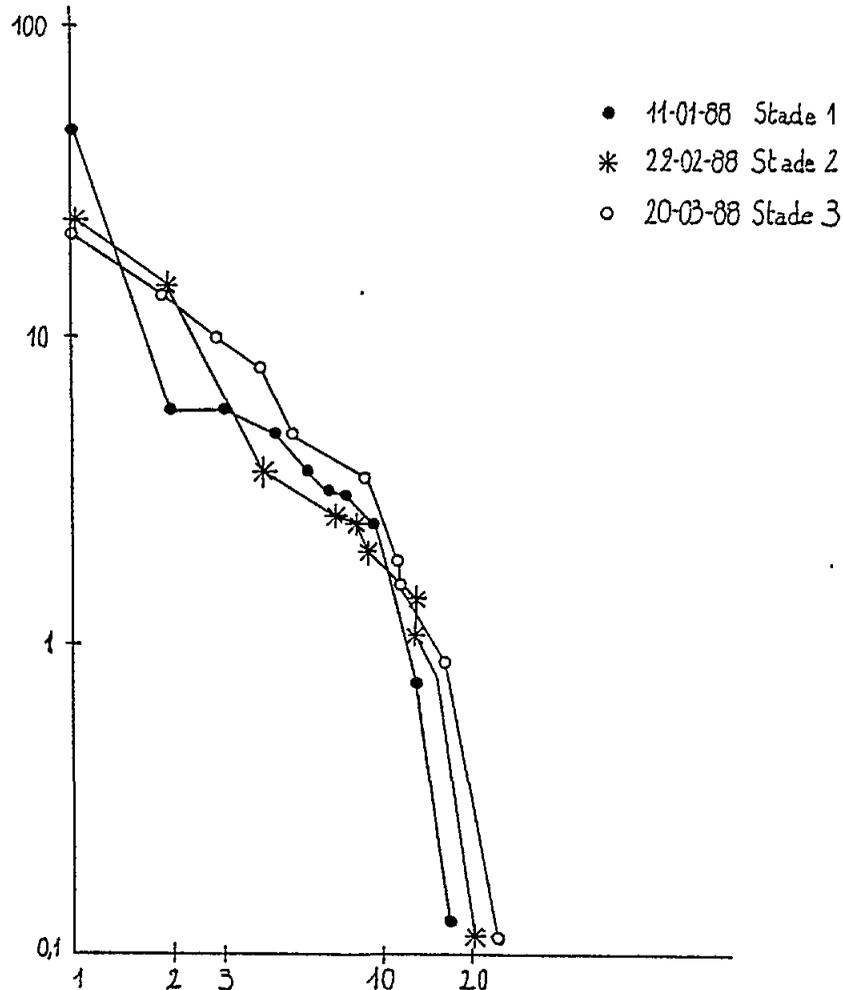


Fig. 5 Diagrammes rang-fréquence montrant une succession complète à la station 4

Le flux constant de matière nutritive maintient l'écosystème pélagique dans un état relativement immature. Les diatomées caractéristiques des stades juvéniles, connaissent de véritables blooms tout au long de l'année et dominent les autres groupes. Ces caractéristiques, ainsi que la présence d'espèces indicatrices d'eutrophisation comme Chaetoceros curvisetus, Leptocylindricus danicus, Skeletonema costatum, sont autant de signes de dystrophie. Tamentefoust est d'un grand intérêt pour la connaissance du processus d'eutrophisation et devrait faire l'objet d'une surveillance régulière.

Par contre, les zones plus exposées aux courants, plus ouvertes vers le large comme les stations 1 et 4, semblent en équilibre. On y observe une meilleure oxygénation, une diversité plus marquée des espèces phytoplanctoniques et des populations de mollusques bivalves plus abondantes.

## 5. REFERENCES

- Aid, F., G. Gaumer et F.L. Samson-Kechacha (1981), Rôles de l'azote et du phosphore dans la limitation de la production primaire des eaux de la baie d'Alger. C.R.Acad.Sc.Paris, série III 293:435-437
- Aminot, A. et M. Chaussepied (1983), Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO, Brest. 395 p.
- Arfi, A., Champalbert, G. Patriiti, A. Puddu et J.P. Reys (1982), Etude préliminaire comparée du plancton du vieux port, de l'avant-port et du Golfe de Marseille. Liaison avec des paramètres physiques, chimiques et pollution. Tethys, 10(3):211-217
- Frontier, S. (1969), Méthodes d'analyses statistiques applicables à l'écologie du plancton. Doc. Sci. Centre Orstom, Nosy. Be 7, 45 p.
- Frontier, S. (1977), Réflexion pour une théorie des écosystèmes. Bull.Ecol., 8(4):445-464
- Frontier, S. (1985), Diversity and structure in aquatic ecosystems. Oceanog. Mar.Biol. Ann.Rev., 23:253-312
- Gaumer, G. (1981), Evolution annuelle des communautés microplanctoniques de la baie d'Alger. Variations de la composition spécifique liées à la nature du facteur nutritionnel limitant la biomasse algale. Thèse 3ème cycle. Paris VI, 91 p.
- Grall, J.R. et G. Jacques (1964), Phytoplankton. Cah.Biol.Mar., 5:432-455
- Jacques, G.R. (1969), Aspects quantitatifs du phytoplankton de Banyuls-sur-Mer (Golfe du Lion). III: Diatomées et Dinoflagellés de juin 1965 à juin 1968. Vie milieu, 20:91-126
- Jacques, G. (1986), Communautés phytoplanktoniques et succession écologique. In: Ecosystèmes pélagiques marins, édité par G. Jacques et P. Tréguer, Masson. 243 p.
- Mauouche, S. (1987), Mécanismes hydrosédimentaires en Baie d'Alger (Algérie): Approche sédimentologique, géochimique et traitement statistique. Thèse spécialité, Université de Perpignan, 213 p.
- Margalef, R. (1967), Some concepts relative to the organization of plankton. Oceanog.Mar.Biol. Ann.Rev., 5:257-289
- Margalef, R. (1984), Le plancton de la Méditerranée. La Recherche, 158(15): 1082-1094
- Plante Cuny, M.R. et A. Bodoy (1987), Biomasse et production primaire du phytoplankton et du microphytobenthos de deux biotopes sableux du Golfe de Fos (France). Oceanologica Acta, 10(2):223-237
- Pucher-Petkovic, T. (1983), Synthèse des travaux sur le plancton publiés entre 1981 et 1982 en Méditerranée orientale. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 28(9):15-46

- Samson-Kechacha, F.L. (1981), Variations saisonnières des matières nutritives de la baie d'Alger. Recherche des facteurs contrôlant le développement du phytoplancton. Thèse Doct. 3ème cycle. USTBH Alger. 98 p.
- Taleb, R. et Y. Lalami (1970), Etude des facteurs physico-chimiques et météorologiques au large de la baie d'Alger. Bull.Soc.Hist.Nat.Afrique du Nord., 61(3/4):121-154
- UterMöhl, H. (1958), Zur Vervollkommung der quantitativen phytoplankton. Methodik.mitt.int.Ver.theor.angerrv.Limnol., 9:1-38

IMPACT DE LA POLLUTION SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE ET  
L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE ET ANTIFONGIQUE DES  
EXTRAITS DE POSIDONIA OCEANICA (L.) DELILE

par

P. BERNARD\*, D. PESANDO\*, A.C. VISO\*, P. PANAYOTIDIS\*\*  
et V.A. CATSIKI\*\*

\* INSERM, Unité 303 B.P. 3, F-06230, Villefranche-sur-Mer, France

\*\* Centre National des Recherches Marines, Ag. Kosmas GR-16604, Grèce

RESUME

L'impact de la pollution chimique et bactériologique a été étudié sur des échantillons de Posidonia oceanica prélevés en France et en Grèce dans des zones polluées et non polluées. Des analyses ont été effectuées sur différents tissus de la plante (feuilles, pétioles, rhizomes) pour déterminer a) la teneur en lipides et les pourcentages en acides gras saturés et insaturés, b) la composition des lipides neutres, des glycolipides et des phospholipides, c) l'activité biologique de type antibactérien et antifongique des extraits aqueux ou lipidiques des différents tissus de Posidonies.

Les mesures effectuées n'ont pu mettre en évidence un impact de la pollution ni sur la composition chimique, ni sur l'activité antibactérienne et antifongique des différentes tissus de P. oceanica.

1. INTRODUCTION

La raréfaction des herbiers de P. oceanica (L.) Delile est un phénomène observé sur l'ensemble des côtes de la Méditerranée depuis les années 70, avec une intensité plus ou moins importante (Pérès, 1977).

Pérès et Picard (1975) attribuent la raréfaction et la disparition des herbiers sur les côtes françaises a) aux activités de pêche inadaptées ou prohibées, b) à l'augmentation de la turbidité des eaux, qui entraîne une diminution de la profondeur de compensation de la plante et c) à la sédimentation des argiles contaminées (Arnoux and Chamley, 1974) pouvant atteindre le système racinaire de la plante, qui entraîne des perturbations physiologiques.

En nous fondant sur ce troisième point nous avons formulé l'hypothèse que la pollution pourrait affecter la composition chimique et l'activité antibiotique de la plante et diminuer ainsi sa capacité d'adaptation aux différents facteurs écologiques.

La composition chimique de P. oceanica (cendres, carbone, hydrogène, azote, protéines et acides aminés, tanines etc) a fait l'objet de nombreux travaux (Molinier and Pelegrini, 1966; Augier and Santimone 1982; Iatrides et al., 1983; McMillan, 1984; Augier et al., 1991; Grauby et al., 1991). Par contre, la teneur en lipides est moins bien connue (Nickols et al., 1982) et il en est de même pour l'activité antibiotique (Cariello and Zanetti, 1979; Bernard and Clement, 1983, Bernard and Pesando, 1989).

Le présent travail a pour but de tester l'hypothèse de l'impact de la pollution sur la composition chimique et l'activité antibactérienne et antifongique de Posidonia oceanica (L.) Delile en utilisant des spécimens récoltés dans deux pays méditerranéens : La France et la Grèce.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1 Prélèvements/préparation des échantillons

Sur le terrain, les prélèvements ont été effectués dans la frange supérieure de l'herbier, qui est la plus sensible aux pollutions liées à l'activité humaine. La récolte des posidonies a été réalisée dans les deux pays à des sites plus ou moins pollués. En Grèce, on a retenu Aghios Kosmas (Athènes) comme zone polluée et le Cap Sounion (E du golfe Saronique) comme zone non polluée et en France Villefranche (Rochambeau) et le Cap d'Ail (Marquet) respectivement.

Au laboratoire, les posidonies récoltées ont été étudiées selon la méthode proposée par Giraud (1979). On a distingué et étudié les posidonies de deux types de rhizomes: aux rhizomes plagiotropes et aux rhizomes orthotropes. Les feuilles ont été séparées des rhizomes. Les pétioles (partie non pigmentée de la feuille, symbolisée par P1), les limbes (partie pigmentée de la feuille, symbolisée par P2) et les rhizomes, après les avoir débarrassés du sable et des épiphytes par brossage et lavage à l'eau de mer, ont été ensuite la suite coupés en tronçons de 0,3 à 1,3 cm, et congelés.

Les différents échantillons ont été lyophilisés avant analyse. La lyophilisation a été effectuée en Grèce au Centre National des Recherches Marines à Athènes et en France à l'Unité 303 de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) à Villefranche-sur-Mer.

Tous les échantillons lyophilisés ont été analysés à l'Unité 303.

### 2.2 Analyses chimiques et tests antibiotiques

#### 2.2.1 Lipides

Les lipides des différents échantillons de P. oceanica, (rhizomes, feuilles P1 et P2) ont été extraits suivant la méthode de Bligh et Dyer (1959). Plus concrètement, 4 g d'échantillon lyophilisé sont broyés et extraits avec un mélange monophasique ternaire (50 ml  $\text{CHCl}_3$ , 100 ml MeOH, 40 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ). Après filtration sur verre fritté nE4, on a ajouté au filtrat 50 ml de  $\text{CHCl}_3$  et 50 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  pour obtenir un système biphasique :

- une phase aqueuse qui est lyophilisée, pesée et testée;
- une phase lipidique chloroformique qui est évaporée sous vide, pesée et testée.

Les classes de lipides sont séparées par chromatographie sur colonne de silice. Les lipides neutres, les glycolipides et les phospholipides sont séparés par une technique que nous avons mise au point au laboratoire.

100 mg d'extrait lipidique dissous dans le chloroforme sont élués sur une petite colonne de gel de silice (Sep pak : Waters)

avec 20 ml de  $\text{CHCl}_3$  : lipides neutres  
40 ml d'acétone : glycolipides  
20 ml de méthanol : phospholipides

Afin d'assurer une meilleure séparation des différentes classes de lipides, les extraits lipidiques et les différentes fractions obtenues après passage sur Sep pak sont chromatographiés sur couches minces de silice (plaque Merck Kieselgel 60F 254) dans le mélange  $\text{CHCl}_3$ , MetOH,  $\text{NH}_4\text{OH}$  (70:20:2).

Des produits standards sont chromatographiés parallèlement :

- lipides neutres	:	acides gras et triglycérides
- glycolipides	:	monogalactosyl diglycéride (MGDH) digalactosyl diglycéride (DGDG)
- phospholipides	:	phosphatidyl choline (PC) phosphatidyl éthanolamine (PE) phosphatidyl sérine (PS) phosphatidyl inositol (PI)

Les glycolipides sont révélés avec le réactif à l'á-naphtol et les phospholipides se révèlent en bleu après pulvérisation de la plaque avec le réactif au bleu de molybdène.

Les esters méthyliques d'acides gras (EMAG) ont été préparés de la manière suivante:

Un aliquot de chaque extrait lipidique total est transméthylé par du méthanol  $\text{BF}_3$  (7%) en tube scellé à 55°C pendant 30 minutes. Après refroidissement, 1 ml d'eau distillée est ajouté, puis les EMAG sont extraits par un mélange hexane - éther (9:1).

En fait, d'autres composés (ex. hydrocarbures) étant extraits par ce mélange, leur séparation des EMAG est obtenue sur cartouche de silice Sep pak-Waters. Trois fractions sont récupérées après éluations successives de:

- 6 ml d'hexane	:	fraction F1 (hydrocarbures).
- 8 ml d'hexane + 75 $\mu\text{l}$ d'acétate d'éthyle	:	fraction F2 (EMAG)
- 10 ml de méthanol	:	fraction F3 (composés plus polaires)

La fraction F2 est concentrée, puis analysée en chromatographie de phase gazeuse.

Deux chromatographes ont été utilisés: un Perkin Elmer sigma 2 et un Girdel 3000 avec des détecteurs à ionisation de flamme équipés de colonne apolaire CPSil 5CB pour l'un et polaire CW20M pour l'autre. Les échantillons sont injectés dans les deux colonnes et, après intégration des pics, les acides gras sont identifiés par comparaison des temps de rétention de divers standards.

## 2.2.2 Tests antibactériens et antifongiques

Les tests ont été réalisés par la méthode de diffusion en gélose sur des bactéries entériques et marines et sur des champignons pathogènes de l'homme (Institut Pasteur, American Type Culture Collection, Czechlovak Collection of Microorganismes, National Collection of Marine Bacteria). Les fractions aqueuses ont été déposées dans des cupules de 4 mm de diamètre (2000 µg par cupule) et les fractions lipidiques sur des disques de cellulose de 6,5 mm de diamètre (400 µg par disque). L'activité antibactérienne ou antifongique a été mesurée en mm et correspond à la largeur de la couronne de non croissance des germes testés.

## 2.3 Analyse statistique

Les résultats de la teneur en % en lipides et ceux des tests antibactériens et antifongiques ont été traités statistiquement par analyse de variance de deux facteurs (two way ANOVA).

## 3. RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.1 Teneurs en lipides en % du poids sec

Les résultats des analyses concernant la teneur en lipides des échantillons récoltés dans les deux pays (en Grèce et en France) sont présentés sur les tableaux 1 et 2 respectivement.

Tableau 1

Teneur en lipides (en % du poids sec)  
des échantillons de P. oceanica provenant de Grèce.

	Zone polluée				zone non polluée			
	ortho		plagio		ortho		plagio	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<u>Feuilles</u>								
vert (P2)	1	0,51	2	0,78	3	0,43	4	0,55
blanc (P1)	5	1,82	6	1,71	7	1,46	8	1,50
<u>Rhizomes</u>	9	0,48	10	0,54	11	0,44	12	0,41

On peut constater que les parties non pigmentées des feuilles (échantillons P1) contiennent trois fois plus de lipides que les rhizomes ou les parties pigmentées (P2) ( $F=22,32$ ,  $P<0,001$ ), sauf pour le cas de Villefranche. Les différences observées entre les échantillons orthotropes et plagiotropes ne sont pas significatives ( $F=1,34$ ,  $P=0,276$ ).

Tableau 2

Teneur en lipides (en % du poids sec)  
des échantillons de P. oceanica provenant de France.

	Zone polluée				zone non polluée			
	ortho		plagio		ortho		plagio	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<u>Feuilles</u>								
vert (P2)	13	0,49	14	0,63	19	0,60	20	1,33
blanc (P1)	15	1,35	16	1,83	21	0,66	22	0,63
<u>Rhizomes</u>	17	0,77	18	0,57	23	0,73	24	0,73

Le degré de la pollution n'a pas influencé la teneur en lipides des divers tissus de P. oceanica. Ainsi, bien que les échantillons prélevés dans les zones plus polluées présentent des concentrations en lipides plus fortes, cette différence n'est pas significative ( $F=2,51$ ,  $P=0,147$ ). Cependant, la partie non pigmentée des feuilles contient moins de lipides dans les zones non polluées ( $F=4,62$ ,  $P=0,042$ ).

Les échantillons collectés dans les deux pays, la France et la Grèce n'ont pas présenté de différences lipidiques ( $F=0,06$ ,  $P=0,815$ ), bien que la partie P1 des feuilles récoltées en Grèce contenaient plus de lipides ( $F=5,15$ ,  $P=0,032$ ).

### 3.2 Séparation des classes de lipides

L'examen des plaques de chromatographie après révélation montre que les lipides ont bien été séparés par classes: lipides neutres, glycolipides, phospholipides.

Les extraits lipidiques des échantillons de la partie verte des feuilles (P2) contiennent du DGDG, du MGDG, deux glycolipides et en faible quantité des phospholipides PS et PC.

La base des feuilles (partie blanche=P1) et les rhizomes ont la même composition. Tous les échantillons contiennent du MGDG, du DGDG et deux autres glycolipides de Rf 0,40 et 0,44 et les phospholipides PS, PI, PC et PE.

Nous avons observé une grande analogie dans la composition en glycolipides et en phospholipides des posidonies de France et de Grèce.

### 3.3 Pourcentages en acides gras saturés et insaturés

#### 3.3.1 Posidonies prélevées en Grèce

L'analyse de la partie verte des feuilles des spécimens plagiotropes a montré que les acides gras C16:0 (24 et 30%), C18:2 $\omega$  6 (15%) et C18:3 $\omega$  3 (35 et 31%) sont prédominants (les deux chiffres concernent les échantillons prélevés à la zone polluée -à Athènes et la zone non polluée -Sounion- respectivement) (tableau 3). Les acides gras saturés à longue chaîne ( $n>20$  carbones) représentent 9,25 et 4,43 % des acides gras totaux.

Tableau 3

Composition et pourcentage des acides gras des feuilles et des rhizomes de posidonies (Les acides gras (AG) prédominants sont soulignés.

Feuilles: échantillons 2:Athènes, 4:Cap Sounion, P2:Villefranche.

Rhizomes: échantillons 10:Athènes, 12:Sounion, R:Villefranche).

No AG	GRECE				FRANCE	
	FEUILLES		RHIZOMES		FEUILLES	RHIZOMES
	2 %	4 %	10 %	12 %	P2 %	R %
12:0	1,27	2,98	0,24	0,45		
14:0	0,44	0,57	0,52	0,84	0,51	0,74
15:0	0,18	0,11	0,39	0,54		0,74
16:POLY					0,49	
16:1ù 9	0,17			0,25		0,24
16:1ù 7	1,16	0,97	0,46	0,26	1,44	0,23
<u>16:0</u>	<u>23,81</u>	<u>30,46</u>	<u>26,53</u>	<u>31,81</u>	<u>17,65</u>	<u>27,96</u>
Y			0,12	0,03	0,65	
17:0	0,30	0,35	0,43	0,48	0,32	0,66
<u>18:2ù 6</u>	<u>15,31</u>	<u>14,09</u>	<u>51,32</u>	<u>444,92</u>	<u>6,42</u>	<u>45,92</u>
<u>18:3ù 3</u>	<u>34,99</u>	<u>30,78</u>	<u>7,95</u>	<u>6,74</u>	<u>61,61</u>	<u>3,50</u>
<u>18:1ù 9</u>	<u>5,18</u>	<u>5,32</u>	<u>5,40</u>	<u>6,00</u>	<u>3,63</u>	<u>10,45</u>
18:1ù 7	1,26	0,79	0,77	1,03	0,75	0,62
18:0	4,47	7,45	2,99	3,27	1,48	2,55
18:4					1,32	
19:0	0,06	0,11	0,09	0,25		0,56
20:4			0,16			
20:5ù 3	0,39	0,14	0,25	0,11	0,06	
20:1ù 9	0,11	0,23	0,22	0,20		
20:1ù 7	0,16	0,36	0,18	0,23		
20:0	0,42	0,67	0,35	0,40		0,27
22:5ù 3		0,19	0,14	0,15	1,70	
22:1	0,37					
22:0	0,68	0,83	0,49	0,60		0,29
23:0	0,18	0,22	0,32	0,37		
24:0	1,13	0,76	0,45	0,60		0,87
24:6?	0,69		0,02			
25:0	0,13		0,08	0,08		
26:0	1,27	0,93	0,07	0,08		0,14
28:0	1,76	0,70	0,01			
30:0	2,86	0,36			0,15	
32:0	1,24	0,32	0,06	0,07	0,92	
34:0		0,31			0,91	

L'analyse des rhizomes (plagiotropes) a montré que les acides gras prédominants sont le C16 : 0 (26 et 31%), le C18 : 2ù 6 (51% et 45%) et le C18 : 3ù 3 (8 et 7%). Les acides gras saturés à longue chaîne représentent entre 1,48 et 1,81% des acides gras totaux.

Si on compare la composition en acides gras des feuilles et des rhizomes, on peut observer que les acides gras 16:1ù 7 et 18:1ù 9 (acides gras de la série 9) dominent par rapport aux autres acides monoènes. Cette prédominance, caractéristique des plantes supérieures terrestres, se retrouve aussi bien dans l'angiosperme marine P. oceanica. Le 18:1ù 9 représente 5 à 6% des acides gras totaux aussi bien dans les feuilles que dans les rhizomes.

### 3.3.2 Comparaison des acides gras totaux des feuilles et des rhizomes de posidonies prélevées en Grèce et en France (tableau 3)

- Analyse des feuilles :les résultats montrent que la partie P2 (partie verte ou extrémité des feuilles) se rapproche de celle des feuilles prélevées en Grèce.
- Analyse des rhizomes :la composition en acides gras des rhizomes est comparable dans les échantillons provenant de France et de Grèce.

### 3.4 Composition en acides gras des lipides totaux

Les premiers résultats montrent que les échantillons des feuilles (partie verte, P2) prélevés en Grèce, sont riches en glycolipides, lesquels sont impliqués dans la photosynthèse, et que les bases des feuilles (partie blanche, P1) et les rhizomes ont la même composition présentant une teneur importante en phospholipides. Cela est observé également pour les échantillons prélevés en France.

Les acides gras de l'extrait brut (correspondant aux acides gras totaux) et des 3 fractions séparées par Sep pak (lipides neutres, glycolipides et phospholipides) ont été analysés. Les résultats de ces analyses sont présentés sur les Figures 1 à 4.

Les acides gras prédominants détectés dans les feuilles et les rhizomes de posidonies sont: C16:0, C18:2ù 6, C18:3ù 6.

L'acide gras C16:0 représente 20 à 30% des acides gras totaux (Fig. 1.). Des variations dans le rapport C18:2ù 6 / C18:3ù 3 sont observées dans les 2 parties des feuilles et dans le rhizome. Ces deux acides gras représentent plus de la moitié des acides gras totaux. Nous avons observé que la phase acétone (glycolipides) de la partie verte de la plante est enrichie en C18:3ù 3 (Fig. 3). Cet acide gras est connu pour être largement présent dans les plantes supérieures et dans les organismes photosynthétiques et est concentré dans les chloroplastes.

### 3.5 Tests antibactériens et antifongiques

Les résultats des tests antibactériens et antifongiques sur les extraits aqueux et lipidiques provenant des divers tissus des posidonies sont présentés aux tableaux 4 et 5 pour les échantillons collectés en Grèce et aux tableaux 6 et 7 pour les échantillons collectés en France.

