

RAPPORT TECHNIQUE

Projet ROMPOM

Réseau d'Observation Méditerranéen des Pollutions – oiseaux marins

Caractérisation contamination chaine trophique



Octobre 2019

CONTEXTE et INTRODUCTION

Depuis maintenant une quinzaine d'années, l'Initiative pour les Petites Îles de Méditerranée apporte son expérience et mène des actions de coopération dans les pays du bassin Méditerranéen en général et en France provençale en particulier. Elle a pour mission d'accompagner les pays demandeurs dans leur politique de protection et de gestion intégrée des zones côtières, un appui scientifique et technique aux gestionnaires sur les opérations de terrain en espace naturel, et aux institutions environnementales et centres de recherches. L'Initiative PIM a donc constitué un réseau de gestionnaires et d'experts des îles mobilisable à l'échelle régionale y compris dans les opérations d'acquisition de connaissance.

Les îles, territoires d'exception à fort taux d'endémisme, concentrent une faune et flore spécifique et cependant fragile car fortement exposée à la fréquentation touristique et aux espèces invasives. Ces espaces hébergent des habitats spécifiques et des espèces endémiques échappant aux pressions anthropiques du continent. Parmi elles, les oiseaux marins parcourent les îles pour effectuer leur reproduction. Ces espèces pélagiques, consommant des espèces marines, accumulent dans leurs tissus des contaminants provenant de leur proie. Elles peuvent être considérées comme de bons indicateurs des niveaux de pollution du milieu marin.

Le présent rapport compile les travaux réalisés par l'Initiative PIM et ses partenaires gestionnaires depuis 2 ans dans le cadre du projet ROMPOM financé par l'Agence de l'eau RMC.



Crédit photographique – 1ère page – Louis Marie Préau – Mathieu Thévenet – Initiative PIM

Etude réalisée par l'Initiative PIM, financée par l'agence de l'eau RMC et en partenariat avec les universités d'Aix Marseille et de Sienna.



SOMMAIRE

A. PRESENTATION DES ORGANISATIONS – p4

A.1. L'Initiative pour les Petites Iles de Méditerranée – p4

A.2 Le Laboratoire de Chimie de l'Environnement – Université Aix Marseille – p5

A.3 Experts PIM partenaires – p5

A.4. Organisations partenaires – p7

B. MODE OPERATOIRE – p8

B.1 La Démarche – p8

B.2. Les espèces cibles – p9

B.3 L'Appui aux gestionnaires de terrain – p11

B.4 Echantillonnage de terrain – p11

B.5 Analyses laboratoire – p15

C. RESULTATS- p33

C.1. Les Polluants Organiques – p33

C.2 Les Éléments Traces métalliques – p44

D. DISCUSSIONS et CONCLUSIONS DE L'ÉTUDE – p57

D.1 Bio indicateur Balbuzard pêcheur – p57

D.2 Bio indicateur Puffin Cendré – p59

E. PERENNISATION DE L'OBSERVATOIRE – p62

G. Annexes – p64

H. Références bibliographiques – p66

A. PRESENTATION DES ORGANISATIONS

A.1. L'Initiative pour les Petites Îles de Méditerranée

Contact : m.thevenet@initiative-pim.org

L'INITIATIVE PIM POUR LES PETITES ÎLES DE MÉDITERRANÉE

L'INITIATIVE PIM est une ONG internationale pour la promotion et l'assistance à la gestion d'espaces insulaires méditerranéens. Son objectif est la préservation de ces micro-espaces par la mise en place d'actions concrètes sur le terrain, en favorisant les échanges de savoir-faire et de connaissances entre les protecteurs et spécialistes du bassin méditerranéen.

Son approche donne priorité aux solutions simples et pragmatiques. Organiser des rencontres et impulser des échanges entre les acteurs de la protection de la nature, capitaliser et diffuser les savoirs et savoir-faire sont les axes structurants son action.

Initiée en 2005 par le Conservatoire du littoral (France), l'INITIATIVE PIM est, depuis 2017, une ONG indépendante. Depuis plus de 10 ans, elle s'appuie sur un pool d'experts pluridisciplinaires, gestionnaires de sites, gardes du littoral, institutionnels et ONGs du bassin méditerranéen, qui confrontent et échangent leurs idées et expériences pour des espaces insulaires mieux gérés et mieux protégés.

DES PARTENARIATS DURABLES ET DES ACTIONS CONCRÈTES



MAROC
En partenariat avec Haut-Commissariat des Saux et Forêts, Université Mohammed V, ONGs locales, experts indépendants.
ESSAOUIRA
Appui à la rédaction du Schéma de gestion + Organisation d'ateliers de travail + Missions de suivis ornithologiques (Faucon d'Éléonore) + Contribution au Plan d'Action national pour la protection du Faucon d'Éléonore + Évaluation des usages + Planification de l'ouverture du site et de la gestion des flux touristiques.
AL ROCCIMA
Missions de suivis ornithologiques + Contribution au Plan d'Action national pour la protection du Balbuzard pêcheur.
JBEL MOUSSA
Planification de l'ouverture du site et de la gestion des flux touristiques.

ALGÉRIE
En partenariat avec Ministère en charge de l'Environnement (MATEV), Commissariat National du Littoral (CNL), ONGs locales, experts indépendants.
HARIBAS
Ateliers de formation (suivi ornithologique, ressources halieutiques...) + Inventaires terrestres et marins + Évaluation de l'impact du net noir + Étude d'impacts des aménagements + Appui à la rédaction du Plan de gestion.
PARC NATIONAL DE TAZA
Gère écologique dédié à l'accueil et à la gestion du public.

TUNISIE
En partenariat avec Agence de Protection et d'Aménagement du Littoral (APAL), ONGs locales, experts indépendants.
ZEMBRA/ZEMBRETTA
Appui à la mise en place d'une cellule de gestion + Inventaires naturalistes + Dératisation + Suivi écologique + Suivi ornithologique (Puffins cendrés et yelkouan, Goélands d'Audouin).
ILALIE
Actualisation du plan de gestion + Cartographie des biodiversités marines + Multiples formations à la gestion et au suivi écologique + Inventaires naturalistes + Suivi écologique + Expéditions diverses (tourisme, pollutions terrestres, assainissement, paysage...).
KURATAKERKENNAH
Appui à la préservation de la pêche artisanale + Appui à la mise en place d'un processus de co-gestion du site + Lutte contre les espèces invasives.

LIBYE
En partenariat avec Environment General Authority, GAN-ASD.
PARC NATIONAL D'EL KOUF
Prospections naturalistes, **ILLOT JELJANA, BENGHAZI**
Restauration de sites de nidification des sternes voyageuses.

LIBAN
En partenariat avec l'Observatoire National de l'Environnement, autorités et ONGs locales.
PALM ISLANDS
Formation à la gestion des flux, espèces invasives et déchets + Gère écologique.

ALBANIE
En partenariat avec Ambassade de France, Ministère de l'Environnement albanais, Agence de protection du littoral albanais, Université de Tirane, ONGs locales, experts indépendants.
SAZANI ET PARC MARIN DE KARABURUNI-SAZANI
Prospections naturalistes + Évaluation des pollutions terrestres et des déchets + Étude macro-algues/Corail + Préconisations de gestion + Élaboration du Plan de gestion.

PETITES ÎLES DE MÉDITERRANÉE
Depuis 2005, l'Initiative PIM accompagne et coordonne le suivi de petites îles méditerranéennes, pour en améliorer la connaissance, la gestion et la préservation. Une assistance durable et des actions menées sur le moyen et long terme en partenariat avec les acteurs locaux, qui permettent la mise en place de politiques de gestion intégrées pérennes et efficaces.

+ DES MISSIONS ORGANISÉES EN ESPAGNE, FRANCE ITALIE, CROATIE, GRÈCE, MALTE...



A.2 Le Laboratoire de Chimie de l'Environnement – Université Aix Marseille

pierre.doumenq@osupytheas.fr

pascale.prudent@univ-amu.fr

Le Laboratoire de Chimie de l'Environnement (LCE) est une Unité mixte de Recherche (UMR7376), dirigée par le Pr H. WORTHAM et ayant pour tutelles l'Université Aix-Marseille et le CNRS (Institut National de Chimie). Il est localisé sur le campus Saint Charles à Marseille où il dispose d'un bâtiment qui lui est propre (Bâtiment 10) et d'une antenne sur le campus de l'Arbois (Aix-en-Provence) au contact des unités de l'Observatoire des Sciences de l'Univers (OSU Pythéas) avec lesquelles de nombreux liens sont établis. Le LCE est structuré en deux équipes :

- Instrumentation et Réactivité Atmosphérique (IRA) : cette équipe focalise son activité sur l'étude du comportement de l'aérosol dans la troposphère et les conséquences de sa réactivité sur la chimie des systèmes atmosphériques.
- Transfert Réactivité et Analyse des Micropolluants dans l'Environnement (TRAME) : les activités de l'équipe visent à étudier le devenir bio-physico-chimique des contaminants, à identifier les sources de contamination de l'environnement et à développer les outils méthodologiques et analytiques nécessaires au suivi de ces contaminants.

Ce projet a été assuré par l'équipe **TRAME**, dirigée par P. DOUMENQ (Pr) et JL BOUDENNE (Pr) et compte 21 permanents dont 13 enseignants chercheurs et 8 personnels techniques - 15 doctorants et postdoctorants.

Les 3 axes de recherche de l'équipe TRAME visent à :

- Étudier le devenir bio-physico-chimique des contaminants (organiques, organo-métalliques et inorganiques) en focalisant les travaux sur les produits de transformation et la spéciation ;
- Identifier les sources de ces contaminations (approches moléculaire et isotopiques) ;
- Développer les outils/méthodologies (au laboratoire et in-situ) nécessaires à leur quantification et leur suivi (spatial et/ou temporel) dans les milieux naturels et anthropisés afin d'apporter une contribution majeure et intégrée à la prise en compte des multi-pollutions (effet "cocktail").

Ces thématiques sont clairement sous-tendues par la chimie verte et par la notion de développement durable. Elles sont liées à des problématiques "sociétales", en relation directe avec l'impact environnemental des micropolluants et les politiques de gestion des milieux.

A.3 Experts PIM partenaires

Flavio Monti - Université de Sienne, Italie

flaviomonti00@gmail.com

Biologiste italien avec plus de 10 ans d'expérience dans le secteur de l'écologie et en biologie de la conservation. Il est particulièrement intéressé par la biologie de l'évolution, l'écologie au sens large et le comportement des oiseaux (particulièrement des rapaces) et par l'intégration de principes basiques

de recherche et leur application en conservation et gestion de la faune sauvage du pourtour méditerranéen. Actuellement en post-doc à l'Université de Sienne, Italie pour notamment mettre en évidence les niveaux de contaminants dans les zones humides méditerranéennes et dans les environnements côtiers par le biais de l'étude du Balbuzard pêcheur *Pandion haliaetus* comme bio-indicateur. La plupart de ses activités de recherche ont été conduites dans les zones humides, les îles et les environnements côtiers, et souvent dans des espaces sous statut de protection comme des Parcs Nationaux, des réserves marines ou terrestres du bassin Méditerranéen. Par ailleurs, en répondant aux enjeux des zones humides et de leur conservation au travers de réseaux internationaux, il s'implique directement dans les réseaux de promotion et de protection correspondants. Il est un expert et partenaire de l'Initiative PIM et depuis 2017 l'un des membres de son Comité Administratif.

Stefania Ancora Ph.D. - Université de Sienne, Italie

stefania.ancora@unisi.it

Stefania Ancora est diplômée en Biologie depuis 1993 de l'Université de Sienne. De 2000 à 2004, elle est chercheuse à l'université de Pise, où elle entreprend des études concernant les interactions entre les métaux lourds et les structures biologiques des organismes marins ainsi que les techniques de suivi des métaux lourds en zones industrialisées. Depuis 2008 elle est chercheuse titulaire à Sienne, réalisant à la fois des activités de laboratoire pour la détermination d'Eléments Traces métalliques et métalloïdes (ETMM) par spectrométrie et des activités de recherche en science environnementale et écotoxicologie. Elle est l'auteur de plus de 40 publications de niveau national et international.

Aida Abdennadher

a.abdennadher@gmail.com

Dr. en sciences halieutiques avec une expérience dans le *biomonitoring* environnemental des polluants inorganiques et leurs transferts au sein de la chaîne tropique des écosystèmes marins et aquatiques. Elle a étudié l'écologie de plusieurs espèces d'oiseaux marins en combinant l'étude conventionnelle du régime alimentaire, l'analyse des isotopes stables et celles des contaminants inorganiques afin de mieux interpréter les niveaux de ces derniers dans les tissus des hauts prédateurs.

Elle est une experte et partenaire de l'Initiative PIM et depuis 2017, l'un des membres de son Comité Administratif.

A.4. Organisations partenaires



L'organisation des opérations de terrain qui ont permis l'obtention de ses résultats présentés dans cette étude n'étaient possible sans les organisations gestionnaires de sites insulaires locales des différents pays partenaires :

- Concernant les campagnes de terrain pour le Puffin de Scopoli :
 - En Tunisie : l'Agence pour la Protection du Littoral Tunisien ainsi que la Direction Générale des Forêts,
 - En Algérie : le Commissariat National du Littoral, en France : le Parc National des Calanques,
- Concernant les campagnes de terrain pour le Balbuzard pêcheur :
 - Aux Baléares : la Conselleria de Medio Ambiente,
 - En Corse : le Parc Naturel Régional de Corse
 - En Toscane : le Parc Naturel Régional de la Maremma.

Des agents de chacune des institutions publiques ont été impliqués sur le terrain et en amont pour la préparation et l'obtention d'autorisation de prélèvement. L'initiative PIM tient à remercier l'ensemble des personnes qui ont été engagées dans ces activités.

B. MODE OPERATOIRE

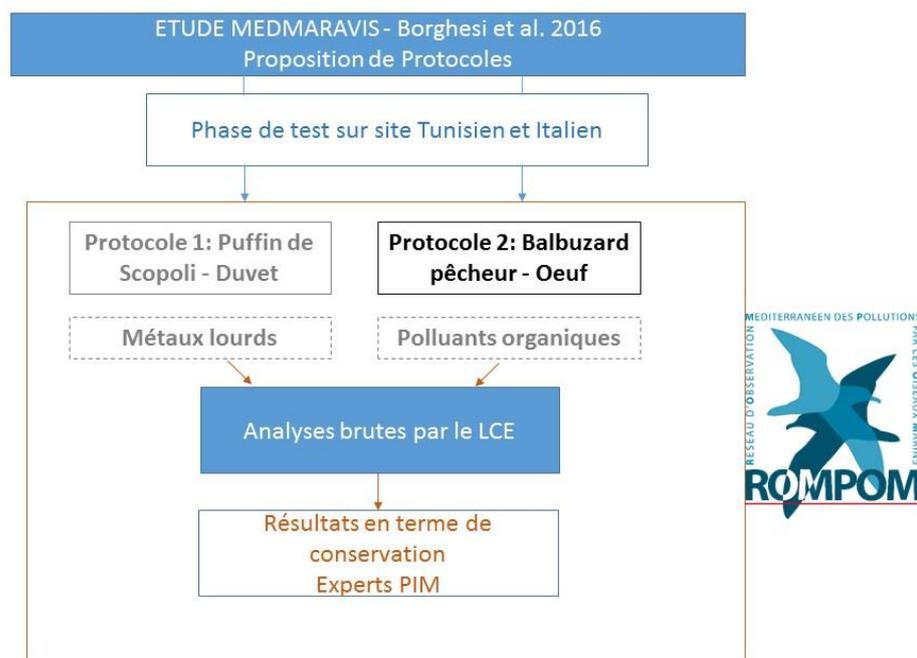
B.1 La Démarche

B.1.1 L'Initiative pour les Petites Iles de Méditerranée

Le projet a pour but l'évaluation des niveaux de pollution par l'analyse de bio échantillons d'oiseaux marins pélagiques et côtiers se reproduisant sur différents sites insulaires méditerranéens. L'objectif à plus long terme du projet est la création d'un observatoire à l'échelle méditerranéenne permettant l'analyse comparative de ces derniers entre sous-bassin.

Le projet a consisté à mettre en place des protocoles de suivi simples sur l'ensemble des sites nicheurs de la façade nord et sud méditerranéenne. Ces sites pilotes sont d'ores et déjà intégrés à l'Initiative pour les Petites Îles de Méditerranée et leur avifaune marine fait l'objet de suivi scientifique plus ou moins régulier avec ou sans l'appui des PIM. Ce réseau servira de base dans un second temps pour la réplication de l'étude dont les résultats sont présentés dans le présent document.

Afin de mettre en place des protocoles d'échantillonnages validés, reproductibles, adaptés aux îles et aux espèces méditerranéennes, l'Initiative PIM a donc préalablement commandité en étude auprès de Medmaravis (Borghesi et al. 2016) une organisation internationale d'ornithologie méditerranéenne qui a proposé dans ce cadre une batterie de protocoles exploitables. Sur cette base, deux protocoles ont été retenus au cours du projet : l'un portant sur le Puffin de Scopoli par prélèvement de duvet et l'autre sur le Balbuzard pêcheur par prélèvement d'œufs non fécondés.



Une fois ces résultats validés par l'Agence de l'eau RMC, ceux-ci seront mis en ligne au sein de la plateforme MedTrix et diffusés largement.



Créée en 2013 par l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée et Corse et l'Œil d'Andromède, MEDTRIX (<http://plateforme.medtrix>) est une plateforme cartographique en ligne pour la surveillance des eaux côtières et des écosystèmes de Méditerranée. Elle facilite l'accès et la consultation à des données de surveillance spatialisées de très bonne résolution (entre 0 et 80 mètres de fond ; cartographies au 1/10000ème) tout le long des côtes méditerranéennes françaises et pour quelques zones en Atlantique, Italie, Tunisie, Espagne, et Maroc. Les acteurs du milieu marin (scientifiques, gestionnaires, agents techniques ...) accèdent ainsi gratuitement à des informations complémentaires : indicateurs de qualité, pressions anthropiques, données biologiques, acoustiques, informations géographiques, etc.

Par la suite une généralisation des protocoles et l'inclusion de nouveaux sites d'échantillonnage pourront être envisagées.

B.2. Les espèces cibles

B.2.1 Le Balbuzard Pêcheur – *Pandion haliaetus*

Le Balbuzard pêcheur est une espèce longévive de rapace consommant en fin de chaîne trophique des poissons, et qui a la possibilité de s'adapter aux milieux anthropisés. L'écologie particulière de cette espèce la rend particulièrement adaptée aux suivis écotoxicologiques appliqués aux écosystèmes aquatiques (Henny et al. 2004 ; Rattner et al. 2008 ; Grove et al. 2009 ; Jackson et al. 2016). La plupart des recherches sur cette espèce ont été réalisées sur le continent américain, spécialement celles mettant en évidence les baisses de population causées par le large usage des polluants organiques persistants (POPs) dans l'environnement (par ex : le DDT et molécules similaires) décrites dans les années 1960 et 1970 (Elliott et al. 2000 ; Henny et al. 2008). Quelques études ont été mises en place en Europe (Grove et al. 2009 ; Lemarchand et al. 2009 ; 2011) et plus spécifiquement en Méditerranée (Jiménez et al. 2007), dans laquelle la population demeure à présent relictuelle. Ce rapport contient des résultats préliminaires sur l'évaluation des organochlorés présents dans les œufs de Balbuzard en Méditerranée collectés dans le cadre d'un projet de recherche pour la conservation des espèces à l'échelle méditerranéenne (coordonnée par le Parc National de l'Archipel Toscan et l'Université de Sienne).



B.2.2 Le Puffin de Scopoli - *Calonectris diomedea*

Le Puffin cendré est une espèce pélagique qui se reproduit exclusivement sur des îles et îlots. L'espèce niche dans des cavités, des grottes, des boyaux, dans des terriers creusés par d'autres espèces et qu'il peut légèrement aménager. Cette espèce pond un œuf unique par an, qui n'est pas remplacé en cas d'échec. Le Puffin cendré passe la majeure partie de son temps en mer, revenant à terre uniquement pour les besoins de la reproduction de fin février à mi-octobre. Les oiseaux



ne sont actifs au sein des colonies que la nuit lors des prospections des terriers, des accouplements, des relais pour l'incubation ou du nourrissage des jeunes. D'une manière générale, les adultes ne sont présents au terrier de jour qu'en période d'incubation et les quelques jours suivant l'éclosion, jusqu'à l'émancipation thermique du jeune poussin.

Pendant la saison de reproduction et pendant la période précédant la ponte (*prelaying*) les adultes reproducteurs effectuent de courts trajets en mer, généralement autour de la colonie généralement d'une journée (et jusqu'à 6 jours), afin de se nourrir et approvisionner leur poussin. Mâle et femelle sont impliqués dans le nourrissage du poussin. En mer, les individus se regroupent pour pêcher avec des congénères ou d'autres espèces. Ils sont souvent observés en association avec des mammifères marins (dauphins) ou des grands poissons pélagiques (thons). Le Puffin cendré se nourrit essentiellement en pêchant à la surface de la mer ou au cours de plongées de faible profondeur et de courte durée (Monteiro et al. 1996). Il suit fréquemment les chalutiers pour recueillir les déchets rejetés à la mer au moment du tri des poissons, ainsi que les palangriers pour tenter d'attraper des appâts (Sanchez et Belda 2003). Peu d'oiseaux hivernent en Méditerranée. La plupart rejoignent l'Océan Atlantique, rapidement après l'envol des jeunes, en passant par Gibraltar entre mi-octobre et mi-novembre (Telleria 1980). Les oiseaux retournent en Méditerranée par Gibraltar en février et mars (Corés et al. 1980) pour rejoindre leurs sites de reproduction dès la seconde quinzaine de février. Les zones d'hivernage restent peu connues, les données disponibles suggèrent qu'ils hivernent dans l'Océan Atlantique et qu'ils pourraient pénétrer dans l'Océan Indien (Mougin et al. 1988 ; revue dans Thibault et al. 1997). Les données obtenues par télémétrie ou géolocalisation indiquent que les Puffins cendrés de Méditerranée hivernent en Atlantique, dans les zones suivantes (Péron & Grémillet 2012) :

- Au large du Sénégal et de la Mauritanie ;
- Au large de l'Angola et de la Namibie.

