

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

**PBDE ET BPC DANS LE FOIE DU BÉLUGA DU SAINT-LAURENT
(*DELPHINAPTERUS LEUCAS*): COMPARAISON DES
CONCENTRATIONS ET DES TENDANCES TEMPORELLES AVEC LE
PANNICULE ADIPEUX**

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en Océanographie
en vue de l'obtention du grade de M.Sc. maître ès sciences

PAR

MERIEM RAACH

Octobre, 2010

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

Composition du jury :

Jean-Pierre Gagné, président de jury, ISMER/UQAR

Michel Lebeuf, directeur de recherche, MPO/IML

Émilien Pelletier, codirecteur de recherche, ISMER/UQAR

Daniel Martineau, examinateur externe, Université de Montréal/Faculté de médecine vétérinaire

Dépôt initial le 30 Juin, 2010

Dépôt final le 22 Octobre 2010

DÉDICACES

À mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

À mes parents, sans leur soutien, je n'aurais pas pu poursuivre mes études au Québec et de vivre ainsi une expérience aussi enrichissante qui soit sur le plan intellectuel, professionnel, culturel et social.

À mon père qui n'a jamais hésité une seconde à me soutenir moralement et financièrement.

À ma chère mère qui n'a jamais cessé de m'encourager à persévérer et surmonter les obstacles pour réaliser mes nobles ambitions.

À mon frère, pour ses encouragements et sa présence malgré la distance qui nous sépare.

À mon époux qui n'épargne aucun effort pour me soutenir dans toutes les circonstances.

À ma famille élargie, mes amis au Québec, en France et en Tunisie.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier dans un premier temps, le personnel du service de l'admission de l'Université du Québec à Rimouski qui m'a permis de poursuivre mes études graduées en Océanographie à l'ISMER.

Je remercie toute l'équipe pédagogique de l'ISMER et professeurs responsables des cours de l'Océanographie générale, expérimentale et des cours optionnels, pour avoir assuré le bon déroulement des cours lors des deux premières sessions.

Je remercie tout particulièrement et je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour l'expérience enrichissante et pleine d'intérêt qu'elles m'on fait vivre durant ces trois années :

- ✓ monsieur Michel Lebeuf, mon directeur de recherche à l'Institut Maurice-Lamontagne, pour l'accueil et la confiance qu'il m'a accordés dès mon arrivée au laboratoire, Sa disponibilité, ses commentaires et ses suggestions ainsi que le temps qu'il m'a consacré tout au long de la rédaction de l'article et du mémoire, sans oublier son support financier durant ces trois années.
- ✓ monsieur Émilien Pelletier, mon codirecteur de recherche à l'ISMER, quant à ses précieux conseils et commentaires qui m'ont été d'un grand secours

Mes remerciements vont conjointement à madame Anne-Claire Tassel qui a assuré ma formation quant au protocole expérimental et monsieur Steve Trottier pour son aide inestimable lors des pépins au laboratoire, sa patience et sa disponibilité pour répondre à toutes mes interrogations.

Je tiens également à remercier monsieur Jean-Pierre Gagné et monsieur Daniel Martineau d'avoir accepté d'évaluer mon mémoire de maîtrise.

RÉSUMÉ

En raison de leurs propriétés lipophiles, les polluants organiques persistants (POPs) sont communément évalués en ciblant le pannicule adipeux chez les mammifères marins. Cependant, ces composés s'accumulent également dans des organes tels que le foie. Certains polluants, notamment les acides perfluorés sont prédominants dans le foie et sont donc suivis dans cet organe. Ceci soulève la question à savoir si les deux tissus présentent les mêmes tendances de POPs chez le béluga du Saint-Laurent. La présente étude rapporte les premiers résultats sur les tendances temporelles de la contamination hépatique du béluga de l'estuaire du Saint-Laurent (ESL) par deux classes de POPs: les PBDE et les BPC. Ni la \sum_7 PBDE, ni les groupes homologues des PBDE ont montré une tendance temporelle entre 1993 et 2007. Similairement, la \sum_{32} BPC n'a pas changé au cours des années. Par contre, les tétra, penta et hepta-BPC ont diminué annuellement de 7, 6.8 et 8.5%, respectivement chez les mâles. Chez les femelles, les tétra, penta et octa-BPC ont diminué respectivement de 11, 12 et 12.9% annuellement. Afin de comparer la distribution des POPs entre le foie et le pannicule adipeux, les ratios des concentrations des PBDE et BPC (rapportées sur base lipidique) ont été calculés pour chaque béluga. Pour tous les PBDE et la majorité des BPC, R n'était pas différent d'une unité suggérant que la répartition de ces composés est influencée par le contenu lipidique des tissus. Les tendances temporelles des ratios des PBDE et des BPC ont été également examinées. Généralement, les ratios n'ont pas changé au cours des années à l'exception des PBDE chez les mâles où R augmente annuellement en moyenne $12.7 \pm 2.9\%$. La stratification du pannicule adipeux en couche métaboliquement active (interne) et une couche moins active (externe) pourrait engendrer une réponse plus lente du pannicule adipeux (entier) que le foie aux récents changements de la contamination dans l'environnement et expliquer les différences dans les tendances temporelles observées entre les sexes et les tissus. La présente étude suggère que le foie est plus représentatif de l'exposition récente aux contaminants lipophiles.