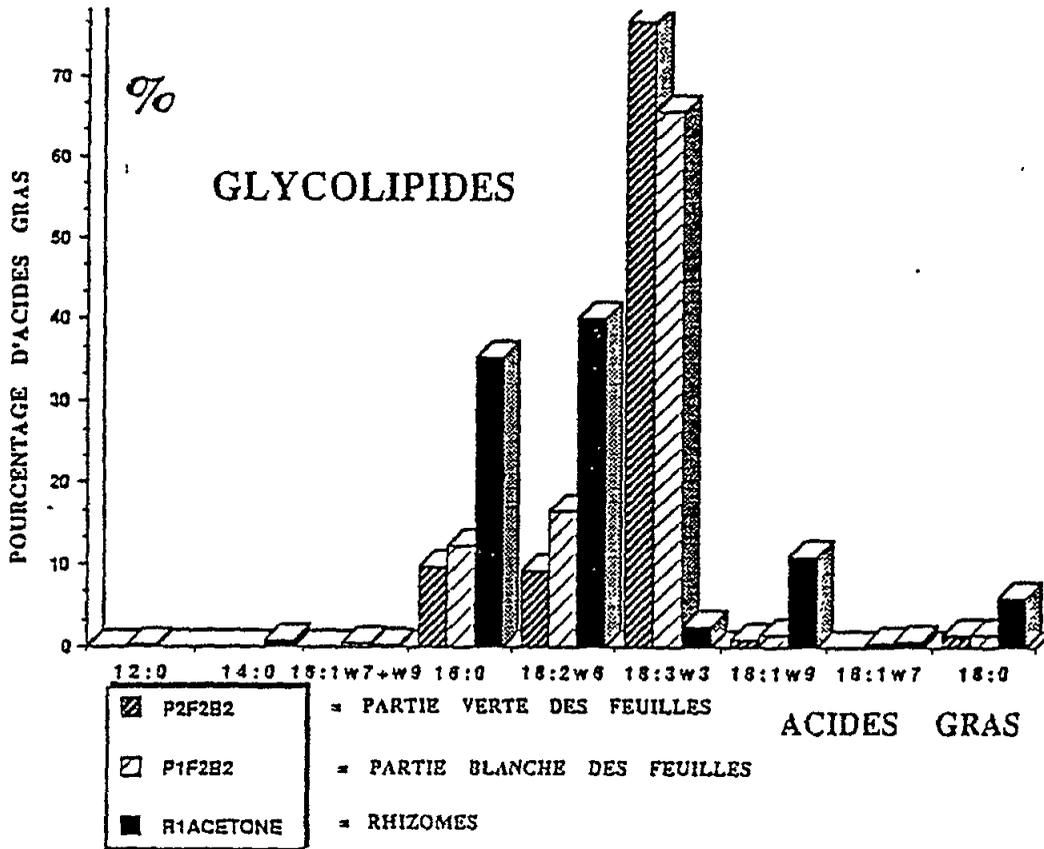


Fig. 1 Composition et pourcentage en acides gras des lipides totaux de *Posidonia oceanica*

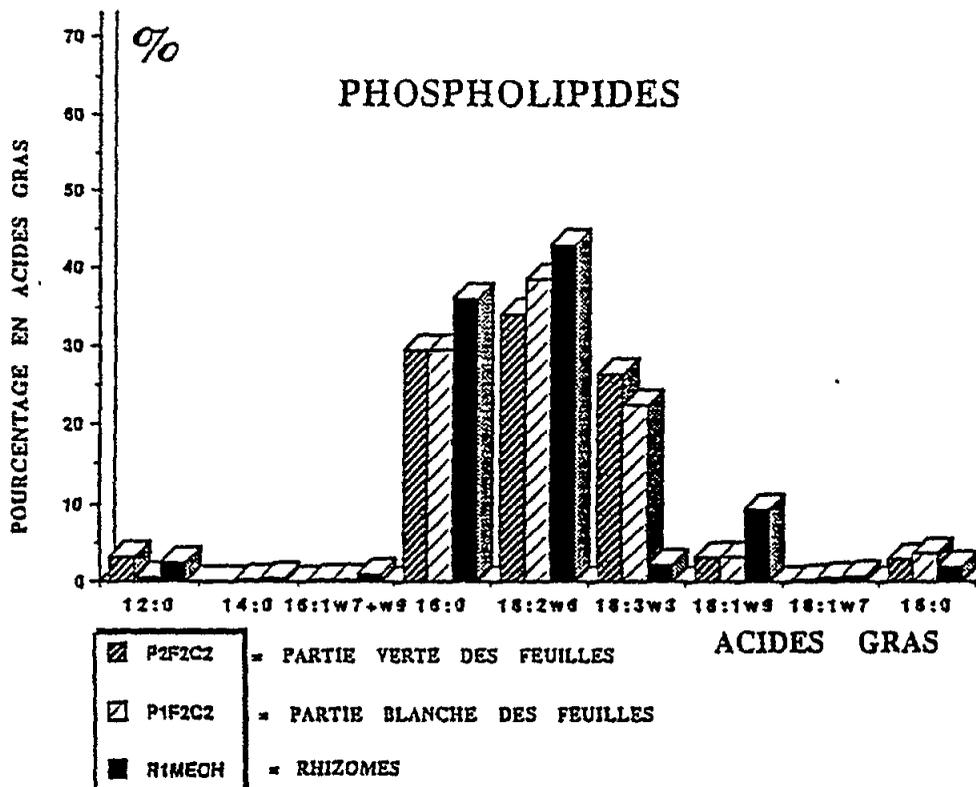


Fig. 2 Composition et pourcentage en acides gras des lipides neutres de *Posidonia oceanica*

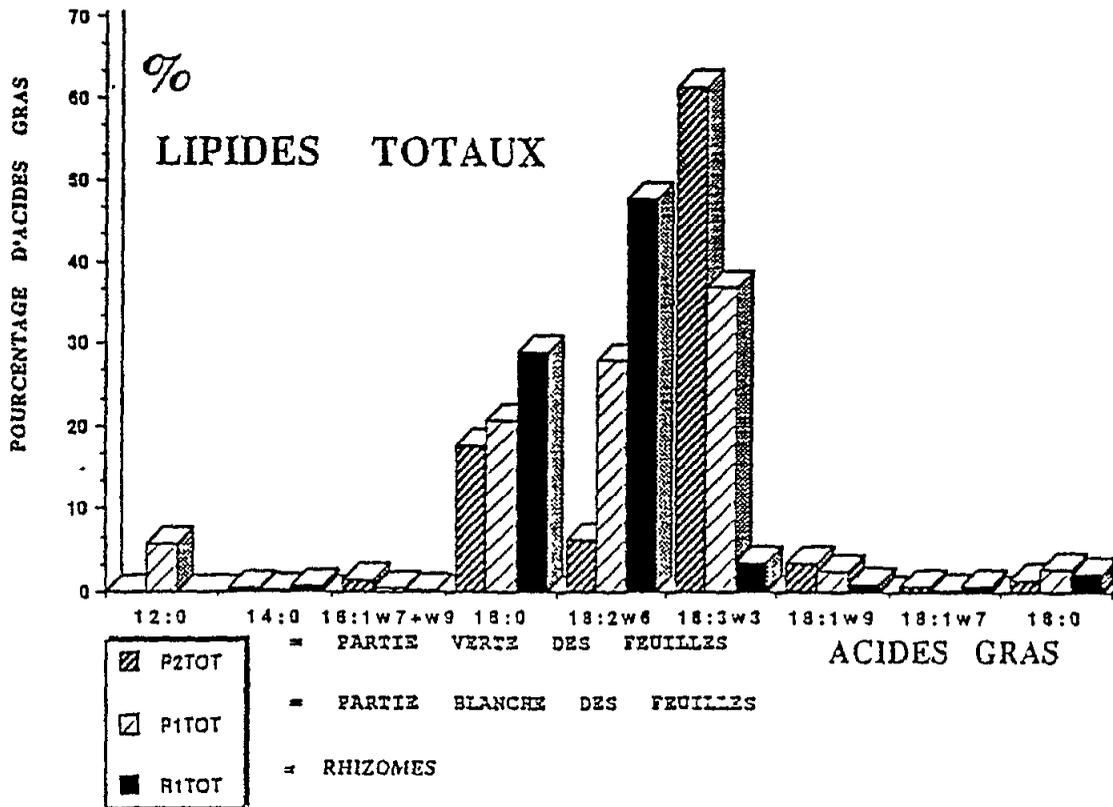


Fig. 3 Composition et pourcentage en acides gras des glycolipides de *Posidonia oceanica*

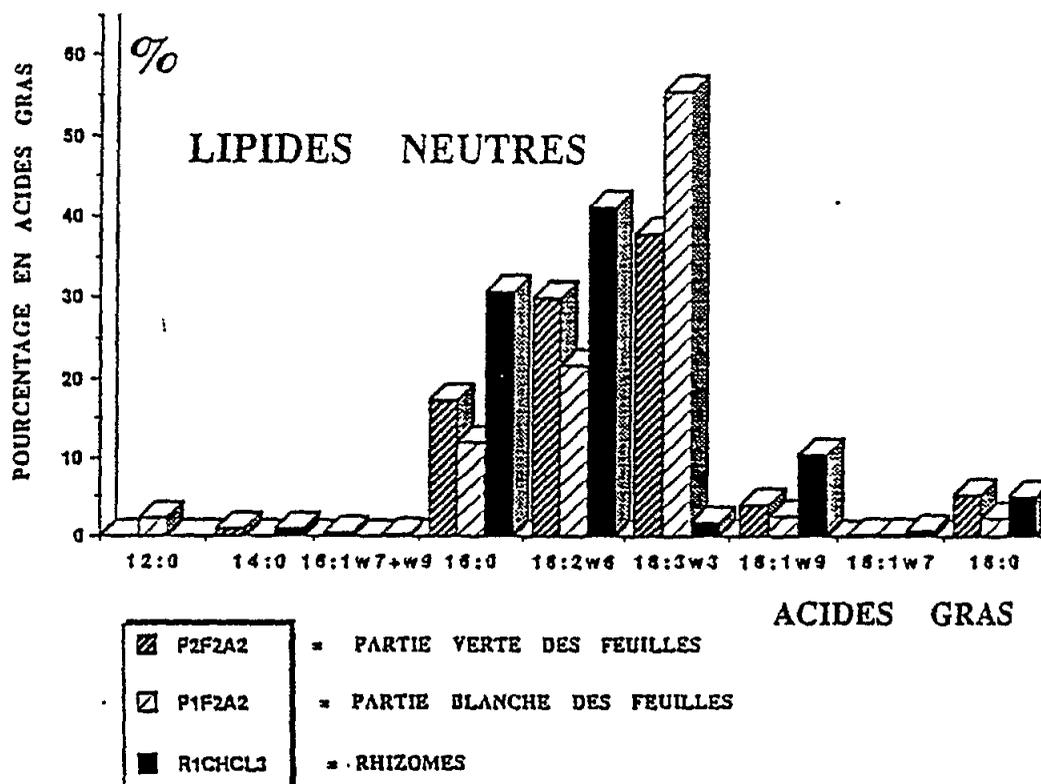


Fig. 4 Composition et pourcentage en acides gras des phospholipides de *Posidonia oceanica*

Tableau 4

Activité antibactérienne et antifongique des extraits aqueux de Posidonia oceanica récoltée en Grèce.

Partie de la plante Localité	Feuilles Extrémité				Feuilles Base				Rhizomes				Chloramphénicol µg/disque	
	Athènes		Sounion		Athènes		Sounion		Athènes		Sounion			
Ortho-Plagio Echantillons	O 1	P 2	O 3	P 4	O 5	P 6	O 7	P 8	O 9	P 10	O 11	P 12	8	4
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	8	10	8	10	0	0	0	0	2	3	3	2	/	/
<u>Staphylococcus aureus</u>	±	±	±	±	3	4	3	4	5	5	5	5	9	6
<u>Micrococcus luteus</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	3	2	/	/
<u>Corynebacterium barkeri</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	±	2	2	2	12	9
<u>Vibrio anguillarum</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	±	±	±	±	/	8
<u>Vibrio alginolyticus</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	11
<u>Microsporium canis</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4	/	/
<u>Trichophyton mentagrophytes</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	5	4	/	/

± activité < 1mm  
/ = test non effectué

L'ensemble des résultats obtenus, après leur analyse statistique, suggèrent les remarques suivantes:

- les extraits (aqueux et lipidiques) provenant des rhizomes sont plus actifs que ceux qui proviennent des feuilles (P=0,001), excepté pour les extraits aqueux des feuilles pigmentées et le test contre Staphylococcus epidermidis (tableaux 4 et 6). Dans la plupart des cas les deux parties des feuilles ont présenté une activité égale.
- les extraits provenant des parties plagiotropes sont souvent plus actifs que ceux des parties orthotropes; cependant ces différences n'étaient pas significatives (P>0,05).

Tableau 5

Activité antibactérienne et antifongique des extraits lipidiques de Posidonia oceanica récoltée en Grèce.

Partie de la plante Localité	Feuilles Extrémité				Feuilles Base				Rhizomes				Chloramphénicol µg/disque	
	Athènes		Sounion		Athènes		Sounion		Athènes		Sounion			
Ortho-Plagio Echantillons	O 1	P 2	O 3	P 4	O 5	P 6	O 7	P 8	O 9	P 10	O 11	P 12	8	4
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	0	0	0	0	0	2	2	2	3	3	4	3	/	/
<u>Staphylococcus aureus</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	7	5
<u>Micrococcus luteus</u>	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
<u>Corynebacterium barkeri</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	5	6	/	/
<u>Vibrio anguillarum</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/
<u>Vibrio alginolyticus</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/
<u>Microsporium canis</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	4	/	/
<u>Trichophyton mentagrophytes</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	6	1	8	8	/	/

/ = test non effectué

- les différences observées entre les échantillons provenant de zones non polluées (Sounion et Marquet) et ceux provenant de zones polluées (Athènes et Villefranche) n'étaient également significatives, sauf dans le cas de M. luteus dans les extraits aqueux et de S. epidermidis dans les extraits lipidiques (P=0,01 et P=0,04 respectivement).
- les activités antibactériennes et antifongiques des échantillons de posidonies varient sensiblement selon le lieu de prélèvement; généralement, elles sont plus faibles dans les échantillons récoltés en Grèce que dans ceux récoltés en France.

Tableau 6

Activité antibiotique et antifongique des extraits aqueux de Posidonia oceanica récoltée en France.

Partie de la plante Localité	Feuilles Extrémité				Feuilles Base				Rhizomes			
	Marquet		Villefr		Marquet		Villefr		Marquet		Villefr	
Ortho-Plagio Echantillons	O 13	P 14	O 19	P 20	O 15	P 16	O 21	P 22	O 17	P 18	O 23	P 24
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	8	12	7	10	2	5	10	12	7	10	3	6
<u>Staphylococcus aureus</u>	2	2	3	3	4	3	5	5	12	13	9	9
<u>Micrococcus luteus</u>	0	0	2	2	0	0	4	6	10	12	9	9
<u>Corynebacterium barkeri</u>	0	0	2	2	1	1	3	3	5	7	2	5
<u>Microsporium canis</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	8	10	7	8
<u>Trichophyton mentagrophytes</u>	0	0	0	0	3	3	0	4	8	10	7	8

#### 4. CONCLUSION

Le degré de la pollution n'a pas influencé la contenance en lipides des divers tissus de P. oceanica. Les échantillons collectés dans deux pays, la France et la Grèce, n'ont pas présenté de différences lipidiques.

Les parties non pigmentées (pétioles) des feuilles contiennent trois fois plus de lipides que les rhizomes ou les parties pigmentées (limbes). Les différences observées entre les échantillons orthotropes et plagiotropes ne sont pas statistiquement significatives.

En ce qui concerne la composition en acides gras des feuilles et des rhizomes, on peut observer que les acides gras 16:1 $\omega$ 7 et 18:1 $\omega$ 9 (acides gras de la série 9) dominent par rapport aux autres acides monoènes. Cette prédominance, caractéristique des plantes supérieures terrestres, se retrouve donc bien dans l'Angiosperme marine P. oceanica.

Cette étude a mis en évidence une grande analogie dans la composition en glycolipides et en phospholipides des Posidonies de France et de Grèce. Les échantillons des limbes, sont riches en glycolipides, lesquels interviennent dans la photosynthèse, et les pétioles et les rhizomes ont la même composition, présentant une teneur importante en phospholipides.

Tableau 7

Activité antibactérienne et antifongique des extraits lipidiques de Posidonia oceanica récoltée en France.

Partie de la plante Localité	Feuilles Extrémité				Feuilles Base				Rhizomes			
	Marquet	Villefr	Marquet	Villefr	Marquet	Villefr	Marquet	Villefr	Marquet	Villefr	Marquet	Villefr
Ortho-Plagio Echantillons	O 13	P 14	O 19	P 20	O 15	P 16	O 21	P 22	O 17	P 18	O 23	P 24
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	0	5	0	0	0	5	0	0	2	5	1	1
<u>Staphylococcus aureus</u>	0	2	0	0	0	2	0	0	2	2	1	1
<u>Micrococcus luteus</u>	0	0	0	0	0	1	0	0	2	2	2	2
<u>Corynebacterium barkeri</u>	0	0	0	0	0	2	0	0	4	4	4	4
<u>Microsporium canis</u>	0	0	0	0	0	2	0	0	4	5	4	4
<u>Trichophyton mentagrophytes</u>	0	0	0	0	1	0	0	0	6	6	6	6

En ce qui concerne l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de P. oceanica on constate que: a) les extraits (aqueux et lipidiques) provenant des rhizomes sont généralement plus actifs que ceux qui proviennent des feuilles. Dans la plupart des cas, les deux parties des feuilles ont présenté une activité égale; b) les extraits provenant des parties plagiotropes sont souvent plus actifs que ceux des parties orthotropes, cependant ces différences n'étaient pas significatives; c) les différences observées entre les échantillons provenant de zones non polluées et ceux provenant de zones polluées n'étaient également pas significatives, sauf dans le cas de M. luteus (dans les extraits aqueux) et de S. epidermidis (dans les extraits lipidiques); d) l'activité antibactérienne et antifongique des échantillons de posidonies ne semble pas être influencée par la pollution, mais varie sensiblement selon la région géographique.

## 5. REMERCIEMENTS

Nous remercions la FAO et le Plan d'action pour la Méditerranée (PNUE) pour l'aide financière accordée à ce travail dans le cadre du projet FRA/41-I.

## 6. REFERENCES

- Arnoux, A. et H. Chamley (1974), Minéraux des argiles et détergents des eaux interstitielles dans les sédiments superficiels du Golfe du Lion. C.R.Acad.Sci.Paris, 278, Ser.D: pp.999-1002
- Augier, H. et M. Santimone (1982), Studies on ash, carbon, hydrogen, nitrogen, proteins and amino-acids composition of the marine phanerogram Posidonia oceanica Delile, in various ecological conditions. Acta Oecol., Oecol.Plant., 3:203-218
- Augier, H., C. Ronneau, R. Lion et O. Charlent (1991), Neutron - activation analysis of the elementary composition of the marine phanerogram Posidonia oceanica from a reference area in Port Cros National Park (French Mediterranean). Mar.Biol., 109:345-353
- Bernard, P. et R. Clement (1983), Bringing into evidence antibiotic substances from Posidonia oceanica. Rev.Int.Oceanogr.Med., 70/71:33-37
- Bernard, P. et D. Pesando (1989), Antibacterial and antifungal activity of extracts from the rhizomes of the Mediterranean seagrass Posidonia oceanica (L.) Delile. Bot.Mar., 32:85-88
- Bligh, E.G. et W.J. Dyer (1959), A rapid method of total lipid extraction and purification. Can.J.Biochem.Physiol., 37:911-917
- Cariello, L. et L. Zanetti (1979), Effect of Posidonia oceanica extracts on the growth of Staphylococcus aureus. Bot.Mar., 22:129-131
- Giraud, G. (1979), Sur une méthode de mesure et de comptage des structures foliaires de Posidonia oceanica (L.) Delile. Bull.Mus.Hist. Nat.Marseille, 39:33-39
- Grauby, A., H. Augier, R. Lion et O. Charlent (1991), Neutron activation analysis of element composition in a marine Phanerogame, P. oceanica (L.) Delile: A biological indicator of pollution. Environ.Exp.Bot., 31:255-265
- Iatrides, M.C., J. Artaud et N. Vicente (1983), Sterol composition of Mediterranean marine plants. Oceanol.Acta, 6(1):73-77
- McMillan, C. (1984), The condensed tannins (proanthocyanidins) in seagrasses. Aquat.Bot., 20:351-357
- Molinier, R. et M. Pelegrini (1966), Contribution to the chemical study of marine phanerogams. Amino-acids composition of P. oceanica (L.) Delile leaves. Med.Trop., 26(4):1-15
- Nickols, P.D., D.W. Klumpp et R.B. Johns (1982), Lipid components of the seagrasses P. australis and Heterosostera tasmanica as indicators of carbon source. Phytochemistry, 21(7):1613-1621

Pérès, J.M. (1977), Utilité et importance de l'herbier de Posidonies en Méditerranée. Bull.Off.Pech.Tunisie, 1(1):3-8

Pérès, J.M. et J. Picard (1975), Causes de la raréfaction et de la disparition des herbiers de Posidonia oceanica sur les côtes de France. Aquat.Bot., 1:133-139

THE COMPOSITION AND DIVERSITY OF PLANKTONIC LARVAL DECAPODA  
OFF THE MEDITERRANEAN COAST OF ISRAEL

by

Bella GALIL

Israel Oceanographic and Limnological Research  
P.O. Box 8030, Haifa 31080, Israel

ABSTRACT

Sixty-six taxa of larval Decapoda and Stomatopoda were identified from 125 plankton samples collected in Israeli coastal waters at ten locations from Nahariya to Ashkelon, from 1961 to 1988. A maximum of 32 taxa were taken in a single tow. The composition, relative abundance, diversity and distribution of the decapod larvae were analyzed.

Biomass was dominated by the holoplanktonic Lucifer typus, Callianassa spp., Penaeus spp., Charybdis longicollis, Leptochela spp. and the large larvae of the stomatopod Oratosquilla massavensis. The decapod larvae relative abundance in the coastal plankton biomass was assessed. Analysis of seasonality patterns of abundance indicated that the summer months are the richest period. Analysis did not reveal distinct relationships to environmental variables or ecological gradients. Cluster analysis indicated a weak, seasonal community structure and a clear ecological barrier between the shelf larval associations and the deeper water associations.

The information gathered is essential to forming a scientific platform encompassing the crustacean characteristics of the zooplankton off the Mediterranean Israeli coast. These data may provide a baseline for examination of the effects of environmental factors on composition, diversity and distribution on planktonic assemblages and permit qualitative comparisons with planktonic fauna of other areas of the Mediterranean.

## 1. INTRODUCTION

Among marine biota, the zooplankton plays an important role in the food web and as such has important applications in marine waste disposal management since whole communities are directly dependent on the plankton biomass as a source of food and may eventually enter the marine food products of man.

Crustaceans are important members of marine zooplankton communities. Meroplanktonic larvae are the young stages in the life cycle of crustaceans that inhabit bottom habitats as adults, and are characteristic of the Decapoda. The larvae fulfil a significant role in the dispersal and distribution of the species, the species genetic variability, yearly fluctuations in the adult population size, and the structure and diversity of the planktonic community.

The decapod fauna of the western and central regions of the Mediterranean is well

known (Zariquiey-Alvarez, 1968), whereas the Levantine Basin fauna is still insufficiently investigated. Only rather recently - within the last three decades - has research of the Israeli coast been promoted. Ecological and faunistic surveys of benthic communities inhabiting the continental shelf have been conducted and the composition and distribution of the decapod fauna investigated (Holthuis and Gottlieb, 1958; Lewinsohn and Holthuis, 1964; Galil and Lewinsohn, 1981). The understanding of the composition and distribution of the benthic decapods is instrumental in the analysis of larval planktonic populations. However, studies concerning the decapod larvae, describing their temporal and spatial distribution and their abundance are wanting.

Although in the biogeographical sense the decapod fauna off the Israeli coast forms a part of the Mediterranean, it is an impoverished fauna with a characteristic Indo-Pacific immigrant element. Dynamic changes are taking place in the composition of the decapod communities in the Levantine Basin (Por, 1978).

The decapod larvae of the western and central Mediterranean have been under investigation for most of the century (Boraschi, 1921; Heegard, 1953; Kurian, 1956; Bourdillon-Casanova, 1960; Pike and Williamson, 1960a, 1960b; Vives, 1966; Seridji, 1968, 1971; Fuste, 1982). In the eastern Mediterranean studies of decapod larvae were carried out in the Bay of Izmir, Turkey (Ozel, 1978, 1979, 1984; Ozel and Mavili, 1990) and in Lebanese waters (Lakkis and Zeidane, 1988a, 1988b). The decapod larvae of the Suez Canal were described in the pioneering work of Gurney (1927). Planktonic studies off the Israeli coast were concerned mainly with microplankton (Kimor and Berdugo, 1967; Berdugo and Kimor, 1968; Kimor and Wood, 1975; Pasteur *et al.*, 1976). Williamson's work (1967), on a collection of planktonic decapod and stomatopod larvae, based on material collected in the mid-fifties, was for over two decades the sole source of reference for the Israeli coast.

The purpose of the present study is the assembly of basic data on decapod larvae off the Israeli Mediterranean coast, the examination and comparison of their species composition, abundance and distribution and the changes that occurred through analysis of the larval decapod fraction in the macrozooplankton.

## 2. EQUIPMENT AND METHODS

The study began with the assembly and classification of the extant planktonic collections in Tel Aviv University and the Oceanographic and Limnological Research Institute, Haifa. These extensive collections include hundreds of samples collected since the early sixties off the Israeli Mediterranean coast and northern Sinai and whose decapod larval segment has not been worked on.

One hundred twenty five plankton samples collected between the years 1961-1988, along the Israeli coast at ten locations from Nahariya to Ashkelon (Fig. 1), at different seasons, during both daytime and nighttime were analyzed. The zooplankton samples were collected by a standard plankton net, its opening measuring 45 cm across, length 2 m and mesh size 300  $\mu$ m. The hauls were taken horizontally, just below sea surface and lasted 10 minutes each at 2-3 knots ship speed. The samples were preserved aboard ship in 4 % buffered formalin.