Et dans une moindre mesure :

- Au large du Brésil
- En haute mer au niveau du Golfe de Guinée.

Pour toutes les caractéristiques citées précédemment, cette espèce constitue donc un bio indicateur pertinent, « *top predator* », situé en bout de "chaîne trophique" les puffins sont représentatifs de leur milieu. Par ailleurs leur comportement inféodé aux îles permet une manipulation et donc des prélèvements biologiques aisés. Par ailleurs, le fait qu'ils évoluent dans les environs de son site de reproduction lors de cette période, permet de restreindre légèrement la provenance géographique des contaminants qui seront dosables dans leurs tissus.

Un prélèvement du duvet, au lieu de prélèvements sanguins ou de plume de poussins proches de l'envol, constitue un protocole d'échantillonnage très peu invasif, peu déranger pour les individus voir sans dérangement dans les cas où le duvet est prélevé post envol directement dans les terriers.

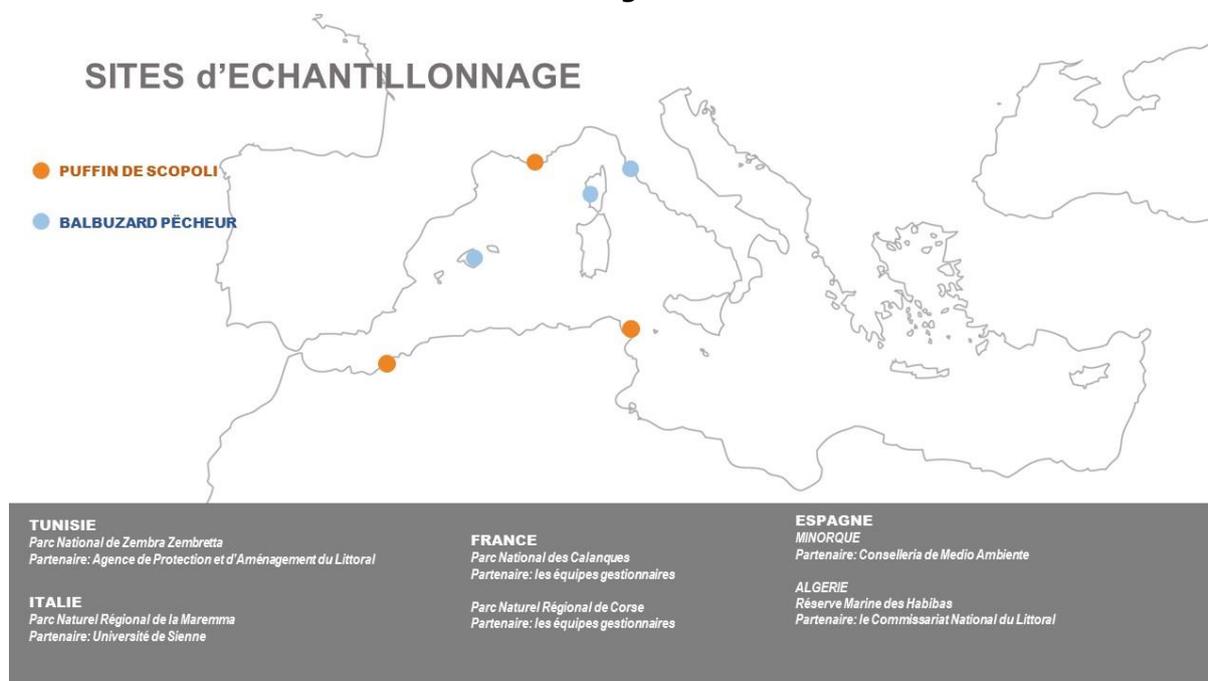
B.3 L'Appui aux gestionnaires de terrain



La mise en place de protocole de suivi des polluants a impliqué l'organisation de mission de terrain sur les sites pilotes de l'Initiative pour les Petites Îles de Méditerranée. Pour les sites de la façade sud-méditerranéenne, les moyens à disposition des équipes de gestion étant parfois très limités, le présent projet prévoyait un appui financier de ces derniers. Une prestation a donc été réalisée auprès d'un expert tunisien afin d'appuyer financièrement le suivi de la reproduction de l'espèce cible du site de Zembra qui a permis une présence sur l'île en continue tout au long de la période de reproduction et a permis d'augmenter le niveau de connaissance du site. Cette étude a permis la production d'un rapport complet de 45 pages sur l'ensemble de l'avifaune marine nicheuse de l'archipel. Ce dernier est présenté joint au présent rapport.

B.4 L'échantillonnage de terrain

B.4.1 Les Sites d'échantillonnage



B.4.2 Méthodes d'Echantillonnage

Protocole 1 : Puffin de Scopoli - prélèvement de duvet.

Le prélèvement de ce tissu a été réalisé par des agents de terrain expérimentés et conservé à température basse dans des compartiments réfrigérés dans des tubes plastique de 2mL.

TUNISIE - Parc National de Zembra.

Une mission de terrain a été organisée en coopération avec l'Agence pour la Protection du Littoral tunisien et des experts du réseau PIM afin de procéder au prélèvement de 30 échantillons de duvet. Cette mission s'est déroulée du 19 au 22 septembre 2017.



Image des activités de prélèvement par l'équipe de terrain. A Zembra, Tunisie.

Les colonies échantillonnées de l'île principale Zembra suivantes ont été choisies pour leur facilité d'accès et la densité importante de terriers occupés : Callafid et le col de Onk Jamal.



Localisation des colonies d'étude à Zembra - Tunisie.

ALGERIE - Réserve Marine des Habibas

Une mission a été conduite en coopération avec le Commissariat National du Littoral algérien au sein de l'archipel des Habibas du 25 au 28 septembre 2017 afin de procéder à l'échantillonnage des colonies de l'île principale. Le caractère tardif de cette mission n'a permis de ne localiser que quelques terriers occupés et donc de prélever que 4 individus sur deux colonies distinctes : celle du village et celle dite « de la Grotte ».



Localisation des colonies d'étude de l'île principale des Habibas, Algérie.

FRANCE - Parc National des Calanques

Sur ce site, une mission a également été organisée par les PIM suite à l'envol des Puffin afin de collecter le duvet résiduel laissé dans les terriers de l'année permettant de n'imposer aucun dérangement à l'espèce cible. Les prélèvements ont été effectués par une équipe mixte PIM et du Parc National. Les activités de terrain se sont poursuivies en régie par le parc pour les sites du Frioul et du Grand Congloué.



Localisation des colonies d'étude de l'archipel de Riou. Une colonie a également été échantillonnée sur l'île du Frioul au Nord de Riou

Protocole 2 : Balbuzard pêcheur - prélèvement d'œufs non fécondés

Dans le cadre d'un projet de recherche pour la conservation et l'évaluation environnementale des polluants affectants du Balbuzard pêcheur à l'échelle méditerranéenne, coordonné par le Parc National de l'Archipel Toscan et l'Université de Sienne, 20 œufs non-éclos ont été collectés de 3 sites différents de Méditerranée : Les Îles Baléares, n=8, la Corse n=6 et la côte Toscane n=6. Le prélèvement s'est effectué uniquement sur les œufs dont l'éclosion a échoué et qui ont été prélevés à la fin de cycle reproductif. La collecte des œufs s'est effectuée durant une période d'environ 15 ans allant de 2005 à 2018. Les échantillons ont été conservés à température ambiante jusqu'aux analyses.

Institutions Partenaires :



B.5 Analyses en laboratoire

B.5.1 Les Polluants Organiques

B.5.1.1 Cibles moléculaires

Les familles investiguées, hydrophobes et persistantes sont des pesticides, les polychlorobiphényles (PCBs) et les polybromodiphényléthers (PBDEs).

Pesticides :

Les pesticides ciblés sont les suivants :

- α HCH, β HCH, γ HCH, δ HCH
- Heptachlore, Alachlore
- Métalaxyl, Métolachlore, Méthoxychlore
- Aldrine, Endrine, Dieldrine, Endrine Aldéhyde, Endrine Cétone
- 4,4' DDT, 4,4' DDE, 4,4' DDD
- Trans-Chlordane, Cis-Chlordane
- Chlorpyriphos-éthyl
- Heptachlor époxyde isomère B
- Chlorfenvinphos
- Endosulfan I, Endosulfan II, Endosulfan Sulfate
- surrogates 4,4'-DDE-D8 et PCB30-D5 et PCB156-D3
- Etalon interne 13C-HCB

Polychlorobiphényles (PCBs) :

Les PCBs ciblés sont les suivants (7 PCB indicateurs ou PCBi) :

- PCB28 (2,4,4'N Trichlorobiphenyl)
- PCB52 (2,2'N,5,5'N Tetrachlorobiphenyl)
- PCB101 (2,2'N,4,5,5'N Pentachlorobiphenyl)
- PCB118 (2,3N,4,4'N,5 Pentachlorobiphenyl)
- PCB153 (2,2'N,4,4'N,5,5'N Hexachlorobiphenyl)
- PCB138 (2,2'N,3,4,4'N,5N Hexachlorobiphenyl)
- PCB180 (2,2'N,3,4,4'N,5,5'N Heptachlorobiphenyl)
- Surrogates : PCB30-D5 et PCB156-D3
- Etalon interne : PCB115-D5

Polybromodiphényl éthers (PBDEs) : les PBDEs ciblés sont les suivants :

- BDE 28 (2,4,4'-Tribromodiphenyl ether)
- BDE 47 (2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether)
- BDE 99 (2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether)
- BDE 100 (2,2',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether)
- BDE 153 (2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether)
- BDE 154 (2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenyl ether)
- BDE 183 (2,2',3,4,4',5,6-Heptabromodiphenyl ether)
- BDE 209 (2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decabromodiphenyl ether)
- Surrogate : BDE 189
- Standard interne : BDE 140

5.1.2 Réactifs et matériels

Hexane, Dichlorométhane et isooctane sont de pureté type HPLC et sont fournis par VWR.

Les solutions étalons de PCB, Pesticides et BDE, pour les étalonnages et les dopages (calculs de rendements) sont les suivantes et sont fournies par : Supelco, Analytical Standard et Ehrinstorfer.

Les surrogates deutérés pour les calculs de rendement d'extraction des échantillons sont les suivants : PCB 30 D5, PCB 156 D3, 4,4' DDE D8, BDE 79, BDE 189 et fournis respectivement par Ehrinstorfer.

Les étalons internes deutérés ou marqués au 13C sont les suivants : 13C-HCB, PCB 116 D5, BDE 140 et sont fournis respectivement par Ehrinstorfer.

La liste des fournisseurs de réactifs et des matériels est fournie dans le tableau 1 suivant :

Tableau 1 : Réactifs, solvants et matériels pour les analyses de PCB :

Produit	Fabricant et/ou Fournisseur	Qualité
Solvants		
Dichlorométhane (DCM)	Merck par VWR	Suprasolv pour GC, ECD & FID ≥ 99,8%
Hexane	Merck par VWR	HPLC pureté 99%
Méthanol (MeOH)		HPLC Gradient Grade
Acétone		HPLC pureté 99%
Matériels divers	Fournisseur	Spécificités
Flacons de 20 ml	Fischer Scientific et VWR	Verre borosilicaté, bouchon PTFE
Flacons d'injection de 2 ml	Agilent Technologies	Verre ambré
Bouchons avec septum pour flacons d'injection	Agilent Technologies	Septum PTFE/ gomme silicone
Tubes à centrifuger fond rond	VWR	Verre borosilicaté
Bouchons avec septum pour tubes à centrifuger	VWR	Joint en téflon
Papier aluminium	Fouque	
Colonnes SPE Strata FL-PR Florisil	Phenomenex (Torrence CA, USA)	10g/60ml (170 µm de diamètre de particules et 80 Å de porosité)
Micropipettes à déplacement positif	Acura (Socorex) par Serflam	Piston en acier inox/ETFE - 1-5µl : justesse ≤ 3% - 10-50µl : justesse ≤ 1,2% - 75-100µl : justesse ≤ 0,7% - 100-200µl : justesse ≤ 0,7%
Capillaires verre pour micropipettes	Socorex par Serflam	1-5µl, 10-50µl, 75-100µl, 100-200µl

Fioles jaugées	Fisher Scientific	10 mL : MBL classe A 10± 0,02 mL 20 mL : MBL classe A 20± 0,04 mL 50 mL : MBL classe A 50± 0,06 mL
Evaporateur sous flux gazeux Evaporator Mini	Liebisch Labortechnik	6 positions pour flacons de 20 mL
Ultrasons (Ultrasonic cleaner)	VWR	Température 0 à 80°C
Vortex VV3	VWR	Orbital, 500-2500 min ⁻¹
Centrifugeuse Hettich Mikro 220R	VWR	Vitesse max. 36223g
Lyophilisateur Christ Alpha 1-4	Bioblock Scientific	
Instrument de mesure		
Balance de précision Mettler AE240	Mettler Toledo	Max. 205g, min. 5 mg d _a 0,1 mg
GC-MS Clarus 600 quadrupolaire Mode ECNI – CH₄ Colonne capillaire	Perkin Elmer Restek	15 m x 0,250 mm, 0,1µm RTX 1614
Liner Split/Splitless (PSS) Gaz vecteur He Traitement des données	Linde Perkin Elmer Agilent	2 x 86.2 x 4 mm He 5.6 Turbomass PE ver. 6.1.0
GC-MS/MS 7890 A 7000 Mode EI-70 eV - MS/MS MRM Colonne Capillaire Gaz vecteur He Ultra liner Inert Splitless wool Traitement des données	Perkin Elmer Linde Agilent Agilent	30 m x 0,250 mm, 0,25µm Elite 5 MS He 5.6 MassHunter

5.1.3 Préparation des œufs et membranes de Balbuzard pour analyse

- CHOIX DU PROTOCOLE D'EXTRACTION :

Après un état de l'art de la littérature, plusieurs protocoles (5) ont été testés dans un premier temps, parmi eux ceux décrits par Morales et al. 2012, (extraction à l'ASE), Jimenez et al. 2007 et Zapata et al. 2018.

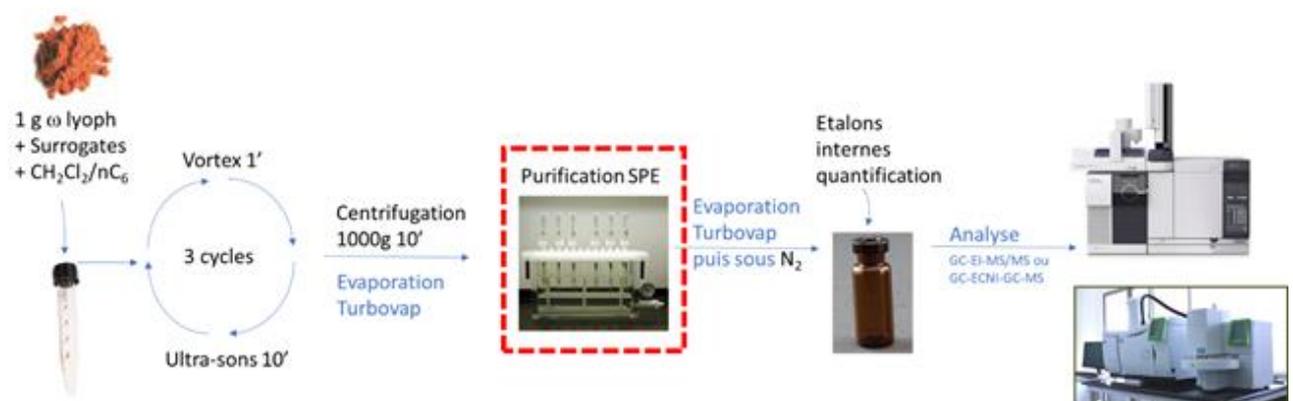
Ces protocoles ont ensuite été optimisés en comparant également des purifications du type SPE (Solid Phase Extraction) et DSPE (Dispersive Solid Phase Extraction) sur des œufs de poules bio lyophilisés et dopés avec des solutions étalons des composés cibles, des surrogates et étalons internes : (OCPs (21), PCBs (9) BDEs (10). En fonction des rendements obtenus, nous avons choisi d'utiliser le protocole de Zapatta et al. 2018 modifié faisant appel à une purification de type SPE. Pour ce dernier protocole les

rendements moyens sur les surrogates (n= 3) étaient compris entre 107 et 117 % (Tableau 2) avec des coefficients de variation corrects et compris entre 6 et 17 %).

Tableau 2 : rendement d'extraction moyens des surrogates pour la méthode Zapata et al. 2018 modifiée sur œufs de poule bio dopés.

	PCB 30D5 (%)	4,4' DDE D8 (%)	PCB 156 D3 (%)
RDT% moyen	113,2	107,0	116,8
Ecart type	9,6	18,1	6,8
CV%	8,5	16,9	5,8

Le protocole définitif d'extraction Zapata et al. 2018 "modifié" est schématisé ci- dessous et détaillé dans le paragraphe suivant :



Protocole d'extraction/purification modifié de Zapata et al. 2018.

1 g d'œuf lyophilisé sont dopés avec 10 µL (pipette à déplacement positif) d'une solution contenant les surrogates (PCB 30D5, PCB 156 D3 et 4,4' DDE D8 à 30 pg/µl, le BDE 79 à 40 pg/µl et le BDE 189 à 80pg/µl) auquel on ajoute 25 mL d'un mélange d'hexane/dichlorométhane (1/1) dans un flacon de centrifugation en verre.

Le mélange est ensuite passé au vortex pendant 1 minute, puis aux ultrasons pendant 10 minutes, et ceci est répété 3 fois. On centrifuge ensuite pendant 10 minutes (1006 g). On récupère le surnageant et on centrifuge à nouveau. Enfin, le surnageant est évaporé sous flux d'azote (au turbovap) jusqu'à environ 1 mL.

On purifie par SPE sur des colonnes Strata FL-PR Florisil 10g/60mL Giga tube (170 µm diamètre des particules et 80 Å taille des pores).

Les colonnes sont conditionnées par 60 mL d'un mélange d'hexane/dichlorométhane (1/1). L'extrait est déposé (1mL) en tête de colonne, et on élue avec 100 mL du même mélange.

On évapore sous flux d'azote (turbovap) jusqu'à environ 1 mL. On ajoute 500µL d'iso-octane (keeper) puis on évapore le solvant jusqu'à 500µL.

On prélève 250 µL, on ajoute les étalons internes et on injecte en GC/MS/MS ou GC-ECNI-MS (PBDEs).

Les étalons internes utilisés sont pour les pesticides, le 13C-HCB à 10 pg/µl, pour les PCB, le PCB 116 D5 à 20 pg/µl et pour les PBDE, BDE 140 à 80 pg/µL.

Le même protocole est appliqué pour l'extraction des membranes.

Tableau 3 : Répétabilité des rendements d'extraction moyens des surrogates pesticides, PCB et PBDE

	PCB 30D5 (%)	4,4' DDE D8 (%)	PCB 156 D3 (%)
RDT% moyen	113,2	107,0	116,8
Ecart type	9,6	18,1	6,8
CV%	8,5	16,9	5,8

5.1.4 Analyse des POPs sur les échantillons d'Œufs et membranes de Balbuzard

GC-ECNI-MS

La programmation en température du chromatographe est décrite dans le tableau 4 ci-dessous.

Tableau 4 : Programme de température GC et paramètres MS

Programme de température			
Température initiale	Durée du palier	Montée en Température	Température finale
110°C	5 min	50°C.min ⁻¹	220°C
220°C		15°C.min ⁻¹	325°C
325°C	5 min	15°C.min ⁻¹	
325°C	5 min		
Spectromètre de masse Mode ECNI Gaz réactant CH ₄			
Température de la ligne de transfert et injecteur			250°C
Température de la source			250°C

GC-MS/MS

La programmation en température du chromatographe est décrite dans le tableau 5 ci-dessous.

Tableau 5 : Programme de température GC et paramètres MS/MS

Programme de température			
<i>Température initiale</i>	<i>Durée du palier</i>	<i>Montée en Température</i>	<i>Température finale</i>
120°C		8°C.min ⁻¹	175°C
175°C	4 min	3°C.min ⁻¹	240°C
240°C		30°C.min ⁻¹	300°C
300°C	6 min		
Spectromètre de masse MS/MS mode MRM (voir tableau 7)			
Température de la ligne de transfert et injecteur		300°C	
Température de la source		280°C	

Les temps de rétention et ions qualifiants des méthodes GC-EI-MS/MS (MRM) et GC-ECNI-MS sont décrits dans les tableaux 6 et 7.