Mots clés : Béluga, POPs, PBDE, BPC, foie, gras hypodermique, tendance temporelle, ratio (gras/foie).

ABSTRACT

Due to their lipophilic properties, persistent organic pollutants (POPs) are commonly assessed using the blubber of marine mammals. However, these chemicals are also accumulating in other tissues including the liver. Some pollutants, namely perfluorinated acids are predominant and thus monitored in the liver. This raises the question whether any tissue would represent an identical trend of POPs in the SLE beluga. The current study reports the first temporal trends of PBDEs and PCBs in the liver of 65 SLE belugas. Neither \sum_7 PBDEs nor major individual PBDE-homolog group concentrations showed significant trends between 1993 and 2007. Also, \sum_{32} PCBs did not change over years, although, tetra, penta and hepta-PCB decreased by 7.1, 6.8 and 8.5%, respectively in males, whereas, tetra, penta and octa-PCBs declined by 11, 12 and 12.9%, respectively, in females. In order to compare the distribution of POPs between liver and blubber, a lipid normalised concentration ratio R (blubber/liver) for PBDEs and PCBs was calculated for each individual beluga. For all PBDE and several PCB homolog groups, mean R values were not statistically different from unity indicating that the partitioning of these POPs is governed by the tissue lipid-content. Temporal trends of R ratios of PBDEs and PCBs were also examined. There were generally no significant temporal trends except for PBDEs in males where R increased in average by $12.7 \pm 2.9\%$ yearly. The stratification of the blubber into a metabolically active (inner) and less active layers (outer blubber) may result in a slower response time of the blubber (full depth) than the liver to the recent change of contamination in the environment and explain the time trend-differences between both tissues. This study suggests that the liver is more representative of recent exposure to lipophilic contaminants.

Keywords: *Beluga, POPs, PBDEs, PCBs, liver, blubber, temporal trends, ratio (blubber/liver)*

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	vii
Résumé.....	ix
Abstract.....	xi
CHAPITRE 1:Introduction générale.....	1
CHAPITRE 2:PBDE et BPC dans le foie du béluga du Saint-Laurent (<i>Delphinapterus leucas</i>): Comparaison des concentrations et des tendances temporelles avec le pannicule adipeux	25
2.1. Résumé	27
2.2. PBDEs and PCBs in the liver of the St. Lawrence Estuary beluga whale (<i>Delphinapterus leucas</i>): A comparison of levels and temporal trends with the blubber	29
Introduction.....	29
Experimental Section	31
1. Samples.....	31
2. Liver characterization	32
3. Chemicals	33
4. Organohalogen residue analyses	34
5. Quality assurance and quality control program (QA/QC)	35
6. Statistics.....	36
Results and discussion.....	37
1. Stranded carcasses.....	37

2. Biological parameters and liver characteristics.....	37
3. Patterns, concentrations and temporal trends of PBDEs in SLE beluga liver.....	43
4. Patterns, concentrations and temporal trends of PCBs in SLE beluga liver.....	50
5. Comparison of concentrations and trends of PBDEs and PCBs between liver and blubber .	52
Aknowledgements	59
CHAPITRE 3 : Conclusion et perspectives	61
Références bibliographiques	71

LISTE DES TABLEAUX

Table 1 Data of individual belugas stranded between 1993 and 2007 on the SLE shores 39

Table 2 Data on biological parameters, liver characteristics and results of linear regression analyses between each parameter and the year of stranding 42

Table 3 Mean hepatic concentrations \pm SD of PBDEs (ng/g lw) and PCBs (μ g/g lw) and their time trends in SLE beluga between 1993 and 2007..... 47

Table 4 Mean PBDE (\pm SD) (ng/g lipid weight) in liver of Marine Mammals from North American, European and Asian coasts..... 48

Table 5 Mean concentration ratios (blubber/liver) \pm SD of PBDEs and PCBs and their temporal trends in SLE beluga between 1993 and 2007..... 55

LISTE DES FIGURES

Fig. 1 Structure chimique générale des polybromodiphényles ethers (PBDE)	3
Fig. 2 Structure chimique générale des biphényles polychlorés (BPC).....	7
Fig. 1 Locations of the 65 stranded beluga whales found on the SLE shores between 1993 and 2007 and examined in this study. The number (M/F) of animals found at each site is identified.....	38
Fig. 2 Relative contributions (%; mean±SD) of homolog groups to the $\sum 7$ PBDE (A) and $\sum 32$ PCBs (B).....	46
Fig. 3 Temporal trends of $\sum 7$ PBDE (ng/g lw) (A) and $\sum 32$ PCBs (μ g/g lw) (B) in male (solid diamonds) and female (open diamonds) SLE beluga liver between 1993 and 2007. PBDE and PCB concentrations (y axis) are on a log scale.....	49
Fig. 4 Changes of PBDE (A) and PCB (B) concentration ratios (blubber / liver) in male (solid diamonds) and female (open diamonds) SLE beluga between 1993 and 2007. The linear regression line for $\sum 7$ PBDEs in males shows significant change over time ($p < 0.05$).	56
Fig. 5 Simplified scheme of contaminants exchanges between the liver and the blubber layers (Black arrow: chemical inflow; white arrow: chemical outflow).....	57