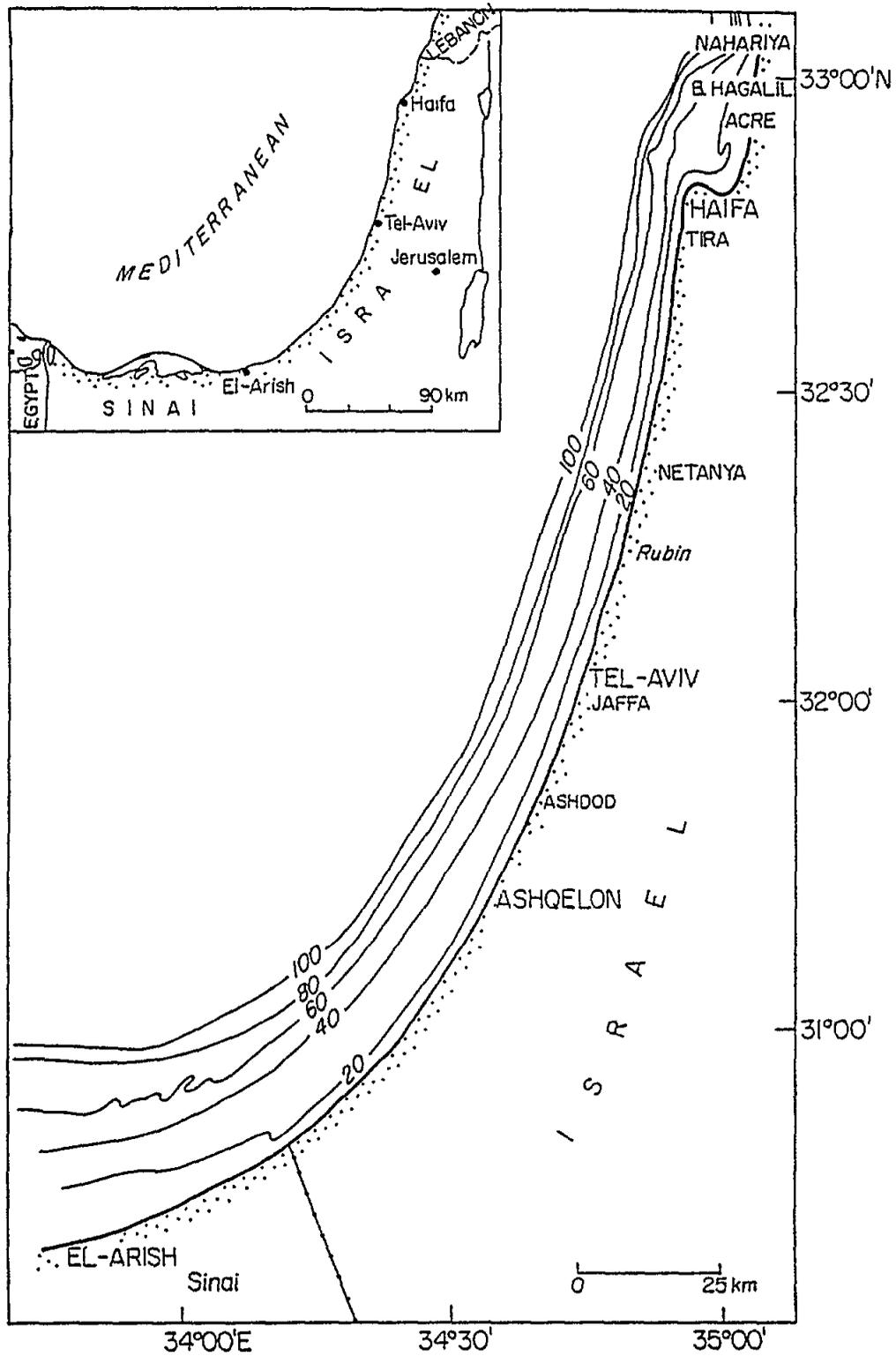


Fig. 1 Sampling locations

For the plankton samples the following data was assembled: date, sampling hour and bottom depth (fm), total sedimentation volume and decapod fraction sedimentation volume (Table 1).

Biomass is a useful measure of the zooplankton standing crop. Though carbon measurement is the most fundamental method, the destructive technique required could not be employed with this unique zooplankton collection, which should be preserved for future studies. Instead, we chose sedimentation volume as a relative measure of biomass, a non destructive method, since the organisms can still be identified when resuspended (Wiebe *et al.*, 1975). Sample sedimentation volume was calculated after removal of the larger gelatinous organisms. The determination of the decapod larvae volume was an indirect measurement based on the difference in the volume of the whole sample and that of the sample after separation of the larval decapod and stomatopod portion. This procedure was applied in order to keep the handling of the plankton itself to a minimum.

Information on planktonic populations is composed of species - sites tables, from which relationships and structures of marine planktonic communities are deduced. For generating the similarity matrix for comparison between samples  $\gamma$  transformation is first utilized and then the Bray-Curtis coefficients are computed. For generating the dendrograms (the hierarchical agglomerative clustering), the group-average method was used. For generating the similarity matrix for comparison between species, presence/absence data was utilized and Bray-Curtis coefficients (also called Sorensen coefficient in this case). For generating the dendrograms the group-average method was used.

## 2.1 Description of the area studied

The continental shelf of Israel is partitioned into two provinces. The southern province, occupying the coast to Mount Carmel, is distinguished by smooth submarine topography and a wide shelf (Emery and Bendor, 1960). The northern province is characterized by a narrow shelf ending abruptly at a depth of 90-110 m. The lower parts of the continental shelf are covered with fine grained silty-clay.

The Levant basin has been long considered an extremely oligotrophic sea. The nitrate concentration off the Israeli coast is less than 1  $\mu\text{M}$ . (Krom *et al.*, 1991). As a result, the planktonic biomass is very poor. Azov (1986) measured an annual average of 0.34  $\text{mg m}^{-3}$  chlorophyll in waters 30 m deep off Haifa Bay, and an annual mean chlorophyll content 10 kms offshore of 0.14  $\text{mg m}^{-3}$  with a minimum of 0.03  $\text{mg m}^{-3}$  in early summer.

The prevailing current along the Israeli Mediterranean coast runs parallel to the shore, approximately from south to north (Emery and Bendor, 1960). Oren and Komarovsky (1961) measured an average current speed of 10  $\text{cm sec}^{-1}$  opposite Ashdod, but currents of up to 50  $\text{cm sec}^{-1}$  were measured off the Israeli coast by Emery and Neev (1960). In addition, there are weaker currents the speed and direction of which are wind dependent.

Table 1

Plankton samples data: place, depth (fm), hour, date, total sedimentation volume (TSV), decapod fraction sedimentation volume (DFSV).

Place	Depth(fm)	Hour	Date	TSV	DFSV
Nahariya	75	17	2 Mar 62	8.0	0.1
Nahariya	25	17	6 Jun 62	20.0	7.4
Nahariya	10	15	22 Jul 62	5.0	0.3
Nahariya	25	17	22 Jul 62	5.7	0.3
Nahariya	25	12	6 Sep 62	2.2	0.2
Nahariya	75	17	1 Oct 62	6.5	0.2
Nahariya	25	15	1 Oct 62	6.0	0.5
Nahariya	10	14	1 Oct 62	5.8	0.4
Nahariya	75	7	1 Nov 62	4.5	0.1
Nahariya	75	18	2 Mar 64	3.5	0.1
Nahariya	20	18	19 Dec 65	9.5	0.1
Nahariya	20	17	19 Dec 65	3.6	0.1
Nahariya	70	21	19 Dec 65	3.7	0.3
Nahariya	70	20	19 Dec 65	8.4	0.1
B.Hagalil	10	17	7 Nov 73	7.6	2.8
B.Hagalil	25	17	26 Dec 73	23.0	3.8
Acre	24	20	13 Aug 72	9.3	5.2
Acre	0	18	15 Nov 73	18.6	9.9
Acre	10	15	26 Dec 73	3.4	0.2
Acre	7	18	26 Dec 73	2.1	0.2
Acre	25	17	26 Dec 73	1.8	0.1
Haifa Bay	15	21	23 Jul 72	3.1	1.7
Haifa Bay	15	20	7 Jun 73	4.1	1.7
Haifa Bay	15	17	15 Nov 73	25.0	23.1
Haifa Bay	15	18	15 Nov 73	22.0	19.0
Tira	75	3	2 Mar 62	3.8	0.1
Tira	75	13	6 Apr 62	5.5	0.1
Tira	10	4	6 Apr 62	2.5	0.3
Tira	50	9	6 Apr 62	5.0	0.1
Tira	75	1	24 Apr 62	4.3	0.1
Tira	25	22	6 May 62	6.5	3.8
Tira	30	21	6 May 62	12.0	4.1
Tira	10	23	6 May 62	5.5	4.6
Tira	10	17	23 Jul 62	5.5	2.7
Tira	10	18	23 Jul 62	4.3	3.7
Tira	56	12	23 Jul 62	4.1	0.4

Table 1 (cont.)

Place	Depth(fm)	Hour	Date	TSV	DFSV
Tira	75	20	4 Sep 62	3.1	2.1
Tira	10	17	5 Sep 62	1.5	0.3
Tira	25	15	5 Sep 62	2.2	0.2
Tira	75	14	5 Sep 62	2.0	0.1
Tira	25	14	14 Sep 62	2.2	0.3
Tira	75	18	14 Sep 62	6.1	1.9
Tira	10	6	14 Sep 62	5.0	0.6
Tira	10	7	14 Sep 62	3.3	0.3
Tira	10	18	2 Oct 62	10.0	1.1
Tira	25	7	31 Oct 62	3.0	0.3
Tira	54	18	31 Oct 62	5.0	1.4
Tira	10	8	31 Oct 62	4.0	0.6
Tira	25	21	25 Dec 62	10.0	2.1
Tira	50	20	25 Dec 62	9.0	1.4
Tira	25	4	17 Nov 63	9.3	8.8
Tira	60	19	10 May 66	10.3	0.3
Netanya	25	13	6 Apr 62	3.7	0.1
Netanya	75	18	6 Apr 62	3.5	0.2
Netanya	10	20	6 Apr 62	2.7	1.9
Netanya	75	21	10 Jul 62	5.5	0.3
Netanya	75	21	10 Jul 62	3.6	2.2
Netanya	10	18	10 Jul 62	3.8	2.3
Netanya	75	21	10 Jul 62	8.5	2.3
Netanya	25	19	10 Jul 62	7.5	3.3
Netanya	10	18	10 Jul 62	3.4	2.1
Netanya	75	10	5 Sep 62	1.2	0.1
Netanya	5	7	14 Sep 62	5.1	1.3
Netanya	15	10	14 Sep 62	4.0	0.3
Netanya	75	8	15 Sep 62	2.5	0.1
Netanya	75	8	15 Sep 62	2.7	0.1
Netanya	15	8	28 Oct 62	5.5	0.5
Netanya	25	13	29 Oct 62	3.0	0.1
Netanya	25	17	13 Apr 66	20.3	1.2
Netanya	70	19	13 Apr 66	8.1	0.4
Netanya	70	19	13 Apr 66	17.9	0.3
Netanya	75	17	9 Aug 67	3.7	0.4
Rubin	45	7	2 Feb 61	70.0	3.2
Rubin	10	18	7 Apr 62	11.5	0.9
Rubin	22	9	8 Apr 62	5.4	0.1

Table 1 (cont.)

Place	Depth(fm)	Hour	Date	TSV	DFSV
Rubin	10	11	4 Jun 62	5.0	0.6
Rubin	75	14	4 Jun 62	5.1	0.1
Rubin	10	17	0 Jul 62	2.1	0.2
Rubin	25	8	11 Jul 62	3.7	2.1
Rubin	75	5	11 Jul 62	4.5	0.4
Rubin	75	13	4 Sep 62	3.0	0.3
Rubin	25	6	4 Sep 62	2.5	0.4
Rubin	25	10	4 Sep 62	1.7	0.2
Rubin	10	9	4 Sep 62	3.6	0.2
Rubin	20	0	14 Sep 62	6.2	4.4
Rubin	10	9	29 Oct 62	9.7	0.4
Rubin	10	20	27 Oct 62	3.0	2.7
Rubin	75	17	27 Oct 62	7.5	0.5
Rubin	25	18	27 Oct 62	14.0	2.8
Rubin	25	22	20 Dec 65	29.7	0.4
Rubin	75	20	20 Dec 65	11.4	0.2
Rubin	20	20	27 Feb 87	5.4	0.3
Rubin	20	21	27 Feb 87	4.9	0.3
Rubin	20	19	28 Feb 87	4.5	0.2
Rubin	20	20	28 Feb 87	4.4	0.2
Rubin	20	20	17 Sep 87	7.6	0.5
Rubin	20	21	17 Sep 87	6.9	0.4
Rubin	20	20	18 Sep 87	7.5	0.5
Rubin	20	21	18 Sep 87	8.4	0.5
Rubin	20	20	27 May 88	7.6	2.1
Rubin	20	21	27 May 88	7.3	2.3
Rubin	20	20	28 May 88	6.7	2.0
Rubin	20	21	28 May 88	6.5	1.8
Rubin	20	20	20 Oct 88	11.7	8.7
Rubin	20	21	20 Oct 88	14.4	9.9
Rubin	20	20	21 Oct 88	12.8	9.1
Rubin	20	21	21 Oct 88	15.8	13.7
Jaffa	10	13	7 Apr 62	19.0	0.2
Jaffa	25	12	4 Jun 62	3.0	0.2
Jaffa	10	0	7 Jun 62	7.5	5.5
Jaffa	25	22	14 Apr 64	3.1	0.3
Jaffa	10	21	14 Apr 64	10.0	1.4
Jaffa	25	22	14 Apr 64	11.5	1.6
Jaffa	10	21	14 Apr 64	6.5	1.6
Jaffa	10	21	14 Apr 64	6.6	0.8

Table 1 (cont.)

Place	Depth(fm)	Hour	Date	TSV	DFSV
Ashdod	40	18	16 Jun 64	2.0	1.7
Ashkelon	10	9	1 Feb 61	110.0	8.7
Ashkelon	10	18	4 Feb 62	20.0	5.6
Ashkelon	26	0	28 Feb 62	8.0	4.4
Ashkelon	75	9	7 Apr 62	4.4	0.1
Ashkelon	10	5	4 Jun 62	38.0	9.8
Ashkelon	10	5	4 Jun 62	27.0	11.2
Ashkelon	25	6	4 Jun 62	2.0	0.2
Ashkelon	75	8	4 Jun 62	1.0	0.1
Ashkelon	75	11	11 Jul 62	1.5	0.2

Liebman (1935) was the first to record seasonal variations in temperature along the Israeli Mediterranean coast. The maximum average monthly surface temperature of 29.4EC was measured in August and the average monthly minimum of 16.6EC in February. The lowest temperature of 15.4EC was recorded at the end of January.

Hydrological measurements have been recorded since 1947 (Oren, 1970). The lowest temperatures were measured in March, the average surface minimum being 17.1EC. Isothermic conditions prevail, during winter, on the continental shelf to a depth of 125 m, with a thermocline in deeper waters. In April, surface waters warm up and in May the thermocline is present at 20-25 m. In the summer the thermocline descends to 75 m. The temperature difference between sea surface and deeper waters (100 m), is about 6EC in June, 10EC in July, 5EC in November, 3EC in December and none in January. The highest surface temperature is in August with an average of 28.6EC.

Salinity measurements collated from 1947 (Oren, 1970) indicate that the annual 2‰ salinity dip that was caused by the Nile flood has disappeared completely since 1965, and a general trend of increasing salinity has been observed. The average salinity at sea surface varies from 39.3‰ in the summer to 38.8‰ in March, following the winter rains.

### 3. RESULTS

Sixty-six decapod larvae taxa were identified from the samples, of which 17 were identified to generic and 49 to specific level; the identified species and the number of specimens for each one per month are given in Table 2.

#### 3.1 Seasonal variation in the volumetric data

The relative abundance of decapod larvae in the zooplankton biomass was estimated by sedimentation volumes. The total sedimentation volumes and the larval Decapoda sedimentation volumes for all samples are given in Table 1. Decapod larvae constitute a sizable fraction of the macrozooplankton samples examined, measuring up to 90 % of the sample's total volume, though composing in most samples not more than 5 %.

Table 2

List and seasonal distribution and abundance of decapod crustaceans collected off the coast of Israel.

Taxa	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec
<u>Sergestes robustus</u>	0	1	3	6	0	0	0	0	0	0	0	3
<u>Sergestes corniculum</u>	0	0	0	1	3	2	1	0	0	0	5	2
<u>Sergestes sargassi</u>	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Lucifer typus</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	49	292	3628	6
<u>Gennadas elegans</u>	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
<u>Aristeus antennatus</u>	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Aristaeomorpha foliacea</u>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Sicyonia carinata</u>	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0
<u>Penaeus spp.</u>	0	0	0	4	26	8	61	26	11	1	0	0
<u>Parapenaeus longirostris</u>	0	0	0	1	10	20	15	0	3	9	0	0
<u>Penaeus japonicus</u>	0	0	0	0	1	13	49	11	3	0	0	0
<u>Pasiphaea spp.</u>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Leptochela spp.</u>	0	4	4	8	31	15	26	2	28	14	1	12
<u>Penaeus semisulcatus</u>	0	0	0	0	0	0	3	0	5	0	0	0
<u>Stenopus hispidus</u>	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
<u>Brachynotus sexdentatus</u>	0	0	0	1	9	12	3	5	2	0	0	0
<u>Palaemon serratus</u>	0	0	0	3	21	5	0	0	0	0	0	3
<u>Palaemon elegans</u>	0	1	0	18	11	1	0	0	0	0	0	0
<u>Alpheus glaber</u>	0	0	0	8	0	3	4	0	0	5	2	0
<u>Athanas nitescens</u>	0	0	0	3	15	41	17	0	1	13	0	0
<u>Alpheus spp.</u>	0	0	0	6	23	32	4	0	10	10	0	0
<u>Hippolyte spp.</u>	0	0	0	0	9	19	38	12	14	0	0	0
<u>Thorulus cranchii</u>	0	0	0	0	6	4	6	1	6	0	0	0
<u>Processa spp.</u>	0	9	0	20	1	4	7	3	11	2	1	20
<u>Plesionika spp.</u>	0	0	0	5	0	3	2	1	0	0	0	6
<u>Philocheras bispinosus</u>	0	3	0	7	6	0	0	0	0	0	0	0
<u>Pontocaris cataphracta</u>	0	0	0	0	0	2	4	1	8	5	0	0
<u>Stenopus spinosus</u>	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0
<u>Jaxea nocturna</u>	0	1	0	1	5	2	0	0	0	0	0	2
<u>Callinassa spp.</u>	0	204	0	0	2	0	0	0	0	7	0	2
<u>Upogebia spp.</u>	0	0	0	3	3	2	1	1	1	0	0	0
<u>Paguristes oculatus</u>	0	0	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0
<u>Clibanarius erythropus</u>	0	0	0	0	0	0	2	1	3	0	0	0

Table 2 (cont.)

Taxa	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	De c
<u>Calcinus ornatus</u>	0	0	0	0	6	3	0	0	0	1	0	0
<u>Diogenes pugilator</u>	0	1	0	5	4	10	9	0	6	9	0	6
<u>Dardanus arrosor</u>	0	0	0	8	1	0	5	1	0	0	0	0
<u>Liocarcinus pusillus</u>	0	0	0	4	2	0	2	0	0	1	2	0
<u>Liocarcinus depurator</u>	0	0	0	4	1	0	2	0	1	0	0	0
<u>Pagurus spinimanus</u>	0	0	0	4	1	3	0	0	0	0	0	0
<u>Charybdis longicollis</u>	0	0	0	1	12	11	6	0	13	25	5	0
<u>Pagurus prideauxi</u>	0	0	0	4	2	0	1	2	12	0	0	0
<u>Callinectes sapidus</u>	0	0	0	21	1	0	5	0	1	0	0	0
<u>Catapaguroides timidus</u>	0	3	0	7	1	0	0	0	2	0	0	0
<u>Anapagurus laevis</u>	0	0	0	5	2	0	0	0	0	1	0	0
<u>Anapagurus bicorniger</u>	0	0	0	0	0	0	3	2	1	0	0	0
<u>Galathea intermedia</u>	0	0	0	0	17	6	0	0	0	1	0	0
<u>Porcellana platycheles</u>	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Pisidia longicornis</u>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
<u>Goneplax rhomboides</u>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0
<u>Dorippe lanata</u>	0	0	0	0	0	0	4	0	1	3	3	0
<u>Ethusa mascarone</u>	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0
<u>Ebalia granulosa</u>	0	0	0	2	0	2	1	0	0	3	0	0
<u>Ebalia cranchii</u>	0	0	0	4	1	1	0	0	0	0	0	0
<u>Myra fugax</u>	0	0	0	4	10	0	5	0	5	0	0	0
<u>Macropipus spp.</u>	0	0	0	0	0	6	17	1	6	3	0	0
<u>Xantho spp.</u>	0	1	0	8	0	1	6	8	1	0	0	0
<u>Pilumnus spp.</u>	0	0	0	7	0	3	4	2	7	0	0	4
<u>Eriphia spp.</u>	0	0	0	1	4	2	0	0	0	0	0	0
<u>Pachygrapsus spp.</u>	0	0	0	0	3	8	23	0	8	1	0	0
<u>Pisa spp.</u>	0	0	0	1	0	0	7	4	11	0	0	0
<u>Eurynome aspera</u>	0	0	0	7	3	0	0	0	8	0	0	0
<u>Acanthonyx lunulatus</u>	0	0	0	0	2	2	9	1	0	8	0	0
<u>Inachus spp.</u>	0	0	0	1	0	2	9	3	3	1	0	0
<u>Macropodia spp.</u>	0	3	0	0	1	0	11	0	6	0	0	0
<u>Oratosquilla massavensis</u>	0	4	0	0	0	0	11	0	1	8	192	108
<u>Squilla mantis</u>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0

An examination of the sedimentation volumes for each month shows that the highest larval volumes were reached in samples taken during the night, and that the total values vary considerably among sites, stations and years.

Table 2 demonstrates the annual cycle of planktonic larval Decapoda both in abundance and composition. As with the majority of the other components of the zooplankton, decapod larvae are most abundant from late spring to autumn. With one exception, namely the mass appearance of Callianassa spp. in February, the winter months (January, February, March) exhibit the lowest abundance and biomass. The number of species recedes from the summer maxima in October, though biomass remains high due to the mass appearances of Lucifer typus H. Milne Edwards and Oratosquilla massavensis Kossmann.

The contribution of different taxa to the biomass (calculated from sedimentation volume values) varied considerably. The October/November 1962, 1963 and 1973 values were relatively high due to a mass appearance of both larvae and adults of Lucifer typus. The large larvae of Oratosquilla massavensis (Stomatopoda), dominated samples in the December 1962 and November/December 1973 hauls. Larvae of Callianassa spp. contributed to the volume of the February 1961 and 1962 samples. A few more taxa - the penaeids, Leptochela spp., Athanas nitescens (Leach, 1814), Alpheus spp., Hippolyte spp., Processa spp., Charybdis longicollis Leene and Pachygrapsus spp. - constitute most of the larval decapod biomass.

### 3.2 Temporal distribution of decapod larvae and comparison with other regions

#### 3.2.1 Sergestidae

Sergestes robustus (Smith, 1882) was collected off the Israeli coast during the cold months (Dec. - April). It was reported from Spain (Vives, 1966) in February and March, from Marseilles in January (Bourdillon-Casanova, 1960), in the Adriatic from January to June (Kurian, 1956), in Algiers from November to May (Seridji, 1971) and off Lebanon in January and March (Lakkis and Zeidane, 1988b).

S. corniculum (Kroyer, 1855) larvae were collected from April to July whereas Williamson (1967) recorded them in June and November. Kurian (1956) reported them in the Adriatic in September, Seridji (1971) from Algiers throughout the year and Lakkis and Zeidane (1988b) off Lebanon, from March to September.

S. sargassi Ortmann, a rare occurrence, not previously recorded off the Israeli coast, was collected in March and April. Lakkis and Zeidane (1988b) collected it in July and November.

#### 3.2.2 Penaeidae

Gennadas elegans (Smith, 1882) was collected during the winter months, from December to March. Lakkis and Zeidane (1988b) collected it from the adjacent Lebanese coast in January, April and September. Stephenson (1923) commented on larval occurrence from December to June. Kurian (1956) reported the greatest abundance in February and March. Bourdillon-Casanova (1960) collected a few specimens during January. Seridji (1971) reported finding it throughout the year, with a peak during January-April. In Spain, Vives (1966) recorded it during January and February and Fuste (1982) during winter.

Aristeus antennatus (Risso, 1816) was collected off the Israeli coast in March and April, whereas off the Lebanese coast it was found in June and July (Lakkis and Zeidane, 1988b). Seridji (1971) also reported few, rare specimens in March and April.

Two specimens of Aristeomorpha foliacea (Risso, 1827) were collected in April. Lakkis and Zeidane (1988b) recorded them in May, June and July off the Lebanese coast whereas Kurian (1956) recorded a single specimen in December in the Adriatic.

Sicyonia carinata (Brunnich, 1768), a rare species, was collected in April and July. Off the Lebanese coast it was found in May and June (Lakkis and Zeidane, 1988b). In the Adriatic, a single specimen was collected in August (Kurian, 1956), and off Spain in July (Vives, 1966).

Parapenaeus longirostris (Lucas, 1846) was commonly found from April to October, similarly Lakkis and Zeidane (1988b) collected it in February, May and November.

Penaeus japonicus (Bate, 1888), a lessepsian migrant, was found to occur from May to September, peaking in July. Off the Lebanese coast it was recorded during June, July and September (Lakkis and Zeidane, 1988b).

P. semisulcatus (De Haan, 1844), another lessepsian migrant, was collected off the Israeli coast during July and September; off Lebanon it was found during June and July (Lakkis and Zeidane, 1988b).

### 3.2.3 Pasiphaeidae

Leptochela sp., probably L. pugnax (De Man, 1916), is amply represented throughout the year, with greatest abundance during summer. Lakkis and Zeidane (1988b) too, recorded it throughout the year. Williamson (1967) found the last zoeal stage in April.

### 3.2.4 Palaemonidae

Palaemon serratus (Pennant, 1777), was found off the Israeli coast in April, May, June and December, in Marseilles throughout the year (Bourdillon-Casanova, 1960) and in the Adriatic in June and July (Kurian, 1956).

Palaemon elegans (Rathke, 1837), occurred from February to June, peaking in April; Williamson (1967) found it in May. Lakkis and Zeidane (1988b) recorded it during March, June and December. In Algiers (Seridji, 1971) it was found in January, March and August.

### 3.2.5 Alpheidae

Athanas nitescens (Leach, 1814) was collected off the Israeli coast from April to October; Williamson (1967) found the last zoeal stage in July. It was found off Lebanon from March to September (Lakkis and Zeidane, 1988b), off Marseilles from June to January (Bourdillon-Casanova, 1960), in the Adriatic from June to November (Kurian, 1956), in Algiers from May to October (Seridji, 1971) and in Spain from May to January (Vives, 1966) or, according to Fuste (1982) throughout the year excluding November.

Alpheus glaber (Olivi, 1792), was collected off the Israeli coast during April, June, July, October and November, off Lebanon, in January, May, June, July, September and November (Lakkis and Zeidane, 1988b), in the Adriatic, throughout the year with maxima in December and

July (Kurian, 1956), similarly off Marseilles, Spain and Algiers, with a single peak in summer (Bourdillon-Casanova, 1960; Vives, 1966; Seridji, 1971).