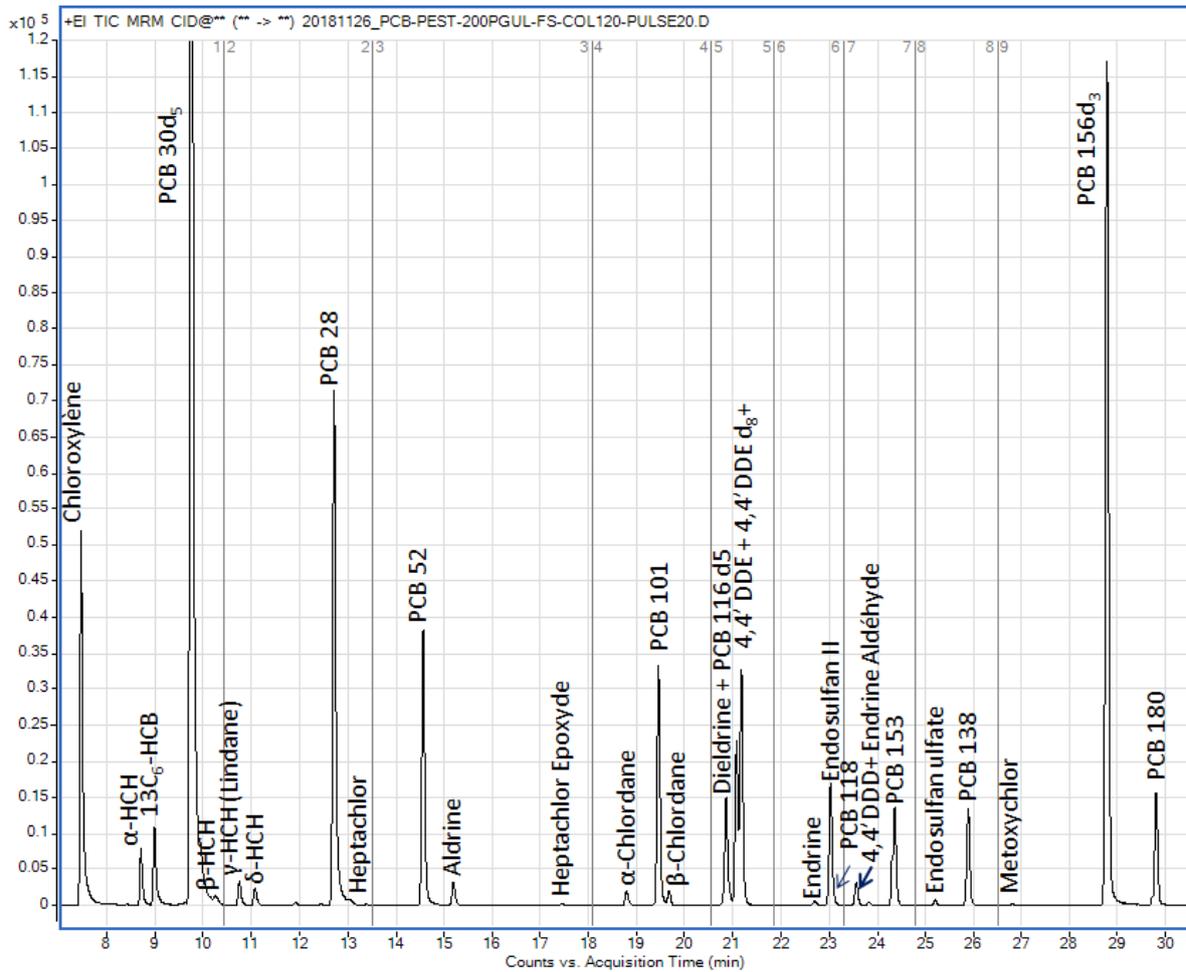
Tableau 6 : temps de rétention et ions qualifiants

	Composés	Temps de rétention (minutes)	Transition quantifiant (m/z)	Transition qualifiant (m/z)
	Chloro-xylène	8,2	244-209	244-207
	α-HCH	9,97	219-183	219-207
EI	13 C₆HCB	9,88	290-290	290-147
Surrogate	PCB 30 d5	10,94	261-261	261-191
	β-HCH	11,08	219-183	219-147
	γ-HCH	11,23	219-183	219-147
	δ-HCH (Lindane)	12,79	219-183	219-181
	PCB 28	14,28	256-186	263-191
	Heptachlore	14,92	272-237	272-235
	PCB 52	16,18	292-222	292-220
	Aldrine	16,87	263-193	263-191
	Heptachlore Epoxyde	19,16	263-193	263-191
	α-Chlordane	20,56	373-266	373-264
	PCB 101	21,19	326-256	326-291
	β-Chlordane	21,32	373-266	373-264
	Dieldrine	22,33	263-193	241-206
EI	PCB 116 d5	22,4	331-331	331-261
Surrogate	4,4' DDE d8	22,76	326-256	328-254
	4,4' DDE	22,87	319-246	318-248
	Endrine	24,01	263-193	263-228
	Endosulfan II	24,78	241-206	241-170
	PCB 118	24,84	326-256	328-258
	4,4' DDD	25,4	235-165	235-199
	Endrine Aldéhyde	25,64	343-279	343-243
	PCB 153	26,14	360-290	360-288
	Endosulfan Sulfate	27,08	272-237	272-235
	4,4' DDT	27,6	235-165	235-199
	PCB 138	27,61	360-290	360-288
	Endrine Cétone	26,7	317-281	317-201
	Métoxychlore	30,57	227-169	227-141
Surrogate	PCB 156 d3	31,05	363-293	363-363
	PCB 180	31,57	394-359	394-324

Tableau 7 : Temps de rétention et Ions SIM des PBDE, Surrogates et EI analysés en ECNI-GC-MS

	Composés	Temps de rétention (minutes)	Ion quantifiant (m/z)	Ion qualifiant (m/z)
	BDE 28	7,72	81	79
	BDE 47	8,45	81	79
	BDE 99	9,11	81	79
	BDE 100	9,32	81	79
	BDE 154	9,93	81	79
	BDE 153	10,26	81	79
EI	BDE 140	10,49	81	79
	BDE 183	11,24	81	79
Surrogate	BDE 189	11,95	81	79

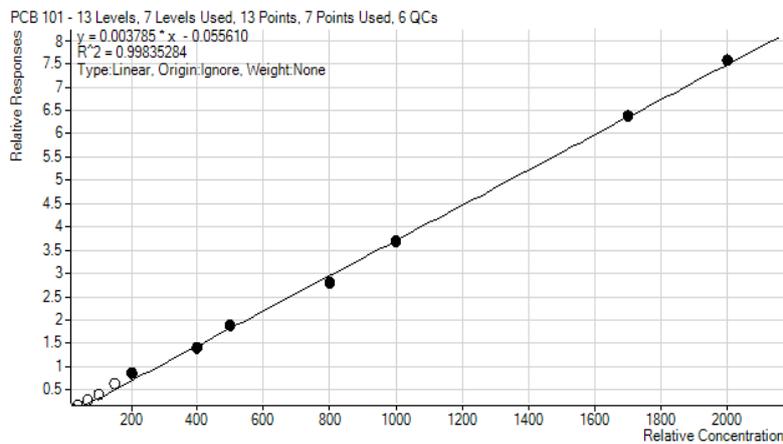
A titre d'exemple, la figure suivante montre un chromatogramme de PCB et pesticides étalons.



Pesticides OCP et PCB étalons 200pg/μl TIC MRM

Etalonnage

A l'aide des solutions étalons contenant les différents composés (à des concentrations comprises entre 1 et 2000 μg/L, les étalons d'extraction et interne décrits plus haut, les différentes droites d'étalonnage ont été tracées et quelques exemples sont présentés sur la figure suivante :



Les LOQ par composé sont fournies dans le tableau 8 suivant :

Tableau 8 : LOD et LOQ des différents composés détectés dans les échantillons ramenés en ng/g d'œuf sec (ppb dw)

ppb (dw)	LOD (ng/g dw)	LOQ (ng/g dw)	ppb (dw)	LOD (ng/g dw)	LOQ (ng/g dw)
4'4 DDD	3,5	10	BDE 28	0,36	1,21
4'4 DDT	6,7	20	BDE 47	0,23	0,77
ENDOSULFAN 2	3,5	10	BDE 99	0,16	0,53
HEPTACHLOR					
EPOXYDE	1,7	5	BDE100	0,40	1,32
DIELDRINE	3,5	10	BDE153	0,44	1,47
4'4' DDE	6,7	20	BDE154	0,33	1,11
PCB 28	3,5	10	BDE 183	0,53	1,78
PCB 52	3,5	10	BDE 189	2,56	8,55
PCB 101	3,5	10	BDE 209	11,49	38,31
PCB 118	3,5	10			
PCB 153	6,7	20			
PCB 138	3,5	10			
PCB 180	6,7	20			

5.1.5 Assurance qualité

Concernant les préparations d'échantillons, et la partie analytique, les précautions suivantes ont été prises :

Préparation de la verrerie et consommable et volumétrie

La procédure suivante a été appliquée pour toute la verrerie exceptée celle graduée (Fioles jaugées, éprouvettes graduées) : Rinçage successif trois fois avec Dichlorométhane puis Hexane, Pyrolyse à 400°C pendant 4 heures et stockage avec feuilles d'aluminium calcinées. Une fois calcinée, la verrerie doit être utilisée, sinon il faut l'obturer avec des bouchons correspondants ou des feuilles d'aluminium préalablement calcinées. Toutes les manipulations ont été effectuées en utilisant des gants en nitrile. La micro-volumétrie est effectuée avec des pipettes de précision spéciales à déplacement positif sur capillaire calibré en borosilicate préalablement rincé à l'acétone HPLC et séché.

Blanc d'injection

Entre chaque échantillon, après la procédure de lavage spécifique, une injection d'hexane propre permet de valider l'état de propreté du système. Toute réponse anormale au niveau du spectrochromatogramme entraîne une nouvelle injection d'hexane.

Blanc solvant

Chaque lot de solvant utilisé est testé avec un facteur de concentration 500 pour quantifier les contaminations éventuelles (près d'une dizaine de solvants et plusieurs lots ont été testés).

Blancs procéduraux

Pour chaque série d'extraction (de l'ordre de 2-3 échantillons), un blanc reprenant l'intégralité du protocole d'extraction/purification/concentration a été réalisé afin de quantifier les contaminations. Aucune contamination n'a été détectée dans les blancs procéduraux.

Rendement

Les rendements moyens des surrogates sur œufs de poule bio lyophilisés dopés sont fournis dans le tableau 9 suivant :

Tableau 9 : répétabilité rendement d'extraction des surrogates (%) PCB et pesticides et PBDE sur œufs de poule bio dopés (de 20 à 40 ng) ; Méthode Zapatta modifiée et optimisée

	PCB 30D5 (%)	PCB 156 D3 (%)	4,4' DDE D8 (%)	BDE189 (%)
n	4	4	4	3
RDT% moyen	113,2	116,8	107,0	100,1
Ecart type	9,6	6,8	18,1	27,9
CV%	8,5	5,8	16,9	27,9

Enfin, le critère rendement a été utilisé pour valider ou invalider les extractions sur les œufs de Balbuzard. Le critère d'acceptabilité était un rendement compris entre 50 et 120% pour les pesticides, PCBs et PBDEs. Après quantification par étalonnage interne adapté à la famille moléculaire, les calculs finaux ont tenu compte des rendements constatés sur chaque échantillon traité. A noter que les rendements moyens obtenus pour les surrogates sur les extractions d'œufs de Balbuzard ont été de : 63.3% pour le PCB 30d5, 80.5% pour le PCB 156D3, 87,5% pour le 4,4' DDE D8, et enfin 100.9% pour BDE189.

B.5.2 Les Éléments Traces métalliques

Le dosage de ces éléments dans les duvets traduit la biomagnification potentielle d'une partie des éléments ingérés par les poussins. Les plumes des oiseaux marins sont considérées comme des bioindicateurs de contamination métallique intéressants (*Borghesi et al., 2016*). Ainsi les niveaux de concentrations mesurés dans les duvets des poussins peuvent renseigner sur le niveau de contamination des poissons (principale nourriture, *Bourgeois et al., 2011*), crustacés, céphalopodes, méduses..., nourriture chassée dans un rayon d'environ 100 km autour de la colonie et rapportée au nid pour les poussins.

La méthodologie développée pour ces analyses a consisté en une première phase de prétraitement des échantillons de duvets collectés dans les nids, correspondant essentiellement à des étapes de tris, nettoyages, lavages et lyophilisation. Chaque échantillon lyophilisé a alors été minéralisé en milieu acide pour le dosage par ICP-AES (spectrophotométrie d'émission atomique par plasma à couplage inductif) des éléments autres que le mercure (Hg). Pour le mercure, les échantillons lyophilisés ont été traités spécifiquement par un analyseur dédié au Hg (AAS : spectrophotomètre d'absorption atomique). Les détails de ces différentes opérations sont présentés ci-dessous.

5.2.1 Préparation des échantillons

- Tri, nettoyage et lavages des échantillons de duvets

Les échantillons de duvets ont été réceptionnés au LCE dans des tubes Eppendorf® de 2 mL (mélange de polymères spécifiques). Après transfert du contenu du tube sur un tamis en nylon, chaque échantillon est trié manuellement au moyen de pinces en plastiques et d'une loupe avec lumière intégrée (Figure 4.2-1). L'objectif de ce tri manuel est de séparer les petites plumes de duvet des nombreuses impuretés récoltées avec l'échantillon, notamment des morceaux de coquilles d'œuf, des particules minérales (sables, graviers...), des débris végétaux, des écailles de poissons, des fientes... Ainsi l'échantillon trié et nettoyé des impuretés solides (Figure 4.2-1) est alors placé dans un bécher en verre de 200mL afin de subir plusieurs lavages successifs (Figure 4.2-2) (*Jaspers et al., 2019 ; Rutkowska et al., 2018*).

Des lavages successifs à l'eau UHQ (ultra haute qualité, eau Milli-Q produite par une chaîne de purification Millipore®) et avec un solvant organique permettent d'éliminer les fines particules restantes fixées dans les plumes, et de dissoudre des composés polaires et organiques adsorbés sur les plumes (notamment des résidus de fientes). Les duvets triés sont en premier lieu rincés 3 fois à l'eau UHQ avec un volume total d'environ 300 mL (Figure 4.2-2), puis à nouveau 100 mL d'eau UHQ sont ajoutés dans le bécher qui est placé dans un bain à ultra-sons afin de parfaire le lavage. Trois cycles de 2 minutes d'ultra-sons sont appliqués sur le bécher en renouvelant l'eau à chaque cycle

(Digital Ultrasonic Clean-Axtor Lovango®, 170 W et 42 kHz). Les duvets ainsi lavés à l'eau sont alors placés sur le tamis en nylon pour un rinçage à l'acétone, suivi d'un dernier rinçage à l'eau UHQ. La durée estimée pour cette étape de tri et lavages est d'environ 2h par échantillon.



Figure 4.2-1 : Tri manuel des échantillons de duvets sous loupe à lumière intégrée avec pinces plastiques (photographies de gauche), et exemple d'échantillon trié obtenu (photographie de droite).



Figure 4.2-2 : Echantillon de duvet trié dans un bécher de 200 mL pour lavage à l'eau UHQ et ultra-sons (photographie de gauche), et dernières étapes de rinçages à l'acétone puis à l'eau UHQ (photographie de droite).

- Séchage et lyophilisation des échantillons de duvets

Les échantillons de duvets triés et lavés sont conditionnés dans des flacons à scintillation de 25 mL en PEHD (polyéthylène haute densité) (Figure 4.2-3). Les flacons, sans leurs bouchons, sont alors placés dans une étuve à $40\pm 2^\circ\text{C}$ pour séchage (Figure 4.2-3), en ayant préalablement fixé un morceau de gaze sur l'ouverture afin d'éviter l'envol des plumes. Les échantillons sont restés dans l'étuve à 40°C pendant minimum 4 à 5 jours jusqu'à séchage complet (pas de variation de masse entre 2 vérifications). Une fois secs et munis de leurs bouchons, les flacons contenant les échantillons sont placés pendant minimum 24h dans un congélateur à -80°C (Congélateurs -80°C Fisher Scientific), puis

en remplaçant de la gaze sur l'ouverture ils sont lyophilisés (Lyophilisateur CryoTec CRIOS-80) (Figure 4.2-3) sous vide et à -80°C pendant environ 48h (pas de variation de masse entre 2 vérifications). Après lyophilisation permettant la stabilisation pour une longue conservation, les flacons sont rebouchés et sont stockés à température ambiante jusqu'à analyse.



Figure 4.2-3 : Flacons à scintillation de stockage en PEHD de 25 mL avec gaze sur l'ouverture dans l'étuve à 40°C (photographie de gauche) ; congélateur à -80°C (photographie centrale) ; lyophilisateur sous vide et à -80°C (photographie de droite).

5.2.2 Analyses des métaux et métalloïdes autres que mercure

La méthodologie utilisée pour doser les métaux et métalloïdes dans les plumes a été adaptée à partir de la norme ISO 11466 pour l'analyse dans les sols. Notamment les conditions de minéralisation (mélange d'acide et programme de température du minéralisateur micro-ondes) ont été optimisées en utilisant des échantillons de références certifiés de plantes et de chair de poissons (pas d'échantillons certifiés pour les plumes, cf. partie 4.2.4).

- Minéralisation acide pour analyse des éléments autres que le mercure

Une minéralisation acide en four micro-onde (MILESTONE Start D) (Figure 4.2-4) est nécessaire pour solubiliser les duvets dans l'objectif d'une analyse des métaux et métalloïdes présents dans les plumes par ICP-AES. Cette méthode permet une dissolution complète de l'échantillon, et n'occasionne aucune perte d'éléments volatils limitant ainsi les contaminations. Entre 100 et 400 mg (pesée précise) d'échantillons lyophilisés sont placés en présence d'eau régale, c'est-à-dire dans un mélange composé de 2/3 d'acide nitrique (6 mL, HNO₃ Trace Metal Grade 34-37%, Fisher Scientific) et de 1/3 d'acide chlorhydrique (3 mL, HCl Trace Metal Grade 67-69%, Fisher Scientific) dans des réacteurs en téflon (Figure 4.2-4), hermétiquement fermés et placés dans le four micro-onde. Le programme sélectionné pour la minéralisation est le suivant : 15 min pour atteindre une température de 110°C puis plateau à 110°C pendant 5 min, suivi d'une montée à 150°C en 8 min avec un plateau à 150°C pendant 10 min, et enfin une dernière montée à 180°C en 5 min et un plateau à 180°C pendant 20 min. Finalement un refroidissement permet de redescendre jusqu'à la température ambiante en 1,5 heures environ. Après minéralisation (Figure 4.2-5), les échantillons sont repris dans des fioles jaugées de 25 mL et ajustés jusqu'au trait de jauge avec de l'eau ultrapure (UQH), filtrés à 0,45 µm (membrane en ester de cellulose, Sodipro) et récupérés dans un flacon à scintillation de 25 mL en PEHD, puis stockés à 4°C au réfrigérateur jusqu'à analyse.

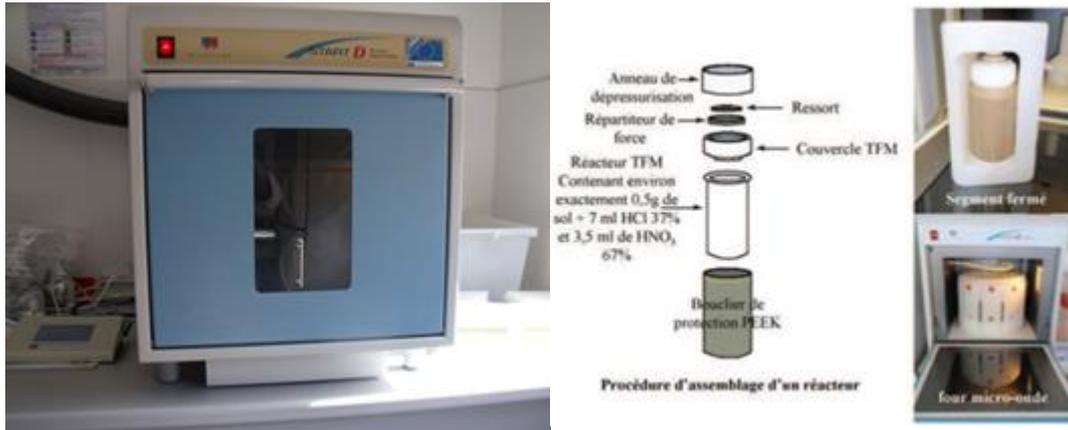


Figure 4.2-4 : Minéralisateur four micro-ondes Milestone Start D (photographie de gauche) et procédure d'assemblage des réacteurs en Téflon et intérieur du minéralisateur (photographies de droite).



Figure 4.2-5 : Echantillon de duvet lyophilisé dans réacteur en Téflon avant (photographie de gauche) et après (photographie de droite) ajout du mélange d'acides concentrés.

- Dosage par ICP-AES des éléments autres que le mercure

Le dosage des métaux et métalloïdes autres que Hg, s'effectue dans les minéralisats par ICP-AES avec un appareil Horiba-Jobin Yvon JY2000 Ultratrace (Figure 4.2-6). L'ICP-AES est une méthode d'analyse multi-élémentaire s'appuyant sur le principe de l'émission atomique. L'échantillon est aspiré, amené à nébulisation, jusqu'à la création d'un nuage de fines gouttelettes. Les plus grosses gouttelettes sont évacuées, et les plus petites sont introduites dans le plasma d'Argon. La température du plasma est très élevée (+ 2000°C), et l'échantillon est atomisé et/ou ionisé (dissocié en atomes ou ions libres). Un capteur permet de capter l'émission de lumière qui correspond à l'énergie perdue par un atome qui passe d'un état excité à un état d'énergie moindre (stable). L'opération fait intervenir un système de miroirs et de lentilles, et un réseau mobile qui se déplace en fonction de la longueur d'onde choisie par l'opérateur pour la mesure. Le nombre de photons émis est proportionnel au nombre d'atomes de l'élément considéré présents dans la solution (Rouessac et al. 2019).