LISTE DES ABBRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

- b.p.l : Base de Poids Lipidique
- DCM : DiChloroMethane
- ESL : Estuaire du Saint-Laurent
- GC/MS/MS : Gas-Chromatography/Mass-Spectrometry
- GLGs : Growth Layer Groups
- GPC : Gel Permeation Chromatography
- *Kow* : Octanol/Water partition coefficient (Ang) ou Coefficient de partage Octanol/Eau (Fr)
- lw: Lipid Weight
- PBDE : Poly Bromo Diphenyl Ethers (Ang et Fr)
- POP : Persistent and Bioaccumulative Pollutant (Ang) ou Polluant Bioaccumulable et Persistant (Fr)
- PCB ou BPC: PolyChlorintated Biphenyls (Ang) ou Biphényles PolyChlorés (Fr)
- POP : Persistent Organic Pollutant (Ang) ou Polluant Organique Persistant (Fr)
- R : Ratio (blubber/liver)
- RRF: Relative Response Factor
- SLE : St. Lawrence Estuary
- SRM : Standard Reference Material
- ww : Wet Weight

LISTE DES SYMBOLES

- Σ_{32} PCB : La somme de 32 congénères de PCB
- Σ_7 PBDE: La somme de 7 congénères de PBDE

CHAPITRE 1:

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les polluants organiques persistants (POPs)

Un composé est considéré comme un polluant organique persistant (POPs) lorsqu'il possède des propriétés toxiques, résiste à la dégradation, s'accumule dans les organismes vivants et est propagé par l'air, l'eau et les espèces migratrices par delà les frontières internationales et déposé loin de son site d'origine, où il s'accumule dans les écosystèmes terrestres et aquatiques (Convention de Stockholm, 2001). Les POPs possèdent deux caractéristiques fondamentales; ils sont persistants et lipophiles (Lebeuf, 2009). La persistance d'un composé est définie en fonction du temps de demi-vie, $t_{1/2}$ c'est-à-dire le temps nécessaire pour que la concentration initiale du composé diminue de moitié. Par exemple, dans le pannicule adipeux du béluga de l'estuaire du Saint-Laurent (ESL), $t_{1/2}$ du CB-18 est estimé à 7 ans chez les mâles (Lebeuf *et al.* 2007). Le caractère lipophile d'un contaminant est généralement déterminé par une valeur du *Kow* ou coefficient de partage *n*-octanol-eau (Fisk *et al.* 1998). Ce coefficient est influencé par le nombre d'atomes d'halogène (Cl ou Br) et le patron de substitution (Fisk *et al.* 1998). Les composés ayant une valeur de *Kow* entre 10^4 et 10^7 sont les plus efficacement bioaccumulés par les organismes et entreposés préférentiellement dans les tissus riches en lipides (Fisk *et al.* 1998; Lebeuf, 2009).

Les POPs s'accumulent via la chaîne trophique et se trouvent à des concentrations très élevées chez les mammifères marins (Borrell *et al.* 2001; Lebeuf, 2009). En effet, ces derniers (à l'exception des cétacés mysticètes) sont situés au sommet de la chaîne alimentaire et en raison de leurs besoins en thermorégulation et en énergie, une large proportion de leur masse corporelle est composée presque exclusivement de lipides neutres : les triglycérides. L'épaisseur de ce tissu hypodermique atteint quelques cm et représente 20 à 40% du corps des cétacés (Aguilar et Borrell, 1991). Les lipides représentent 30 à 80% du poids humide du pannicule adipeux (Aguilar et Borrell, 1990). En raison de sa richesse en lipides et de sa large contribution à la masse corporelle des cétacés, les polluants lipophiles sont accumulés et retenus efficacement et préférentiellement au niveau de ce tissu (Kawai *et al.* 1988; Aguilar *et al.* 1991, Krahn *et al.* 2004). Deux principaux groupes de POPs se distinguent, les composés organobromés et les composés organochlorés.

Les composés organobromés – les polybromo diphényles éthers (PBDE)

Ces composés sont aussi connus sous le nom de retardateurs de flamme à cause de leur caractère ignifuge (Hites, 2006; Lebeuf, 2009). En effet, les atomes de brome absorbent l'énergie des radicaux libres générés par les flammes retardant ainsi leur propagation (Hites, 2006). Les composés organobromés incluent les polybromo biphényles (PBBs) qui sont déjà interdits depuis 1974 aux États-Unis, les polybromo diphényles éthers (PBDE) dont la production a été récemment restreinte et les hexabromocyclododécane qui sont toujours en cours de production (De Wit *et al.* 2006; Hites, 2006). Malgré leur forte utilisation dans les produits commerciaux, peu d'information est disponible sur les composés organobromés chez le béluga de l'ESL à l'exception des PBDE (Lebeuf, 2009).

Les PBDE possèdent deux cycles aromatiques pouvant contenir jusqu'à cinq atomes de brome chacun et ainsi produire 209 congénères distincts (Lebeuf, 2009).