### 3.2.6 Hippolytidae

Thoralus cranchii (Leach, 1817) was found during late spring and summer, from May to September. Off Lebanon it was collected from May to August (Lakkis and Zeidane, 1988b). In the Adriatic, off Marseilles and Algiers it is found throughout the year (Kurian, 1956; Bourdillon-Casanova, 1960; Seridji, 1971).

### 3.2.7 Crangonidae

Philocheras bispinosus (Westwood, 1835) appeared off the Israeli coast in February, April and May; off Lebanon from March to September (Lakkis and Zeidane, 1988b), off Algiers in April, May, October and November (Seridji, 1971), off Spain in March and August (Fuste, 1982) or, according to Vives (1966), in August and November. In the Adriatic and Marseilles it was reported throughout the year (Kurian, 1956; Bourdillon-Casanova, 1960).

Pontocaris cataphracta (Olivi, 1792) specimens were collected in May and July, and, according to Williamson (1967), in October. Lakkis and Zeidane (1988b) found it in May, June, July and November. In Marseilles it occurs from August to November (Bourdillon-Casanova, 1960), off Algiers in October (Seridji, 1971) and off Spain in July, August and September (Fuste, 1982) or, according to Vives (1966), July.

### 3.2.8 Laomedidae

Jaxea nocturna (Nardo, 1847) was collected off the Israeli coast in December, February, April, May and June. Lakkis and Zeidane (1988b) found it during March and April, Bourdillon-Casanova (1960) from May to June, Kurian (1956) from April to September, Seridji (1971) during April, June and August, Fuste (1982) and Vives (1966) from May to September and Ozel (1982), from March to May.

### 3.2.9 Paguridae

Paguristes oculatus (Fabricius, 1775) was collected off the Israeli coast in April, May and June. Off Turkey (Ozel, 1982) it was collected in May, June and July.

Clibanarius erythropus (Latreille, 1818) was found in July, August and September while Lakkis and Zeidane (1988b) collected it in May, June, August, October and November. Ozel (1982) found it in May, June and July and in Algiers and Marseilles (Bourdillon-Casanova, 1960; Seridji, 1971) it was found in the summer.

Calcinus ornatus (Roux, 1830) occurred in May, June and October off the Israeli coast, from April to September off Lebanon (Lakkis and Zeidane, 1988b), in June off Turkey (Ozel, 1982), in June to September off Algiers (Seridji, 1971), August to September off Marseilles (Bourdillon-Casanova, 1960) and July to September off Spain (Vives, 1966).

Diogenes pugilator (Roux, 1829) was found off the Israeli coast most of the year, peaking during June and July. A similar picture was obtained off Lebanon (Lakkis and Zeidane, 1988b). Off Turkey it appeared from April to October (Ozel, 1982), off Marseilles from May to November (Bourdillon-Casanova, 1960), off Algiers from March to November (Seridji, 1971), off Spain mostly in summer (Vives, 1966) with few specimens present in the plankton in February and March (Fuste, 1982).

Dardanus arrosor (Herbst, 1796) was found in April, May, July and August off Israel, in May and September off Lebanon (Lakkis and Zeidane, 1988b), June - September off Algiers (Seridji, 1971) and end of summer in Marseilles (Bourdillon-Casanova, 1960).

Pagurus spinimanus (Lucas, 1846), occurred from April to June off Israel.

Pagurus prideauxi (Leach, 1815) appeared off Israel in April, May, July, August and September and off Spain and Algiers all the year round (Fuste, 1982; Seridji, 1971).

Catapaguroides timidus (Roux, 1830) occurred off Israel in February, April, May and September, all year round off Lebanon (Lakkis and Zeidane, 1988b), during March-June and October-December in Turkey (Ozel, 1982) and May, October and November in Algiers (Seridji, 1971).

Anapagurus laevis (Bell, 1846) was found off the Israeli coast in April, May and October, off Turkey in January, February, May and June (Ozel, 1982) and off Spain and Marseilles all year round (Bourdillon-Casanova, 1960; Fuste, 1982).

Anapagurus bicorniger (A. Milne Edwards and Bouvier, 1892) was collected off the Israeli coast during July, August and September and off Turkey from January to June (Ozel, 1982).

### 3.2.10 Galatheidae

Galathea intermedia (Lilljeborg, 1851) occurred in May and June with a single appearance in October. Lakkis and Zeidane (1988b) collected it off Lebanon from March to July, Ozel (1982) found it off Izmir from January to May and September-October. In the Adriatic, off Marseilles and Algiers it is found all year round peaking in May-September, March-June and June-July respectively (Kurian, 1956; Bourdillon-Casanova, 1960; Seridji, 1971). Off Spain it is frequent between May and October (Fuste, 1982).

### 3.2.11 Porcellanidae

Porcellana platycheles (Pennant, 1777) occurred in February, off Lebanon during January, April and May (Lakkis and Zeidane, 1988b), off Izmir in February and April (Ozel, 1982), off Marseilles from March to December (Bourdillon-Casanova, 1960), off Algiers in March, April, September and October (Seridji, 1971) and off Spain from January to October (Fuste, 1982).

Pisidia longicornis (Linne, 1767) was collected in July and August. Off Algiers it was recorded in spring and early summer (Seridji, 1971), off Spain in summer (Fuste, 1982) and in

the Adriatic in May, August and November to January (Kurian, 1956).

### 3.2.12 Dorippidae

Medorippe lanata (Linne, 1767) was collected off Israel in July and September to November, off Lebanon in June and July (Lakkis and Zeidane, 1988b), off Algiers in August (Seridji, 1971) and off Marseilles in November-December (Bourdillon-Casanova, 1960).

Ethusa mascarone (Herbst, 1785) was collected during May and June. Williamson (1967) reported the last zoeal stage in May. Off Lebanon it occurred from April to July (Lakkis and Zeidane, 1988b), in the Aegean Sea in April to October (Ozel and Mavili, 1990), in the Adriatic from May to November (Kurian, 1956), off Marseilles from June to December (Bourdillon-Casanova, 1960), off Algiers during June-July (Seridji, 1971) and off Spain during May-July and September-November (Vives, 1966).

### 3.2.13 Leucosiidae

Ebalia granulosa (H. Milne Edwards, 1837) was taken in April, June, July and October.

Ebalia cranchii (Leach, 1817) was collected from April to June. Off Lebanon it occurred from April to August (Lakkis and Zeidane, 1988b), in the Adriatic and off Marseilles it is found all year round (Kurian, 1956; Bourdillon-Casanova, 1960) and off Spain it was collected in June, July, August and November (Vives, 1966).

Myra fugax (Fabricius, 1798) occurred in April, May, July and September. Williamson (1967) tentatively assigned his larvae EM22 to Myra fugax and recorded its presence during July-October.

### 3.2.14 Portunidae

Charybdis longicollis (Leene, 1938) was quite common off the Israeli coast from April to November. Williamson (1967) tentatively assigned his larva EM15 as belonging to the genus and recorded its presence in September.

Callinectes sapidus (Rathbun, 1896) was collected off the Israeli coast in April, May, July and September. Williamson (1967) reported it in April, July, September and November.

### 3.2.15 Goneplacidae

Goneplax rhomboides (Linne, 1758) was collected during August and October whereas Lakkis and Zeidane (1988b) reported it off Lebanon, in March and June. In the Adriatic it was reported from December to April (Kurian, 1956). Off Marseilles it was found all year round with maxima in November-March and June-August (Bourdillon-Casanova, 1960), similarly, off Spain it has two maxima, in December-March and September-October (Fuste, 1982). Off Algiers it is found all year round peaking between October and January (Seridji, 1971).

### 3.2.16 Grapsidae

Brachynotus sexdentatus (Risso, 1827) occurred from April to September. Williamson (1967) suggested his EM20 larvae, collected in July, to belong to that species. Lakkis and Zeidane (1988b) recorded it off Lebanon from March to September. Off Marseilles it occurred from May to November (Bourdillon-Casanova, 1960) and off Spain in June (Vives, 1966).

### 3.2.17 Majidae

Eurynome aspera (Pennant, 1777) was collected in April, March and September. Lakkis and Zeidane (1988b) found it in May while off Spain and Marseilles it was recorded nearly all year round (Bourdillon-Casanova, 1960; Vives, 1966).

Acanthonyx lunulatus (Risso, 1816) was collected off Israel from late spring to early fall, similarly, off Lebanon it was found from May to September (Lakkis and Zeidane, 1988b). Williamson (1967) tentatively identified his larvae EM23, collected in May, with this species. Off Marseilles it was found from June to November (Bourdillon-Casanova, 1960) and off Algiers in April and July to September (Seridji, 1971).

### 3.2.18 Stomatopoda

Squilla mantis (Linne, 1758) was collected in July and November. Williamson (1967) reported its presence off the Israeli coast in September. Lakkis and Zeidane (1988b) reported it off Lebanon from April to July, September and December.

Oratosquilla massavensis (Kossmann, 1880) was collected in February, July, September to December, peaking in October and November. Williamson (1967) recorded it in February, September to November.

## 3.3 Similarity analysis between samples

Using all 125 samples, a dendrogram of similarity among samples was erected (Fig. 2). Analysis of the groupings shows close resemblance of consecutive hauls taken at a location. On a larger scale, the deep water hauls, taken where the water depth was 75 fm, are distinctly separated from the rest. The deep water group (A) is the only one to be primarily characterized by depth rather than seasonality.

Group B consists of the winter (February) samples, characterized primarily by season over depth (distance from shore) and location.

Group C consists of the fall samples taken in September to November. The group demonstrates quite clearly that apart from season, site location, rather than depth, is the important factor.

Group D consists mostly of the summer samples, from May to September, where sample pairs taken successively at a site, are close together.

Group E consists mainly of the spring (April) samples. Again, sample pairs taken successively at a site are placed close together, such as the Tira and Jaffa samples.

Nahana 70n 20 17/12/55  
Nahana 73m 7 1/11/62  
Ruben 73m 14 4/6/62  
Tira 50m 12 23/5/62  
B Hagada 10m 17 7/11/73  
B Hagada 25m 17 26/12/73  
Tira 25m 21 25/12/62  
Ruben 25m 9 6/4/62  
Tira 10m 4 6/4/62  
Tira 30m 9 6/4/62  
Jaffa 25m 22 14/4/64  
Jaffa 30m 21 14/4/64  
Jaffa 10m 21 14/4/64  
Nahana 10m 20 6/4/62  
Ruben 10m 18 7/4/62  
Jaffa 10m 21 14/4/64  
Jaffa 25m 22 14/4/64  
Jaffa 10m 13 7/4/62  
Nahana 25m 13 6/4/62  
Acra 7m 18 26/12/73  
Ruben 20m 20 27/5/62  
Acra 25m 17 26/12/73  
Acra 10m 15 26/12/73  
Ruben 25m 10 4/9/62  
Ruben 10m 17 6/7/62  
Ruben 10m 9 6/5/62  
Tira 10m 13 6/9/62  
Haifa Bay 15m 20 7/6/73  
Nahana 10m 18 10/7/62  
Ruben 20m 0 14/9/62  
Nahana 25m 19 10/7/62  
Acra 24m 20 13/8/73  
Haifa Bay 15m 21 23/7/72  
Nahana 10m 15 23/7/62  
Ruben 20m 20 28/5/62  
Nahana 25m 17 13/4/64  
Nahana 25m 17 6/6/62  
Tira 60m 19 10/5/62  
Ruben 20m 21 13/9/62  
Ruben 20m 21 28/5/62  
Ruben 25m 8 11/7/62  
Ruben 20m 20 27/5/62  
Ruben 20m 21 17/9/62  
Ruben 10m 11 4/6/62  
Ruben 20m 21 27/5/62  
Tira 10m 23 6/5/62  
Tira 30m 21 6/5/62  
Tira 25m 22 6/5/62  
Ashdod 40m 18 16/6/64  
Jaffa 10m 0 7/6/62  
Tira 10m 18 23/7/62  
Tira 10m 17 23/7/62  
Jaffa 25m 12 4/6/62  
Ashdod 10m 3 4/6/62  
Ashdod 10m 5 4/6/62  
Nahana 10m 18 10/7/62  
Ashdod 25m 6 4/6/62  
Nahana 25m 17 23/7/62  
Tira 5m 7 14/9/62  
Tira 10m 7 14/9/62  
Tira 10m 6 4/9/62  
Tira 25m 15 3/9/62  
Nahana 25m 12 6/9/62  
Ruben 25m 6 4/9/62  
Tira 25m 14 14/9/62  
Ruben 20m 20 18/9/62  
Haifa Bay 15m 18 15/11/73  
Haifa Bay 15m 17 15/11/73  
Tira 25m 4 17/11/63  
Acra 0m 18 15/11/73  
Ruben 20m 20 21/10/62  
Ruben 20m 21 22/10/62  
Ruben 20m 21 21/10/62  
Ruben 20m 20 20/10/62  
Ruben 10m 20 27/12/64  
Tira 34m 18 31/10/62  
Tira 10m 18 27/10/62  
Nahana 25m 13 29/10/62  
Nahana 25m 15 1/10/62  
Ruben 25m 18 27/12/64  
Tira 25m 7 31/10/62  
Tira 10m 8 31/10/62  
Nahana 10m 14 1/10/62  
Nahana 15m 8 28/9/62  
Ruben 10m 9 29/10/62  
Ashdod 10m 18 4/2/62  
Ashdod 10m 9 1/2/62  
Ruben 45m 7 2/2/62  
Ashdod 20m 0 20/2/62  
Ruben 20m 21 27/5/62  
Ruben 20m 20 26/2/62  
Nahana 73m 21 10/7/62  
Nahana 73m 21 10/7/62  
Nahana 73m 17 9/8/67  
Nahana 13m 10 14/9/62  
Ruben 20m 19 28/2/67  
Nahana 20m 17 19/12/65  
Nahana 20m 18 19/12/65  
Ruben 25m 22 20/12/65  
Ruben 73m 3 11/7/62  
Nahana 73m 21 10/7/62  
Ashdod 73m 11 11/7/62  
Tira 73m 1 24/4/62  
Ashdod 73m 8 4/6/62  
Ruben 73m 17 27/10/64  
Ruben 20m 20 17/9/67  
Tira 73m 14 6/9/62  
Ruben 73m 13 4/9/62  
Tira 73m 20 4/9/62  
Tira 73m 18 14/9/62  
Nahana 73m 8 15/9/62  
Nahana 73m 8 13/9/62  
Nahana 73m 10 6/9/62  
Ruben 73m 20 20/12/65  
Nahana 73m 17 1/10/62  
Ashdod 73m 9 7/4/62  
Tira 50m 20 23/12/62  
Nahana 73m 17 2/3/62  
Tira 73m 3 2/3/62  
Nahana 73m 18 2/3/64  
Nahana 70m 21 19/12/65  
Nahana 73m 18 6/4/62  
Nahana 70m 19 13/4/64  
Tira 73m 13 6/4/62

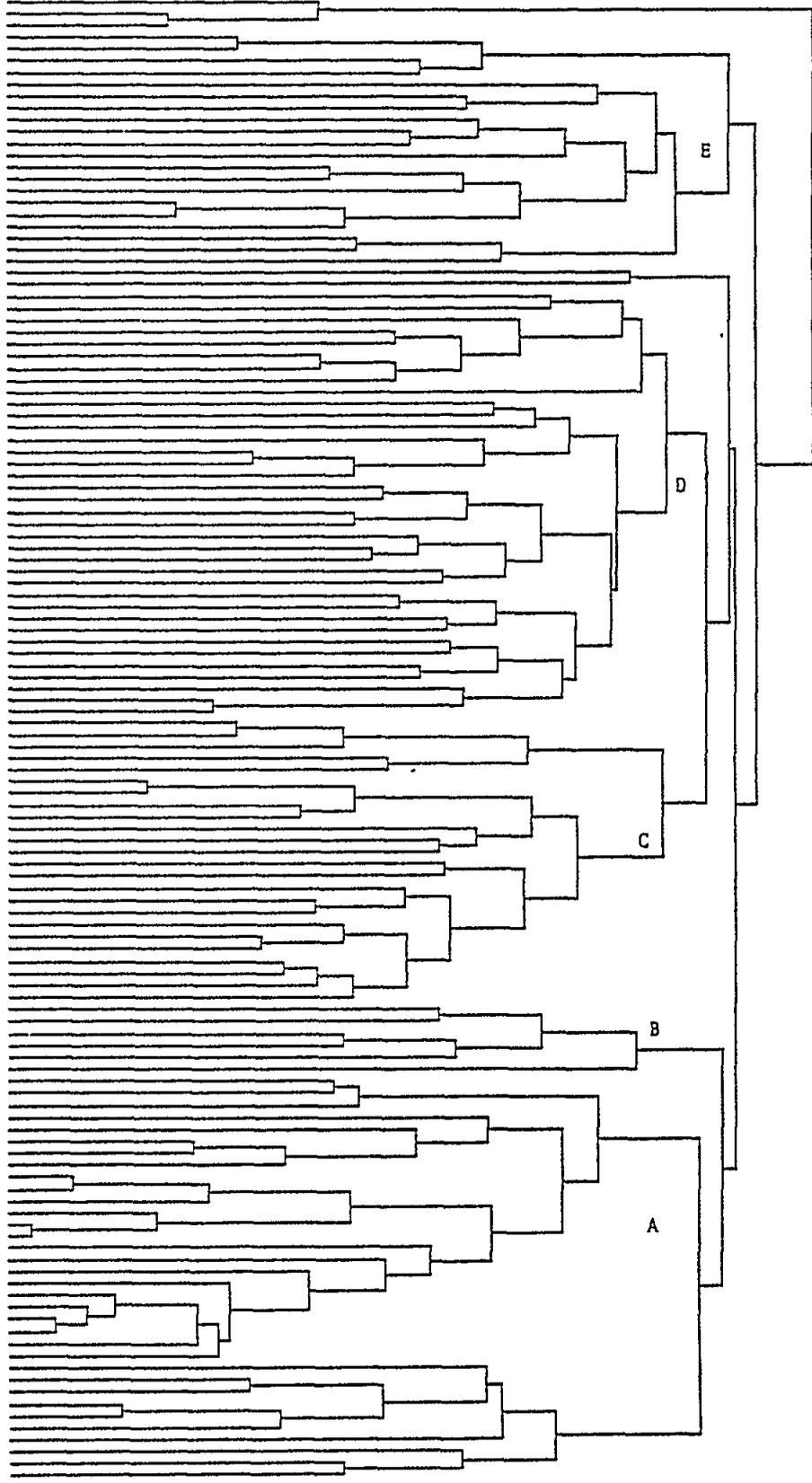


Fig. 2 A dendrogram of similarity among samples

#### 4. DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Seasonal distribution, hence biological cycles, differ among the 66 decapod larvae, mostly meroplanktonic, surveyed. One can distinguish quite clearly forms that are most abundant in the cold winter months, Callianassa spp. and the lessepsian stomatopod Oratosquilla massavensis; forms that are most abundant in Spring, Palaemon serratus and P. elegans, Philocheras bispinocus, Paguristes oculatus and Eriphia spp.; in Summer, P. japonicus, Hippolyte spp., Macropipus spp., Pachygrapsus spp. and Inachus spp.; and in Fall: Lucifer typus and Dorippe lanata. There are some species the larvae of which appear both in Spring and Fall like Sergestes corniculum and Alpheus glaber, and those which are found from Spring through Fall like Penaeus spp., Leptochela spp., Alpheus spp., Processa spp. and Charybdis longicollis with seasonal fluctuations of abundance. However, regardless of season the near-shore larval associations are distinct from the deep water (75 fm) ones. The single most abundant species was the holoplanktonic Lucifer typus.

The bigger part of the decapod crustaceans planktonic larvae collected off the Israeli coast are subtropical - temperate East Atlantic elements, though an Indo-Pacific element is present due to the surge of Eritrean colonists migrating through the Suez Canal - the most significant biogeographical event taking place in the Levant basin. Decapods are prominent among the new arrivals, and to date, 31 species found off the Israeli Mediterranean coast are considered to have come from the Red Sea (Galil, 1990).

Planktonic larvae capable of passing through the Canal encounter a double obstacle: one of topographical nature, as the very shallow depth of the Gulf of Suez and the Canal constitute a barrier for all but epipelagic forms; a second one of hydrological nature, the difference in salinity between the Gulf of Suez and the Bitter lakes and the outlet of the Canal into the Mediterranean in the area of the Nile outflow. But, this barrier is diminishing: the salinity of the Bitter lakes is progressively decreasing and the Aswan Dam maintains a relative constant degree of salinity at Port Said. Thus, the chances of larval decapods from the Red Sea entering the Mediterranean have improved.

Regardless whether the decapod colonist arrived as a larvae or an adult, our plankton samples document their faunistic importance. Oratosquilla massavensis, a colonizing stomatopod, dominated the November-December samples. Charybdis longicollis larvae, whose adults are found in large numbers on sandy-mud bottoms at 25-60 m, were ubiquitous from April to November. Leptochella pugnax larvae, another migrant, were collected nearly all year round, with greatest abundance observed during summer. Of the eight penaeid prawn species found sublittorally off the Israeli coast, six are lessepsian migrants. Penaeus japonicus adults are found in great numbers on sandy-muddy bottoms at 15-40 m and larvae were abundantly found during the summer. Of the Penaeus spp. larvae, ubiquitous from May to September, many belong to the migrant species. Of the seven members of the genus Alpheus found off the Israeli coast, five are lessepsian migrants, and they, no doubt, constitute a part of the unidentified Alpheus larvae.

The larval contingent of successful colonists demonstrates that the tropical species have indeed assimilated within the local fauna.

The above study was but a preliminary and severely limited one. In order to acquaint ourselves with the subject, further research is required into decapod larval systematics and ecology.

## 5. REFERENCES

- Azov, Y. (1986), Seasonal patterns of phytoplankton productivity and abundance in nearshore oligotrophic waters of the Levant Basin (Mediterranean). J.Plankton Res., 8(1):41-53
- Berdugo, V. and B. Kimor (1968), Considerations on the distribution of pelagic copepods in the eastern Mediterranean. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 19(3):447-448
- Boraschi, L. (1921), Osservazione sulle larve dei Crostacei Brachiuri e Anomuri. Mem.Com.Tallasogr.Ital., 87:1-32, pl.1,2
- Bourdillon-Casanova, L. (1960), La meroplancton du Golfe de Marseille: les larves de crustacés décapodes. Rec.Trav.Sta.Mar.Endoume, 18(30):1-286
- Emery, K.O. and Y.K. Bendor (1960), The continental shelf of Israel. Bull.Sea Fish.Res.Stn Haifa, 28:25-40
- Emery, K.O. and D. Neev (1960), Mediterranean beaches of Israel. Bull.Sea Fish.Res.Stn Haifa, 28:1-24
- Fuste, X. (1982), Ciclo annual de las larvas de Crustaceos Decapodos de la costa de Barcelona. Inv.Pesq., 46(2):287-303
- Galil, B.S. and Ch. Lewinsohn (1981), Macrobenthic communities of the eastern Mediterranean continental shelf. Mar.Ecol., 2(4):343-352, figs 1-5
- Galil, B.S. (1990), Eritrean decapods in the Levant - Biogeography in motion. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 32(1):316
- Gurney, R. (1927), Zoological results of the Cambridge Expedition to Suez Canal. Report on the larvae of the Crustacea Decapoda. Trans.Zool. Soc.London, 22:231-286
- Heegard, P. (1953), Decapod larvae from the Gulf of Napoli, hatched in captivity. Vidensk.Medd.dansk.naturh.Foren., 125:449-493
- Holthuis, L.B. and E. Gottlieb (1958), An annotated list of the decapod Crustacea of the Mediterranean coast of Israel, with an appendix listing the Decapoda of the eastern Mediterranean. Bull.Res.Coun.Israel, 78(1,2):1-126, pls 1-3
- Kimor, B. and V. Berdugo (1967), Cruise to the Eastern Mediterranean, CYPRUS 03. Plankton reports. Bull.Sea Fish.Res.Stn Haifa, 45:6-31
- Kimor, B. and E.J.F. Wood (1975), A plankton study in the eastern Mediterranean Sea. Mar.Biol., 29(4):321-333

- Krom, M.D., S. Brenner, L. Israilov and B. Krungalz (1991), Dissolved nutrients, performed nutrients and calculated elemental ratios in the South-East Mediterranean Sea. Oceanol.Acta, 14:189-194
- Kurian, C.V. (1956), Larvae of decapod Crustacea from the Adriatic Sea. Acta Adriatica, 6(3):1-108
- Lakkis, S. and R. Zeidane (1988a). Le meroplankton des eaux Libanaises: larves de Crustacés Décapodes. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 31(2):238
- Lakkis, S. and R. Zeidane (1988b), Larves de Crustacés Décapodes des eaux côtières Libanaises: composition, diversité et cycle annuel. Lebanese Sci.Bull., 4(2):5-33
- Lewinsohn, Ch. and L.B. Holthuis (1964), New records of decapod Crustacea from the Mediterranean coast of Israel and the eastern Mediterranean. Zool.Meded., 40:45-63
- Liebman, E. (1935), Oceanographic observations on the Palestine coast. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 9:181-185
- Oren, O.H. and B. Komarovskiy (1961), The influence of the Nile flood on the shore waters of Israel. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 16:655-659
- Oren, O.H. (1970), Seasonal changes in the physical and chemical characteristics and the production in the low trophic level of the Mediterranean waters off Israel. Sea Fish.Res.Stn Haifa, Special publication, 238 p.
- Ozel, I. (1978), Anomuran larvae (Decapoda, Crustacea) in plankton collections from cruises in the Gulf of Izmir, Aegean coast of Turkey. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 25/26(8):147-148
- Ozel, I. (1979), The effects of pollution on the distribution of macrura, Reptantia and Anomuran (Decapoda, Crustacea) larvae from the meroplankton of Izmir Bay. Tujj.B.Bult., 11:67-70
- Ozel, I. (1982), Investigation on the macrura Reptantia and Anomuran larvae (Crustacea, decapoda) collected from the plankton of Izmir Bay. Ph.D. Thesis, 37 p.
- Ozel, I. (1984), The meroplankton of Izmir Bay: The Macrura Reptantia (Decapoda, Crustacea) larvae. Biol.Gallo-Hell., 12:1
- Ozel, I. and S. Mavili (1990), Distribution of the zoea larvae of Ethusa mascarone (Herbst, 1782) (Brachyura, Decapoda) in the Aegean sea. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 31(1):224
- Pasteur, R., V. Berdugo and B. Kimor (1976), The abundance, composition and seasonal distribution of epizooplankton in coastal and offshore waters of the eastern Mediterranean. Acta Adriatica, 18:55-79
- Pike, R.B. and D.I. Williamson (1960a), Larvae of decapod Crustacea of the families Diogenidae and Paguridae from the Bay of Naples. Publ.Staz.Zool.Napoli, 31:493-552

- Pike, R.B. and D.I. Williamson (1960b), Larvae of decapod Crustacea of the families Dromiidae and Homolidae from the Bay of Naples. Publ.Staz. Zool.Napoli, 31:553-563
- Por, F.D. (1978), Lessepsian migration. Ecol.Stud., 23:1-228
- Seridji, R. (1968), Note preliminaire sur la repartition saisonniere des larves de Crustacés Décapodes en Baie d'Alger. Pelagos, 10:91-108
- Seridji, R. (1971), Contribution à l'étude des larves Crustacés Décapodes en Baie d'Alger. Pelagos, 3(2):1-105
- Stephensen, K. (1923), Decapoda Macrura. Rep. Danish Oceanog. Expeds. 1908-1910 to the Mediterranean and adjacent seas. 2:1-85
- Vives, F. (1966), Zooplancton neritico de las aguas de Castellon. Inv.Pesq., 30:49-166
- Williamson, D.I. (1967), On a collection of planktonic Decapoda and stomatopoda (Crustacea) from the Mediterranean coast of Israel. Bull. Sea Fish.Res.Stat.Haifa, 45:32-64
- Wiebe, P.H., S. Boyd and S.L. Cox (1975), Relationships between zooplankton displacement volume, wet weight, dry weight and carbon. FisheryBull., 73(4):777-786
- Zariquiey Alvarez, R. (1968), Crustaceos Decapodos Ibericos. Inv.Pesq., 32:1-510

BIOGEOCHEMICAL CYCLE OF MERCURY SPECIES  
IN THE MARINE ENVIRONMENT

by

M. BRANICA, N. MIKAC and Ž. KWOKAL

Center for Marine Research Zagreb  
"Rudjer Bošković" Institute  
Zagreb, Croatia

ABSTRACT

Mercury distribution in two areas of the Eastern Adriatic was investigated. One area is unpolluted with respect to mercury (Krka river estuary and the Kornati Archipelago) and the other is seriously polluted by mercury from the chlor-alkali plant (Kaštela bay).