Tous les échantillons préparés précédemment sont ainsi directement injectés, et l'opérateur du laboratoire programme l'appareil (droite d'étalonnage, longueur d'onde) afin d'effectuer la recherche et le dosage des éléments ciblés présents dans les solutions. La quantification est réalisée par étalonnage externe uniquement. La calibration de l'appareil est réalisée à chaque fois dans la même matrice que les échantillons (Figure 4.2-7). Par la suite, la vérification et la validation des droites

d'étalonnage ont été réalisées grâce à des solutions multi élémentaires différentes certifiées, toujours dans la même matrice que les échantillons analysés, la justesse de l'analyse est ainsi vérifiée par la mesure d'un échantillon de contrôle de référence QC certifié, et l'acceptation est effectuée pour une différence maximale de 5% par rapport à la valeur de l'échantillon de contrôle. En cours d'analyse, une vérification de la stabilité de la mesure est réalisée tous les 12 à 15 échantillons avec la mesure d'un étalon ou d'un QC, et l'acceptation est effectuée pour une dérive maximale de 5%.



Figure 4.2-6 : ICP-AES Horiba-Jobin Yvon JY2000 Ultrace.

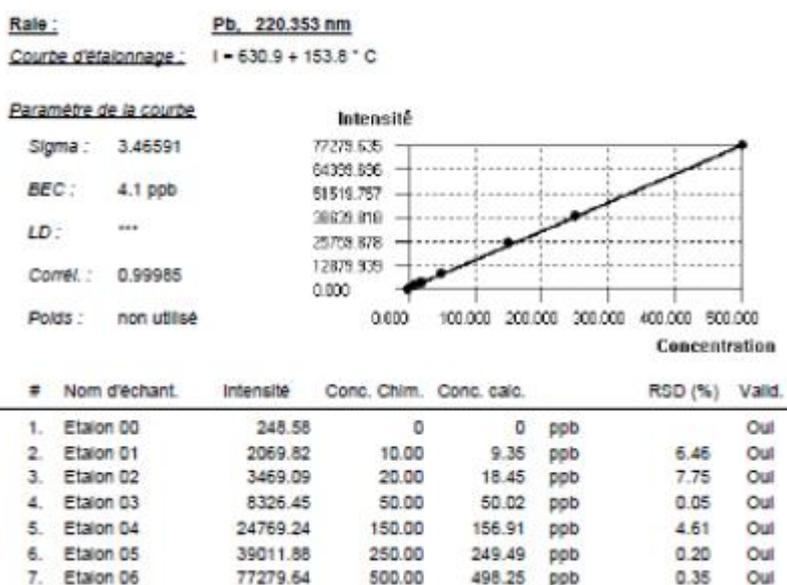


Figure 4.2-7 : Exemple de courbe d'étalonnage pour le dosage du Pb par ICP-AES dans une solution de minéralisation acide.

B.5.2.3. Analyse spécifique du mercure

Les concentrations de mercure dans les échantillons de duvets ont été déterminées par AAS (spectrophotométrie d'absorption atomique) à l'aide de l'appareil Leco AMA 254 au laboratoire PROTEE (Processus de transfert et d'échange dans l'environnement) de l'Université de Toulon.

Le Leco AMA 254 (Figure 4.2-8) est totalement conforme à la méthode EPA (1998) 7473. Un échantillon du poids connu est placé sur une nacelle d'échantillonnage en nickel pouvant contenir jusqu'à 500 mg, laquelle est ensuite introduite dans un tube catalytique. Dans le cas des échantillons de duvets lyophilisés, des pesées de 10 à 50 mg ont été effectuées et introduites dans la nacelle en Ni (Figure 4.2-8). Par chauffage contrôlé du four de décomposition, l'échantillon est d'abord séché (à 120°C) puis décomposé thermiquement (à 750°C). Les gaz de l'échantillon thermiquement décomposés sont balayés dans le flux d'oxygène à travers la deuxième partie du tube catalytique contenant un catalyseur, qui décompose complètement les gaz et piège les éléments interférant (halogènes, oxydes d'azote et de soufre). Un piège à amalgameur, situé au bout du four, collecte toute la vapeur de mercure sur un tube en céramique plaqué or. L'amalgameur est ensuite chauffé à 500°C pour libérer le mercure et un spectrophotomètre à double trajet détermine spécifiquement le mercure sur une plage dynamique étendue. Le système de détection est basé sur un spectrophotomètre d'absorption atomique standard à une longueur d'onde spécifique (253,7 nm) et la cuve à double trajet, maintenue à 120°C pour empêcher la condensation de l'eau, étend la plage dynamique de 0,05 ng à 600 ng de Hg, la répétabilité étant <1,5% et la limite de détection étant de 0,01 ng Hg. L'instrument a été étalonné à l'aide d'étalons de référence certifiés : des sédiments MESS-3 (91 ± 9 ppb) et PACS-2 ($3,04 \pm 0,20$ ppm).



Figure 4.2-8 : AAS Leco AMA 254 pour l'analyse de Hg (photographie de gauche) ; nacelle en Ti contenant un échantillon de duvets lyophilisés (photographie centrale) ; système d'introduction de la nacelle dans l'analyseur de Hg (photographie de droite).

B.5.2.4 Assurance qualité pour les analyses des métaux et métalloïdes

- Conditionnement de la verrerie, des réacteurs et des flacons

Toute la verrerie, les flacons en plastique et les réacteurs en Téflon ont subi une décontamination préalable à leur utilisation : immersion minimum 12h dans eau acidifiée à 1% avec HNO_3 (Trace Metal Grade Fisher Scientific 34-37%), puis rinçage à l'eau distillée et minimum 3 rinçages avec eau UHQ. Les flacons et les réacteurs sont séchés dans une étuve spécifique à 45°C avant utilisation.

- Produits chimiques et eau utilisés

Les acides utilisés sont tous de qualité « Trace metal Grade », donc certifiés pour ne contenir que des traces de métaux compatibles avec l'analyse par ICP-AES.

L'eau UHQ utilisée est garantie à une conductivité inférieure à $0,054 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (donc uniquement risque de présence d'ultra-traces d'ions en solution).

- Blancs d'analyse

Pour les éléments autres que Hg : pour chaque série de minéralisations un blanc de minéralisation est réalisé. Ainsi un réacteur téflon identifié ne contient que le mélange d'acides et subi les mêmes étapes de traitement que les échantillons de duvets : minéralisation, récupération en fiole jaugée, filtration et récupération dans flacon à scintillation. Ce blanc analytique est dosé et si besoin, les concentrations en éléments de ce blanc, provenant d'une contamination, sont prises en compte dans les calculs des concentrations des échantillons de la même série de minéralisations.

Pour l'analyse du mercure : des cycles de calcination à 750°C de la nacelle en Ni sont effectués en début de chaque demi-journée d'analyse, jusqu'à obtenir un signal nul (en cas de signal non nul, une nacelle neuve est utilisée après calcination). Et entre chaque analyse, une étape de calcination de la nacelle est effectuée à 750°C .

- Validation des mesures de concentrations en métaux et métalloïdes

Pour les éléments autres que Hg : la méthodologie constituée de l'étape de minéralisation acide suivie du dosage par ICP-AES est validée avec l'utilisation de matériaux de référence certifiés. Un échantillon de référence certifié de plantes (CRM « Bush branches and leaves », NCS-DC 73349, USA) et un échantillon de référence certifié de chair de poisson (Fish protein DORM-4, NRC-CNR Canada) ont été utilisés ici car il n'existe pas de matériaux de référence certifiés pour les plumes.

Pour les analyses de Hg : deux sédiments de référence certifiés sont utilisés à chaque début et fin de série d'analyses : MESS-3 (91 ± 9 ppb) et PACS-2 ($3,04 \pm 0,20$ ppm).

Les résultats obtenus lors des tests et vérifications effectués avec ces échantillons certifiés (pour tous les éléments mesurés y compris le mercure) ont tous été inclus dans les intervalles de confiance (en général à 5% d'écart de la valeur certifiée) ou de tolérance pour certains éléments (autour de 10% maximum d'écart) fournis par les organismes de certification.

Remarque : en raison des faibles quantités d'échantillons collectés dans un nid, une seule minéralisation acide a été faite par tube Eppendorf reçu. Pour les analyses de Hg, pour certains échantillons plus importants, des répliqués analytiques ont été effectués sur un même tube et la différence a toujours été inférieure à 5% entre 2 mesures sur un même tube.

C. RESULTATS

C.1. Les Polluants Organiques

C.1.1 Polychlorobiphényles (PCB)

L'ensemble des analyses précédentes ont permis d'obtenir les résultats suivants pour les PCBis, agencés dans le tableau 10 suivant :

Tableau 10 : Teneurs DW (dry weight) et WW (wet weight) des œufs et membranes analysés pour les PCBs. Avec n= nombre de répétitions.

	ng/g d'œuf/dw	n	PCB 28	PCB 52	PCB 101	PCB 118	PCB 153	PCB 138	PCB 180	Sum 7 PCB ng/g dw	Sum 7 PCB µg/kg ww (84% H 20)	Moyenne Sum 7 PCB µg/kg ww
	LOQ		10	10	10	10	20	10	20			
CORSE	CORSE F02 C	1	<10	22	12.2	156	858	515	146	181.9	291.0	290,1
	CORSE F08 C	1	<10	<10	56	1.7	6.37	240	330	128.1	204,9	
	CORSE F10 C	1	<10	<10	49	<10	7.70	283	77.3	187.4	299,9	
	CORSE F11 C	3	<10	<10	148	134	709	228	49.2	166.6	266,6	
	CORSE F12 C	1	<10	<10	21.0	<10	1680	854	78.3	352.6	564,2	
	CORSE F13 C	1	<10	<10	30	<10	391	2.3	27.0	7.13	114,1	
	Moyenne		<10	22	10.2	102	841	357	46.6	181.3	290,1	
	écart type				70	7.5	441	289	26.6	9.44	151,01	
	Gamma		<10-22		30-210	<10-156	391-1680	23-85.4	146-78.3	71.3-352.6	114,1-564,2	
BALEARES	MINORQUE F27C	1	<10	<10	20	2.3	280	134	17.9	6.36	101,8	640,2
	MINORQUE F28C	1	<10	<10	48	8.8	853	325	62.5	199.9	310,2	
	MINORQUE F29C	1	<10	<10	33	1.5	586	247	57.0	145.2	232,3	
	MINORQUE F30C	2	<10	<10	86	7.8	809	171	61.8	174.3	278,9	
	MINORQUE F31C	1	<10	<10	43	5.5	686	325	51.3	162.1	259,4	
	MINORQUE F34C	1	<10	<10	<10	<10	353	115	29.0	7.57	121,2	
	MINORQUE F35C	1	<10	<10	19	2.8	379	115	31.2	8.53	136,5	
	MINORQUE F36C	2	12.4	15.3	2137	521	8897	4352	6881	23066	3690,5	
	Moyenne		70	15.3	30.8	124	1606	740	1.239	400.2	640,2	
	écart type		76		74.0	169	2763	1375	2.135	721.7	1154,79	
	Gamma		<10-124	<10-153	<10-2137	<10-521	280-8897	115-4352	179-6881	6.37-23066	101,8-3690,5	
TOSCANE	TOSCANE F01 C	2	<10	<10	294	542	1901	1349	1001	508.8	814,0	522,6
	TOSCANE F03 C	2	24	<10	22.5	51.7	1119	1686	1422	488.2	797,1	
	TOSCANE F04 C	1	<10	<10	99	137	1176	529	58.9	253.0	404,8	
	TOSCANE F06 C	1	15	<10	22.2	1.6	805	443	37.0	187.1	299,4	
	TOSCANE F07 C	4	21	<10	12.7	208	767	377	37.5	186.0	297,6	
		Moyenne		20	<10	19.3	284	1154	677	75.1	326.6	
	écart type		4		80	235	456	599	45.4	163.8	262,00	
	Gamma		<10-24	<10	80-294	16-542	767-1901	377-1686	370-1422	1860-5088	297,6-814,0	
	ng/g membrane dw		PCB 28	PCB 52	PCB 101	PCB 118	PCB 153	PCB 138	PCB 180	Sum 7 PCB ng/g dw	Sum 7 PCB µg/kg ww (84% H 20)	Moyenne Sum 7 PCB µg/kg ww
CORSE	CORSE F02 M	1	<10	<10	51	9.9	444	237	27.9	111.0	177,5	208,74
	CORSE F11 M	1	<10	<10	42	119	618	316	40.6	150.0	239,9	
BALEARES	BALEARES F29M	1	<10	<10	22	8.6	6.28	310	45.5	150.2	240,3	97,79
	BALEARES F30M	1	<10	<10	<10	<10	<20	<10	23.1	2.31	36,9	
	BALEARES F37M	1	<10	<10	<10	<10	61	<10	40	1.01	16,1	
TOSCANE	TOSCANE F04 M	1	<10	<10	64	191	342	447	45.5	150.0	240,0	239,98
	Moyenne		<10	<10	45	124	418	328	31.1	99.0	158,47	
	écart type		--	--	18	4.7	2.34	8.8	16.2	6.58	105,24	
	Gamma		--	--	<10-64	<10-191	<20-628	<10-447	40-855	101-150.2	16,1-240,3	

On peut constater de grandes variations intrasites et intersites. Les valeurs de concentrations de la somme des 7PCBi varient entre 101-3691 µg/kg WW dans les œufs et semblerait-il un peu moins dans

les membranes (16,1-240 µg/kg WW). Néanmoins le nombre trop limité d'échantillons de membranes rend l'interprétation délicate.

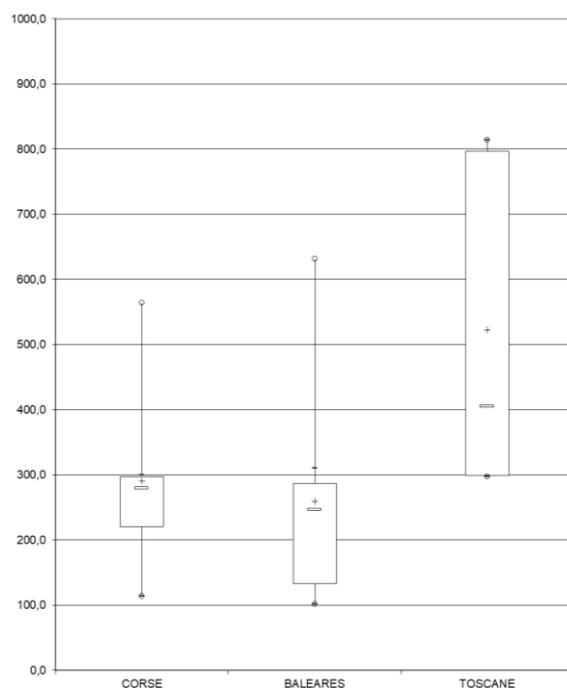
A noter à titre comparatif, dans la littérature : les teneurs des œufs d'individu de Balbuzard pêcheur dans le port de Portland et ses environs (Buck et al. 2011) : 1840 ng/g WW (319-6270) - Portland Harbour et 531 (334-688) - Multnomah channel. Ces valeurs sont à comparer avec les valeurs moyennes WW par site qui sont légèrement inférieures, mais du même ordre de grandeur avec respectivement de 290, 640 et 523 ng/g WW pour Corse, Baléares et Toscane.

La Toscane semblerait donc plus contaminée même si les écarts types sont importants ; des valeurs très importantes, notamment pour Minorque F36C sont rencontrées et tirent artificiellement la moyenne vers le haut. Ce phénomène est sûrement dû à la présence d'un embryon dans l'œuf collecté qui a biaisé les résultats pour cet échantillon en particulier.

Tableau 11 : caractéristiques des distributions de valeurs de teneurs en PCB_i (ng/g dw) dans les œufs de balbuzard ; avec q1, Q3 = 1er et troisième quartile ; med = médiane ; moy = moyenne.

NOM	CORSE	BALEARES	TOSCANE
q1	220,3	132,7	299,4
min	114,1	101,8	297,6
moust. inf.	114,1	101,8	297,6
med	278,8	245,8	404,8
moy	290,1	259,0	522,6
moust. sup.	299,9	310,2	814,0
max	564,2	631,5	814,0
q3	297,7	286,7	797,1
nb atyp. inf.			
nb atyp. sup.	1	1	
effectif	6	8	5

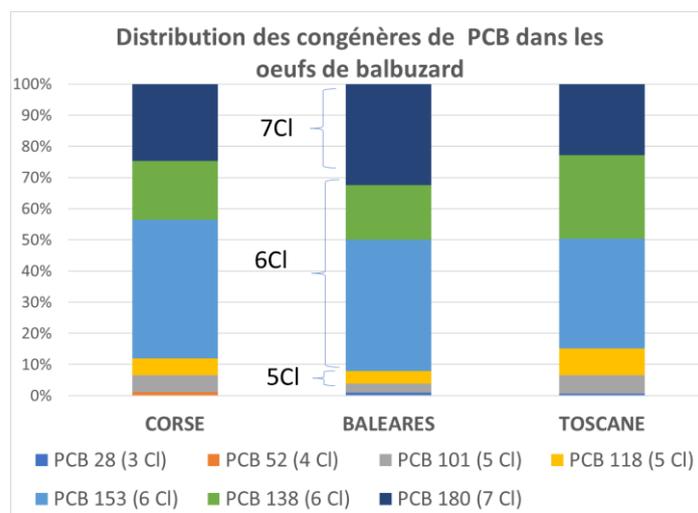
Les conclusions précédentes sont mieux visibles sur le box-plot suivant :



Box plot teneurs en PCB des 3 sites échantillonnés en ng/g DW

De fait, la contamination semble plus importante et plus homogène en Toscane. Il faudrait mettre en regard ces résultats avec les étendues des zones échantillonnées.

De façon systématique, les PCBs les moins chlorés (CB 28, CB 52, CB 101 et CB 118) sont peu abondants, voire absents dans nos échantillons comme le montrent le tableau 13 et la figure PCBs suivante. Les congénères dominants sont les penta-, hexa- et heptachlorés avec par ordre d'abondance décroissante : 6Cl > 7Cl > 5Cl.



Distributions relatives des PCBis.

Il est à signaler que ce type de profil très proche de la distribution de mélanges techniques commerciaux (Aroclor 1260 ou DP6) classiques suggère une contamination chronique ou récente.

En comparant les teneurs obtenues avec la littérature, des expérimentations sur des animaux de laboratoire ont montré des valeurs de LD 50 variant entre 1 et 4 mg/kg WW 0.291 de mélanges techniques (Lasrado et al. 2006). Les résultats obtenus par rapport à ces seuils. On doit donc considérer que les œufs de balbuzard de l'ensemble des zones investiguées sont contaminés, même si les teneurs semblent se maintenir en dessous du seuil de toxicité aigüe.

C.1.2 Pesticides

Concernant les pesticides ciblés, une bonne partie des composés n'ont pas été détectés. Le tableau suivant indique en rouge les composés détectés et/ou quantifiés et en vert les composés non détectés.

Tableau 12 Composés non détectés (<LOD) en vert et détectés (>LOD) et/ou quantifiés (>LOQ) en rouge

α HCH, β HCH, γ HCH, δ HCH
Heptachlore, Heptachlor époxyde isomère B, Alachlore
Métalaxyl, Métolachlore, Méthoxychlore
Aldrine, Endrine, Dieldrine, Endrine Aldéhyde, Endrine Cétone
4,4' DDT, 4,4' DDE, 4,4' DDD
Trans-Chlordane, Cis-Chlordane
Chlorpyriphos-éthyl, Chlorfenvinphos
Endosulfan I, Endosulfan II, Endosulfan Sulfate

Le tableau 13 rassemble les données brutes relatives aux différents composés quantifiés et sites.

	ng/g d'œuf dw	n	4'4' DDD	4'4' DDT	ENDO SULFAN 2	HEPTA CHLOR EPOXYDE	DIELDRINE	4'4' DDE	Sum pest ng/g dw	Sum pest ug/kg ww	Moyenne Sum pesticides µg/kg ww
	LOQ		10	20	10	5	10	20			
CORSE	CORSE F02C	1	187	<20	<10	23	25	26256	26492	4238,8	1391,5
	CORSE F08C	1	18	<20	<10	<5	<10	2333	2351	376,1	
	CORSE F10C	1	30	<20	<10	<5	<10	1384	1414	226,2	
	CORSE F11C	3	170	<20	<10	19	21	17700	17904	2864,6	
	CORSE F12C	1	86	<20	<10	<5	<10	3729	3815	610,4	
	CORSE F13C	1	<10	<20	<10	<5	<10	205	205	32,8	
	Moyenne		96	<20	<10	21	24	8601	8637	1391,5	
	écart type		78	--	--	3	4	10771	10869	1739,1	
	Gamma		<10-187	--	--	<5-23	<10-25	205-26256	205-26492	32,8-4239	
BALEARES	MAJORQUE F37C	1	<10	<20	<10	<5	<10	1188	1188	190,0	2405,7
	MINORQUE F28C	1	130	<20	<10	45	59	53342	53576	8892,2	
	MINORQUE F29C	1	256	<20	<10	42	35	41420	41753	6680,4	
	MINORQUE F30C	2	280	<20	<10	59	23	27910	28272	4523,5	
	MINORQUE F31C	1	<10	<20	<10	<5	34	332	366	58,6	
	MINORQUE F34C	1	<10	<20	<10	<5	<10	471	471	75,3	
	MINORQUE F35C	1	<10	<20	<10	<5	<10	138	138	22,0	
	MINORQUE F36C	2	678	<20	25	81	39	4941	5765	922,5	
	Moyenne		279	<20	25	57	36	14632	15016	2405,7	
	écart type		242	--	--	18	13	21233	21316	3410,5	
	Gamma		<10-678	--	<10-25	<5-81	<10-59	138-55342	138-5576	58,6-8892	
TOSCAINE	TOSCAINE F01C	2	23	<20	<10	23	<10	3371	3406	544,9	451,6
	TOSCAINE F03C	2	25	<20	<10	21	<10	1783	1818	291,0	
	TOSCAINE F04C	1	12	<20	<10	<5	<10	2465	2476	396,2	
	TOSCAINE F06C	1	18	<20	<10	<5	<10	1615	1632	261,2	
	TOSCAINE F07C	4	93	<20	<10	<5	<10	4688	4781	764,9	
	Moyenne		34	<20	<10	22	<10	2784	2823	451,6	
	écart type		33	--	--	2	--	1269	1296	207,4	
	Gamma		12-93	--	--	<5-23	--	1615-4688	1632-4781	261-765	
	ng/g membrane dw		4'4' DDD	4'4' DDT	ENDOSULFAN 2	HEPTACHLOR EPOXYDE	DIELDRINE	4'4' DDE	Sum pest ng/g dw	Sum pest ug/kg ww	Moyenne Sum pesticides µg/kg
CORSE	CORSE F02M		124	<20	nd	<5	nd	242	366	58,6	865,3
	CORSE F11M		197	<20	nd	<5	nd	10252	10450	1671,9	
BALEARES	BALEARES F29M		214	<20	nd	<5	nd	17445	17658	2825,3	2145,5
	BALEARES F30M		126	<20	nd	<5	nd	22359	22487	3597,9	
	BALEARES F37M		<10	<20	nd	<5	nd	84	84	13,4	
TOSCAINE	TOSCAINE F04M		60	<20	nd	<5	nd	1085	1146	183,3	183,3
	Moyenne		145	<20	--	--	--	8578	8698	1391,7	
	écart type		62	--	--	--	--	9686	9738	1558,1	
	Gamma		60-214	--	--	--	--	84-22359	84-22487	13,4-3598	

Nous avons tout d'abord constaté une variabilité considérable au niveau des concentrations de pesticides dans les œufs (voir tableau 13) tant intrasites que intersites. Comme dans les travaux de Elliott et al. 2000, le DDE a été détecté et quantifié dans 100% des œufs et ce jusqu'à une valeur très alarmante de 8,9 mg/kg WW pour un individu des Baléares (Minorque F28C).