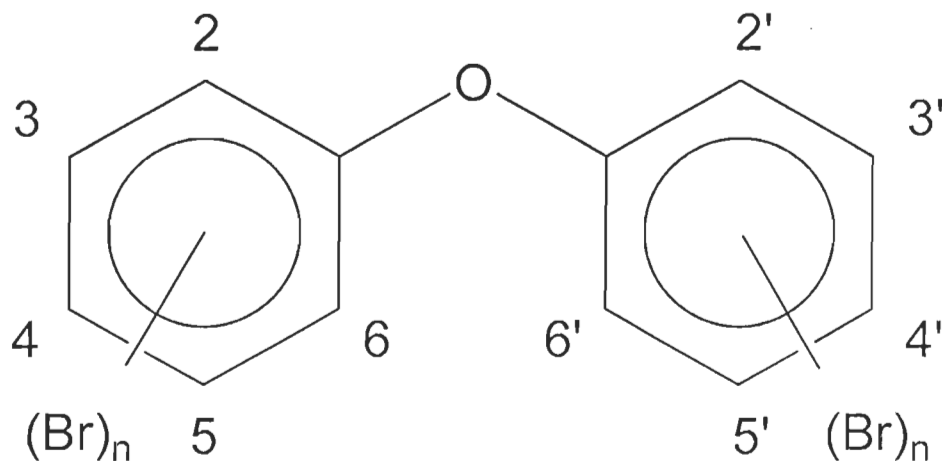


Fig. 1 Structure chimique générale des polybromodiphényles éthers (PBDE)
(Lebeuf, 2009)

Les PBDE sont des composés polaires en raison de la présence de l'atome d'oxygène et de l'asymétrie autour de l'axe horizontal (Lebeuf, 2009, Shaw et Kannan, 2009). Parmi les 209 congénères possibles, seulement 40 sont systématiquement détectés dans l'environnement (Ross *et al.* 2009). Trois mélanges techniques ont été produits; les mélanges penta, octa et déca-BDE. Le mélange penta-BDE contient majoritairement deux congénères, les BDE-47 et BDE-99 qui possèdent respectivement quatre et cinq atomes de brome. Le mélange octa-BDE est composé principalement de deux congénères, les BDE-153 et BDE-183, qui possèdent respectivement six et sept atomes de brome, alors que le mélange déca-BDE contient presque exclusivement le congénère BDE-209, ou décabromodiphényles éther (Hites, 2006, Lebeuf, 2009). En raison de leur caractère ignifuge, les mélanges techniques des PBDE sont ajoutés à une vaste gamme de matériaux à usage courant tels que les textiles et plastiques polymériques incluant le polyuréthane, le polystyrène et l'acrylonitrile butadiène styrène (ABS). Ils entrent également dans la fabrication de matériaux de construction, les pièces automobiles, sous-tapis, mousse d'ameublement et équipement électronique (Hites, 2006; Lebeuf, 2009, Shaw et Kannan,

2009). Les PBDE ont été produits depuis 1960 (suivant la prohibition des BPC) et depuis les années 1980, la demande pour ces composés à des fins commerciales a exponentiellement augmenté en Amérique du Nord (Lebeuf, 2009; Shaw et Kannan, 2009). Ces composés émergents sont rapportés dans toutes les matrices environnementales : air, eau, sédiments, poissons, oiseaux terrestres et aquatiques, mammifères marins et même chez les humains (Law *et al.* 2003; Zhu et Hites, 2004; Hites, 2006; Johnson-Restrepo *et al.* 2005; De Wit *et al.* 2006; Shaw et Kannan, 2009). Chez le béluga du Saint-Laurent, les teneurs ont doublé à tous les 3-4 ans entre 1988 et 1999 (Lebeuf *et al.* 2004; Lebeuf, 2009). L'augmentation rapide de ces composés a été aussi rapportée dans l'Arctique (Ikonoumou *et al.* 2002; Wolkers *et al.* 2004; De Wit *et al.* 2006; Muir *et al.* 2006).

Les tétra (-49, -47), penta(-99, -100) et hexa (-153, -154, -155) -BDE sont les groupes homologues majeurs observés chez les poissons, oiseaux, mammifères marins et même chez l'homme (Ikonoumou *et al.* 2002; Lebeuf *et al.* 2004; Rayne *et al.* 2004; Wolkers *et al.* 2004; Johnson-Restrepo *et al.* 2005; De Wit *et al.* 2006; Muir *et al.* 2006; Rigét *et al.* 2006; Shaw *et al.* 2008). Les groupes homologues de PBDE les plus substitués, notamment hepta(-183) et déca- (-209)-BDE sont à peine détectables chez les mammifères marins (Thomas *et al.* 2005; Shaw et al, 2008; Law *et al.*, 2010). L'absence de ces groupes peut être expliquée par leurs rapides transformations dans les proies (Kajiwara *et al.* 2004), ou par leurs court $t_{1/2}$ chez les cétacés et phoques. Chez le phoque gris, $t_{1/2}$ du BDE-209 dans le sang est estimé entre 8.5 et 13 jours (Thomas *et al.*, 2005).

À cause de leur persistance, bioaccumulation, toxicité et leur important transport atmosphérique, deux des trois mélanges techniques (penta et octa-BDE) ont été bannis depuis 2004 en Europe (Union Européenne, 2003). La même année, l'unique fabricant de PBDE en Amérique du Nord, la « Great Lakes Chemical Company » (États-Unis), a volontairement mis un terme à la production des mélanges penta-BDE et octa-BDE, mais continue de produire le déca- BDE. En 2005, la fabrication du penta et octa-BDE a été interdite dans plusieurs états américains (De Wit *et al.* 2006; Canada *gazette*, 2008).