Mercury concentrations obtained in different compartments of the Krka river estuary and the Kornati Archipelago were:

- water: 0.4 - 3.0 ng dm<sup>-3</sup>
- sediment fraction <75 μm: 230 - 1500 μg kg<sup>-1</sup> d.w.
- plankton (>20 μm: 6.4 - 12.9 μg kg<sup>-1</sup> w.w.
- mussels: 25 - 40 μg kg<sup>-1</sup> w.w.
- fish: 40 - 760 μg kg<sup>-1</sup> w.w.

The percentages of organic mercury were: 0.5% in sediment; 4-12% in plankton; 15-66% in mussels and 47-90% in fish. Some fish species contained a very high organic mercury level (>0.5 μg kg<sup>-1</sup> w.w.) confirming a successful biomagnification of mercury in this low-mercury environment. A study of the mercury speciation in estuarine water of this stratified estuary showed that in the upper low-salinity water layer the reactive mercury content varied considerably (10-100% of the total mercury) and generally corresponded to the dissolved mercury fraction. Mercury accumulation at the depth of halocline (boundary between the fresh and saline water layers) was observed.

In the Kaštela bay extremely high total mercury concentrations in sediment (200 mg kg<sup>-1</sup> w.w), water (320 μg dm<sup>-3</sup>) and mussels (182 mg kg<sup>-1</sup> w.w) sampled in front of the chlor-alkali plant decreased rapidly with increasing the distance from the pollution source.

From this study, as well as our previous investigation in other coastal zones of the Eastern Adriatic, one can conclude that levels of mercury in the Mediterranean do not essentially differ from the values obtained throughout the world. The elevated mercury levels in some areas (from natural or anthropogenic sources) do not apply for the entire Mediterranean waters.

## 1. INTRODUCTION

A very sensitive method for the determination of mercury (cold vapour atomic absorption spectrophotometry, CVAAS), as well as a sampling method causing no contamination (Kniewald *et al.*, 1987), were applied in order to investigate the levels of mercury

in waters, sediments and organisms from the Adriatic sea. The content of methyl mercury in natural samples was also established by the same method (May et al., 1987), with previous separation of ionic and methyl mercury by ionic exchange.

Investigations of the biogeochemical cycle of mercury in the marine ecosystem were carried out in two selected areas; the first being the Šibenik aquatorium, rather unpolluted so far, including an estuarine environment (the Krka river estuary) and the Kornati Archipelago. The second area chosen was the Kaštela bay, an example of an extremely polluted marine environment, enriched with mercury from a nearby chlor-alkali plant.

A research programme on the mercury cycle in the Eastern Adriatic coastal area was initiated in 1983. The most detailed investigations have been carried out in the Krka river estuary and the Kornati Archipelago. Preliminary results showed relatively low mercury levels in sediments (Martinè et al., 1985; 1986) and mussels, *Mytilus galloprovincialis* (Martinè et al., 1985; 1986) from this area. The mercury levels in estuarine and sea water ( $< 3 \text{ ng l}^{-1}$ ) are comparable with the values found recently in unpolluted coastal areas and open ocean waters (Gill and Fitzegard, 1987). Special attention was paid to the investigation of vertical mercury distribution in this highly stratified estuary, demonstrating an effect of mercury accumulation at the fresh/saline water interface (Kniewald et al., 1987).

The long-term uncontrolled discharge of mercury in the Kaštela bay (since 1949 when the chlor-alkali plant of the PVC factory was set in operation) has resulted in an excess accumulation of this metal in the majority of vital compartments of this aquatic area (Zvonariè et al., 1987). The results obtained (mercury in seawater, sediments, phytoplankton, zooplankton, mussels and some commercial fish species) showed the transfer and bioaccumulation of mercury at different trophic levels in the marine environment (especially in the area near the chlor-alkali plant), indicating a bio-magnification effect of mercury between different levels of the food chain (Mikac and Picer, 1985; Mikac et al., 1985; Zvonariè et al., 1987).

In order to improve the existing knowledge on the mercury cycle in these ecosystems, a study of the level of total and organic mercury in water, sediments and organisms from these areas was carried out. Special attention was paid to mercury distribution and speciation in estuarine water and seawater. In the stratified Krka river estuary these investigations were focused on the study of mercury speciation along the vertical water profile in order to explain the observed mercury maximum at the fresh/saline water interface. In the Kaštela bay the horizontal mercury profile from the source of pollution was investigated so as to elucidate the extent of the pollution.

### 1.1 The Krka river estuary

The Krka river estuary (Fig. 1) is located in the central part of the eastern Adriatic coast near the town of Šibenik and is characterized by a small fresh-water inflow (average  $55 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ ), low tidal range of 20-50 cm, and low terrigenous input (due to a series of travertine barriers that precede the estuary). It belongs to the type of stratified estuary, with a well-defined fresh/saline water interface. The brackish surface current is directed to the sea, whereas the salt water counter current forms a salt wedge towards the waterfalls. The depth of the halocline varies from 0-7 m, depending on the

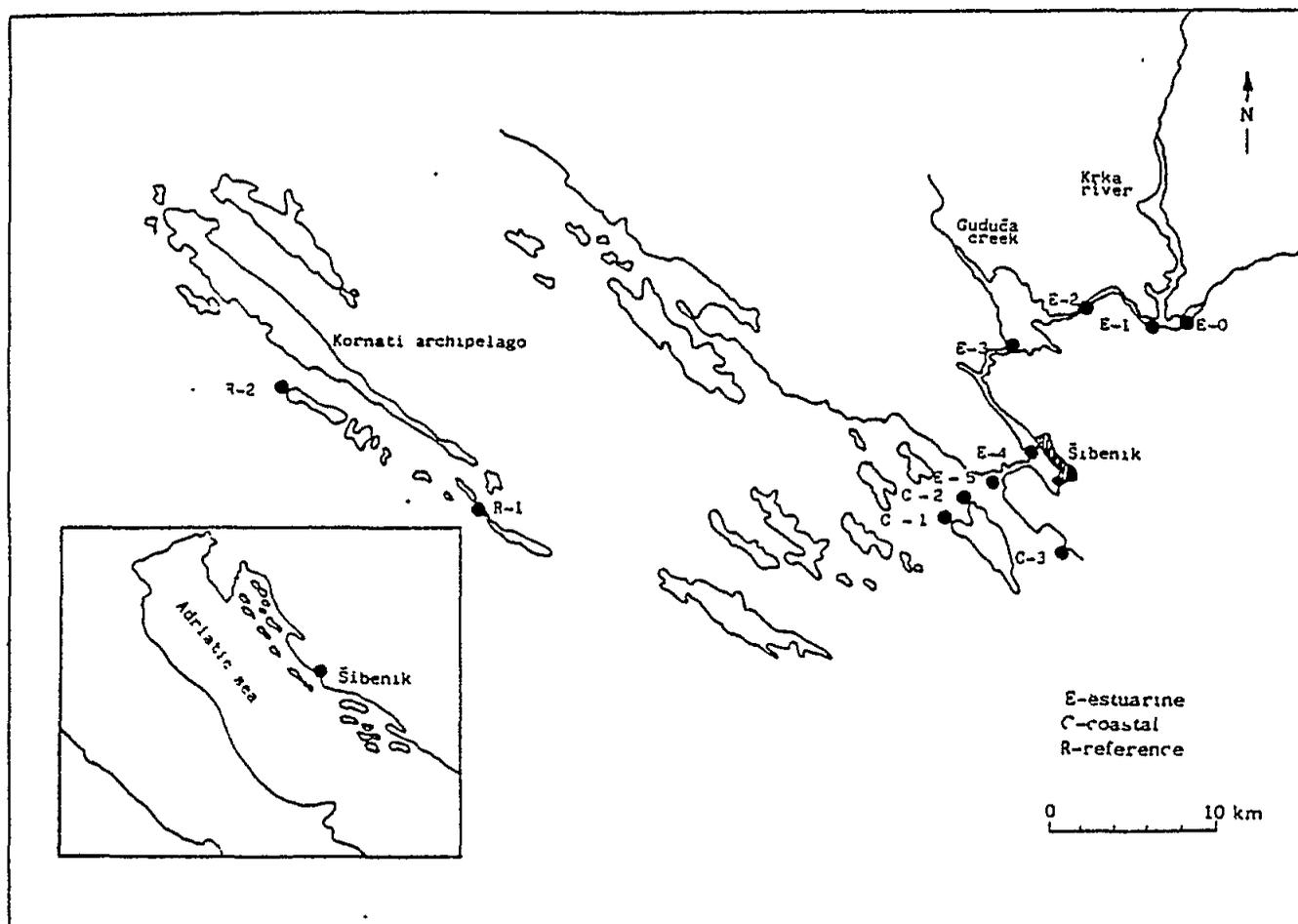


Fig. 1 The Krka river estuary and Kornati Archipelago with sampling stations

fresh water input, which changes considerably within the range of  $15 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  in summer, to  $400 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  in the periods of high precipitation. The most serious anthropogenic input of pollutants is industrial and municipal discharge from the town of Šibenik, located in the lower part of the estuary.

## 1.2 The Kaštela bay

The Kaštela bay is the largest bay in the coastal region of central Dalmatia (Fig. 2). The bottom of the bay is mainly covered with mud and fine sand. The Jadro river with an annual mean drainage of about  $315 \times 10^6 \text{ m}^3$  (about  $10 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  flow) is the main source of fresh water in the bay.

Kaštela bay is an area of relatively high primary production due to agricultural run-off from the fertile fields and the forest of the Split peninsula. Along its coast there are new commercial and industrial ports, cement plants, a chemical plant (PVC factory), shipyards and other factories. The consequences of the deposition of the industrial and municipal waste into

the bay during the last 20 years are increasingly felt. This is especially evident in its eastern, most shallow part which is highly polluted by industrial and domestic waste.

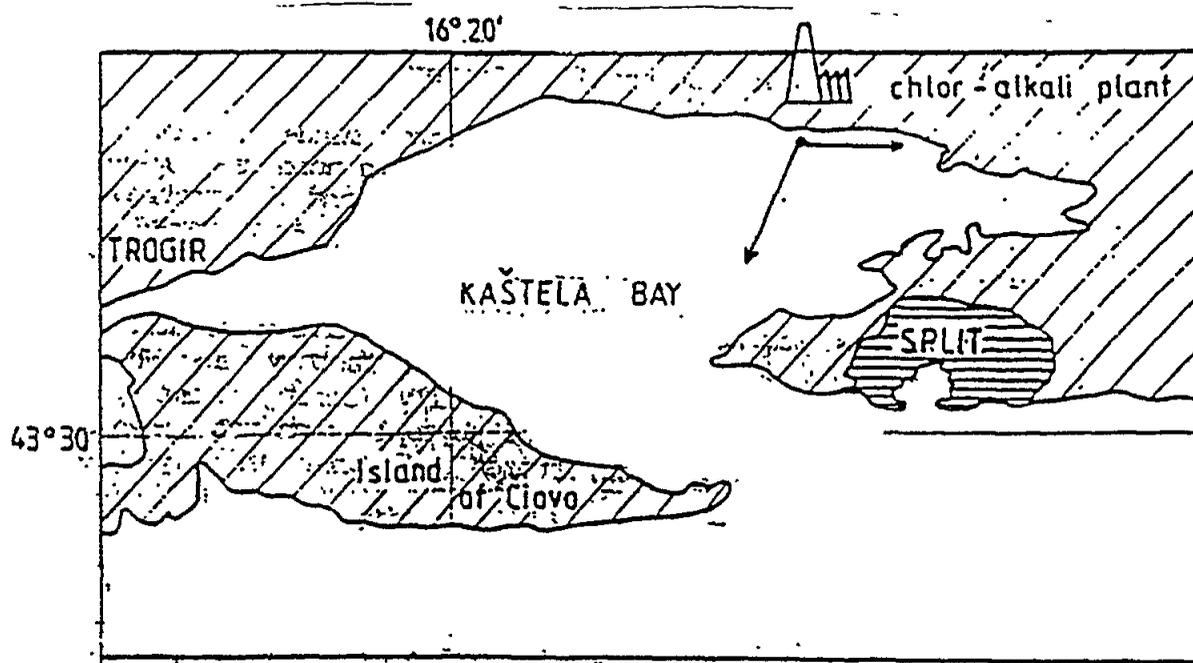


Fig. 2 Kaštela bay with sampling axes

## 2. MATERIALS AND METHODS

Water and sediment samples were taken by scuba diving, which proved to be a very useful sampling technique, particularly for obtaining detailed concentration profiles in the estuarine environment (Kniewald *et al.*, 1987). During sampling, special attention was paid to sample handling to avoid contamination. Water was sampled in glass bottles soaked in clean seawater for 10 days. Sediment was sampled using a plastic tube corer, and analysing the <math>75\ \mu\text{m}</math> fraction from the upper 2 cm layer. Plankton was also sampled by scuba diving using a  $20\ \mu\text{m}$  plankton net at a selected depth. Composite samples of 25 specimens of mussels were used for the determination of mercury. Fish tissues taken from the individual specimens were also analysed.

Mercury in an ionic form was measured using CVAAS, a method developed at the Institute of Applied Physical Chemistry, Nuclear Research Center, Juelich, West Germany (May *et al.*, 1987). Mercury was reduced in the reduction vessel with 10%  $\text{SnCl}_2$  in 20%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  under  $\text{N}_2$  gas flow. The mercury vapour was deposited on gold wool, re-evaporated at the temperature of  $900^\circ\text{C}$  and measured in a quartz cuvette at 253.7 nm. A Perkin Elmer Model 410 AAS was used. The detection limit of this method was  $0.1\ \text{ng l}^{-1}$  for water samples (from 200 ml) and  $0.2\ \mu\text{g kg}^{-1}$  for solid samples (from 1 g). Reproducibility was more than 10%.

In the water samples, total and methyl mercury were measured separately in various subsamples. In the solid samples, ionic and methyl mercury were extracted from the sample by 6 N HCl. The water or the extract

from the solid sample passed through the ionic exchange column pretreated with 6 N HCl. Mercury was measured in the filtrate after UV irradiation for 10 minutes. In solid samples, ionic mercury was eluted from the column with 8N HNO<sub>3</sub> and measured after digestion at 200°C in a closed quartz vessel. For the determination of total mercury, the solid samples were digested with HNO<sub>3</sub> (10% HClO<sub>4</sub> for sediments) and measured using CVAAS.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1 The Krka river estuary

Mercury concentrations were measured seasonally in water, sediment and mussels of the Krka river estuary and the Kornati Archipelago (Mikac *et al.*, 1989). The sampling locations (Fig. 1) were chosen in such a way as to enable monitoring of the key positions in the estuary (from E-0 to E-5), the typical positions in the coastal areas (C-1, C-2) and the reference area (R-1, R-2). Station C-3 was situated in the vicinity of a small-capacity industrial outflow (food and metal industry), in an attempt to establish its impact on the levels of mercury in the surrounding waters.

##### 3.1.1 Mercury in water and sediments

The mercury content of sediments was measured in the silt/clay fraction (<75 µm), in order to reduce the strong grain size influence of sediments in this area, because of their irregular structure. Sedimentological research has shown that the abundance of the fine sediment fraction varies considerably (Prohazek and Juraek 1989; Martiniek *et al.*, 1990) increasing from station E-1 (2-50%) towards the central part (80-95% at stations E-2 and E-3) and decreasing again in the seaward direction (35% at station E-4, and <5% in the coastal area). The longitudinal mercury profile in sediments (Fig. 3) is low at the mouth of the estuary (station E-1) and at the Kornati Archipelago reference station. Accordingly, the mouth of the Krka river is uncontaminated with respect to mercury, which agrees with the lack of natural and anthropogenic sources. Slightly higher concentrations obtained in the central part (stations E-2 and E-3) probably arise from mercury deposits in the terrigenous material brought in by the Guduèa creek. Comparatively high concentrations in the Šibenik bay (E-4) are probably related to sewage dumping by the city of Šibenik and shipping activities which take place in this area. It should also be noted that no maximum in the mercury profile for the total sediment (Fig. 3) could be observed at station E-4. This could be explained by the dilution effect of the coarser carbonate fraction with lower content of mercury. An anomalous situation was observed at station C-3 (in front of the sewage outflow). Despite the low percentage of the fine fraction, typical for the coastal area, the mercury content of this fraction was not as high as it should have been according to the level in the total sediment (Fig. 3). Obviously, mercury in this sediment is also bound to coarser fractions, probably owing to a high quantity of organic material in the discharge from a food industry (Žutiak 1985-1987). The considerable variations in mercury concentrations in sediments obtained during the period investigated show no specific pattern, except at station E-4 (the city of Šibenik), where they increased with time. These variations remain inexplicable at present. They could be conditioned by sampling (variations of mercury concentrations on a local scale, at present unknown), or induced by seasonal changes of the sediment organic matter content or redox potential.

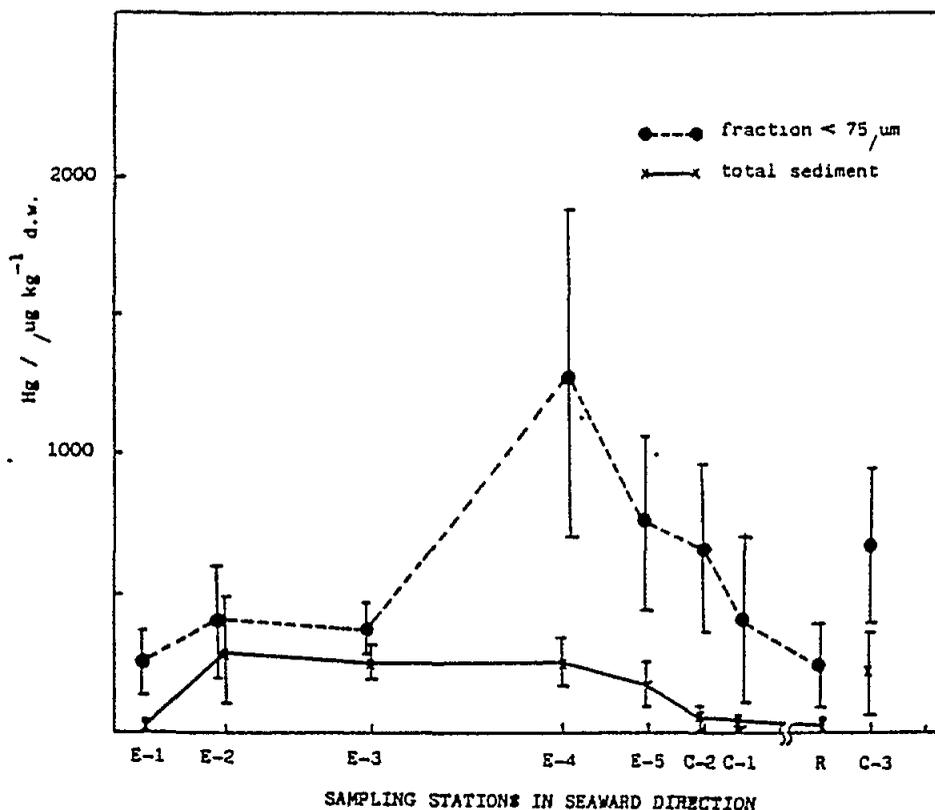


Fig. 3 Longitudinal variations of mercury concentrations in sediment of the Krka river estuary (total sediment data from 1985, fine sediment data from 1986-87), (from Mikac *et al.*, 1989)

In the 1986-87 period only reactive mercury in water was measured. This is the portion of mercury which is readily reducible by  $\text{SnCl}_2$  in acidified water and it is composed of inorganic Hg species and certain mercury associations with organic ligands.

At the estuarine stations, samples were usually collected at two depths: in the upper layer (0.5 m) which is characterized by great seasonal salinity variations ( $S=0-37$ ), and in the deeper (6 m) layer, which has a constant salinity ( $S=35-38$ ).

Considerable differences in the flow of the Krka river estuary between humid and dry periods lead to the appearance of two typical salinity distributions in the upper layer (Žutić, 1985-1987). These distributions, observed during 1986-1987, in winter-spring (river flow  $40-140 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ ) and summer-autumn (river flow  $10-20 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ ), as well as an average turbidity profile, are shown in Fig. 4a. It is obvious that the Krka river estuary is characterized by a very low and fairly constant suspended load. Maxima of average concentrations of the reactive mercury were observable in the Šibenik bay during both periods (Fig. 4b). They could be attributed to the anthropogenic sources of the city of Šibenik. In general, the longitudinal mercury profile in water and sediments shows a similar trend: the same low level at the mouth of the estuary and the Kornati Archipelago reference station, as well as the highest values in the Šibenik bay.

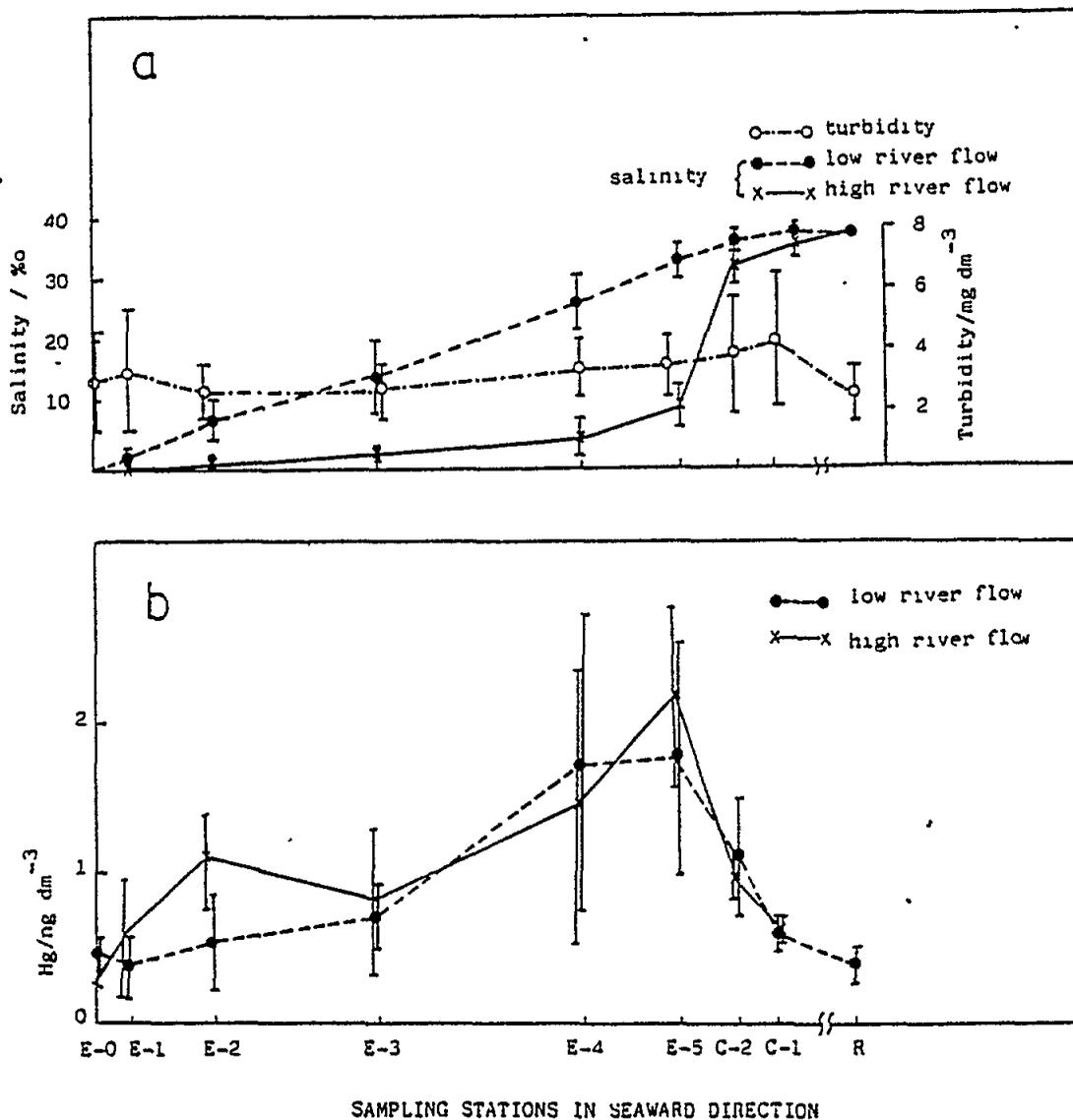


Fig. 4 Longitudinal variations of (a) salinity and turbidity and (b) reactive mercury in surface water layer (0.5m) of the Krka river estuary and the Kornati Archipelago under conditions of high (February-May 1986 and March-May 1987) and low (July-November 1986 and August-November 1987) river flow (from Mikac *et al.*, 1989)

Indeed, the concentrations of mercury in water and sediments show a significant correlation (Fig. 5), both for surface water ( $r=0.676$ ,  $P<0.001$ ) and bottom water ( $r=0.755$ ,  $P<0.02$ ). Station C-3 is again an exception: the highest mercury level in water indicates industrial contamination of surface waters, which is not evident from the concentrations in the silt/clay sediment fractions, for the reasons already discussed.