Le résultat principal, tous sites confondus, est que le composé dominant est le 4,4' DDE avec par ordre d'importance décroissante : DDE>DDD>Heptachlor >DIELDRINE>DDT

Le DDD a été détecté dans 100% des échantillons également, et quantifié dans 75% d'entre eux, mais avec des valeurs nettement plus faibles variant entre des traces non quantifiables et 108,5 µg/kg WW.

Le DDT a été systématiquement détecté, mais à des concentrations inférieures aux limites de quantification du système analytique.

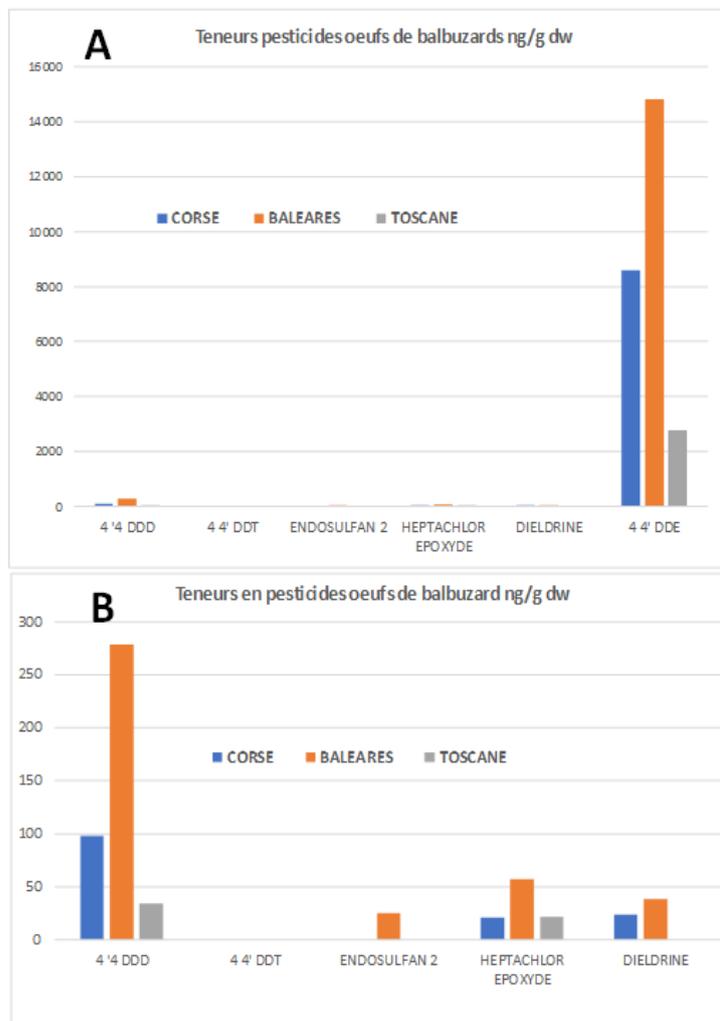
Comme dans les travaux d'Elliott et al. 2000, l'heptachlore époxyde a été détecté (100%) et quantifié (60%) avec une gamme de concentration variant de traces non quantifiables à 13 µg/kg WW.

Enfin l'endosulfan a été détecté sur un seul échantillon des Baléares (F36C Minorque).

La variabilité intra et inter site est très importante avec des individus extrêmement contaminés comme le montrent le tableau 14 et le boxplot DDE de la figure ci-dessous. A noter pour les Baléares la présence d'un minimum atypique pour Minorque F35C (inférieur à l'extrémité basse de la moustache) et de 2 valeurs atypiques au-dessus de la moustache supérieure (Minorque F28C et Minorque F29C).

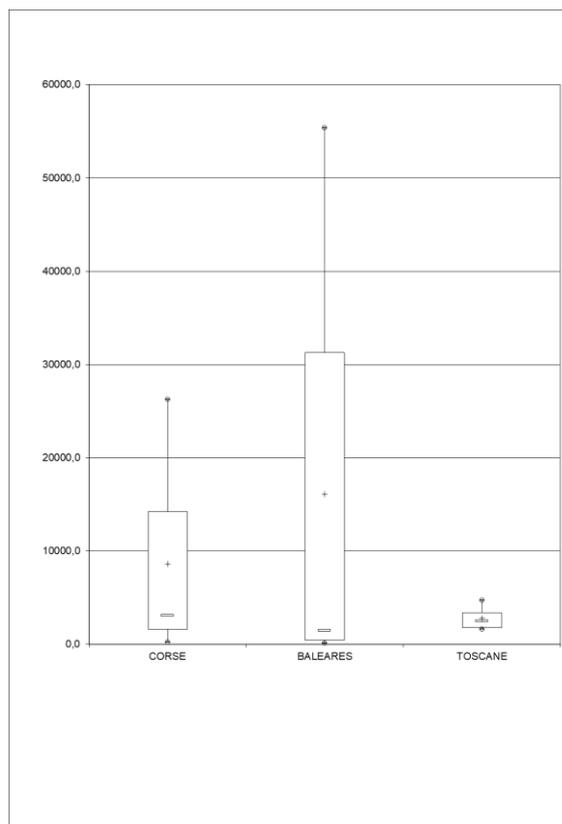
	dw	dw	dw
NOM	CORSE	BALEARES	TOSCANE
q1	1621,36979	435,906162	1783,12441
min	204,907363	137,578201	1614,54802
moust. inf.	204,907363	137,578201	1614,54802
med	3031,14481	1466,38649	2464,94559
moy	8601,18403	16068,0528	2784,36874
moust. sup.	26255,6762	55341,9299	4687,81277
max	26255,6762	55341,9299	4687,81277
q3	14207,3758	31287,2453	3371,41293
nb atyp. inf.	0	0	0
nb atyp. sup.	0	0	0
effectif	6	8	5

Tableau 14 : caractéristiques des distributions de valeurs de teneurs en DDE (ng/g dw) dans les œufs de balbuzard ; avec q1, q3 = 1^{er} et troisième quartile ; med = médiane ; moy = moyenne.



Teneurs en pesticides des œufs de Balbutard (A correspond au graphe de l'ensemble des composés ; B correspond à l'ensemble des composés sauf le 4,4' DDE)

Il apparait que la Toscane est beaucoup plus homogène que les deux autres régions lorsque l'on considère la contamination par le DDE. Ce profil montre une claire contamination par le DDE et ses métabolites.



Boxplot DDE pour les différentes régions étudiées (Corse, Baléares, Toscane)

C.1.3 Les polybromodiphényléthers PBDEs – Flame Retardant

Concernant cette famille de contaminants organiques les résultats sont présentés dans le tableau présenté en page suivante :

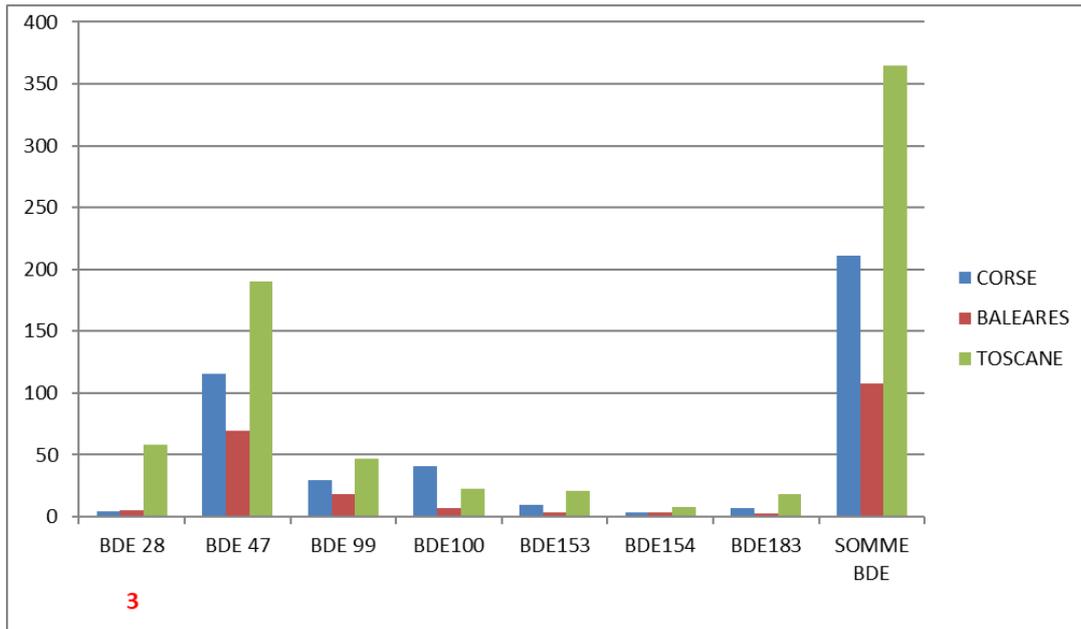
Tableau 15 : Teneur en PBDEs des échantillons étudiés

	ng/g d'œuf dw	n	BDE 28	BDE 47	BDE 99	BDE100	BDE153	BDE154	BDE183	Sum 7 PBDE ng/g dw	Sum 7 PBDE µg/kg ww	Moyenne Sum 7 PBDE µg/kg ww
	<i>LOQ (ng/g)</i>		1,21	0,77	0,53	1,32	1,47	1,11	1,78			
CORSE	CORSE F02C	1	13,20	214,96	49,98	74,70	11,2	4,7	2,3	371,1	59,37	33,04
	CORSE F08C	1	1,42	303,42	20,00	1,57	12,6	5,2	<1,78	144,1	23,06	
	CORSE F10C	1	1,60	85,16	31,07	3,28	8,6	3,4	2,2	135,3	21,65	
	CORSE F11C	4	3,24	135,35	31,68	6,99	4,3	1,9	<1,78	183,2	29,32	
	CORSE F12C	1	3,30	341,51	39,76	156,89	7,9	2,6	<1,78	351,0	56,15	
	CORSE F13C	1	<1,21	11,58	6,33	1,68	13,3	4,1	17,3	54,3	8,68	
	Moyenne		4,6	115,3	29,8	40,7	9,7	3,6	7,3	206,5	33,04	
	écart type		4,9	67,6	15,2	63,3	3,4	1,3	8,7	127,0	20,32	
	Gamme		<1,21 21,29	5,79 93,01	3,16 25,43	1,32 125,34	8,57 13,31	2,55 5,17	<1,78 17,28	43,6 283,3	8,68 56,15	
BALEARES	MAJORQUE F37C	1	14,89	4,72	3,08	<1,32	<1,47	<1,11	<1,78	22,7	3,63	27,82
	MINORQUE F28C	1	3,55	300,86	21,68	5,72	2,8	2,2	<1,78	136,8	21,88	
	MINORQUE F29C	1	1,96	60,47	15,51	4,62	2,1	2,4	<1,78	87,0	13,92	
	MINORQUE F30C	4	2,98	73,14	20,37	6,40	3,0	2,6	<1,78	108,5	17,36	
	MINORQUE F31C	1	<1,21	22,65	11,78	4,00	1,9	<1,11	2,6	42,8	6,86	
	MINORQUE F34C	1	<1,21	10,76	4,51	1,40	<1,47	<1,11	<1,78	16,7	2,67	
	MINORQUE F35C	1	<1,21	13,11	7,20	3,20	<1,47	<1,11	<1,78	23,5	3,76	
	MINORQUE F36C	4	7,48	55,41	85,75	25,17	64,1	24,5	3,0	764,3	122,30	
	MINORQUE F38C	1	1,31	268,05	60,39	22,46	5,6	5,0	<1,78	362,8	58,05	
	Moyenne		5,4	123,1	25,6	9,1	13,2	7,3	2,8	173,9	27,82	
	écart type		5,1	181,2	28,4	9,2	24,9	9,7	0,3	246,2	39,39	
	Gamme		<1,21 7,45	2,36 332,46	1,54 50,27	<1,32 13,31	<1,47 64,06	<1,11 24,52	<1,78 2,57	7,6 491,6	2,67 122,30	
TOSCANE	TOSCANE F01C	4	5,25	268,20	52,60	32,24	8,4	<1,11	<1,78	366,7	58,66	50,26
	TOSCANE F03C	2	276,12	<1,78	71,01	56,18	10,8	10,3	<1,78	424,4	67,90	
	TOSCANE F04C	1	1,46	98,46	31,27	5,33	34,2	11,0	17,9	199,6	31,93	
	TOSCANE F06C	1	3,52	345,34	40,59	12,52	7,7	4,6	<1,78	314,2	50,27	
	TOSCANE F07C	4	4,49	347,14	40,54	7,44	43,0	5,2	18,0	265,8	42,53	
		Moyenne		58,2	189,8	47,2	22,7	20,8	7,8	17,9	314,1	
	écart type		121,8	80,4	15,3	21,5	16,6	3,3	0,1	87,1	13,94	
	Gamme		1,76 138,06	<0,78 224,21	18,4 35,51	3,53 28,09	7,67 43,01	<1,11 11	<1,78 17,98	150,9 332,5	31,93 67,90	
	ng/g membrane dw		BDE 28	BDE 47	BDE 99	BDE100	BDE153	BDE154	BDE183	Sum 7 PBDE ng/g dw	Sum 7 PBDE µg/kg ww	Moyenne Sum 7 PBDE µg/kg ww
CORSE	CORSE F02M	1	<1,21	15,77	6,77	3,60	3,52	2,04	0,00	31,7	5,07	4,60
	CORSE F11M	1	<1,21	15,14	6,28	2,24	2,17	<1,11	0,00	25,8	4,13	
BALEARES	BALEARES F29M	1	1,28	24,77	7,86	3,21	3,01	1,72	0,00	41,9	6,70	5,60
	BALEARES F30M	1	1,66	34,22	12,25	4,69	3,45	1,98	0,00	58,3	9,32	
	BALEARES F37M	1	<1,21	3,23	1,58	<1,32	<1,47	<1,11	0,00	4,8	0,77	
TOSCANE	TOSCANE F04M	1	<1,21	87,69	20,66	13,52	6,76	3,79	0,00	132,4	21,19	21,19
	Moyenne		<1,21	18,63	6,95	3,44	3,04	1,92	0,00	32,49	7,86	
	écart type		<1,21	11,60	3,81	1,01	0,62	0,17	0,00	19,77	7,11	
	Gamme			1,61	0,79 10,33	<1,32 6,76	<1,47 6,76	<1,11 3,79		2,4 71,5	0,77 21,19	

Concernant cette famille de molécule, nous n'avons pas détecté de BDE 209 ni dans les œufs, ni dans les membranes de l'ensemble des échantillons étudiés.

Néanmoins une revue récente (Lee et al. 2015) démontre que pour les environnements marins, les profils de PBDE dans les biotas sont dominés par les congénères peu bromés (BDE-47 et BDE 99) alors que le congénère dominant est le BDE-209 dans les sédiments. Ceci est vérifié dans nos échantillons. Ces travaux montrent également que le BDE-209 a un faible potentiel de bioaccumulation, et l'inverse pour les congénères les moins bromés. Les résultats obtenus semblent corroborer ce postulat.

Concentration en PBDE par sites pilotes



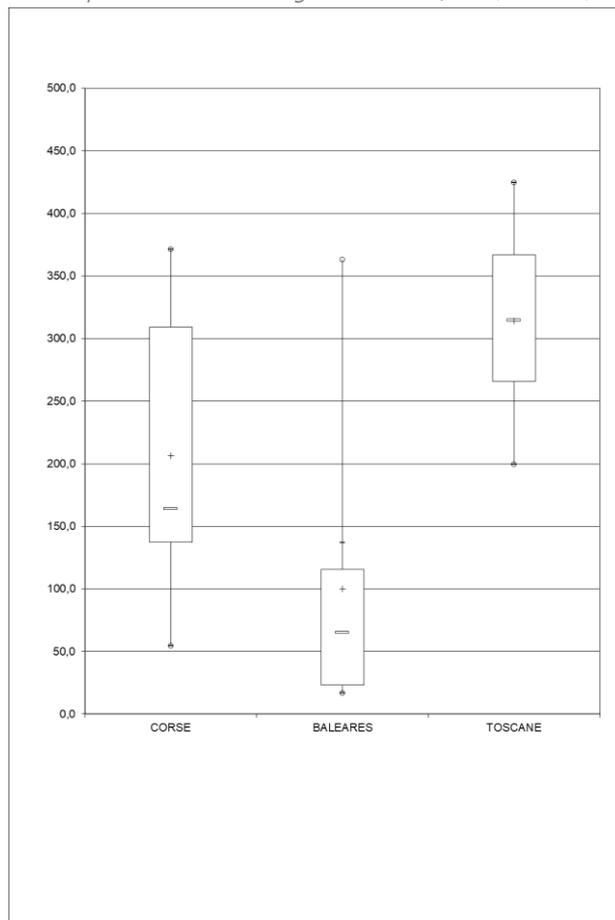
La contamination en PBDE des œufs collectés est notable, quel que soit le site considéré et varie (valeur moyenne) entre 59 et 122 ng/g WW (de 59-122 ppb). Les valeurs sont du même ordre de grandeur que celles rapportées par Chen et al. 2010. Le congénère majoritaire est le BDE 47 (tétrabromé) pour tous les sites suivis par le BDE99 et le BDE100 (pentabromés). Les profils de Corse et Baléares sont assez proches. Le profil de la Toscane est légèrement différent avec notamment une abondance relative nettement plus forte des tribromés.

On constate là encore une forte variabilité visible sur le tableau 16 et le boxplot correspondant.

NOM	CORSE	BALEARES	TOSCANE
q1	22,0	3,8	42,5
min	8,7	2,7	31,9
moust. inf.	8,7	2,7	31,9
med	26,2	13,9	50,3
moy	33,0	27,8	50,3
moust. sup.	59,4	21,9	67,9
max	59,4	122,3	67,9
q3	49,4	21,9	58,7
nb atyp. inf.	0	0	0
nb atyp. sup.	0	2	0
effectif	6	9	5

Tableau 16 caractéristiques des distributions de valeurs de teneurs en BDE (ng/g ww) dans les œufs de balbuzard ; avec q1, q3 = 1^{er} et troisième quartile ; med = médiane ; moy = moyenne.

Boxplot PBDE pour les différentes régions étudiées (Corse, Baléares, Toscane)



C.2 Les Éléments Traces métalliques

C.2.1 Résultats par colonies et par site

Il est à noter que pour toutes les colonies, les concentrations en As dans les duvets ont été inférieures à la limite de détection de la méthodologie, soit **As < 0,2 mg/kg**.

Pour chaque élément, toutes les valeurs de concentration pour chaque nid de chaque colonie sont présentées en annexe.

C.2.1.1. Réserve Marine des Habibas - Algérie

Il est à noter que pour ce site, seuls 4 échantillons ont été reçus, correspondants donc à 4 nids de différentes colonies de l'île présentées dans la partie méthode.

Ci-dessous voici pour les 4 nids échantillonnés de cette colonie, les moyennes (en gras) des concentrations en mg/kg (ou ppm), l'écart type, la valeur de la médiane (entre parenthèses) et les valeurs minimales et maximales (en bleu).