En mai 2009, les PBDE et particulièrement les penta- et octa-BDE ont été reconnus comme POPs selon l'Annexe A de la Convention de Stockholm (Convention de Stockholm, 2009). De nombreux états américains envisagent de restreindre voire même d'interdire l'usage des déca-BDE à partir de 2011 (Canada *gazette* II, 2008). Au Canada, les PBDE ne sont pas manufacturés mais sont importés. Les règlements adoptés en juillet 2008 interdisent la fabrication, l'utilisation, la vente et l'importation des congénères et des mélanges du tétra-BDE, penta-BDE, de hexa-BDE, des polymères et résines contenant ces substances. En 2009, la prohibition des mélanges de penta-BDE et octa-BDE dans les produits et les mélanges manufacturés et importés de déca-BDE dans l'électronique et l'appareillage électrique a été proposée (Canada *gazette*, 2008). Bien que le Canada ait suggéré de réglementer le déca-BDE, il ne propose pas une interdiction complète de ce type de PBDE. Certaines inquiétudes ont été rapportées à l'égard d'une réglementation insuffisante dans l'usage du mélange technique déca-BDE au Canada (Ross *et al.* 2009).

Les composés organochlorés - les biphényles polychlorés (BPC)

Au cours du XX^{ème} siècle, de nombreux composés organochlorés ont été synthétisés et largement utilisés dans l'industrie (ex. BPC) et l'agriculture (ex. DDT, toxaphène) (Borrell *et al.* 2001; Lebeuf, 2009). La production et la commercialisation de ces composés ont été prohibées dans les années 70 et leur émission dans l'environnement a commencé à diminuer progressivement (Tanabe, 1988; Borrell *et al.* 2001; Lebeuf, 2009). Cependant, l'inquiétude demeure toujours à l'égard de ces polluants surtout dans les écosystèmes aquatiques. En effet, leurs longues demi-vies entraînent leur redistribution environnementale via le cycle volatilisation/déposition (Tanabe, 1988; Borrell *et al.* 2001). En raison du transport atmosphérique, plusieurs composés organochlorés ont été détectés dans des régions éloignées de leur lieu de production et d'usage notamment les régions polaires (Andersen *et al.* 2001). La bioaccumulation via la chaîne trophique a entraîné

la contamination des mammifères marins de ces régions (Andersen *et al.* 2001; Muir *et al.* 1999).

À cause de leur persistance, leur toxicité, leur volatilité et leur transport atmosphérique sur de longues distances, les BPC ont été parmi les douze composés incluant le DDT, l'aldrine, le dieldrine, l'endrine, l'heptachlore, le toxaphène, le chlordane (CHL), le mirex, l'hexachlorobenzène (HCB), les polychlorodibenzo-p-dioxines (PCDD) et les dibenzofuranes (PCDF) à être reconnus comme POPs (Convention de Stockholm, 2001; Annexe A et C).

Les BPC sont parmi les plus connus de cette famille et les plus étudiés en termes de contamination environnementale et toxicologie (Tanabe, 1988; Borrell *et al.* 2001; Hornbuckle *et al.* 2006). Les BPC ont été synthétisés pour la première fois en 1881 et ce n'est qu'en 1929 qu'ils ont été produits à des fins industrielles aux États-Unis (Tanabe, 1988; Lebeuf, 2009). À la fin des années 50, la production des BPC a drastiquement augmenté pour atteindre son apogée vers la fin des années 60. La production et l'émission de ces polluants ont été arrêtées dans les années 70 et durant toute cette période environ $1,2 \cdot 10^6$ tonnes ont été produites (Tanabe, 1988). En Amérique du Nord, la production des BPC a été bannie depuis 1977. Au Canada, l'importation, la fabrication, et la vente (pour la réutilisation) des BPC sont devenues illégales en 1983 (Lebeuf, 2009).

Ces composés chlorés ont été utilisés principalement par l'industrie dans les transformateurs et les condensateurs, les équipements hydrauliques et les lubrifiants. Ils ont été surtout ajoutés aux huiles afin de prévenir leur dégradation et maintenir leur viscosité à des températures élevées. Ils ont aussi été utilisés comme agent plastifiant dans les résines synthétiques. Ces composés ont été également ajoutés à beaucoup de produits courants y compris les papiers sans carbone, les adhésifs, cires et encres (Hornbuckle *et al.* 2006; Lebeuf, 2009). L'utilité des BPC dans l'application industrielle est liée à leur stabilité chimique, leur résistance à la chaleur, leur inflammabilité, leur basse pression de vapeur et à leur constante diélectrique élevée (Tanabe, 1988).

Les BPC contiennent de 1 à 10 atomes de chlore attachés au groupe biphényle qui est une molécule composée de deux cycles de benzène dont chacun contient six atomes de carbones (Tanabe, 1988; Hornbuckle *et al.* 2006; Lebeuf, 2009).