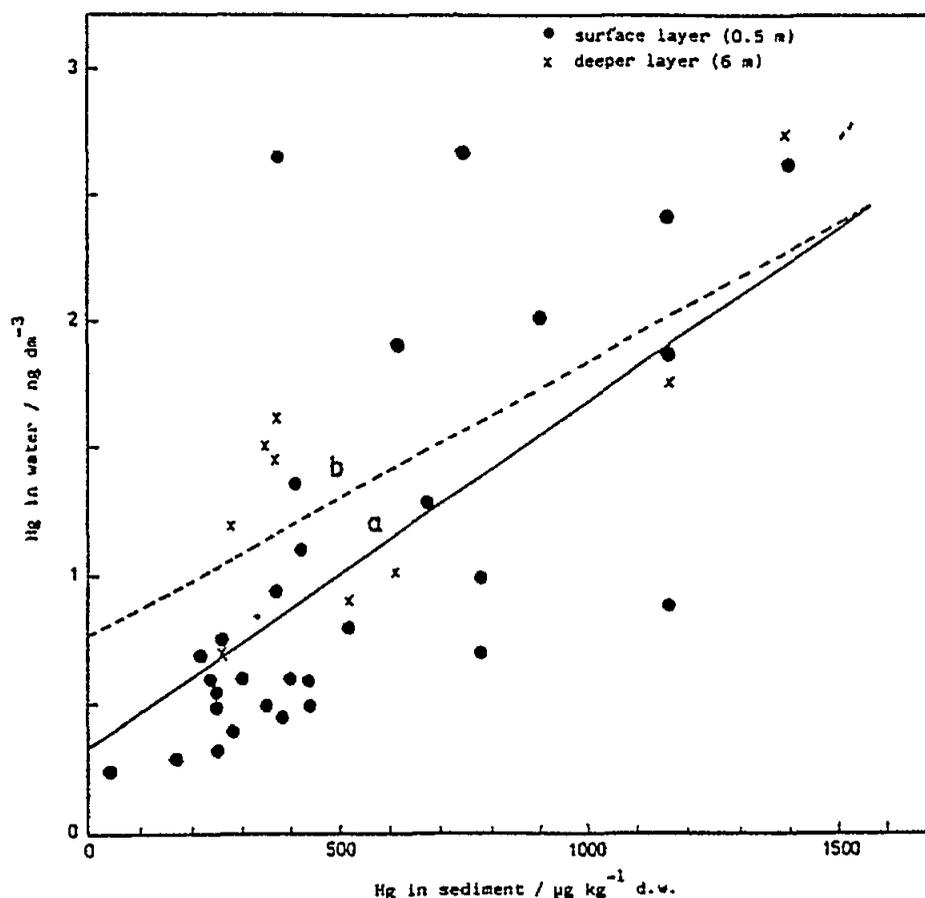


Fig. 5 Relationship between mercury concentration in the fine sediment fraction and reactive mercury in (a) surface water layer and (b) bottom water layer of the Krka river estuary in samples collected in 1986-87 (from Mikac *et al.*, 1989)

As it is well-known that reactive mercury represents only a part of the total Hg in water at lower salinities, a study of mercury speciation in water of this area was initiated in 1988. During 1988 and 1989, the distributions of reactive, total, as well as dissolved and particulate mercury were investigated (Mikac *et al.*, 1990). The procedure used for separation and recognition of different mercury forms in water is illustrated in Fig. 6. Reactive, total (after UV photochemical destruction) and particulate mercury (after acid digestion of filter) were directly measured, whereas organically bound mercury was calculated by difference. Preliminary results of the percentage of reactive mercury in water obtained in May 1988 (Mikac *et al.*, 1989) showed that this percentage was significantly lower in the upper than in the deeper layer. Samples were collected in winter, spring and summer of 1989. Data obtained showed significant variations in the portion of reactive mercury in the surface layer (Fig. 7a). In January 1989, when the river flow was very low, and salinity relatively high, the reactive mercury represented 40-100% of the total. In May 1989, when the river flow was twice as high, the percentage of the reactive mercury was significantly lower (23-50%). In July 1989, when the flow was three times lower than in January, the percentage of reactive mercury decreased to 10-30% of the total.

ANALYTICAL PROCEDURE FOR THE  
DETERMINATION OF VARIOUS MERCURY  
FORMS IN NATURAL WATER SAMPLES

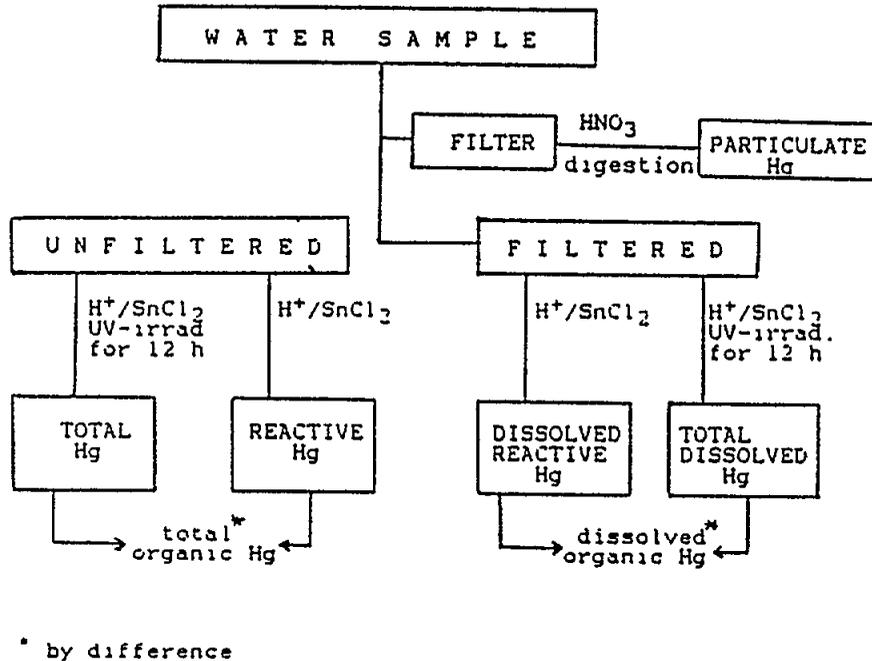


Fig. 6 Analytical procedure for the determination of various mercury forms in natural water samples

However, in the deeper layer with a constant salinity (Fig. 7b) which is not influenced by the Krka river flow, the percentage of the reactive mercury for all sampling periods was rather constant, varying from 60 to 100%.

In general, variations of the total mercury level in these samples were significantly lower than the corresponding reactive mercury values, both in a single sampling period and between different seasons. These variations were also 2-3 times greater in the surface than in the bottom layer. Thus it can be concluded that different mercury input (or total mercury level) is not responsible for the variation of the reactive mercury in different sampling periods, but hydrological and biochemical conditions which cause redistribution of the form of mercury in water. Moreover, on the basis of data obtained from 6 sampling cruises in 1988 and 1989, it is evident that a negative correlation between reactive mercury concentration in the surface layer and the flow of the Krka river exists. It is obvious that a higher flow of the Krka river results in lower reactive mercury concentrations in the estuarine water and vice versa. Whether this relationship is mainly a consequence of changes in salinity, or that other factors controlling the mercury speciation in water (such as the quantity of organic matter which changes seasonally due to variations in the biological productivity) play a significant role, is not evident from these data.

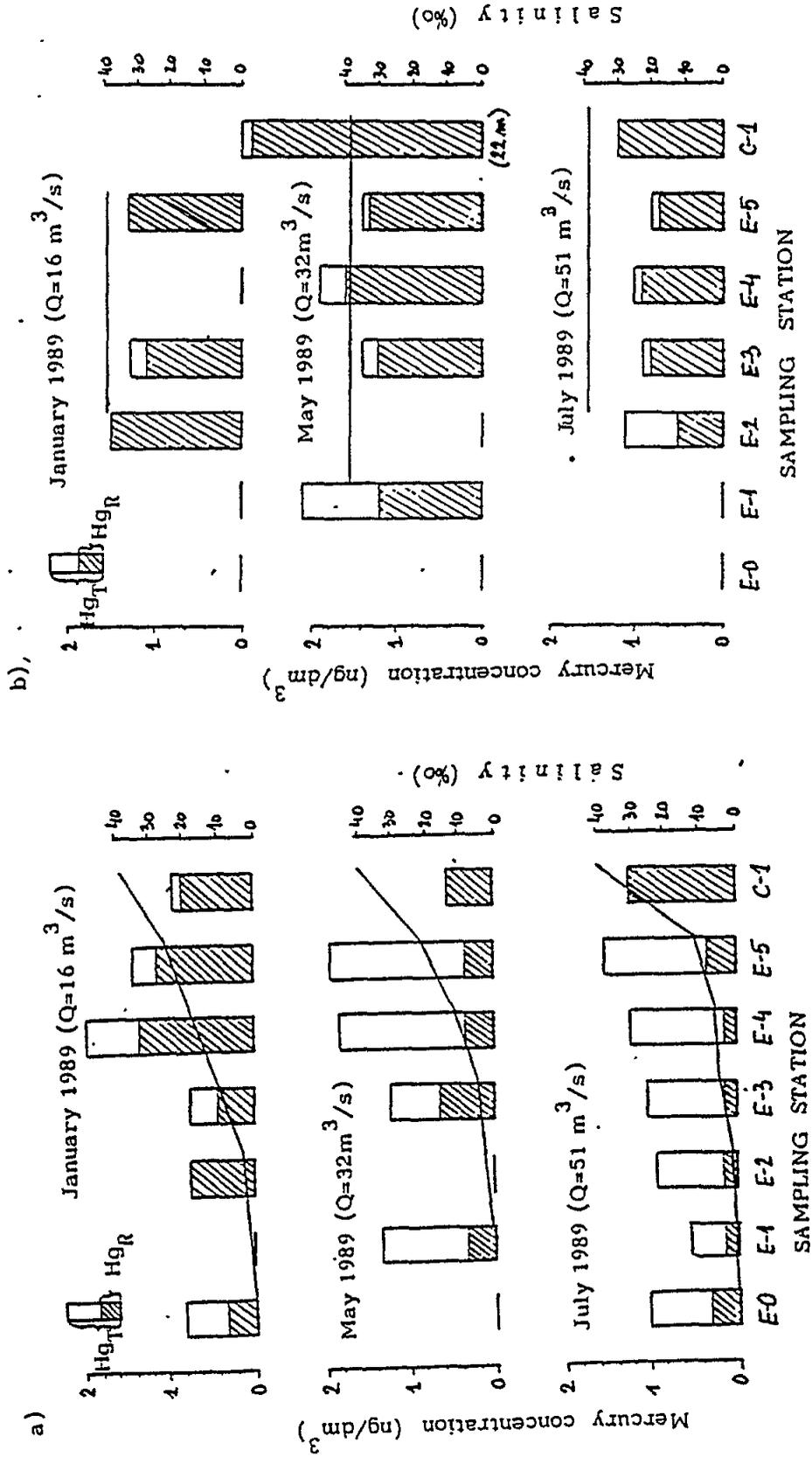


Fig. 7 Horizontal distributions of reactive and total mercury in unfiltered water samples collected in 1989 from (a) surface layer and (b) bottom layer of the Krka river estuary (Mikac *et al.*, 1990)

In July 1989, detailed speciation was performed, which included separation of dissolved and particulate phases (Fig. 8). The results obtained show that during this period dissolved mercury in the upper and intermediate layers presents only a small fraction of the total, and it is mainly in the reactive form (except in the Krka river water - E-0, where organic dissolved mercury is a significant fraction). The low level of organically bound dissolved mercury is in agreement with the low level of DOC (usually lower than  $1 \text{ mg l}^{-1}$ ) in the water of the Krka river estuary (Žutić, 1985-1987). The biggest part of mercury is bound to particulate matter, in spite of its relatively low level ( $2.7\text{-}11.4 \text{ mg l}^{-1}$ ). However, in the deeper saline layer a significant portion of mercury is dissolved and mainly reactive. The reactive mercury concentrations in unfiltered water generally correspond to the values of the dissolved mercury fraction. This is in agreement with the fact that the dissolved mercury was mostly inorganic. A positive correlation between the difference of total and reactive mercury and concentration of particulate mercury has also been found. All these findings indicate that particulate mercury is predominantly bound in stable organic complexes.

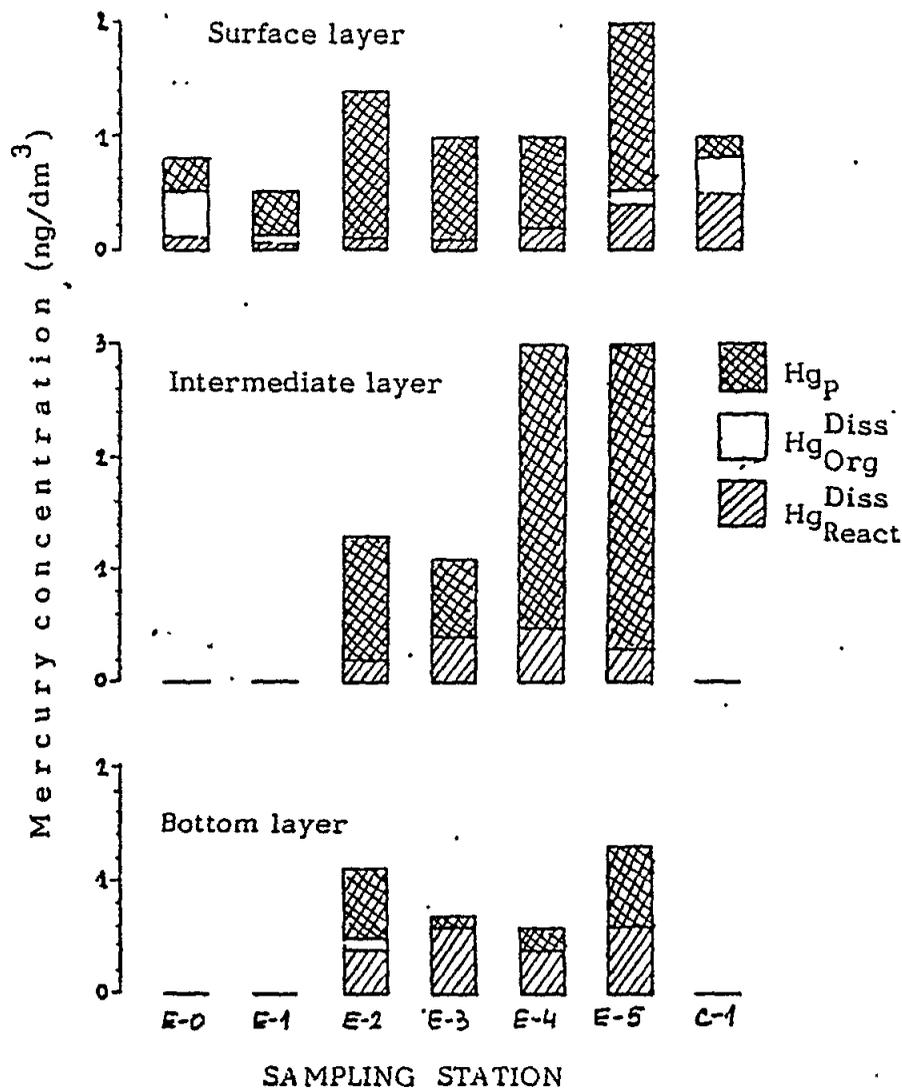


Fig. 8 Horizontal distributions of dissolved and particulate mercury in different water layers of the Krka river estuary, July 1989 (Mikac et al., 1990)

An effect of the mixing of river and saline water on the concentration and speciation of mercury could not be easily interpreted from the horizontal mercury profile owing to the stratification of the Krka river estuary. However, various processes can be recognized at the intermediate layer formed at the interface between fresh and saline waters. The vertical mercury profiles obtained at station E-3 under conditions of high and low river flow (Fig. 9) indicate the influence of hydrological conditions on the distribution of mercury in the water column. In spring, a concentration peak of mercury at the depth of the halocline is observed, related to a pronounced salinity gradient. However, in summer, when the saline waters almost reach the surface, this effect is rather weak and almost indiscernible.

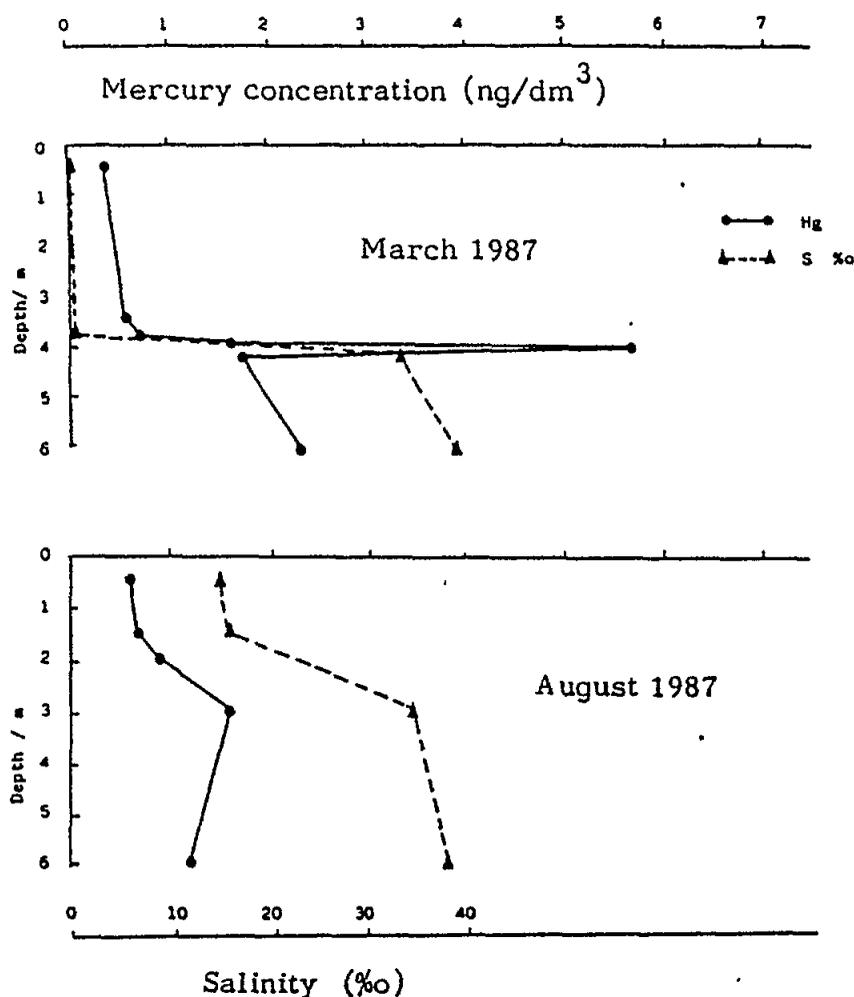


Fig. 9 Vertical distributions of reactive mercury and salinity at station E-3 in the Krka river estuary under conditions of high (March 1987) and low (August 1987) river flow (from Mikac *et al.*, 1989)

Investigations of mercury speciation along the vertical water profile were initiated in 1988, in order to explain the observed mercury maximum (Mikac *et al.*, 1990). In May 1988, dissolved and particulate mercury profiles were measured at stations E-3 and E-9 (Table 1). Unfortunately, the pronounced maximum of the reactive mercury at the interface was not observed in spite of a well-defined halocline during this period. The values obtained

for dissolved mercury showed only a slight increase at the interface at both stations. However, a different picture was obtained in the case of particulate mercury: it was lower in the interface than in the surface layer (expressed either per litre of water or per gramme of particulate matter) in spite of higher values of particulate carbon at the interface. We believe that these results indicate that under the influence of increased salinity (complexation by chlorides, competition of macrocations and agglomeration and condensation of organic matter) accumulated particles release mercury. Because of the lower residence time of the dissolved than the particulate phase in this layer, it is not always possible to detect the peak of dissolved or reactive mercury at the interface.

Table 1

Dissolved and particulate mercury concentrations in water of the Krka river estuary (May 1988).

Station	MERCURY CONCENTRATION					
	Salinity	dissolved (ng dm <sup>-3</sup> )		Particulate		Susp.load mg dm <sup>-3</sup>
		inorganic	total	ng dm <sup>-3</sup>	µg g <sup>-1</sup>	
E-3						
Fresh layer	2	1.0	1.0	0.7	0.5	1.3
Interface	8-10	1.1	1.2	0.5	0.2	2.3
Saline layer	38	0.9	0.9	3.1	0.9	3.5
E-9						
Fresh layer	2	0.4	0.6	1.4	1.4	1.0
Interface	6-10	0.6	0.8	0.6	0.6	1.0
Saline layer	38	1.4	1.4	4.4	5.9	0.8

In July 1989, the vertical mercury profiles were measured at the estuarine stations (Fig. 10). In the upper part of the estuary (stations E-2 and E-3) a mercury maximum at the interface of fresh and saline layers was not observed, and an hypothesis about mercury release from the particles in this layer has not been confirmed (Mikac *et al.*, 1990). However, in the lower part of the estuary (stations E-4 and E-5) a pronounced maximum of total and particulate mercury was obtained. Station E-4 is located in the Šibenik bay which is under the direct influence of the city of Šibenik waste discharge. Therefore, the mercury maximum at the interface can simply be a consequence of the accumulation of organically rich particles with the elevated mercury level originating from the municipal waste waters at this intermediate layer.

These data show that the mercury maximum which can appear at the fresh/saline water interface has not necessarily a unique nature. It can be more or less pronounced and composed of reactive or particulate mercury forms, depending on the location and hydrological conditions.

### 3.1.2 Mercury in mussels

Mussels were sampled seasonally and whenever possible of similar length. The mercury concentrations obtained do not follow the distribution pattern observed in sediments and water: the levels of mercury in the mussels

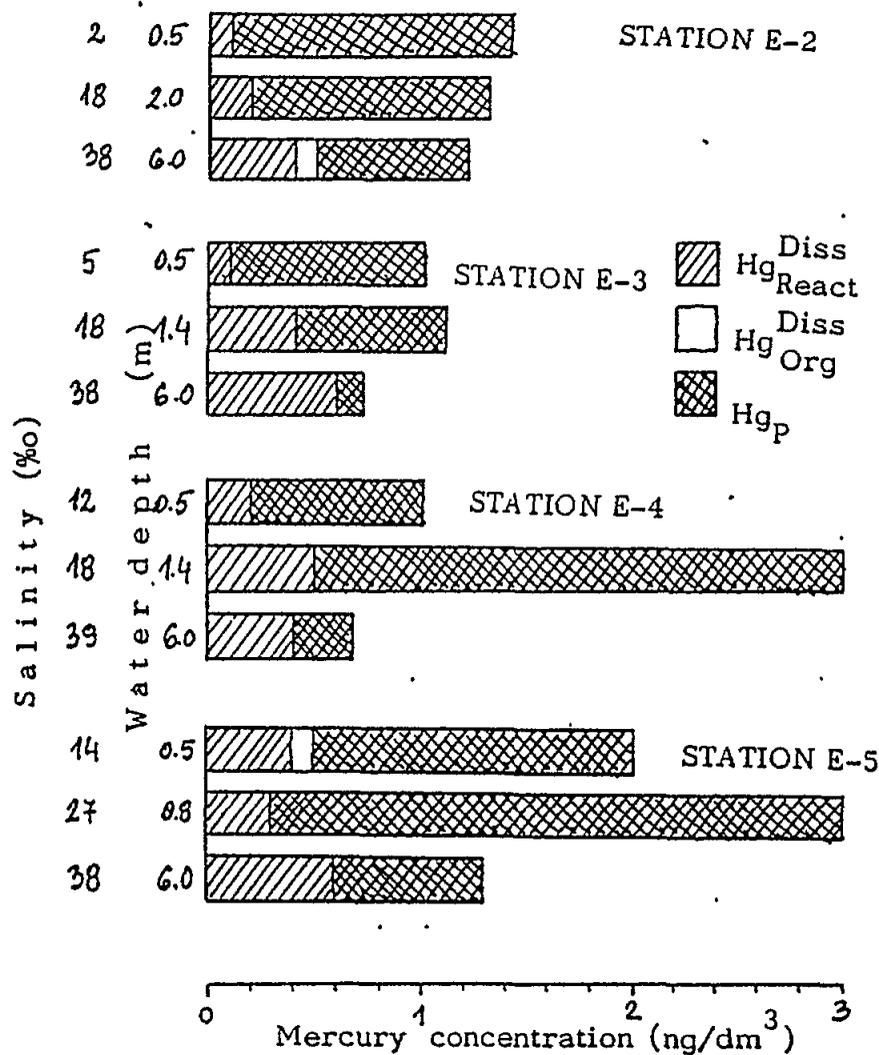


Fig. 10 Vertical distributions of dissolved and particulate mercury in water of the Krka river estuary, July 1989 (Mikac *et al.*, 1990)

from the Šibenik bay, although significantly higher than those in mussels from the inner estuary (station E-2), do not differ from those in mussels from the coastal area. It is well known that various internal and external factors, such as mussel age, food supply, season, or chemical forms of mercury in surrounding waters may influence the mercury content in mussels. In order to establish to what extent biological factors influence mercury concentrations in mussels, we compared their condition factors with mercury concentrations and concentration factors between mussels and water (Fig. 11). The values of the condition factor increase from the inner estuary to the Šibenik bay and then decrease towards coastal stations (lowest at the Kornati Archipelago). Concentrations and condition factors have an opposite trend at all locations, except C-3. Earlier observations based on a systematic study of the biology and ecology of mussel populations (Marguš, 1983) showed that the growth rate

of estuarine mussels was greater than that of mussels obtained from coastal areas, mainly due to a better food supply in the estuary. These data serve as a basis for the following explanation of the distribution of mercury.