Concentrations données en mg/kg n=4

Al : 150 ± 32 (141) 121 - 195

As : <0,2

Cd : 0.36 ± 0.31 (0,27) 0,1 - 0,8

Cr : 0,35 ± 0,10 (0,30) 0,2 - 0,4

Cu : 7,99 ± 0,24 (7,90) 7,8 - 8,3

Ni : 0,37 ± 0,22 (0,30) 0,2 - 0,7

Pb : 0,82 ± 0,43 (0,82) 0,4 - 1,2

Zn : 82 ± 2 (81) 80,8 - 85,5

Hg : 3,04 ± 1,71 (3,12) 0,86 - 5,0

Les concentrations en Al sont particulièrement élevées dans les duvets de cette colonie avec des résultats assez homogènes. La variabilité importante constatée pour les teneurs en Cd, Ni et Pb est certainement liée au fait que la taille de l'échantillon (N=4) est faible et que certaines valeurs sont proches des limites de quantification de la méthodologie utilisée. Les concentrations en Zn sont les plus homogènes.

C.2.1.2. Parc National de Zembra Zembretta - Tunisie

36 échantillons ont été collectés, correspondants donc à 36 nids de deux colonies de l'île : 13 nids pour la colonie de Onk Jamal et 23 nids pour la colonie de Calafid situé grossièrement aux deux extrémités de ce site insulaire.

Ci-dessous voici pour les 36 nids échantillonnés de ces colonies, les moyennes (en gras) des concentrations en mg/kg (ou ppm), l'écart type, la valeur de la médiane (entre parenthèse) et les valeurs minimales et maximales (en bleu) par colonie, et pour les 2 colonies confondues.

Colonie d'Onk Jamal

Concentrations données en mg/kg n=13

Al : 20 ± 8 (18) 10,5 – 35,6

As <0,2

Cd ≤ 0,08

Cr : 0,71 ± 0,57 (0,57) 0,24 - 2,21

Cu : 6,5 ± 1,1 (6,5) 5,2 - 8,6

Ni : 0,14 ± 0,08 (0,11) 0,05 - 0,23

Pb : 0,78 ± 0,56 (0,62) <0,3 - 1,56

Zn : 81 ± 8 (80) 68,8 - 101,7

Hg : 4,45 ± 1,49 (4,60) 2,44 - 7,41

Colonie de Calafid

Concentrations en mg/kg n=23

Al : 32 ± 16 (28) 6,9 – 64,6

As <0,2

Cd ≤ 0,08 (14 échantillons entre 0,08 et 0,15)

Cr : 0,51 ± 0,38 (0,31) 0,2 - 1,6

Cu : 6,7 ± 1,1 (6,7) 4,8 - 9,2

Ni : 0,29 ± 0,16 (0,26) 0,05 - 0,71

Pb : 1,3 ± 0,7 (1,3) <0,3 - 2,42

Zn : 81 ± 9 (80) 62,2 - 104,2

Hg : 4,68 ± 1,05 (4,76) 2,86 - 6,34

Résultats combinés pour l'île de Zembra

Concentrations en mg/kg n=36

Al : 28 ± 15 (25) 6,9 – 64,6

As <0,2

Cd ≤ 0,08 (16 échantillons entre 0,08 et 0,15)

Cr : 0,58 ± 0,46 (0,40) 0,2 - 1,6

Cu : 6,6 ± 1,1 (6,5) 4,8 - 9,2

Ni : 0,24 ± 0,16 (0,21) 0,05 - 0,71

Pb : 1,1 ± 0,6 (0,9) <0,3 - 2,42

Zn : 81 ± 9 (80) 62,2 - 104,2

Hg : 4,59 ± 1,22 (4,70) 2,44 - 7,41

Les concentrations en Al sont plus faibles sur le site de Zembra que sur celui d'Habibas (Algérie), mais présentent une plus grande hétérogénéité au sein des différentes colonies. Une hétérogénéité importante au sein des 2 colonies est également observée pour les cas du Cr, du Ni et du Pb. Pour ces éléments, la même remarque que précédemment peut être faite : ceci est certainement lié au fait que les concentrations sont assez proches des limites de quantification de la méthodologie utilisée, et donc la précision et la justesse peuvent en être impactées. La contamination est très faible pour le Cd sur ce site de Tunisie (< 0,08 ppm), mais les teneurs en Hg ont tendance à être un peu plus élevées qu'en Algérie (moyenne de 4,6 ppm à Zembra et 3,0 à Habibas).

C.2.1.3 Parc National des Calanques - France

26 échantillons ont été analysés, correspondant donc à 26 nids collectés sur trois colonies présentes sur 3 îles proches : 4 nids pour la colonie de l'île du Congloué, 16 nids pour la colonie de l'île de Riou et 6 nids pour la colonie de l'île du Frioul.

Les concentrations sont données en en mg/kg.

Marseille - Congloué

n=4

Al : 25,5 ± 7 (26) 16 – 33

As <0,2

Cd ≤ 0,08

Cr : ≤ 0,2

Cu : 8,4 ± 2,8 (7,4) 6,3 - 12,5

Ni : 5,3 ± 4,0 (4,9) 0,9 - 10,6

Pb : 1,2 ± 1,3 (0,5) 0,5 - 3,12

Zn : 84 ± 6 (84) 76 - 92

Hg : 3,55 ± 1,09 (3,47) 2,58 - 4,66

Marseille - Riou

n=16

Al : 71 ± 55 (66) 9,7 – 195,6

As <0,2

Cd ≤ 0,08

Cr : 2,4 ± 1,7 (1,6) 0,6 - 5,8

Cu : 9,1 ± 1,8 (8,9) 6,3 - 12,8

Ni : 0,79 ± 0,51 (0,65) < 0,05 - 1,98

Pb : 5,3 ± 2,5 (5,3) 1,0 - 10,2

Zn : 82 ± 11 (82) 62 - 104

Hg : 4,18 ± 0,93 (4,41) 2,78 - 5,87

Marseille - Frioul

n=6

Al : 18 ± 6 (19) 9,7 – 26,5

As <0,2

Cd : 0,09 ± 0,01 (0,09) 0,08 - 0,11

Cr : 0,44 ± 0,60 (0,20) 0,2 - 1,7

Cu : 5,3 ± 0,7 (5,1) 4,6 - 6,4

Ni : 0,22 ± 0,04 (0,21) 0,17 - 0,27

Pb : 0,54 ± 0,16 (0,50) < 0,3 - 0,8

Zn : 79 ± 3 (80) 75 - 81

Hg : 5,21 ± 0,93 (4,92) 4,22 - 6,54

Marseille – 3 colonies combinées

n=26

Al : 52 ± 49 (26) 9,7 – 195,6

As <0,2

Cd : $\leq 0,08$ (6 échantillons entre 0,09 et 0,1)

Cr : $1,8 \pm 1,7$ (1,1) **0,2 - 5,8**

Cu : $8,1 \pm 2,3$ (8,0) **4,6 - 12,8**

Ni : $1,5 \pm 2,5$ (0,6) **< 0,05 - 10,6**

Pb : $3,7 \pm 2,9$ (3,3) **< 0,3 - 10,2**

Zn : 82 ± 9 (82) **62 - 104**

Hg : $4,31 \pm 1,06$ (4,55) **2,58 - 6,54**

Les concentrations en Al sont plus faibles sur les îles de Marseille qu'à Habibas en Algérie, mais en moyenne plus élevées qu'à Zembra en Tunisie. Une importante hétérogénéité est particulièrement observée pour tous les éléments dosés dans les duvets des 16 nids de l'île de Riou et les 4 nids de l'île du Congloué (exceptés As et Cd dont les concentrations sont inférieures à la détection de la méthode). Ce résultat pourrait poser des questions sur l'impact potentiel lié à la proximité d'une grande métropole comme Marseille, et de celui de l'émissaire de Cortiou situé juste en face de ces 2 îles très proches l'une de l'autre (émissaire qui rassemble une partie des eaux pluviales de la ville de Marseille + les eaux de sortie de la station d'épuration des eaux usées urbaines + une fraction des eaux d'une rivière) ?

Ces hétérogénéités se retrouvent au niveau des moyennes calculées pour les 3 îles confondues. Les résultats mesurés au sein de la colonie du Frioul présentent une hétérogénéité moins importante que dans le cas de Riou et Congloué. On peut noter une moyenne de concentrations en Pb plus importante sur ce site de Marseille que sur les sites Tunisien ou Algérien.

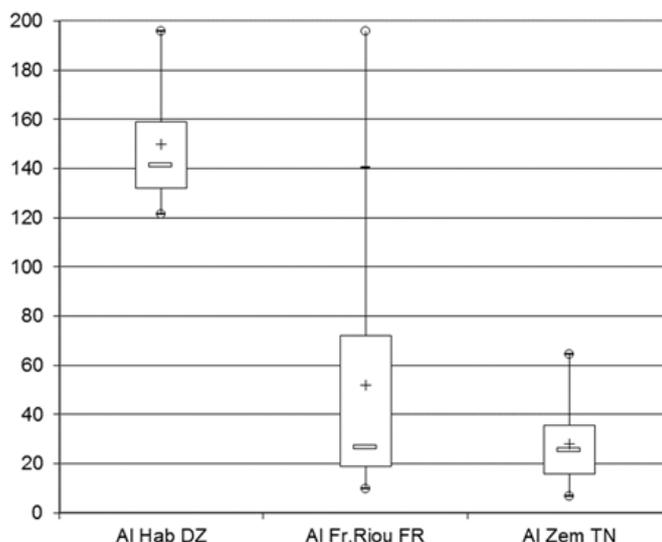
C.2.2.1 Résultats par éléments comparés par site

Les résultats des concentrations métalliques dans les duvets collectés sur les 3 sites étudiés, sont présentés ci-dessous par élément sous la forme de Box Plot (ou boîtes à moustaches). Sur ces Box Plot, le premier et le troisième quartile des valeurs représentent respectivement la bordure inférieure et supérieure de la boîte rectangulaire ; la moyenne correspond à la marque en croix (+) au sein de la boîte ; le trait horizontal long au sein de la boîte correspond à la médiane ; les valeurs maximales et minimales relevées sont marquées par les petits cercles (o) sur le trait vertical ; et les marques en forme de tiret (-) sur le trait vertical correspondent respectivement à la plus petite valeur supérieure à $q1-1,5*(q3-q1)$ et à la plus grande valeur inférieure à $q3+1,5*(q3-q1)$.

Pour chaque élément, toutes les valeurs de concentration pour chaque nid de chaque colonie sont présentées en annexe.

Pour rappel : pour toutes les colonies les concentrations en As dans les duvets ont été inférieures à la limite de détection de la méthodologie, soit **As < 0,2 mg/kg**.

- Teneurs en aluminium



Box Plot (ou boîtes à moustaches) des concentrations en mg d'Al par kg de duvets secs, pour les 3 sites échantillonnés. Hab DZ = site d'Habibas en Algérie (n=4), Fr.Riou FR = site des îles au large de Marseille en France (n=26), Zem TN = site de l'île de Zembra en Tunisie (n=36).

Comme observé précédemment, les concentrations en Al sont plus importantes au niveau de la colonie de Habibas en Algérie, et une forte hétérogénéité est notée au sein des colonies des îles de Marseille. L'aluminium est rarement analysé dans les plumes des oiseaux marins, et au cours des 10 dernières années aucune publication ne présente des concentrations en Al dans les plumes de puffins. Une concentration moyenne en Al de 120 ± 39 mg/kg (n=19, gamme de 69 à 218 mg/kg) a été mesurée dans les plumes de Flamants roses (*Phoenicopterus roseus*) adultes en Camargue (Borghesi et al., 2016). Mais une moyenne de $12 \pm 1,8$ mg/kg (n=12) a été mesurée dans les plumes de Manchots de Humbolt (*Spheniscus humboldti*) adultes élevés en captivité (Squadrone et al., 2019).

Teneurs en Chrome (Cr)

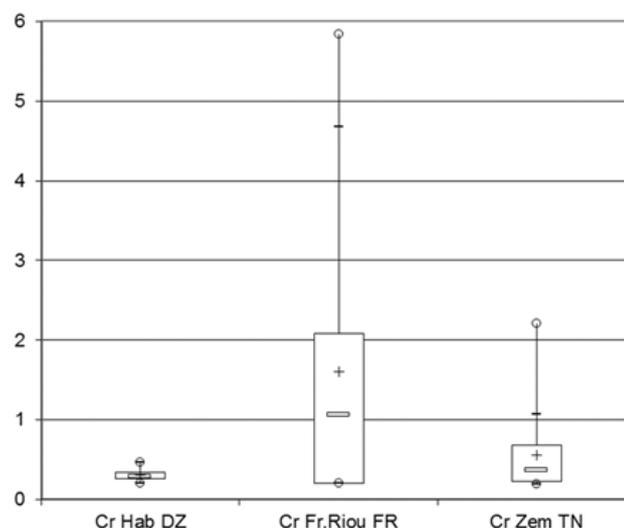


Figure C.2-2 : Box Plot (ou boîtes à moustaches) des concentrations en mg de Cr par kg de duvets secs, pour les 3 sites échantillonnés. Hab DZ = site d'Habibas en Algérie (n=4), Fr.Riou FR = site des îles au large de Marseille en France (n=26), Zem TN = site de l'île de Zembra en Tunisie (n=36).

Les concentrations en Cr apparaissent plus élevées et présentent une importante hétérogénéité au niveau du site de Marseille. Une concentration moyenne en Cr de $2,26 \pm 0,39$ mg/kg (n=29) a été mesurée dans les plumes de puffins des Baléares (*Puffinus mauretanicus*) collectés morts sur les côtes portugaises (Costa et al., 2016). Dans l'article de « review » de Rutkowska et al. (2018), une concentration moyenne en Cr de $2,35 \pm 0,48$ mg/kg a été observée chez l'espèce *Puffinus nativitatis* (Puffin de la nativité, océan pacifique).

A titre de comparaison, des teneurs en Cr ont été mesurées dans les plumes de poussins de Pétrel de Wilson (ou Océanite de Wilson, *Oceanites oceanicus*) collectés dans les nids au moment de leur départ sur l'île du Roi George en Antarctique, et une moyenne de $1,54 \pm 0,48$ mg/kg (n=4, gamme de 0,88 à 2,08) a été observée (Pacyna et al., 2019).

- Teneurs en Cadmium (Cd)

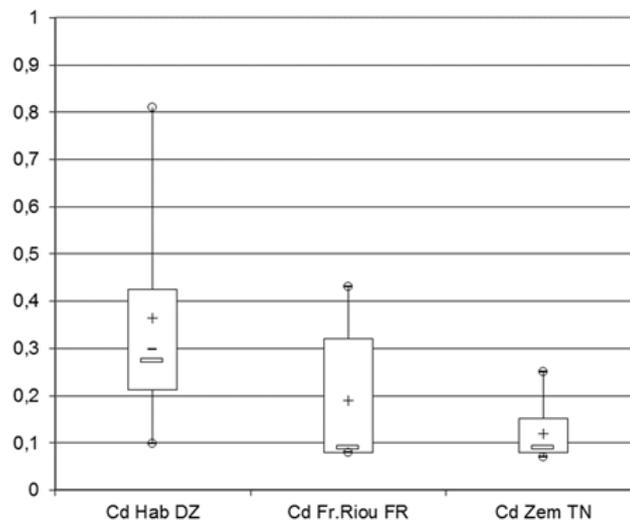


Figure C.2-3 : Box Plot (ou boîtes à moustaches) des concentrations en mg de Cd par kg de duvets secs, pour les 3 sites échantillonnés. Hab DZ = site d'Habibas en Algérie (n=4), Fr.Riou FR = site des îles au large de Marseille en France (n=26), Zem TN = site de l'île de Zembra en Tunisie (n=36).

Les moyennes des concentrations en Cd paraissent différentes entre les différents sites, mais on ne peut pas conclure car il faut tenir compte du fait de pour de nombreux nids, la concentration en Cd était inférieure à la limite de détection de la méthode ($< 0,06$ mg/kg, cf annexe).

Une concentration moyenne en Cd de $0,02 \pm 0,05$ mg/kg (n=29) a été mesurée dans les plumes de puffins des Baléares (*Puffinus mauretanicus*) collectés morts sur les côtes portugaises (Costa et al., 2016). Dans l'article de « review » de Rutkowska et al. (2018), une concentration moyenne en Cd de $0,95 \pm 0,43$ mg/kg a été observée chez l'espèce *Puffinus nativitatis* (Puffin de la nativité, océan pacifique). Et surtout, Bourgeois et al. (2011) ont mesuré une moyenne en Cd de $0,07 \pm 0,03$ mg/kg (gamme de 0,03 à 0,13) dans les plumes de 15 puffins adultes (*Puffinus yelkouan*) des colonies des îles d'Hyères (Port-Cros et Porquerolles).

Et à titre de comparaison, des teneurs en Cd ont été mesurées dans les plumes de poussins de Pétrel de Wilson (*Oceanites oceanicus*) collectés dans les nids au moment de leur départ sur l'île du Roi George en Antarctique, et une moyenne de $0,45 \pm 0,22$ mg/kg (n=4, gamme de $< LOQ$ à 0,68) a été observée (Pacyna et al., 2019).

- Teneurs en Cuivre (Cu)

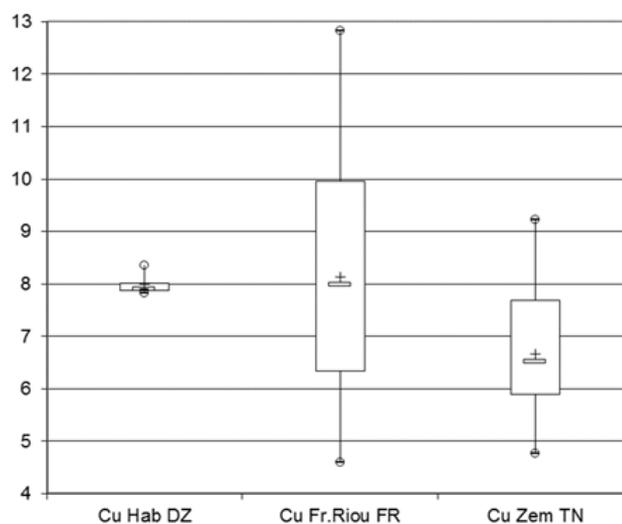


Figure C.2-4 : Box Plot (ou boîtes à moustaches) des concentrations en mg de Cu par kg de duvets secs, pour les 3 sites échantillonnés. Hab DZ = site d'Habibas en Algérie (n=4), Fr.Riou FR = site des îles au large de Marseille en France (n=26), Zem TN = site de l'île de Zembra en Tunisie (n=36).

Les teneurs moyennes en Cu dans les duvets des Puffins sont du même ordre de grandeur (entre 7 et 8 mg/kg) sur les différents sites, avec une dispersion des résultats plus étendue pour les îles de Marseille.

Une concentration moyenne en Cu de $12,8 \pm 3,8$ mg/kg (n=29) a été mesurée dans les plumes de puffins des Baléares (*Puffinus mauretanicus*) collectés morts sur les côtes portugaises (Costa et al., 2016).

Et à titre de comparaison, des teneurs en Cu ont été mesurées dans les plumes de poussins de Pétrel de Wilson (*Oceanites oceanicus*) collectés dans les nids au moment de leur départ sur l'île du Roi George en Antarctique, et une moyenne de $1,52 \pm 0,60$ mg/kg (n=4, gamme de 0,67 à 2,26) a été observée (Pacyna et al., 2019).

- Teneurs en Nickel (Ni)

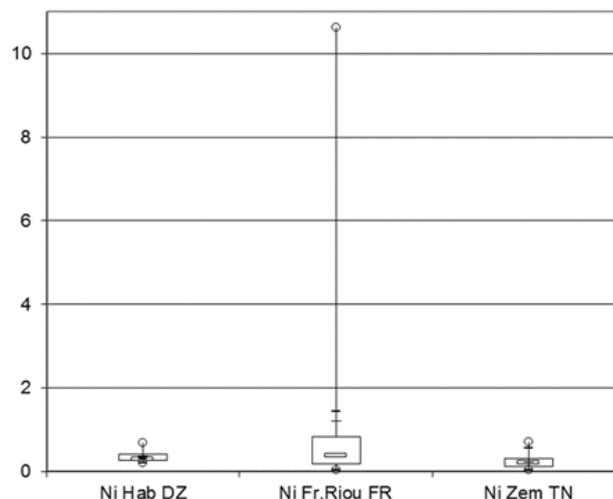


Figure C.2-5 : Box Plot (ou boîtes à moustaches) des concentrations en mg de Ni par kg de duvets secs, pour les 3 sites échantillonnés. Hab DZ = site d'Habibas en Algérie (n=4), Fr.Riou FR = site des îles au large de Marseille en France (n=26), Zem TN = site de l'île de Zembra en Tunisie (n=36).

Les teneurs moyennes en Ni dans les duvets des Puffins sont du même ordre de grandeur (entre 0,24 et 0,37 mg/kg) sur les sites Tunisien et Algérien, mais la teneur moyenne est plus élevée (1,5 mg/kg) avec une dispersion des résultats plus étendue pour les îles de Marseille.

Le nickel n'est pas systématiquement analysé dans les plumes des oiseaux marins. Une concentration moyenne en Ni de $0,29 \pm 0,39$ mg/kg (n=29) a été mesurée dans les plumes de puffins des Baléares (*Puffinus mauretanicus*) collectés morts sur les côtes portugaises (Costa et al., 2016). Une concentration moyenne en Ni de $0,58 \pm 0,22$ mg/kg (n=19, gamme de 0,30 à 1,25) a été mesurée dans les plumes de Flamants roses (*Phoenicopterus roseus*) adultes en Camargue (Borghesi et al., 2016). Et une moyenne de $0,78 \pm 0,23$ mg/kg (n=12) a été mesurée dans les plumes de Manchots de Humbolt (*Spheniscus humboldti*) adultes élevés en captivité (Squadrone et al., 2019).