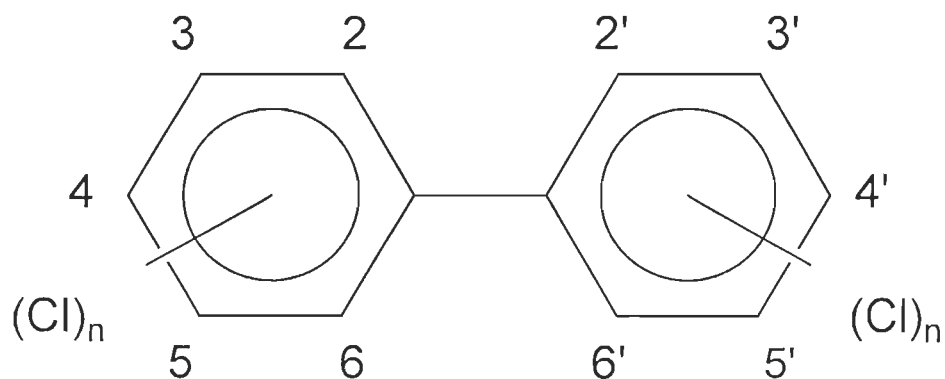


Fig. 2 Structure chimique générale des biphényles polychlorés (BPC)
(Lebeuf, 2009)

À l'instar des PBDE, il existe 209 congénères de BPC selon la position des atomes de chlore sur les cycles phényles (Lebeuf, 2009). La toxicité des BPC varie largement avec le nombre d'atome de chlore et leurs positions sur les groupes biphényles (Tanabe, 1988). De plus, la pression de vapeur et la solubilité dans l'eau diminuent lorsque le degré de substitution augmente. Par contre, $\log K_{ow}$ augmente allant du groupe mono-BPC au groupe déca-BPC (Fisk *et al.* 1998).

Les mélanges techniques, connus sous le nom d'Aroclor en Amérique du Nord, ont été nommés suivant le pourcentage de chlore dans le mélange. Les mélanges les plus communément utilisés étaient Aroclor 1242, 1248, 1254 et 1260 (Hornbuckle *et al.* 2006). Ainsi chacun de ces mélanges contient un nombre restreint de congénères (Lebeuf, 2009). Parmi les dix groupes homologues possibles, les groupes hexa- et hepta-BPC sont les plus prédominants chez les mammifères marins (Muir *et al.* 1990; Gauthier *et al.* 1997, 1998;

Metcalfé *et al.* 1999; Hobbs *et al.* 2001; Devigne, 2003; Wolkers *et al.* 2004, 2006; Rigét *et al.* 2006).

En dépit de 40 ans de réglementation, les BPC sont toujours détectés dans l'environnement et dans les organismes aquatiques, particulièrement chez les mammifères marins (Gauthier *et al.* 1998; Muir *et al.* 1999; Andersen *et al.* 2001; Hornbuckle *et al.* 2006; Lebeuf, 2009). Cependant, les études portant sur l'évolution temporelle des BPC montrent une tendance à la baisse chez plusieurs espèces de mammifères marins incluant le béluga du Saint-Laurent (Muir *et al.* 1999; Rigét *et al.* 2006; Lebeuf *et al.* 2007; Lebeuf, 2009).

Toxicité et risques d'exposition aux PBDE et BPC : cas des cétacés odontocètes et pinnipèdes :

La dépression du système immunitaire, des troubles du système endocrinien et des problèmes de reproduction sont parmi les conséquences néfastes de la bioaccumulation des polluants persistants par les mammifères marins. Bien que le seuil létale des BPC, induisant l'immuno-toxicité et des troubles endocriniens, a été démontré chez le phoque commun (Kannan *et al.* 2000); celui des PBDE n'est pas encore déterminé chez les mammifères marins.

Une fois ingéré, certains xénobiotiques stimulent la synthèse des enzymes impliquées dans les processus de biotransformation : cytochrome P450. La capacité métabolique du CYP varie selon le sexe, l'âge, l'organe, l'espèce et l'historique d'exposition aux POPs (Houde *et al.* 2005). L'induction de la synthèse du CYP1A a été rapportée chez le béluga du Saint-Laurent (Letcher *et al.* 2000). Muir *et al.* (1996a) ont suggéré que les bélugas du Saint-Laurent ont développé une plus grande activité de CYP1A/2B en réponse à une intense exposition aux BPC que les bélugas de l'Arctique qui sont moins contaminés par les BPC.

Plusieurs études ont montré que les PBDE et les BPC constituent des perturbateurs endocriniens, altérant ainsi la synthèse, l'entreposage, la libération, le transport, l'élimination ou la fixation d'hormones spécifiques (Houde *et al.* 2005).

Les PBDE et les BPC interagissent avec l'expression de l'hormone de la thyroïde chez le phoque gris (Hall *et al.* 2003) et le marsouin commun (Das *et al.* 2006). En effet, une forte corrélation a été démontrée entre les concentrations dans le sang des hormones de la thyroïde (T4 et T3) et les concentrations des PBDE dans le pannicule adipeux superficiel des phoques gris durant leur première année de vie (Hall *et al.* 2003). Chez des phoques communs matures, des concentrations élevées en T3 ont été significativement associées à de fortes concentrations de PBDE et de BPC (Hall *et al.* 2007). L'atrophie du thymus et la réduction de la taille de la rate ont été corrélées avec les concentrations des PBDE et des BPC chez des marsouins communs échoués et morts accidentellement dans les filets de pêche (Beineke *et al.* 2005). De plus, la fibrose de la thyroïde a été corrélée avec les concentrations des PBDE et des BPC dans le pannicule adipeux des marsouins communs échoués et pris dans des filets de pêche (Das *et al.* 2006). Ces observations suggèrent des interactions synergiques possibles entre les PBDE et les BPC (Shaw et Kannan, 2009), augmentant ainsi le risque de survie des mammifères marins. Les concentrations en vitamine A (rétinol) dans le sérum ont été négativement corrélées avec les concentrations des BPC dans le sérum des lions de mer habitant les côtes de la Californie (Debiec *et al.* 2005).