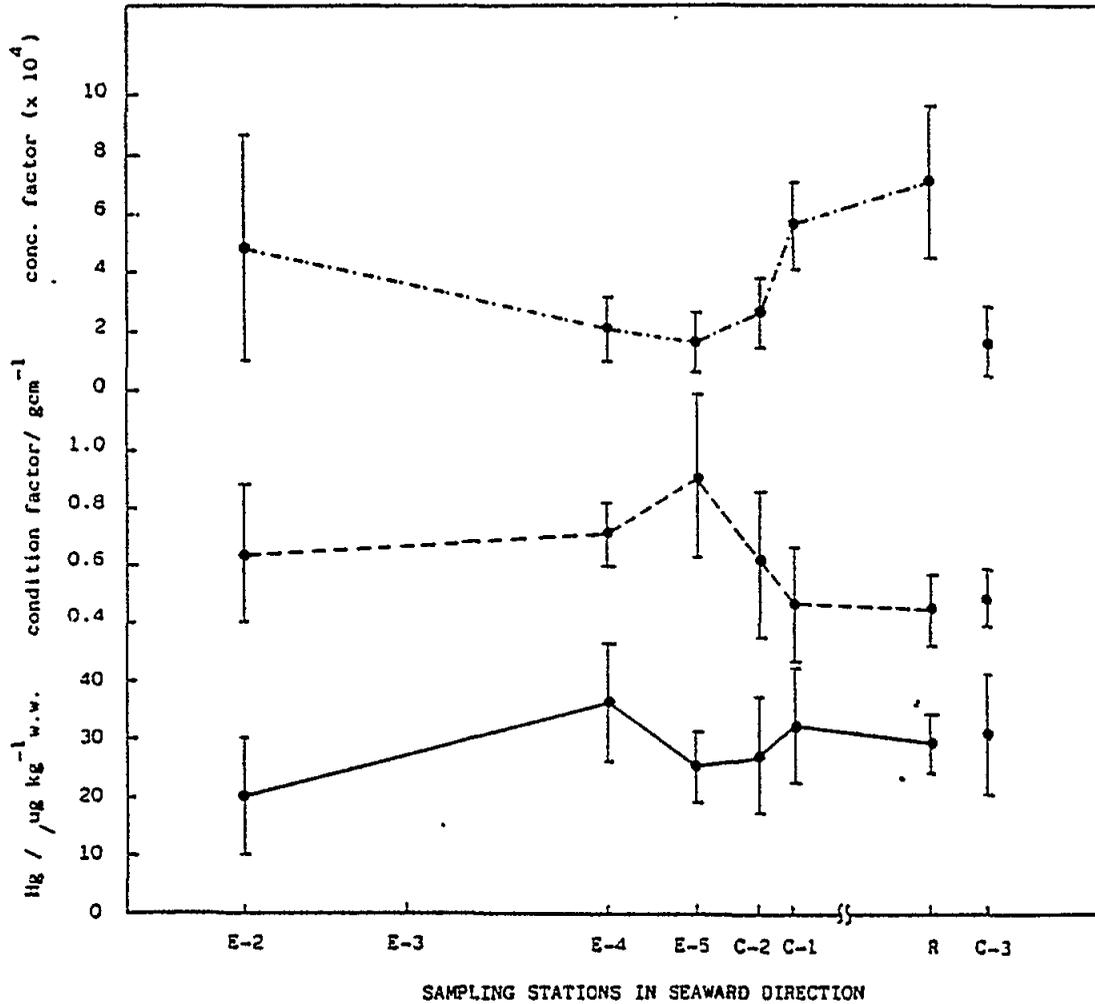


Fig. 11 Longitudinal variations of mercury concentration and condition factor in *Mytilus galloprovincialis* and mussel/water concentration factor in the Krka river estuary and the Kornati Archipelago (from Mikac *et al.*, 1989)

In an estuary, under comparable and favourable conditions for mussels, mercury concentrations in mussels from various locations reflect a difference of mercury levels in their environment. The change in living conditions towards the coastal areas causes a more pronounced effect of internal factors on the mercury concentrations in mussels. Smaller (in weight) and older mussels from marine stations show higher concentrations than might be expected from the ambient mercury level, owing to accumulation during a longer period of life, greater uptake of mercury from water by smaller organisms because of their higher metabolic activity, and a more pronounced adsorption effect on body surfaces owing to a higher surface/volume ratio in smaller individuals. Station C-3 is under somewhat different circumstances. Rather low condition

and concentration factors suggest that an uptake of mercury at this location is controlled by an additional, as yet unknown, mechanism.

### 3.1.3 Organic/total mercury ratio

The proportion of organic mercury in the samples from the Krka river estuary was also measured (Mikac *et al.*, 1989). As it was not possible to distinguish between methyl and ethyl mercury with the method applied, it was termed organic mercury, despite the fact that it is most probably only the methyl form. The organic mercury concentrations in the sediments, water and marine organisms are shown in Table 2. Two sediment samples analyzed showed an organic mercury content (0.5%) which is in good agreement with the values obtained in other coastal areas (Mikac *et al.*, 1985). The water was collected at three depths, to establish whether organic mercury concentrations in the intermediate layer are higher or not. Organic mercury level was below or very close to the detection limit, except in the bottom water at station C-3. In the particulate phase of the estuarine water no organic mercury in the particulate matter has been detected, owing to a very low concentration level. The method applied is evidently not appropriate as it is too insensitive for successful detection of organic mercury in most of the samples, thus making it rather difficult to study organic mercury effectively in unpolluted waters. A method required for such investigations should have 1 or 2 orders of magnitude lower detection limit (less than  $0.01 \text{ ng l}^{-1}$ ). However, from the facts presented, it is evident that organic mercury does not accumulate to a large extent at the fresh water/saline water interface.

Preliminary data on organic and total mercury levels in microplankton show a low level for both forms. Higher concentrations of organic, as well as total mercury plankton from the saline layer than from the fresh water layer, indicate the difference between mercury levels in these two plankton communities. It might be attributed to the different plankton composition and/or mercury speciation in water.

The values obtained for the organic mercury in mussels (14-34%), at all locations, except C-3, are similar to those published elsewhere. However, it is very interesting to observe that the mussels collected at station C-3 (where some organic mercury in the bottom water has been found) contain a significantly higher percentage of mercury in an organic form (66%).

A few fish species analyzed demonstrated variable concentrations and percentage of organic mercury (Table 2), with a tendency to increase with the length of the fish. Some values are very high, even higher than the accepted level of  $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$  (fresh weight), in spite of generally low mercury level in other marine compartments. Large differences between mercury levels in various species are most probably a consequence of their feeding and living habits.

Bio-magnification of mercury (caused by specific increase in concentrations of organic form) in the aquatic trophic level, is also clearly evident in organisms from this area. The concentration of organic mercury between higher organisms and plankton is about 10 for mussels and between 70 and 2000 for different fish species.

Table 2

Total and organic mercury concentrations in different compartments of the Krka river estuary.

Station	Sampling date	Mercury concentration	
		Total	Organic
Sediment (<75 µm)		(µg kg <sup>-1</sup> dry wt.)	
E-4	September 1986	610	3.3
E-5		460	2.0
Water		(ng dm <sup>-3</sup> )	
E-4 surface layer	September 1986	0.9	<0.2
intermediate layer		1.7	<0.2
bottom layer		1.8	0.3
E-5 surface layer	September 1986	1.6	<0.2
intermediate layer		1.8	<0.2
bottom layer		1.1	<0.2
C-3 surface layer	September 1986	0.5	<0.2
intermediate layer		0.8	<0.2
bottom layer		2.4	0.8
Particulate matter		(ng dm <sup>-3</sup> )	
E-2 surface layer	October 1988	0.2	<0.1
bottom layer		0.3	<0.1
E-3 surface layer		0.7	<0.1
bottom layer		0.3	<0.1
Plankton (>20 µm) (dw/ww . 0.1)		(µg kg <sup>-1</sup> wet wt.)	
E-2 surface layer	October 1988	6.4	0.4
bottom layer		7.4	0.9
E-3 surface layer		8.3	0.3
bottom layer		12.9	0.7
<u>Mytilus galloprovincialis</u> (dw/ww . 0.15)		(µg kg <sup>-1</sup> wet wt.)	
E-4	May 1985	30.2	4.2
	September 1986	28.6	4.0
E-5	May 1985	25.3	7.8
	September 1986	25.0	8.5
C-2	May 1985	38.7	9.8
C-1	May 1985	28.3	6.7
C-3	May 1985	24.8	16.3
Fish (species)		(µg kg <sup>-1</sup> wet wt.)	
<u>Chelon labrosus</u>	September 1986	33.8± 6.6	15.9± 6
<u>Liza aurata</u>	September 1986	42.5± 2.8	34.6±23.0
<u>Diplodus annularis</u>	September 1986	88.5±26.2	78.0±25.4
<u>Diplodus vulgaris</u>	October 1988	316	276
<u>Pagelus erythrinus</u>	October 1988	732	628
<u>Lastovicia brun</u>	October 1988	760	679

### 3.2 The Kaštela bay

Previous investigations of the extent of mercury pollution originating from the chlor-alkali plant (Martinić *et al.*, 1989) have shown that mercury levels in sediments and water decreased sharply towards the entrance of the bay. Further investigations carried out in 1986 showed that there was a zone highly enriched with mercury (presumably in front of the waste water outlet) in the vicinity of the chlor-alkali plant. Extremely high total mercury concentrations in sediments, water and shells were found in this area (Table 3). Organic mercury was also measured in these samples and the unusually high values obtained in water and sediments resulted in a further measurement by a different analytical method. It was found that these high organic mercury values were an artefact of the analytical procedure used, since they were not confirmed by GC (gas chromatography) or AAS preceded by separation of organic from total mercury by distillation. Consequently, the level of organic mercury in these samples is still questionable. Therefore, only the distribution of total mercury is discussed. It should be mentioned that the uncertainty of the determination of organic mercury by ionic separation coupled with AAS in sediments and water from the Kaštela bay is most probably connected with a high sulphur content in these samples, as such analytical difficulties were not encountered when analyzing the same matrices from other less polluted areas.

Table 3

Total mercury concentration in different compartments of the Kaštela bay sampled in the vicinity of the chlor-alkali plant (September 1986).

Type of sample	Mercury concentration Distance from the Hg source (m) (along the coastline towards the east)			
	50	200	400	600
Sediment ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ w.w.)	191 500	-	-	-
Water ( $\text{ng dm}^{-3}$ )	320 000	333	106	57
Mussels ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ w.w.)	181 700	12 300	-	1 400
Oysters ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ w.w.)	48 600	-	-	-

A decrease of the mercury concentration in water and mussels moving away from the pollution source is more pronounced for water (1000 times at a distance of 600 m) than for mussels (only 100 times for the same distance). In water, it is also lower along the coastline than in the direction of the open sea (Martinić *et al.*, 1989). These data indicate that even after removing mercury from wastes using new technologies (Martinić *et al.*, 1989), a polluted sediment will be a continuous source of mercury for the ecosystem. The most recent results of mercury speciation in water (Table 4) show that the

major part of mercury is in particulate form (bound to particles larger than 1.2  $\mu\text{m}$ ) and thus available for uptake by filter feeding organisms, such as mussels.

Table 4

Total mercury concentration in dissolved and particulate fraction of water from the Kaštela bay (September 1989).

Filter pore size ( $\mu\text{m}$ )	Mercury concentration ( $\text{ng dm}^{-3}$ )		
	dissolved fraction	particulate fraction	total
Unfiltered	-	-	447
1.2	131	296	427 (calc.)
0.45	80	83	163 (calc.)
0.22	41	53	94

#### 4. CONCLUSIONS

Mercury levels in all investigated compartments of the estuarine and coastal marine environment (the Krka river estuary) which is uncontaminated with mercury (sediment, water, particulate matter, plankton, mussels and fish) were generally low. However, in spite of low mercury content in abiotic part of environment, the bio-magnification of organic mercury results in an excessively high mercury concentrations ( $>0.5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ w.w.}$ ) in some fish species.

In the marine environment loaded with mercury originating from the chlor-alkali plant (Kaštela bay), the mercury level in all investigated compartments (sediment, water, shellfish) was extremely high in the vicinity of the mercury source. A sharp decrease of the mercury level in all directions from the sources (also ref. Martinè et al., 1989), which is more pronounced in water than in mussels, indicates a limited influence of such a point pollution source in the marine environment.

The comparison of mercury data from the Krka river estuary and from other Mediterranean regions, shows that the range of mercury concentrations in water and mussels from the Krka river estuary is significantly lower than the mean values reported by UNEP: open seawater  $7\text{-}25 \text{ ng dm}^{-3}$ ; mussels *Mytilus galloprovincialis*  $37\text{-}870 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ w.w.}$  (UNEP/FAO/WHO, 1987). Mercury levels in water are, however, well comparable with data obtained in ocean (Gill and Fitzgerald, 1987) or other European and North American estuaries (Cossa and Noel, 1987; Cossa et al., 1988). For mussels *Mytilus galloprovincialis*, they can be compared with the values obtained in other Adriatic coastal areas (with the exception of the Kaštela bay; UNEP, 1988), or with the concentration in *Mytilus edulis* from the ICES areas (UNEP/FAO/WHO, 1987). The mercury level in the fine sediment fraction of the Krka estuary is well comparable with measurement of Arnoux et al. (UNEP/FAO/WHO, 1987) in the fractionated sediment from the western Mediterranean.

The considerably lower mercury levels in the mercury unpolluted coastal waters of the Adriatic, reported in this work, suggest that the values given in UNEP documents are probably excessively high. In water, it is most probably due to the well known difficulties in measuring mercury concentration at the ng per liter level (Aston and Fowler, 1985; Gill and Fitzgerald, 1987). For mussels it should not be a consequence of the analytical difficulties, but could be connected with the fact that most of the investigations were carried out in areas seriously polluted by mercury (the plume area of the Soèa river and the Kaštela bay in the Adriatic, or Mt. Amiata in the Ligurian sea).

Therefore, the results obtained support the hypothesis that the level of mercury in the Mediterranean does not differ from the values obtained throughout the world, and that higher concentrations of mercury in the areas loaded by mercury from natural or anthropogenic sources do not apply for the entire Mediterranean.

#### 4. REFERENCES

- Aston, S.R. and S.W. Fowler (1985), Mercury in the open Mediterranean. Evidence of contamination? Sci.Total.Environ., 43:13-26
- Cossa, D. and J. Noel (1987), Concentrations of mercury in nearshore surface waters of the bay of Biscay and in the Gironde estuary. Mar.Chem., 20:389-396
- Cossa, D., C. Gobeil and P. Courau (1988), Dissolved mercury behaviours in the Saint Lawrence Estuary, Estuarine. Coastal Shelf Sci., 26:227-230
- Gill, G.A. and W.H. Fitzgerald (1987), Picomolar mercury measurements in seawater and other materials using stannous chloride reduction and two-stage gold amalgamation with gas phase detection. Mar.Chem., 20:227-243
- Kniewald, G., Ž. Kwokal and M. Branica (1987), Marine sampling by scuba diving. 3. Sampling procedures for measurements of mercury concentrations in estuarine waters and seawater. Mar.Chem., 22:343-352
- Marguš, D. (1983), The aquaculture of mussels Mytilus galloprovincialis Lmk. in the Krka river estuary, Msc. Thesis, University of Zagreb, 120 p.
- Martinèia D., Ž. Kwokal, H.W. Nurnberg, M. Stoepler and M. Branica (1985a), Trace elements in the Šibenik aquarium. P 3. Sediment concentrations of Zn, Cd, Cu and Hg analyzed in the 1983/84 period. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 29:115-116
- Martinèia D., Ž. Kwokal, H.W. Nurnberg, M. Stoepler and M. Branica (1985b), Trace elements in the Šibenik aquarium. P 4. Concentrations of Zn, Cd, Cu and Hg in the edible part of mussels Mytilus galloprovincialis analyzed in the 1983/84 period. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 29:117-118
- Martinèia D., Ž. Kwokal, M. Stoepler and M. Branica (1986a), Trace elements in sediments from the Šibenik and the Kornati Island aquarium. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 30:37

- Martinèiæ D., Ź Kwokal, M. Stoeppler and M. Branica (1986b), Trace elements in mussels Mytilus galloprovincialis from the Šibenik and the Kornati Island aquarium. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 30:37b
- Martinèiæ D., Ź Kwokal, M. Branica and M. Stoeppler (1987), Trace elements in selected organisms from the Adriatic Sea. Mar.Chem., 22:207-220
- Martinèiæ D., Ź Kwokal, M. Stoeppler and M. Branica (1989), Trace elements in sediments from the Adriatic sea. Sci.Total.Environ., 84:135-147
- Martinèiæ D., Ź Kwokal and M. Branica (1990), Distribution of zinc, lead, cadmium and copper between different size fraction of sediments II. The Krka river estuary and the Kornati islands (central Adriatic sea). Sci.Total.Environ., 95:217-225
- May, K., M. Stoeppler and K. Reisinger (1987), Studies in the ration of total mercury/methylmercury in the aquatic food chain. Toxicol.Environ.Chem., 13:153-159
- Mikac, N. and M. Picer (1985), Mercury distribution in polluted marine area. Concentrations of methyl mercury in sediments and some organisms. Sci.Total.Environ., 43:27-39
- Mikac, N., M. Picer, P. Stegnar and M. Tušek-Znidariè (1985), Mercury distribution in polluted marine area. Ratio of total mercury, methyl mercury and selenium in sediments, mussel and fish. Water Res., 19:1387-1392
- Mikac, N., Ź Kwokal, K. May and M. Branica (1989), Mercury distribution in the Krka river estuary (Eastern Adriatic Coast). Mar.Chem., 28:109-126
- Mikac, N., Ź Kwokal and M. Branica (1990), Mercury speciation in water of the Krka river estuary. Rapp.P.-V.Réun.CIESM, 32:52
- Prohiæ E. and M. Juraèiæ (1989), Heavy metal concentration in sediments - problems concerning determination of anthropogenic influence. Environ.Geol.Water Sci., 13:145-151
- UNEP (1988), National Monitoring Programme of Yugoslavia. Report for 1983-1986. MAP Technical Reports Series No. 23, Athens, 122 p.
- UNEP/FAO/WHO (1987), Assessment of the state of pollution of the Mediterranean sea by mercury and mercury compounds. MAP Technical Reports Series, No. 18, Athens, 354 p.
- Zvonariæ T., M. Horvat and P. Stegnar (1987), Ecological cycle of mercury in the marine environment of Kaštela bay. In: Papers presented at the VI Int. Conf. "Heavy Metals in the Environment", New Orleans, USA, 2:461
- Žutiæ V. (1985-1987), Long-term research and pollution monitoring of the Krka Estuary and Kornati Archipelago (Adriatic Sea), MED POL Phase II, Center for Marine Research Zagreb, "Rudjer Boskoviæ Institute, Zagreb, Annual Reports

## PUBLICATIONS OF THE MAP TECHNICAL REPORTS SERIES

1. UNEP/IOC/WMO: Baseline studies and monitoring of oil and petroleum hydrocarbons in marine waters (MED POL I). MAP Technical Reports Series No. 1. UNEP, Athens, 1986 (96 pages) (parts in English, French or Spanish only).
2. UNEP/FAO: Baseline studies and monitoring of metals, particularly mercury and cadmium, in marine organisms (MED POL II). MAP Technical Reports Series No. 2. UNEP, Athens, 1986 (220 pages) (parts in English, French or Spanish only).
3. UNEP/FAO: Baseline studies and monitoring of DDT, PCBs and other chlorinated hydrocarbons in marine organisms (MED POL III). MAP Technical Reports Series No. 3. UNEP, Athens, 1986 (128 pages) (parts in English, French or Spanish only).
4. UNEP/FAO: Research on the effects of pollutants on marine organisms and their populations (MED POL IV). MAP Technical Reports Series No. 4. UNEP, Athens, 1986 (118 pages) (parts in English, French or Spanish only).
5. UNEP/FAO: Research on the effects of pollutants on marine communities and ecosystems (MED POL V). MAP Technical Reports Series No. 5. UNEP, Athens, 1986 (146 pages) (parts in English or French only).
6. UNEP/IOC: Problems of coastal transport of pollutants (MED POL VI). MAP Technical Reports Series No. 6. UNEP, Athens, 1986 (100 pages) (English only).
7. UNEP/WHO: Coastal water quality control (MED POL VII). MAP Technical Reports Series No. 7. UNEP, Athens, 1986 (426 pages) (parts in English or French only).
8. UNEP/IAEA/IOC: Biogeochemical studies of selected pollutants in the open waters of the Mediterranean (MED POL VIII). MAP Technical Reports Series No. 8. UNEP, Athens, 1986 (42 pages) (parts in English or French only).
8. Add. UNEP: Biogeochemical studies of selected pollutants in the open waters of the Mediterranean (MED POL VIII). Addendum, Greek Oceanographic Cruise 1980. MAP Technical Reports Series No. 8, Addendum. UNEP, Athens, 1986 (66 pages) (English only).
9. UNEP: Co-ordinated Mediterranean pollution monitoring and research programme (MED POL - PHASE I). Final report, 1975-1980. MAP Technical Reports Series No. 9. UNEP, Athens, 1986 (276 pages) (English only).
10. UNEP: Research on the toxicity, persistence, bioaccumulation, carcinogenicity and mutagenicity of selected substances (Activity G). Final reports on projects dealing with toxicity (1983-85). MAP Technical Reports Series No. 10. UNEP, Athens, 1987 (118 pages) (English only).
11. UNEP: Rehabilitation and reconstruction of Mediterranean historic settlements. Documents produced in the first stage of the Priority Action (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 11. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1986 (158 pages) (parts in English or French only).
12. UNEP: Water resources development of small Mediterranean islands and isolated coastal areas. Documents produced in the first stage of the Priority Action (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 12. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parts in English or French only).

13. UNEP: Specific topics related to water resources development of large Mediterranean islands. Documents produced in the second phase of the Priority Action (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 13. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parts in English or French only).
14. UNEP: Experience of Mediterranean historic towns in the integrated process of rehabilitation of urban and architectural heritage. Documents produced in the second phase of the Priority Action (1986). MAP Technical Reports Series No. 14. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (500 pages) (parts in English or French only).
15. UNEP: Environmental aspects of aquaculture development in the Mediterranean region. Documents produced in the period 1985-1987. MAP Technical Reports Series No. 15. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (101 pages) (English only).
16. UNEP: Promotion of soil protection as an essential component of environmental protection in Mediterranean coastal zones. Selected documents (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 16. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (424 pages) (parts in English or French only).
17. UNEP: Seismic risk reduction in the Mediterranean region. Selected studies and documents (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 17. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (247 pages) (parts in English or French only).
18. UNEP/FAO/WHO: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by mercury and mercury compounds. MAP Technical Reports Series No. 18. UNEP, Athens, 1987 (354 pages) (English and French).
19. UNEP/IOC: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by petroleum hydrocarbons. MAP Technical Reports Series No. 19. UNEP, Athens, 1988 (130 pages) (English and French).
20. UNEP/WHO: Epidemiological studies related to environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (Activity D). Final report on project on relationship between microbial quality of coastal seawater and health effects (1983-86). MAP Technical Reports Series No. 20. UNEP, Athens, 1988 (156 pages) (English only).
21. UNEP/UNESCO/FAO: Eutrophication in the Mediterranean Sea: Receiving capacity and monitoring of long-term effects. MAP Technical Reports Series No. 21. UNEP, Athens, 1988 (200 pages) (parts in English or French only).
22. UNEP/FAO: Study of ecosystem modifications in areas influenced by pollutants (Activity I). MAP Technical Reports Series No. 22. UNEP, Athens, 1988 (146 pages) (parts in English or French only).
23. UNEP: National monitoring programme of Yugoslavia, Report for 1983-1986. MAP Technical Reports Series No. 23. UNEP, Athens, 1988 (223 pages) (English only).
24. UNEP/FAO: Toxicity, persistence and bioaccumulation of selected substances to marine organisms (Activity G). MAP Technical Reports Series No. 24. UNEP, Athens, 1988 (122 pages) (parts in English or French only).
25. UNEP: The Mediterranean Action Plan in a functional perspective: A quest for law and policy. MAP Technical Reports Series No. 25. UNEP, Athens, 1988 (105 pages) (English only).