- Teneurs en Plomb (Pb)

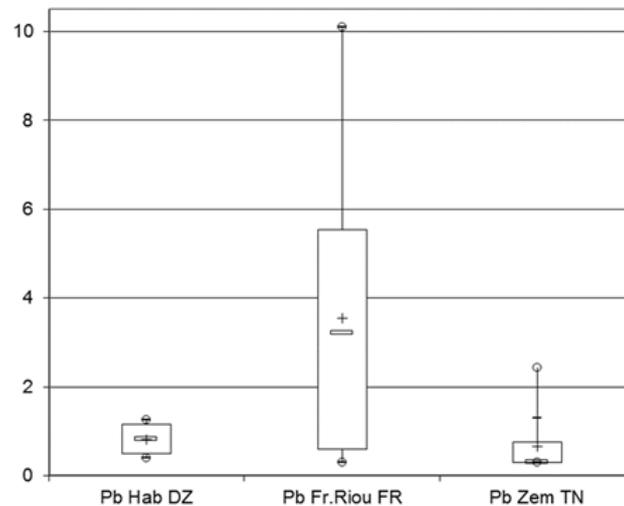


Figure C.2-6 : Box Plot (ou boîtes à moustaches) des concentrations en mg de Pb par kg de duvets secs, pour les 3 sites échantillonnés. Hab DZ = site d'Habibas en Algérie (n=4), Fr.Riou FR = site des îles au large de Marseille en France (n=26), Zem TN = site de l'île de Zembra en Tunisie (n=36).

Les teneurs moyennes en Pb dans les duvets des Puffins sont du même ordre de grandeur (entre 0,8 et 1,1 mg/kg) sur les sites Tunisien et Algérien, mais la teneur moyenne est plus élevée (3,7 mg/kg) avec une dispersion des résultats plus étendue pour les îles de Marseille.

Une concentration moyenne en Pb de $0,36 \pm 0,51$ mg/kg (n=29) a été mesurée dans les plumes de puffins des Baléares (*Puffinus mauretanicus*) collectés morts sur les côtes portugaises (Costa et al., 2016). Dans l'article de « review » de Rutkowska et al. (2018), une concentration moyenne en Pb de $2,38 \pm 0,53$ mg/kg a été observée chez l'espèce *Puffinus nativitatis* (Puffin de la nativité, océan pacifique). Et surtout, Bourgeois et al. (2011) ont mesuré une moyenne en Pb de $2,12 \pm 0,93$ mg/kg (gamme de 0,95 à 3,65) dans les plumes de 15 puffins adultes (*Puffinus yelkouan*) des colonies des îles d'Hyères (Port-Cros et Porquerolles).

Et à titre de comparaison, des teneurs en Pb ont été mesurées dans les plumes de poussins de Pétrel de Wilson (*Oceanites oceanicus*) collectés dans les nids au moment de leur départ sur l'île du Roi George en Antarctique, et une moyenne de $1,77 \pm 0,91$ mg/kg (n=4, gamme de 0,75 à 2,76) a été observée (Pacyna et al., 2019).

- Teneurs en Zinc (Zn)

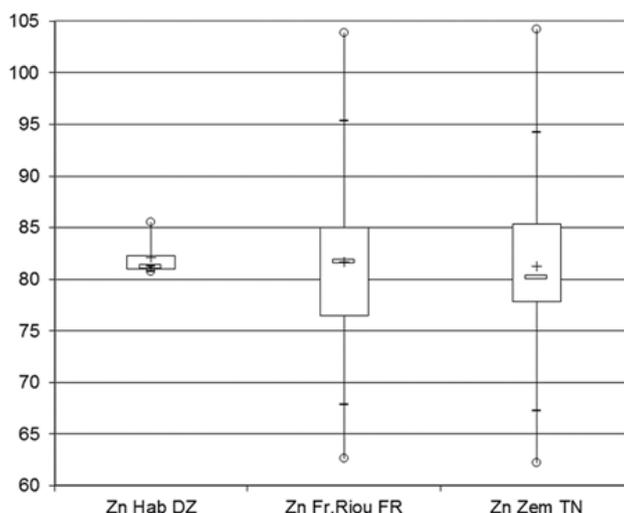


Figure C.2-7 : Box Plot (ou boîtes à moustaches) des concentrations en mg de Zn par kg de duvets secs, pour les 3 sites échantillonnés. Hab DZ = site d'Habibas en Algérie (n=4), Fr.Riou FR = site des îles au large de Marseille en France (n=26), Zem TN = site de l'île de Zembra en Tunisie (n=36).

Les teneurs moyennes en Zn dans les duvets des Puffins sont du même ordre de grandeur (entre 81 et 82 mg/kg) sur les différents sites, avec une dispersion des résultats plus étendue pour les îles de Marseille mais également pour l'île de Zembra en Tunisie.

Une concentration moyenne en Zn de $48,7 \pm 10,1$ mg/kg (n=29) a été mesurée dans les plumes de puffins des Baléares (*Puffinus mauretanicus*) collectés morts sur les côtes portugaises (Costa et al., 2016). Une concentration moyenne en Zn de 90 ± 6 mg/kg (n=19, gamme de 73 à 115) a été mesurée dans les plumes de Flamants roses (*Phoenicopterus roseus*) adultes en Camargue (Borghesi et al., 2016). Et une moyenne de $51 \pm 7,2$ mg/kg (n=12) a été mesurée dans les plumes de Manchots de Humboldt (*Spheniscus humboldti*) adultes élevés en captivité (Squadrone et al., 2019).

Et à titre de comparaison, des teneurs en Zn ont été mesurées dans les plumes de poussins de Pétrel de Wilson (*Oceanites oceanicus*) collectés dans les nids au moment de leur départ sur l'île du Roi George en Antarctique, et une moyenne de $48,3 \pm 7,1$ mg/kg (n=4, gamme de 40,3 à 59,6) a été observée (Pacyna et al., 2019).

- Teneurs en Mercure (Hg)

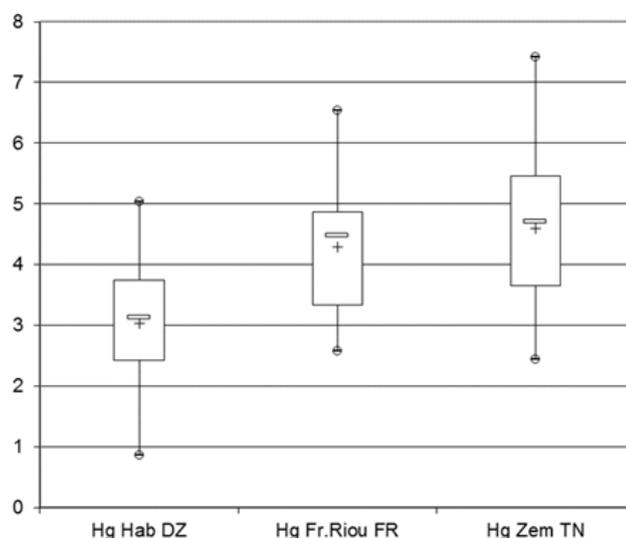


Figure C.2-8 : Box Plot (ou boîtes à moustaches) des concentrations en mg de Hg par kg de duvets secs, pour les 3 sites échantillonnés. Hab DZ = site d'Habibas en Algérie (n=4), Fr.Riou FR = site des îles au large de Marseille en France (n=26), Zem TN = site de l'île de Zembra en Tunisie (n=36).

Les teneurs moyennes en Hg dans les duvets des Puffins sont du même ordre de grandeur (entre 3,04 et 4,59 mg/kg) sur les sites étudiés.

Une concentration moyenne en Hg de $4,35 \pm 1,90$ mg/kg (n=29) a été mesurée dans les plumes de puffins des Baléares (*Puffinus mauretanicus*) collectés morts sur les côtes portugaises (Costa et al., 2016). Dans l'article de « review » de Rutkowska et al. (2018), une concentration moyenne en Hg de $0,94 \pm 0,11$ mg/kg a été observée chez l'espèce *Puffinus nativitatis* (Puffin de la nativité, océan pacifique). Et surtout, Bourgeois et al. (2011) ont mesuré une moyenne en Hg de $2,41 \pm 1,07$ mg/kg (gamme de 0,61 à 4,83) dans les plumes de 15 puffins adultes (*Puffinus yelkouan*) des colonies des îles d'Hyères (Port-Cros et Porquerolles).

L'article de Becker et al. (2016) présente un travail de « review » sur les teneurs en mercure dans les plumes d'oiseaux marins de l'océan Austral. Dans cette publication une concentration moyenne en Hg de $3,12 \pm 0,95$ mg/kg (gamme de 1,43 à 5,09) a été observée dans les plumes de Grands puffins adultes (*Ardenna gravis*, Becker et al., 2016).

La comparaison de nos résultats actuels avec ceux d'autres espèces nichant en Tunisie (Abdennadher et al. 2010 et 2011) montre des concentrations de Hg et de Pb nettement plus élevées dans les colonies de Zembra et de Marseille que dans les colonies tunisiennes (Colonie du Nord : Chikly et Colonies du Sud : Thyna et de Kneis). Les comparaisons sont dans le tableau qui suit :

	2007		2006		2007			2014		
	<i>E. garzetta</i>		<i>L. michahellis</i>					<i>C. diomedea</i>		
	Chikly	Thyna	Chikly	Thyna	Chikly	Thyna	Kneis	Zembr a	Marsei lle	Habib as
Hg	1,17	0,44	1,96	3,09	1,17	1,41	1,88	4,59	4,31	3,04
Pb	0,37	0,29	1,97	0,85	1,01	0,66	0,27	1,10	3,70	0,82

D. DISCUSSIONS et CONCLUSIONS DE L'ÉTUDE

D.1. Bio indicateur Balbuzard pêcheur

Cette étude représente une importante contribution pour l'évaluation des teneurs des composés organochlorés à une échelle méditerranéenne, et fournit ainsi un ensemble de données pour le suivi à long terme de cette espèce protégée qu'est le Balbuzard pêcheur.

Ces données donnent également quelques éléments sur la manière dont les composés organochlorés se concentrent dans les différentes parties des œufs, en relation avec les différents types d'habitats occupés par l'espèce et parmi différents sites. Comme d'autres espèces de rapaces, le Balbuzard pêcheur est un « *income breeder* » qui compte sur la prise de nourriture (acquisition locale de lipides et protéines) plus que sur les réserves de l'organisme pour compenser le coût énergétique de la production d'œuf (Durant et al. 2000). Ainsi, la plupart des résidus de contaminants dérivent de sources localisées et sont censés refléter l'exposition aux contaminants présents eux-mêmes dans la zone de reproduction (Elliott et al. 2007 ; Espin et al. 2016).

Dans la présente étude, les concentrations en PCB dans les œufs de Balbuzard varient entre individus et les sites d'échantillonnage. Bien qu'une taille d'échantillon plus importante aurait probablement permis d'être plus efficace pour véritablement évaluer le rôle de certains contaminants à l'échelle Régionale, les valeurs obtenues pour les PCB étaient du même ordre et même magnitude que d'autres études conduites sur des sites américains (e.g. Elliot et al., 1998), même si dans notre cas les contaminations se sont révélées moins sévères. Des 30 congénères de PCB analysés, les plus abondants étaient les suivants : PCB153 > PCB138 > PCB180.

Ces résultats sont en adéquation avec la littérature qui répertorie ces trois congénères comme des marqueurs d'exposition aux PCBs (Fierens et al., 2003). De part leur haut degré de chloration et ainsi leur persistance dans l'environnement, ils sont ainsi généralement largement répartis (Marsili and Focardi, 1996, Carballo et al., 2008, García-Álvarez et al., 2014).

La contamination semble être la plus large et la plus homogène en Toscane (zone composée de rivières et d'écosystèmes de zones humides). Ce qui suggère que les populations vivant près de ces habitats sont plus exposées aux PCB que les populations vivant dans des environnements purement marins. Ceci pouvant être expliqué par le régime alimentaire différent de ces deux types de populations. En Corse et aux Baléares, où les balbuzards pêchent directement dans la mer, et où le type de proie est le même : *Diplodus sp.*, *Sarpa salpa*, *Oblada melanura*, *Sparus auratus*, *Liza sp.*, alors qu'en Toscane, où les individus vivent à l'embouchure d'une rivière et dans des marais, ils consomment *Mugil cephalus* (Monti et al., 2014).

Ainsi, ces zones humides peuvent jouer un rôle important et influencer largement les concentrations de certains polluants dans leur environnement et, par voie de conséquence, influencer le taux d'absorption à travers le réseau trophique. A titre d'exemple, les polluants qui ont pour origine les décharges industrielles et les eaux issues de l'agriculture peuvent être à l'origine des fortes teneurs organochlorées. Les eaux de ruissellement issues de l'agriculture ou des industries peuvent polluer localement les rivières et les réseaux de zones humides, avec des contaminants présents dans des concentrations plus élevées que les eaux en mer ouverte (Schüürmann and Markert, 1997). Plus généralement, la variabilité intra-site et inter-individus pourrait être expliquée par le fait que les balbuzards ont une aire de déplacement extrêmement peu étendue, et largement confinée aux zones

côtières en période de reproduction (Monti et al. 2018), ceci reflétant une source de pollution très localisée.

L'individu F36C échantillonné aux Baléares représente une valeur extrême qui a dû par conséquent être éliminée et/ou traitée avec précaution. L'œuf en question a bien été fécondé et contenait un embryon à un stade très avancé de développement. Ceci pouvant expliquer les taux complètement différents des autres individus de la même zone. Ce résultat est donc à considérer avec précaution.

Typiquement, lorsque ces œufs fécondés pour lesquels il n'est pas possible de séparer le jaune de l'albumine, les composés présents dans ces œufs peuvent aller de substances indifférenciées jusqu'à des tissus embryonnaires pleinement développés (Espìn et al. 2014a), le développement de l'embryon pouvant épuiser les lipides contenus dans l'œuf et ainsi élever artificiellement les concentrations de contaminants présents dans les lipides (Newton and Bogan 1978 ; Peakall and Gilman 1979 ; Helander et al. 1982). Ainsi les concentrations de contaminants dans les œufs à différents stades de développement de l'embryon devront être analysés séparément.

De manière plus générale, dans les analyses réalisées dans le cadre de cette étude, les profils de PCBs sont proches de mélanges de composés non dégradés, ceci suggérant une contamination récente. De plus, les œufs de Balbuzard analysés dans la présente étude peuvent être considérés comme hautement contaminés, bien que les concentrations n'atteignent pas le seuil de toxicité fixé par EPA¹ (minimum 1 mg/kg dw).

Le résultat le plus important de cette étude concerne les pesticides. En 2019, les œufs de balbuzard de Méditerranée contiennent encore du 4.4 'DDE dérivé du DDT, bien que ce pesticide ait été interdit en Europe il y a des dizaines d'années. D'autres pesticides trouvés dans les œufs, tous sites confondus sont, par ordre décroissant de magnitude : DDE>DDD>Heptachlor>Dieldrine>DDT.

Enfin, la présence d'endosulfan II détectée dans un seul échantillon des Baléares (F36C), pourrait être expliquée, comme précédemment, par la présence d'un embryon à un stade de développement relativement avancé.

De manière générale la présence de pesticides identifiés dans les zones étudiées représente une nouvelle indication du caractère particulièrement persistant et leur capacité à se « déplacer » sur de longues distances au travers des différentes espèces de nos écosystèmes. Ces données, malheureusement, confirment la présence alarmante de contaminants en Méditerranée pélagique et sur les milieux côtiers, affectant potentiellement tous les écosystèmes de cette région et les espèces les abritant. Cette espèce sentinelle qu'est le Balbuzard pêcheur, à l'interface entre milieu marin et terrestre est donc le bioindicateur idéal pour évaluer cette contamination.

Les résultats montrent comment le balbuzard est capable d'accumuler et de biomagnifier les Polluants Organiques au réseau trophique. Les résultats de cette étude permettent de rappeler l'importance des études appliquées en toxicologie pour la mise en place d'une véritable conservation à long terme.

Le bassin méditerranéen étant l'une des régions les plus contaminées du globe, il est probable que les balbuzards qui se reproduisent en zone côtière méditerranéenne soient parmi les plus pollués d'Europe (Jimenez et al. 2009). Les populations de balbuzards ont considérablement diminué dans les pays méditerranéens au cours des dernières décennies, principalement en raison des menaces anthropiques directes (p. ex. la chasse, le ramassage des œufs) et de la destruction des habitats.

¹ Environmental Protection Agency – Etats Unis

Cependant, le niveau de contamination et la pollution pourraient avoir contribué à jouer un rôle important dans la détermination du taux de croissance de certaines populations. A l'avenir, une plus grande taille d'échantillon pourrait permettre de mieux étudier comment les variations environnementales pourraient affecter la population de balbuzards dans le bassin méditerranéen. Ces résultats pourraient également fournir une interprétation possible des tendances démographiques passées et récentes. Étant donné que la pollution est susceptible d'augmenter avec l'urbanisation et les activités humaines dans un futur proche, le défi actuel est de trouver une solution pour assurer la survie (et fournir les bases pour une augmentation) des populations méditerranéennes de balbuzards à long terme. Les aires protégées " non polluées " peuvent jouer un rôle important dans ce contexte, en offrant des lieux de reproduction et des aires d'alimentation sûres.

D.2. Bio indicateur Puffin Cendré

Plusieurs polluants résultant de l'activité humaine finissent dans les écosystèmes aquatiques. La vie sauvage de ces écosystèmes est donc exposée à ces polluants notamment à travers la chaîne trophique ou la contamination externe. Les oiseaux marins sont considérés comme des bio indicateurs fiables de la pollution de l'environnement puisqu'ils sont souvent des hauts prédateurs et qu'ils rendent ainsi compte des phénomènes de bioaccumulation et de biomagnification de certains contaminants tels que les métaux lourds ou certains éléments traces.

L'alimentation étant la principale voie d'entrée des contaminants dans les organismes vivants, l'utilisation des hauts prédateurs dont le Puffin de Scopoli *Calonectris diomedea* peut s'avérer très pertinente pour le monitoring environnemental des zones marines où ils se nourrissent. Ces zones sont, par conséquent, les aires d'alimentation préférentielles de ces hauts prédateurs. Les polluants sont en général difficiles à éliminer par l'organisme, on assiste alors au phénomène de bioaccumulation qui fait qu'on retrouve des niveaux de contaminations beaucoup plus élevés chez les hauts prédateurs que chez les maillons inférieurs de la chaîne alimentaire.

Pendant la période de reproduction, les individus de *C. diomedea* s'approchent de la côte afin de rejoindre leurs aires de nidification qui sont généralement des îles leur offrant des conditions de sécurité et de nourriture favorables et essentielles au succès de leur reproduction.

Le Puffin cendré fait partie des oiseaux marins qui rejoignent la méditerranée pour s'y reproduire et repartir de nouveau vers d'autres latitudes. Pendant, cette période et par souci de dépenses énergétiques, les oiseaux se nourrissent dans le voisinage de la colonie et les distances qu'ils parcourent se réduisent significativement pendant la période d'incubation (Navarro et al., 2017), ils constituent ainsi de bons bio-indicateurs de l'état du milieu de leur zone de reproduction.

Dans ce sens, nous avons collecté des échantillons de duvet de poussins de *C. diomedea* dans les nids occupés durant la saison de reproduction de 2017 dans différentes îles de méditerranée : Habibas en Algérie, Congoulé, Riou et Frioul à Marseille et Zembra en Tunisie, afin d'utiliser ce tissu comme outil d'évaluation de la contamination par éléments trace et métaux lourds dans les zones d'étude. La méthode d'échantillonnage du duvet est une méthode facile et non-invasive du moment qu'un suivi de l'occupation des nids est assuré.

L'analyse des résultats de mesures des contaminants dans les duvets de poussins de *C. diomedea* a montré des distributions peu homogènes dans certains cas, ce qui pourrait être expliqué, dans certains, par la taille faible de l'échantillon ou par la proximité de la concentration des limites de détection de la méthodologie analytique.

Par ailleurs, la comparaison des valeurs des polluants entre les différentes colonies a montré une concentration nettement plus élevée de l'Al à Habibas en Algérie. Cette différence pourrait s'expliquer par une concentration plus élevée de l'Al dans la zone d'alimentation des individus de la colonie de Habibas. Le Pb a montré le plus haut taux dans les colonies de Marseille. Ceci pourrait s'expliquer par la proximité de l'émissaire de Cortiou de ces deux colonies et par l'impact de ses rejets sur le milieu. Les concentrations de Hg sont presque similaires entre les colonies de Zembra et de Marseille, les individus de la colonie algérienne ont montré une concentration légèrement plus faible mais cette comparaison n'est pas très pertinente vu qu'il y a une grande différence entre les tailles de l'échantillon (N=4 à Habibas, N= 36 à Zembra, N= 26 à Marseille).

	Zembra	Marseille	Habibas
	Moyenne tout mg/kg	Moyenne tout mg/kg	Moyenne tout mg/kg
Al	27,89	51,89	149,88
Cd	0,12		0,36
Cr	0,59	1,85	0,35
Cu	6,66	8,13	7,99
Ni	0,24	1,50	0,37
Pb	1,13	3,67	0,82
Zn	81,21	81,67	82,14
Hg	4,59	4,31	3,04

D'autre part, la comparaison des valeurs trouvées avec celles d'autres espèces nicheuses en Tunisie a montré que les taux de mercure sont beaucoup plus élevés dans le duvet de *C. diomedea* que dans les plumes de poussins de *L. michahellis* et de *E. garzetta*. Ceci pourrait s'expliquer par les différences dans les stratégies alimentaires ou par les différences de concentration à la ligne de base. Le puffin cendré étant une espèce pélagique se nourrissant dans la colonne d'eau, alors que les deux autres espèces se nourrissent plus sur la côte.)