L'affaiblissement du système immunitaire augmente la vulnérabilité des individus aux maladies infectieuses opportunistes causées par les bactéries, les virus et les parasites, ce qui causerait la mort de l'animal (Houde *et al.* 2005 ; Kannan *et al.* 2007). Par exemple, les concentrations en BPC ont été significativement plus élevées chez les loutres présentant des maladies infectieuses que les loutres saines (Kannan *et al.* 2007). Des observations similaires ont été rapportées chez le marsouin commun habitant les eaux anglaises où les concentrations en BPC ont été plus élevées chez les marsouins qui ont

succombés à des maladies infectieuses que chez les marsouins qui ont décédé suite à des traumatismes physiques (Jepson *et al.* 1999).

Entre 1983 et 1999, trois principales causes de mortalité ont été démontrées chez le béluga du Saint-Laurent : parasites métazoaires, cancer, et agents infectieux (bactéries, virus et protozoaires) (Martineau *et al.* 2002). Les cas de cancer et des sévères lésions observés chez les bélugas sont très élevés par rapport aux autres cétacés (De Guise *et al.* 1995 ; Martineau *et al.* 2002). Les bélugas s'alimentent en partie d'invertébrés benthiques ce qui leur permet d'ingérer des polluants carcinogènes non persistants (HAP) en plus des polluants persistants (BPC) (Martineau *et al.* 2002).

L'exposition chronique des cétacés et pinnipèdes aux différents POPs est susceptible d'avoir une incidence sur la reproduction et l'accroissement des populations. Une diminution du taux de reproduction a été observée chez des phoques communs se nourrissant de poissons contaminés aux BPC ($25-27\mu\text{g g}^{-1}$) alors que le groupe contrôle a montré un taux de reproduction normal (Rejinders, 1986). Une étude sur des grands dauphins en captivité a montré que les concentrations les plus élevées en BPC chez les femelles sont associées à un taux d'avortement ou de mortalité des nouveau-nés plus élevé que chez les femelles moins contaminées (Reddy *et al.* 2001).

Des concentrations élevées en PBDE et BPC ont été négativement corrélées avec les faibles taux de gestation observés chez le dauphin commun habitant les eaux Atlantique de l'Europe. Cependant, cette corrélation ne constitue pas une cause directe de l'exposition aux POPs puisque l'infertilité, par exemple, pourrait stimuler la bioaccumulation des contaminants (Pierce *et al.* 2008).

Chez le béluga du Saint-Laurent, le faible rétablissement de la population pourrait être provoqué par la présence de nombreux contaminants persistants et cancérigènes dans son alimentation (Martineau *et al.* 1987, 2002 ; Béland *et al.* 1993). L'exposition chronique aux contaminants chimiques a ou a eu un effet au niveau de la dynamique de cette population, soit par la réduction de la production de jeunes et de leur survie ou encore par

une mortalité prématurée chez les adultes (Bergeron et Gagnon, 1999). Des concentrations très élevées en organochlorés ont été quantifiées chez un béluga nouveau-né. Le transfert maternel durant toute la période de lactation pourrait augmenter le risque de survie des nouveau-nés et des jeunes bélugas (Gauthier *et al.* 1998).

Un débat existe sur la relation de cause à effet entre les taux de mortalité, les maladies, l'immunotoxicité, les troubles endocriniens et le taux d'accroissement de la population de béluga de l'ESL. Cependant, plusieurs facteurs biologiques pourraient affecter les concentrations des contaminants et leurs effets tels que le taux d'alimentation, la taille de l'animal (ce qui affecte le taux d'excrétion et de métabolisme), la masse totale du pannicule adipeux, la condition nutritionnelle, les maladies et la durée de la lactation (Hickie *et al.* 1999; Pierce *et al.* 2008). De plus, l'effet combiné de plusieurs contaminants chimiques sur la population sauvage n'est pas encore connu. Les effets observés des POPs et HAP sur plusieurs espèces de mammifères marins suggèrent l'hypothèse d'une possible relation entre la contamination et la dynamique des populations, mais ils ne confirment ni infirment qu'il existe une relation directe entre les deux chez le béluga du Saint-Laurent.

La population du béluga du Saint-Laurent

Le béluga (*Delphinapterus leucas*) appelé autrefois marsouin blanc (Vladykoff, 1944) est un odontocète de taille moyenne, qui fréquente les eaux arctiques et subarctiques du Canada, de l'Alaska, de la Russie, de la Norvège et du Groenland (Rice, 1998; Reeves *et al.* 2002). Au Canada, la population de l'estuaire du Saint-Laurent (ESL) est celle qui se trouve à la limite méridionale de la distribution mondiale de l'espèce (Reeves, 1990; MPO, 2007). Elle est géographiquement et génétiquement isolée des sept autres populations habitant les eaux canadiennes. En été, la population de l'ESL se concentre au confluent de l'estuaire du Saint-Laurent et du fjord du Saguenay (Michaud, 1993). La répartition

hivernale est mal connue mais la population semble fréquenter plus souvent les eaux un peu plus en aval de l'estuaire (Gosselin *et al.* 2001).