26. UNEP/IUCN: Directory of marine and coastal protected areas in the Mediterranean Region. Part I - Sites of biological and ecological value. MAP Technical Reports Series No. 26. UNEP, Athens, 1989 (196 pages) (English only).
27. UNEP: Implications of expected climate changes in the Mediterranean Region: An overview. MAP Technical Reports Series No. 27. UNEP, Athens, 1989 (52 pages) (English only).
28. UNEP: State of the Mediterranean marine environment. MAP Technical Reports Series No. 28. UNEP, Athens, 1989 (225 pages) (English only).
29. UNEP: Bibliography on effects of climatic change and related topics. MAP Technical Reports Series No. 29. UNEP, Athens, 1989 (143 pages) (English only).
30. UNEP: Meteorological and climatological data from surface and upper measurements for the assessment of atmospheric transport and deposition of pollutants in the Mediterranean Basin: A review. MAP Technical Reports Series No. 30. UNEP, Athens, 1989 (137 pages) (English only).
31. UNEP/WMO: Airborne pollution of the Mediterranean Sea. Report and proceedings of a WMO/UNEP Workshop. MAP Technical Reports Series No. 31. UNEP, Athens, 1989 (247 pages) (parts in English or French only).
32. UNEP/FAO: Biogeochemical cycles of specific pollutants (Activity K). MAP Technical Reports Series No. 32. UNEP, Athens, 1989 (139 pages) (parts in English or French only).
33. UNEP/FAO/WHO/IAEA: Assessment of organotin compounds as marine pollutants in the Mediterranean. MAP Technical Reports Series No. 33. UNEP, Athens, 1989 (185 pages) (English and French).
34. UNEP/FAO/WHO: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by cadmium and cadmium compounds. MAP Technical Reports Series No. 34. UNEP, Athens, 1989 (175 pages) (English and French).
35. UNEP: Bibliography on marine pollution by organotin compounds. MAP Technical Reports Series No. 35. UNEP, Athens, 1989 (92 pages) (English only).
36. UNEP/IUCN: Directory of marine and coastal protected areas in the Mediterranean region. Part I - Sites of biological and ecological value. MAP Technical Reports Series No. 36. UNEP, Athens, 1990 (198 pages) (French only).
37. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with eutrophication and plankton blooms (Activity H). MAP Technical Reports Series No. 37. UNEP, Athens, 1990 (74 pages) (parts in English or French only).
38. UNEP: Common measures adopted by the Contracting Parties to the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against pollution. MAP Technical Reports Series No. 38. UNEP, Athens, 1990 (100 pages) (English, French, Spanish and Arabic).
39. UNEP/FAO/WHO/IAEA: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by organohalogen compounds. MAP Technical Reports Series No. 39. UNEP, Athens, 1990 (224 pages) (English and French).
40. UNEP/FAO: Final reports on research projects (Activities H,I and J). MAP Technical Reports Series No. 40. UNEP, Athens, 1990 (125 pages) (English and French).
41. UNEP: Wastewater reuse for irrigation in the Mediterranean region. MAP Technical Reports Series No. 41. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1990 (330 pages) (English and French).

42. UNEP/IUCN: Report on the status of Mediterranean marine turtles. MAP Technical Reports Series No. 42. UNEP, Athens, 1990 (204 pages) (English and French).
43. UNEP/IUCN/GIS Posidonia: Red Book "Gérard Vuignier", marine plants, populations and landscapes threatened in the Mediterranean. MAP Technical Reports Series No. 43. UNEP, Athens, 1990 (250 pages) (French only).
44. UNEP: Bibliography on aquatic pollution by organophosphorus compounds. MAP Technical Reports Series No. 44. UNEP, Athens, 1990 (98 pages) (English only).
45. UNEP/IAEA: Transport of pollutants by sedimentation: Collected papers from the first Mediterranean Workshop (Villefranche-sur-Mer, France, 10-12 December 1987). MAP Technical Reports Series No. 45. UNEP, Athens, 1990 (302 pages) (English only).
46. UNEP/WHO: Epidemiological studies related to environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (Activity D). Final report on project on relationship between microbial quality of coastal seawater and rotavirus-induced gastroenteritis among bathers (1986-88). MAP Technical Reports Series No.46, UNEP, Athens, 1991 (64 pages) (English only).
47. UNEP: Jellyfish blooms in the Mediterranean. Proceedings of the II workshop on jellyfish in the Mediterranean Sea. MAP Technical Reports Series No.47. UNEP, Athens, 1991 (320 pages) (parts in English or French only).
48. UNEP/FAO: Final reports on research projects (Activity G). MAP Technical Reports Series No. 48. UNEP, Athens, 1991 (126 pages) (parts in English or French only).
49. UNEP/WHO: Biogeochemical cycles of specific pollutants. Survival of pathogens. Final reports on research projects (Activity K). MAP Technical Reports Series No. 49. UNEP, Athens, 1991 (71 pages) (parts in English or French only).
50. UNEP: Bibliography on marine litter. MAP Technical Reports Series No. 50. UNEP, Athens, 1991 (62 pages) (English only).
51. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with mercury, toxicity and analytical techniques. MAP Technical Reports Series No. 51. UNEP, Athens, 1991 (166 pages) (parts in English or French only).
52. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with bioaccumulation and toxicity of chemical pollutants. MAP Technical Reports Series No. 52. UNEP, Athens, 1991 (86 pages) (parts in English or French only).
53. UNEP/WHO: Epidemiological studies related to environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (Activity D). Final report on epidemiological study on bathers from selected beaches in Malaga, Spain (1988-1989). MAP Technical Reports Series No. 53. UNEP, Athens, 1991 (127 pages) (English only).
54. UNEP/WHO: Development and testing of sampling and analytical techniques for monitoring of marine pollutants (Activity A): Final reports on selected microbiological projects. MAP Technical Reports Series No. 54. UNEP, Athens, 1991 (83 pages) (English only).
55. UNEP/WHO: Biogeochemical cycles of specific pollutants (Activity K): Final report on project on survival of pathogenic organisms in seawater. MAP Technical Reports Series No. 55. UNEP, Athens, 1991 (95 pages) (English only).
56. UNEP/IOC/FAO: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by persistent synthetic materials which may float, sink or remain in suspension. MAP Technical Reports Series No. 56. UNEP, Athens, 1991 (113 pages) (English and French).

57. UNEP/WHO: Research on the toxicity, persistence, bioaccumulation, carcinogenicity and mutagenicity of selected substances (Activity G): Final reports on projects dealing with carcinogenicity and mutagenicity. MAP Technical Reports Series No. 57. UNEP, Athens, 1991 (59 pages) (English only).
58. UNEP/FAO/WHO/IAEA: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by organophosphorus compounds. MAP Technical Reports Series No. 58. UNEP, Athens, 1991 (122 pages) (English and French).
59. UNEP/FAO/IAEA: Proceedings of the FAO/UNEP/IAEA Consultation Meeting on the Accumulation and Transformation of Chemical contaminants by Biotic and Abiotic Processes in the Marine Environment (La Spezia, Italy, 24-28 September 1990), edited by G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 59. UNEP, Athens, 1991 (392 pages) (English only).
60. UNEP/WHO: Development and testing of sampling and analytical techniques for monitoring of marine pollutants (Activity A): Final reports on selected microbiological projects (1987-1990). MAP Technical Reports Series No. 60. UNEP, Athens, 1991 (76 pages) (parts in English or French only).
61. UNEP: Integrated Planning and Management of the Mediterranean Coastal Zones. Documents produced in the first and second stage of the Priority Action (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 61. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1991 (437 pages) (parts in English or French only).
62. UNEP/IAEA: Assessment of the State of Pollution of the Mediterranean Sea by Radioactive Substances. MAP Technical Reports Series No. 62, UNEP, Athens, 1992 (133 pages) (English and French).
63. UNEP/WHO: Biogeochemical cycles of specific pollutants (Activity K) - Survival of Pathogens - Final reports on Research Projects (1989-1991). MAP Technical Reports Series No. 63, UNEP, Athens, 1992 (86 pages) (French only).
64. UNEP/WMO: Airborne Pollution of the Mediterranean Sea. Report and Proceedings of the Second WMO/UNEP Workshop. MAP Technical Reports Series No. 64, UNEP, Athens, 1992 (246 pages) (English only).
65. UNEP: Directory of Mediterranean Marine Environmental Centres. MAP Technical Reports Series No. 65, UNEP, Athens, 1992 (351 pages) (English and French).
66. UNEP/CRU: Regional Changes in Climate in the Mediterranean Basin Due to Global Greenhouse Gas Warming. MAP Technical Reports Series No. 66, UNEP, Athens, 1992 (172 pages) (English only).
67. UNEP/IOC: Applicability of Remote Sensing for Survey of Water Quality Parameters in the Mediterranean. Final Report of the Research Project. MAP Technical Reports Series No. 67, UNEP, Athens, 1992 (142 pages) (English only).
68. UNEP/FAO/IOC: Evaluation of the Training Workshops on the Statistical Treatment and Interpretation of Marine Community Data. MAP Technical Reports Series No. 68. UNEP, Athens, 1992 (221 pages) (English only).
69. UNEP/FAO/IOC: Proceedings of the FAO/UNEP/IOC Workshop on the Biological Effects of Pollutants on Marine Organisms (Malta, 10-14 September 1991), edited by G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 69. UNEP, Athens, 1992 (287 pages) (English only).
70. UNEP/IAEA/IOC/FAO: Organohalogen Compounds in the Marine Environment: A Review. MAP Technical Reports Series No. 70. UNEP, Athens, 1992 (49 pages) (English only).

71. UNEP/FAO/IOC: Selected techniques for monitoring biological effects of pollutants in marine organisms. MAP Technical Reports Series No. 71. UNEP, Athens, 1993 (189 pages) (English only).
72. UNEP: Costs and Benefits of Measures for the Reduction of Degradation of the Environment from Land-based Sources of Pollution in Coastal Areas. A - Case Study of the Bay of Izmir. B - Case Study of the Island of Rhodes. MAP Technical Reports Series No. 72. UNEP, Athens, 1993 (64 pages) (English only).

### **PUBLICATIONS "MAP TECHNICAL REPORTS SERIES"**

1. PNUE/COI/OMM: Etudes de base et surveillance continue du pétrole et des hydrocarbures contenus dans les eaux de la mer (MED POL I). MAP Technical Reports Series No. 1. UNEP, Athens, 1986 (96 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
2. PNUE/FAO: Etudes de base et surveillance continue des métaux, notamment du mercure et du cadmium, dans les organismes marins (MED POL II). MAP Technical Reports Series No. 2. UNEP, Athens, 1986 (220 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
3. PNUE/FAO: Etudes de base et surveillance continue du DDT, des PCB et des autres hydrocarbures chlorés contenus dans les organismes marins (MED POL III). MAP Technical Reports Series No. 3. UNEP, Athens, 1986 (128 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
4. PNUE/FAO: Recherche sur les effets des polluants sur les organismes marins et leurs peuplements (MED POL IV). MAP Technical Reports Series No. 4. UNEP, Athens, 1986 (118 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
5. PNUE/FAO: Recherche sur les effets des polluants sur les communautés et écosystèmes marins (MED POL V). MAP Technical Reports Series No. 5. UNEP, Athens, 1986 (146 pages) (parties en anglais ou français seulement).
6. PNUE/COI: Problèmes du transfert des polluants le long des côtes (MED POL VI). MAP Technical Reports Series No. 6. UNEP, Athens, 1986 (100 pages) (anglais seulement).
7. PNUE/OMS: Contrôle de la qualité des eaux côtières (MED POL VII). MAP Technical Reports Series No. 7. UNEP, Athens, 1986 (426 pages) (parties en anglais ou français seulement).
8. PNUE/AIEA/COI: Etudes biogéochimiques de certains polluants au large de la Méditerranée (MED POL VIII). MAP Technical Reports Series No. 8. UNEP, Athens, 1986 (42 pages) (parties en anglais ou français seulement).
8. PNUE: Etudes biogéochimiques de certains polluants au large de la Méditerranée (MED Add. POL VIII). Addendum, Croisière Océanographique de la Grèce 1980. MAP Technical Reports Series No. 8, Addendum. UNEP, Athens, 1986 (66 pages) (anglais seulement).
9. PNUE: Programme coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution dans la Méditerranée (MED POL -PHASE I). Rapport final, 1975-1980. MAP Technical Reports Series No. 9. UNEP, Athens, 1986 (276 pages) (anglais seulement).
10. PNUE: Recherches sur la toxicité, la persistance, la bioaccumulation, la cancérogénicité et la mutagénicité de certaines substances (Activité G). Rapports finaux sur les projets ayant trait à la toxicité (1983-85). MAP Technical Reports Series No. 10. UNEP, Athens, 1987 (118 pages) (anglais seulement).
11. PNUE: Réhabilitation et reconstruction des établissements historiques méditerranéens. Textes rédigés au cours de la première phase de l'action prioritaire (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 11. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1986 (158 pages) (parties en anglais ou français seulement).
12. PNUE: Développement des ressources en eau des petites îles et des zones côtières isolées méditerranéennes. Textes rédigés au cours de la première phase de l'action prioritaire (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 12. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parties en anglais ou français seulement).

13. PNUE: Thèmes spécifiques concernant le développement des ressources en eau des grandes îles méditerranéennes. Textes rédigés au cours de la deuxième phase de l'action prioritaire (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 13. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parties en anglais ou français seulement).
14. PNUE: L'expérience des villes historiques de la Méditerranée dans le processus intégré de réhabilitation du patrimoine urbain et architectural. Documents établis lors de la seconde phase de l'Action prioritaire (1986). MAP Technical Reports Series No. 14. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (500 pages) (parties en anglais ou français seulement).
15. PNUE: Aspects environnementaux du développement de l'aquaculture dans la région méditerranéenne. Documents établis pendant la période 1985-1987. MAP Technical Reports Series No. 15. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (101 pages) (anglais seulement).
16. PNUE: Promotion de la protection des sols comme élément essentiel de la protection de l'environnement dans les zones côtières méditerranéennes. Documents sélectionnés (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 16. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (424 pages) (parties en anglais ou français seulement).
17. PNUE: Réduction des risques sismiques dans la région méditerranéenne. Documents et études sélectionnés (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 17. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (247 pages) (parties en anglais ou français seulement).
18. PNUE/FAO/OMS: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par le mercure et les composés mercuriels. MAP Technical Reports Series No. 18. UNEP, Athens, 1987 (354 pages) (anglais et français).
19. PNUE/COI: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les hydrocarbures de pétrole. MAP Technical Reports Series No. 19. UNEP, Athens, 1988 (130 pages) (anglais et français).
20. PNUE/OMS: Etudes épidémiologiques relatives aux critères de la qualité de l'environnement pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (Activité D). Rapport final sur le projet sur la relation entre la qualité microbienne des eaux marines côtières et les effets sur la santé (1983-86). MAP Technical Reports Series No. 20. UNEP, Athens, 1988 (156 pages) (anglais seulement).
21. PNUE/UNESCO/FAO: Eutrophisation dans la mer Méditerranée: capacité réceptrice et surveillance continue des effets à long terme. MAP Technical Reports Series No. 21. UNEP, Athens, 1988 (200 pages) (parties en anglais ou français seulement).
22. PNUE/FAO: Etude des modifications de l'écosystème dans les zones soumises à l'influence des polluants (Activité I). MAP Technical Reports Series No. 22. UNEP, Athens, 1988 (146 pages) (parties en anglais ou français seulement).
23. PNUE: Programme national de surveillance continue pour la Yougoslavie, Rapport pour 1983-1986. MAP Technical Reports Series No. 23. UNEP, Athens, 1988 (223 pages) (anglais seulement).
24. PNUE/FAO: Toxicité, persistance et bioaccumulation de certaines substances vis-à-vis des organismes marins (Activité G). MAP Technical Reports Series No. 24. UNEP, Athens, 1988 (122 pages) (parties en anglais ou français seulement).

25. PNUE: Le Plan d'action pour la Méditerranée, perspective fonctionnelle; une recherche juridique et politique. MAP Technical Reports Series No. 25. UNEP, Athens, 1988 (105 pages) (anglais seulement).
26. PNUE/UICN: Répertoire des aires marines et côtières protégées de la Méditerranée. Première partie - Sites d'importance biologique et écologique. MAP Technical Reports Series No. 26. UNEP, Athens, 1989 (196 pages) (anglais seulement).
27. PNUE: Implications des modifications climatiques prévues dans la région méditerranéenne: une vue d'ensemble. MAP Technical Reports Series No. 27. UNEP, Athens, 1989 (52 pages) (anglais seulement).
28. PNUE: Etat du milieu marin en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 28. UNEP, Athens, 1989 (225 pages) (anglais seulement).
29. PNUE: Bibliographie sur les effets des modifications climatiques et sujets connexes. MAP Technical Reports Series No. 29. UNEP, Athens, 1989 (143 pages) (anglais seulement).
30. PNUE: Données météorologiques et climatologiques provenant de mesures effectuées dans l'air en surface et en altitude en vue de l'évaluation du transfert et du dépôt atmosphériques des polluants dans le bassin méditerranéen: un compte rendu. MAP Technical Reports Series No. 30. UNEP, Athens, 1989 (137 pages) (anglais seulement).
31. PNUE/OMM: Pollution par voie atmosphérique de la mer Méditerranée. Rapport et actes des Journées d'étude OMM/PNUE. MAP Technical Reports Series No. 31. UNEP, Athens, 1989 (247 pages) (parties en anglais ou français seulement).
32. PNUE/FAO: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K). MAP Technical Reports Series No. 32. UNEP, Athens, 1989 (139 pages) (parties en anglais ou français seulement).
33. PNUE/FAO/OMS/AIEA: Evaluation des composés organostanniques en tant que polluants du milieu marin en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 33. UNEP, Athens, 1989 (185 pages) (anglais et français).
34. PNUE/FAO/OMS: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par le cadmium et les composés de cadmium. MAP Technical Reports Series No. 34. UNEP, Athens, 1989 (175 pages) (anglais et français).
35. PNUE: Bibliographie sur la pollution marine par les composés organostanniques. MAP Technical Reports Series No. 35. UNEP, Athens, 1989 (92 pages) (anglais seulement).
36. PNUE/UICN: Répertoire des aires marines et côtières protégées de la Méditerranée. Première partie - Sites d'importance biologique et écologique. MAP Technical Reports Series No. 36. UNEP, Athens, 1990 (198 pages) (français seulement).
37. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche consacrés à l'eutrophisation et aux efflorescences de plancton (Activité H). MAP Technical Reports Series No. 37. UNEP, Athens, 1990 (74 pages) (parties en anglais ou français seulement).
38. PNUE: Mesures communes adoptées par les Parties Contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution. MAP Technical Reports Series No. 38. UNEP, Athens, 1990 (100 pages) (anglais, français, espagnol et arabe).
39. PNUE/FAO/OMS/AIEA: Evaluation de l'état de la pollution par les composés organohalogénés. MAP Technical Reports Series No. 39. UNEP, Athens, 1990 (224 pages) (anglais et français).

40. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche (Activités H, I et J). MAP Technical Reports Series No. 40. UNEP, Athens, 1990 (125 pages) (anglais et français).
41. PNUE: Réutilisation agricole des eaux usées dans la région méditerranéenne. MAP Technical Reports Series No. 41. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1990 (330 pages) (anglais et français).
42. PNUE/UICN: Rapport sur le statut des tortues marines de Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 42. UNEP, Athens, 1990 (204 pages) (anglais et français).
43. PNUE/UICN/GIS Posidonie: Livre rouge "Gérard Vuignier" des végétaux, peuplements et paysages marins menacés de Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 43. UNEP, Athens, 1990 (250 pages) (français seulement).
44. PNUE: Bibliographie sur la pollution aquatique par les composés organophosphorés. MAP Technical Reports Series No. 44. UNEP, Athens, 1990 (98 pages) (anglais seulement).
45. PNUE/AIEA: Transfert des polluants par sédimentation: Recueil des communications présentées aux premières journées d'études méditerranéennes (Villefranche-sur-Mer, France, 10-12 décembre 1987). MAP Technical Reports Series No. 45. UNEP, Athens, 1990 (302 pages) (anglais seulement).
46. PNUE/OMS: Etudes épidémiologiques relatives aux critères de la qualité de l'environnement pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (Activité D). Rapport final sur le projet sur la relation entre la qualité microbienne des eaux marines côtières et la gastroentérite provoquée par le rotavirus entre les baigneurs (1986-88). MAP Technical Reports Series No.46. UNEP, Athens, 1991 (64 pages) (anglais seulement).
47. PNUE: Les proliférations de méduses en Méditerranée. Actes des 11èmes journées d'étude sur les méduses en mer Méditerranée. MAP Technical Reports Series No.47. UNEP, Athens, 1991 (320 pages) (parties en anglais ou français seulement).
48. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche (Activité G). MAP Technical Reports Series No. 48. UNEP, Athens, 1991 (126 pages) (parties en anglais ou français seulement).
49. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques. Survie des Pathogènes. Rapports finaux sur les projets de recherche (activité K). MAP Technical Reports Series No. 49. UNEP, Athens, 1991 (71 pages) (parties en anglais ou français seulement).
50. PNUE: Bibliographie sur les déchets marins. MAP Technical Reports Series No. 50. UNEP, Athens, 1991 (62 pages) (anglais seulement).
51. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant du mercure, de la toxicité et des techniques analytiques. MAP Technical Reports Series No. 51. UNEP, Athens, 1991 (166 pages) (parties en anglais ou français seulement).
52. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant de la bioaccumulation et de la toxicité des polluants chimiques. MAP Technical Reports Series No. 52. UNEP, Athens, 1991 (86 pages) (parties en anglais ou français seulement).
53. PNUE/OMS: Etudes épidémiologiques relatives aux critères de la qualité de l'environnement pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (Activité D). Rapport final sur l'étude épidémiologique menée parmi les baigneurs de certaines plages à Malaga, Espagne (1988-1989). MAP Technical Reports Series No. 53. UNEP, Athens, 1991 (127 pages) (anglais seulement).

54. PNUE/OMS: Mise au point et essai des techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance continue des polluants marins (Activité A): Rapports finaux sur certains projets de nature microbiologique. MAP Technical Reports Series No. 54. UNEP, Athens, 1991 (83 pages) (anglais seulement).
55. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K): Rapport final sur le projet sur la survie des microorganismes pathogènes dans l'eau de mer. MAP Technical Reports Series No. 55. UNEP, Athens, 1991 (95 pages) (anglais seulement).
56. PNUE/COI/FAO: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les matières synthétiques persistantes qui peuvent flotter, couler ou rester en suspension. MAP Technical Reports Series No. 56. UNEP, Athens, 1991 (113 pages) (anglais et français).
57. PNUE/OMS: Recherches sur la toxicité, la persistance, la bioaccumulation, la cancérogénicité et la mutagénicité de certaines substances (Activité G). Rapports finaux sur les projets ayant trait à la cancérogénicité et la mutagénicité. MAP Technical Reports Series No. 57. UNEP, Athens, 1991 (59 pages) (anglais seulement).
58. PNUE/FAO/OMS/AIEA: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les composés organophosphorés. MAP Technical Reports Series No. 58. UNEP, Athens, 1991 (122 pages) (anglais et français).
59. PNUE/FAO/AIEA: Actes de la réunion consultative FAO/PNUE/AIEA sur l'accumulation et la transformation des contaminants chimiques par les processus biotiques et abiotiques dans le milieu marin (La Spezia, Italie, 24-28 septembre 1990), publié sous la direction de G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 59. UNEP, Athens, 1991 (392 pages) (anglais seulement).
60. PNUE/OMS: Mise au point et essai des techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance continue des polluants marins (Activité A): Rapports finaux sur certains projets de nature microbiologique (1987-1990). MAP Technical Reports Series No. 60. UNEP, Athens, 1991 (76 pages) (parties en anglais ou français seulement).
61. PNUE: Planification intégrée et gestion des zones côtières méditerranéennes. Textes rédigés au cours de la première et de la deuxième phase de l'action prioritaire (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 61. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1991 (437 pages) (parties en anglais ou français seulement).
62. PNUE/AIEA: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les substances radioactives. MAP Technical Reports Series No. 62, UNEP, Athens, 1992 (133 pages) (anglais et français).
63. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K) - Survie des pathogènes - Rapports finaux sur les projets de recherche (1989-1991). MAP Technical Reports Series No. 63, UNEP, Athens, 1992 (86 pages) (français seulement).
64. PNUE/OMM: Pollution par voie atmosphérique de la mer Méditerranée. Rapport et actes des deuxièmes journées d'études OMM/PNUE. MAP Technical Reports Series No. 64, UNEP, Athens, 1992 (246 pages) (anglais seulement).
65. PNUE: Répertoire des centres relatifs au milieu marin en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 65, UNEP, Athens, 1992 (351 pages) (anglais et français).
66. PNUE/CRU: Modifications régionales du climat dans le bassin méditerranéen résultant du réchauffement global dû aux gaz à effet de serre. MAP Technical Reports Series No. 66, UNEP, Athens, 1992 (172 pages) (anglais seulement).

67. PNUE/COI: Applicabilité de la télédétection à l'étude des paramètres de la qualité de l'eau en Méditerranée. Rapport final du projet de recherche. MAP Technical Reports Series No. 67, UNEP, Athens, 1992 (142 pages) (anglais seulement).
68. PNUE/FAO/COI: Evaluation des ateliers de formation sur le traitement statistique et l'interprétation des données relatives aux communautés marines. MAP Technical Reports Series No. 68. UNEP, Athens, 1992 (221 pages) (anglais seulement).
69. PNUE/FAO/COI: Actes de l'Atelier FAO/PNUE/COI sur les effets biologiques des polluants sur les organismes marins (Malte, 10-14 septembre 1991), publié sous la direction de G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 69. UNEP, Athens, 1992 (287 pages) (anglais seulement).
70. PNUE/AIEA/COI/FAO: Composés organohalogénés dans le milieu marin: Une synthèse. MAP Technical Reports Series No. 70. UNEP, Athens, 1992 (49 pages) (anglais seulement).
71. PNUE/FAO/COI: Techniques sélectionnées de surveillance continue des effets biologiques des polluants sur les organismes marins. MAP Technical Reports Series No. 71. UNEP, Athens, 1993 (189 pages) (anglais seulement).
72. PNUE: Coûts et bénéfices des mesures pour la réduction de la dégradation de l'environnement des sources de pollution d'origine tellurique dans les zones côtières. A -Etude de cas de la baie d'Izmir. B - Etude de cas de l'île de Rhodes. MAP Technical Reports Series No. 72. UNEP, Athens, 1993 (64 pages) (anglais seulement).



Issued and printed by:

Mediterranean Action Plan  
United Nations Environment Programme

Additional copies of this and other publications issued by  
the Mediterranean Action Plan of UNEP can be obtained from:

Coordinating Unit for the Mediterranean Action Plan  
United Nations Environment Programme  
Leoforos Vassileos Konstantinou, 48  
P.O.Box 18019  
11610 Athens  
GREECE



Publié et imprimé par:

Plan d'action pour la Méditerranée  
Programme des Nations Unies pour l'Environnement

Des exemplaires de ce document ainsi que d'autres  
publications du Plan d'action pour la Méditerranée  
du PNUE peuvent être obtenus de:

Unité de coordination du Plan d'action pour la Méditerranée  
Programme des Nations Unies pour l'Environnement  
Leoforos Vassileos Konstantinou, 48  
B.P. 18019  
11610 Athènes  
GRECE