En effet, la concentration du Hg dans les tissus des hauts prédateurs dépend non seulement de celle des proies qu'ils consomment et de l'habitat qu'ils utilisent pour se nourrir mais aussi du phénomène de biomagnification du Hg (Bearhop et al., 2000 ; Arcos et al., 2002).

De manière générale, on remarque la présence de l'ensemble des éléments cible dans les échantillons prélevés et donc dans les tissus de l'espèce cible considérée le Puffin cendré. Ce phénomène met en évidence la présence alarmante de métaux lourds dans l'environnement qui ont des conséquences physiologiques sur des espèces patrimoniales comme les puffins de Méditerranée. Ces espèces étant des « *top predator* », situées en fin de chaîne trophique, la présence de ces éléments confirme le phénomène de biomagnification, et témoigne de la présence de contaminants métalliques dans l'ensemble du cortège d'espèce associées au bioindicateur.

E. PERENNISATION DE L'OBSERVATOIRE

L'ensemble de ses résultats a été obtenu grâce à la participation de nombreux acteurs institutionnels et de recherche qui ont mis en commun leurs efforts pour la réalisation de cette étude à l'échelle méditerranéenne. L'Initiative PIM s'est basée sur un réseau d'acteurs préexistant qu'elle a pu enrichir dans le cadre de ce projet ROMPOM.

Il serait intéressant de profiter des liens entre acteurs ainsi construits pour pérenniser ces suivis et ainsi venir confirmer ou infirmer les conclusions tirées dans la partie précédente. L'obtention d'une série chronologique permettrait également de réaliser des analyses comparatives temporelles intéressantes qui viendraient donner une autre dimension à ces comparaisons d'ordre géographiques.

Par ailleurs, les PIM souhaitent élargir le nombre de sites pilotes afin d'avoir une couverture géographique plus large.

La reproductibilité des protocoles d'échantillonnage et d'analyse, ainsi que leur coût relativement modeste, permettront cette pérennisation de l'observatoire ainsi lancé dans le cadre de ce projet.

Par ailleurs, cette étude et l'observatoire ROMPOM au sens large constituent des indicateurs qu'on peut qualifier de méta-général, renseignant sur la qualité générale des écosystèmes marins. Leur analyse permet de tirer des conclusions sur l'étendue des contaminations au niveau géographique et au sein des interactions entre espèces qui composent un écosystème. La prise de décision institutionnelle en conséquence des signaux mis en évidence par ce type d'étude doit être complétée par des indicateurs complémentaires permettant de préciser la localisation des sources de contamination. Ainsi cet observatoire s'inscrit dans le programme plus général MedTriX de l'Agence de l'Eau RMC.





G. Annexes

* Tableaux des concentrations en métaux et métaux traces en mg/kg dans les duvets des différents nids des différentes colonies.

Colonies de Habibas (Algérie), concentrations dans les duvets en mg/kg.

nom	G01	G02	G03	G04
Al	135,7	195,73	121,38	146,7
Cd	0,098	0,81	0,297	0,25
Cr	0,277	0,46	< 0,1	0,3
Cu	7,83	8,35	7,89	7,9
Ni	0,308	0,69	0,198	0,296
Pb	1,26	1,12	0,39	0,52
Zn	85,54	81,02	80,77	81,23
Hg	3,31	2,94	5,04	0,86

Colonies de Zembra (Tunisie) B = Brassica, C = Calafit, concentrations dans les duvets en mg/kg.

	B02	B04-2	B01	B03	B04-1	B05	B06	B07	B09	B10	B11	B12	B08
Al	17,76	12,6	30	12,43	12,7	31,76	35,66	20,33	13,97	27,21	10,42	18,78	16,7
Cd	< 0,06	< 0,06	< 0,06	< 0,06	< 0,06	< 0,06	0,06	< 0,06	< 0,06	0,06	< 0,06	< 0,06	< 0,06
Cr	< 0,1	1,39	0,6	0,6	0,87	0,63	0,37	2,21	0,35	0,54	0,39	0,24	0,32
Cu	5,46	5,37	5,2	5,96	5,9	7,77	6,6	7,76	6,68	8,61	6,15	7,66	5,91
Ni	< 0,05	0,09	0,05	0,16	0,21	0,08	0,09	0,22	0,3	0,13	0,06	0,06	0,23
Pb	1,56	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	0,45	< 0,3	< 0,3	0,32	< 0,3	< 0,3	0,79
Zn	71,96	88,11	79,88	79,22	101,73	79,6	77,9	85,81	81,94	68,84	83,18	84,3	77,08
Hg	6,04	2,8	4,6	3,62	2,78	3,21	4,05	5,61	7,41	2,44	5,78	4,7	4,76

nom	C02	C07	C08-2	C16-2	C17-2	C20	C01	C03	C04	C05	C06	C08-1
Al	47,26	50,85	26,01	28,08	6,87	45,44	61,89	48,98	12,19	27,67	56,19	26,71
Cd	0,25	0,152	0,153	0,07	< 0,06	< 0,06	0,19	< 0,06	0,09	0,12	< 0,06	0,14
Cr	1,6	0,201	0,277	0,657	< 0,1	< 0,1	0,85	0,34	0,19	0,27	0,44	0,31
Cu	6,97	5,9	7,99	5,15	6,75	4,76	8,21	6,13	6,79	5,51	5,9	9,22
Ni	0,34	0,34	0,35	0,646	0,26	0,39	0,71	0,56	0,12	0,2	0,21	0,23
Pb	0,89	1,53	2,42	< 0,3	< 0,3	< 0,3	1,55	< 0,3	< 0,3	0,66	< 0,3	2,24
Zn	82,55	87,15	85,21	79,03	88,07	78,51	79,05	73,86	80,42	78,72	68,73	80,9
Hg	6,32	6,06	2,86	4,74	3,92	6,34	4,18	5,1	5,12	3,76	3,66	/

	C09	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16-1	C17-1	C18	C19
Al	64,61	24,54	36,16	31,48	39,75	22,21	18,3	24,55	9,57	12,38	22,19
Cd	0,2	0,074	< 0,06	< 0,06	0,07	0,08	0,09	0,11	< 0,06	< 0,06	0,07
Cr	1,07	0,85	0,62	0,52	0,23	0,21	0,31	0,99	0,24	0,2	0,23
Cu	6,41	7,89	8	5,74	6,05	7,24	7,93	5,74	7,1	7,2	6,13
Ni	0,37	0,2	0,25	0,32	0,13	0,18	0,3	0,26	0,21	0,13	0,05
Pb	1,59	1,3	0,47	< 0,3	0,51	0,74	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
Zn	81,28	94,22	87,61	75,54	62,23	77,5	104,18	84,75	88,42	67,25	78,97
Hg	5,46	3,21	5,04	3,17	4,77	4,34	5,99	/	/	4,57	5,04

Colonies des Îles de Marseille (France) E-C = île de petit Congloué, F = île du Frioul, R = île de Riou, concentrations dans les duvets en mg/kg.

nom	E-C01	E-C02	E-C03	E-C04
Al	27,77	33,19	16,23	24,8
Cd	< 0,06	< 0,06	< 0,06	< 0,06
Cr	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Cu	6,92	12,54	6,31	7,85
Ni	10,63	4,56	0,95	5,26
Pb	3,12	0,5	0,5	0,6
Zn	76,42	83,37	92,25	85
Hg	4,66	4,3	2,64	2,58

nom	F01	F04	F05	F02	F03	F06
Al	26,54	9,73	12,72	22,3	20,1	18,6
Cd	0,08	0,08	0,106	0,09	0,08	0,09
Cr	1,67	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Cu	4,79	4,6	6,42	5,3	6,2	4,9
Ni	0,175	0,276	0,214	0,186	0,268	0,21
Pb	0,78	0,5	< 0,3	0,6	0,4	0,4
Zn	75,12	83,12	78,62	76,23	81,36	80,57
Hg	6,1	6,54	5,22	4,22	4,59	4,61

nom	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
Al	26,54	9,73	12,72	22,3	20,1	18,6	119	114,87	72,88
Cd	< 0,06	< 0,06	< 0,06	< 0,06	0,32	3,23	< 0,06	< 0,06	< 0,06
Cr	4,37	5,84	1,61	3,62	0,61	1,65	2,22	3,3	1,1
Cu	7,14	11,14	10,63	10,06	9,34	7,87	8,63	10,47	8,09
Ni	1,43	< 0,05	0,82	< 0,05	0,28	< 0,05	0,84	< 0,05	0,47
Pb	1,86	5,62	4,44	5,66	5,24	3,04	3,29	3,86	7,82
Zn	76,65	82,3	69,42	82,06	88,3	77,46	81,98	78,53	70,4
Hg	3,94	4,76	5,87	3,65	2,98	3,23	2,78	3,06	4,55

nom	R10	R11	R12	R13	R14	R15	R16
Al	63,17	42,73	125,49	195,67	83,15	69,95	140,26
Cd	< 0,06	< 0,06	< 0,06	< 0,06	< 0,06	0,42	0,43
Cr	1,05	4,33	0,91	1,12	4,68	0,64	1,07
Cu	9,68	12,83	6,73	8,19	10,26	6,29	8,07
Ni	0,65	1,98	0,34	0,42		0,64	0,83
Pb	7,58	1	6,11	4,49	8,83	5,28	10,19
Zn	67,86	103,84	87,42	84,92	102,26	62,63	95,36
Hg	5,07	2,94	4,2	4,57	4,41	4,91	5,27

H. Références bibliographiques

- Abdennadher, A., Ramírez, F., Romdhane, M. S., Ruiz, X., Jover, L., & Sanpera, C. 2010. Biomonitoring of coastal areas in Tunisia: stable isotope and trace element analysis in the yellow-legged gull. *Marine Pollution Bulletin*, 60(3), 440-447.
- Abdennadher, A., Ramírez, F., Romdhane, M. S., Ruiz, X., Jover, L., & Sanpera, C. 2011. Little Egret (*Egretta garzetta*) as a bioindicator of trace element pollution in Tunisian aquatic ecosystems. *Environmental monitoring and assessment*, 175(1-4), 677-684.
- Abdullah M., Fasola M., Muhammad A., Malik S.A., Bostan N., Bokhari H., Kamran M.A., Shafqat M.N., Alamdar A., Khan M., Ali N., Eqani S.A.M.A.S., 2015. Avian feathers as a non-destructive bio-monitoring tool of trace metals signatures: a case study from severely contaminated areas. *Chemosphere*, 119, 553-561.
- Arcos, J.M., Ruiz, X., Bearhop, S., Furness, R.W., 2002. Mercury levels in seabirds and their fish prey at the Ebro Delta (NW Mediterranean): the role of trawler discards as a source of contamination. *Marine Ecology Progress Series* 232, 281–290.
- Bearhop, S., Waldron, S., Thompson, D., Furness, R.W., 2000. Bioamplification of mercury in Great Skua
- Becker P.H., Goutner V., Ryan P.G., Gonzalez-Solis J., 2016. Feather mercury concentrations in Southern Ocean seabirds: variation by species, site and time. *Environmental Pollution*, 216, 253-263.
- Borghesi F., Abdennadher A., Baccetti N., Baiini M., Bianchi N., Caliani I., Marsili L. et Thévenet M. 2016. Developing sampling protocols for biomonitoring contaminants in Mediterranean seabirds. *Initiative PIM*.
- Bourgeois K., Vorenger J., Faulquier L., Legrand J., Vidal E., 2011. Diet and contamination of the Yelkouan Shearwater *Puffinus yelkouan* in the Hyères archipelago, Mediterranean Basin, France. *Journal of Ornithology*, 152, 947-953.
- Borghesi F., Migani F., Andreotti A., Baccetti N., Bianchi N., Birke M., Dinelli E., 2016. Metals and trace elements in feathers: a geochemical approach to avoid misinterpretation of analytical responses. *Science of the Total Environment*, 544, 476-494.
- Catharacta Skua Chicks: the influence of trophic status as determined by stable isotope signatures of blood and feathers. *Marine Pollution Bulletin* 40 (2), 181–185.
- Carballo M, Arbelo M, Esperón F, Mendez M, de la Torre A, Muñoz MJ. 2008. Organochlorine residues in the blubber and liver of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) stranded in the Canary Islands, North Atlantic Ocean. *Environmental Toxicology*.
- Costa R.A., Torres J., Vingada J.V., Eira C., 2016. Persistent organic pollutants and inorganic elements in the Balearic shearwater *Puffinus mauretanicus* wintering off Portugal. *Marine Pollution Bulletin*, 108, 311-316.
- Dolan K.J., Ciesielski T.M., Lierhagen S., Eulaers I., Nygard T., Johnsen T.V., Gomez-Ramirez P., Garcia-Fernandez A.J., Bustnes J.O., Ortiz-Santaliestra M.E., Jaspers V.L.B., 2017. Trace element concentrations in feathers and blood of Northern goshawk (*Accipiter gentilis*) nestlings from Norway to Spain. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144, 564-571.
- Durant JM, Massemin S, Thouzeau C, Handrich Y (2000) Body reserves and nutritional needs during laying preparation in barn owls. *J Comp Physiol B Biochem Syst Environ Physiol* 170:253–260
- Elliott JE, Machmer MM, Henny CJ, Wilson LK, Norstrom RJ. 1998. Contaminants in Ospreys from the Pacific Northwest: I. Trends and patterns in polychlorinated dibenzo-pdioxins and dibenzofurans in eggs and plasma. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35:620–631.
- Elliott JE, Machmer MM, Wilson LK, Henny CJ. 2000. Contaminants in ospreys from the Pacific Northwest : II. Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls, and mercury, 1991–1997. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 38:93–106.

- Elliott JE, Morrissey CA, Henny CJ, Inzunza ER, Shaw P. 2007. Satellite telemetry and prey sampling reveal contaminant sources to Pacific Northwest ospreys. *Ecol. Appl.* 17:1223–1233.
- Espín S. et al. 2016. Tracking pan-continental trends in environmental contamination using sentinel raptors – what types of samples should we use? *Ecotoxicology* 25:777–801.
- Fierens S, Mairesse H, Heilier J, De Burbure C, Focant J, Eppe G, De Pauw E, Bernard A. 2003. Dioxin/polychlorinated biphenyl body burden, diabetes and endometriosis: findings in a population-based study in Belgium. *Biomarkers*, 8:6, 529-534.
- Grove RA, Henny CJ, Kaiser JL. 2009. Osprey: Worldwide sentinel species for assessing and monitoring environmental contamination in rivers, lakes, reservoirs and estuaries. *J. Toxicol. Environ. Health B* 12:25–44.
- Henny CJ, Grove RA, Kaiser JL, Bentley VR. 2004. An evaluation of osprey eggs to determine spatial residue patterns and effect along the Lower Columbia River, U.S.A. In *Raptors worldwide*, eds. R. D. Chancellor and B.-U. Meyberg, pp. 369–388. World working group on birds of prey and owls, Budapest, Hungary.
- Henny CJ, Grove RA, Kaiser JL. 2008. Osprey distribution, abundance, reproductive success and contaminant burdens along lower Columbia River, 1997/1998 versus 2004. *Arch Environ Contam Toxicol* 5:525–34.
- Jackson A, Evers DC, Eagles-Smith CA, Ackerman JT, Willacker JJ, Elliott JE, et al. 2016. Mercury risk to avian piscivores across western United States and Canada. *Sci. Total Environ.* 568:685–696.
- Jaspers V.L.B., Covaci A., Herzke D., Eulaers I., Eens M., 2019. Bird feathers as a biomonitor for environmental pollutants: prospects and pitfalls. *Trends in Analytical Chemistry*, 118, 223-226.
- Jiménez B, Merino R, Abad E, Rivera J, Olie K. 2007. Organochlorine compounds (PCDDs, PCDFs, PCBs and DDTs) in two raptor species inhabiting a Mediterranean Island in Spain. *Environmental Science and Pollution Research* 14:61–68.
- Lemarchand C, Rosoux R, Berny P. 2009. Etude toxicologique du bassin de la Loire à l'aide de bioindicateurs, dans le contexte des effets prévisibles du réchauffement climatique. Plate-Forme Recherche/Données/Informations, Plan Loire Grandeur Nature 2007-2013, www.plan-loire.fr.
- Lemarchand C, Rosoux R, Berny P. 2011. Semi aquatic top-predators as sentinels of diversity and dynamics of pesticides in aquatic food webs. The case of European otter (*Lutra lutra*) and Osprey (*Pandion haliaetus*) in Loire River catchment, France. In: Stoytcheva, M. (ed.), *Pesticides in the Modern World: Risks and benefits*. InTech, ISBN 978-953-307-458-0.
- Marsili L, Focardi S. 1996. Organochlorine levels in subcutaneous blubber biopsies of fin whales (*Balenoptera physalus*) and striped dolphins (*Stenella ceruleoalba*) from the Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*, 91(1): 1-9
- Morales L., Martrat MG, Olmos J, Parera J, Vicente J, Bertolero A, Abalos M, Lacorte S, Santos FJ, Abad E., 2012. Persistent Organic Pollutants in gull eggs of two species (*Larus michahellis* and *Larus audouinii*) from the Ebro delta Natural Park. *Chemosphere* 88) 1306–1316.
- Monti F, Dominici JM, Choquet R, Duriez O, Sammuri G, Sforzi A. 2014. The Osprey reintroduction in Central Italy: dispersal, survival and first breeding data. *Bird Study* 61:465–473.
- Monti F, Duriez O, Dominici JM, Sforzi A, Robert A, Fusani L, Grémillet D, 2018a. The price of success: integrative long-term study reveals ecotourism impacts on a flagship species at a UNESCO site. *Animal Conservation*. doi :10.1111/acv.12407
- Mougín J.L., Jouanin C. & Roux F. 1988. Les migrations du Puffin cendré *Calonectris diomedea*. *L'oiseau et RFO*, 58 : 303-319.
- Poole AF, 1989. *Ospreys: a Natural and Unnatural History*. Cambridge University Press. Cambridge: pp. 246.
- Rattner BA, Golden NH, Toschik PC, McGowan PC, Custer TW, 2008. Concentrations of metals in blood and feathers of nestling ospreys (*Pandion haliaetus*) in Chesapeake and Delaware Bays. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 54:114–122.

- Scheuhammer AM, Basu N, Burgess NM, Elliott JE, Campbell GD, Wayland M, et al. 2008. Relationships among mercury, selenium, and neurochemical parameters in common loons (*Gavia immer*) and bald eagles (*Haliaeetus leucocephalus*). *Ecotoxicology* 17(2):93–101
- Stickel LF, Wiemeyer SN, Blus LJ (1973) Pesticide residues in eggs of wild birds: adjustment for loss of moisture and lipid. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 9:193– 196.
- Navarro, J., González-Solís, J., & Viscor, G. 2007. Nutritional and feeding ecology in Cory's shearwater *Calonectris diomedea* during breeding. *Marine Ecology Progress Series*, 351, 261-271.
- Pacyna A.D., Jakubas D., Ausems A.N.M.A., Frankowski M., Polkowska Z., Wojczulanis-Jakubas K., 2019. Storm petrels as indicators of pelagic seabird exposure to chemical elements in the Antarctic marine ecosystem. *Science of the Total Environment*, 692, 382-392.
- Péron C., et Grémillet D. 2012. Habitats maritimes des Puffins de France métropolitaine : approche par balise et analyse isotypiques. *Agence des Aires Marines Protégées*.
- Picone M., Corami F., Gaetan C., Basso M., Battiston A., Panzarin L., Ghirardini A.V., 2019. Accumulation of trace elements in feathers of the Kentish plover *Charadrius alexandrinus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 179, 62-70.
- Monteiro, L R, Ramos, J A, Furness, R W & Del Novo, A J 1996. Movements, morphology, breeding, molt and feeding of seabirds in the Azores. *Colonial Waterbirds* 19 : 82-97.
- Rouessac F. et A., 2019. Analyse chimique (Méthodes et techniques instrumentales, 9^{ème} édition Dunod
- Rutkowska M., Piotka-Wasyłka J., Lubinska-Szczygei M., Rozanska A., Mozejko-Ciesielska J., Namiesnik J., 2018. Bird's feathers – Suitable samples for determination of environmental pollutants. *Trends in Analytical Chemistry*, 109, 97-115.
- Squadrone S., Brizio P., Favaro L., Todino G., Florio D., Da Rugna C., Abete M.C., 2019. Humboldt penguins' feathers as bioindicators of metal exposure. *Science of the Total Environment*, 650, 1734-1739.
- Sanchez, A. & Belda, E.J. 2003. Bait loss caused by seabirds on longline fisheries in the northwestern Mediterranean: is night setting an effective mitigation measure? *Fisheries Research* 60: 99-106.
- Telleria, J.L. 1980. Autumn migration of Cory's Shearwater through the Straits of Gibraltar. *Bird Study* 27 : 21-26.
- Thibault J.C. 1994. Nest site tenacity and mate fidelity in relation to breeding success in cory's shearwater (*Calonectris diomedea*). *Bird Study*, 41:25-28.
- Thibault J.-C., Bretagnolles V. & Rabouam C. 1997. Cory's shearwater. B W P Update. (*The Journal of Birds of the Western Palearctic*) 1 : 75-98.
- Zapata P, Ballesteros-Cano R, Colomer P, Bertolero A, Viana P, Lacorte S, Santos FJ., 2018. Presence and impact of Stockholm Convention POPs in gull eggs from Spanish and Portuguese natural and national parks. *Science of the Total Environment*. 633 704–715.