Au XIX^{ème} siècle, la population comptait entre 7800 et 10100 individus (MPO, 2007; Measures, 2008). L'espèce a été chassée pour son huile, sa viande et sa peau. Afin de réduire son impact sur les poissons commerciaux, le département de pêcherie du Québec a accordé une prime de 15\$ pour chaque nageoire caudale de béluga rapportée (Bergeron et Gagnon, 1999).

En conséquence de la chasse intensive (d'abord commerciale, ensuite sportive), qui a eu lieu surtout entre 1880 et 1960, la population s'est effondrée à moins de 1000 bélugas (MPO, 2007). En 1979, la population a été officiellement protégée en vertu de la loi canadienne sur les pêches où toute forme de chasse a été interdite (Sergeant et Hoek, 1988; MPO, 2007).

L'isolement de la population de l'ESL des autres populations rend sa situation précaire dans le Saint-Laurent. En 1983, la population du béluga de l'ESL a été désignée en voie de disparition par le Comité sur la Situation des Espèces en Péril au Canada (COSEPAC) et suite à une réévaluation de son statut en mai 2004, la population est maintenant considérée menacée (COSEPAC, 2004; MPO, 2007).

Suite à l'interdiction de la chasse, une augmentation voire même une récupération complète du nombre d'individus était attendue, mais le suivi de l'abondance de la population entre 1988 et 2005 a montré que le nombre d'individus (environ 1000) est demeuré stable (Hammill *et al.* 2007).

Afin d'expliquer l'absence de rétablissement de la population, plusieurs causes potentielles, en plus de la pollution chimique, ont été identifiées incluant la dégradation de l'habitat, la compétition pour la ressource, la collision avec les bateaux, le dérangement, la pollution sonore et la prédation naturelle (Bergeron et Gagnon, 1999; Measures, 2008).

Programme de récupération des carcasses de béluga

Afin de déterminer les causes de mortalité du béluga de l'ESL, un programme de suivi a été mis en place en 1982 (Martineau *et al.* 1987; MPO, 2007; Measures, 2008). Ce programme consiste à récupérer les carcasses des bélugas échoués le long des rives du Saint-Laurent. Ce programme comporte trois volets (MPO, 2007):

- le suivi : permettant de documenter les cas de mortalité
- l'échantillonnage : permet de suivre l'exposition aux contaminants
- les nécropsies : permet de documenter des lésions, des tumeurs et des infections.

L'analyse pathologique et histologique des carcasses a permis d'identifier les principales causes de décès. L'analyse chimique a permis de détecter des concentrations très élevées de polluants organiques persistants (POPs) (Béland *et al.* 1993; Martineau *et al.* 2002; Measures, 2008; Lebeuf, 2009).

Lorsqu'elles sont accessibles et bien préservées, les carcasses sont transportées à la faculté de médecine vétérinaire à Ste-Hyacinthe (QC) où elles subissent un examen post-mortem. Les conditions des carcasses sont codées suivant la classification de Geraci et Lounsbury (2005). Par exemple, le code 1 est attribué à une carcasse très fraîche; en revanche, le code 4 correspond à une carcasse en état de décomposition avancé. Le pannicule adipeux est prélevé et si la condition de la carcasse le permet, le foie, le cerveau, les reins, le lait et le sang sont aussi collectés (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Kiceniuk *et al.* 1997; Gauthier *et al.* 1998; Metcalfe *et al.* 1999; Devigne, 2003; McKinney *et al.* 2006).

Les carcasses qui sont inaccessibles ou jugées en mauvaise condition ne sont pas transportées à Ste-Hyacinthe et dans ce cas, uniquement le pannicule adipeux et les organes jugés en bonne condition sont prélevés. Dans tous les cas, les carcasses sont documentées et les paramètres biologiques tels que le sexe, la longueur totale sont déterminés et

enregistrés. Des dents sont collectées pour la détermination de l'âge (MPO, 2007; Measures, 2008). L'âge est estimé en comptant le nombre de groupes de couches de croissance sur les dents en considérant que le béluga dépose un seul groupe de couches de croissance annuellement (Stewart *et al.* 2006).

La contamination du béluga du Saint-Laurent par les POPs

Habitat du béluga

L'écosystème du Saint-Laurent reçoit des apports importants en eau douce provenant essentiellement du fleuve Saint-Laurent et de la rivière Saguenay (Bergeron et Gagnon, 1999). Le ruissellement en provenance des zones urbaines (notamment la région des Grands Lacs) et agricoles, ainsi que les eaux usées industrielles sont à l'origine de la contamination de l'habitat du béluga de l'ESL. Une grande quantité de HAP a été libérée dans l'atmosphère par les alumineries locales et s'est accumulée dans le bassin du fjord du Saguenay (Marineau *et al.* 2002). Le trafic maritime et les activités portuaires sont aussi parmi les principales sources de contamination (Bergeron et Gagnon, 1999). Les eaux de ballast provenant des navires peuvent contenir des contaminants chimiques et des agents pathogènes ainsi que des espèces exotiques envahissantes (MPO, 2007). De plus, les peintures antisalissures appliquées sur la coque des navires contiennent du tributylétain (TBT), un produit chimique toxique accumulé par le béluga (Bergeron et Gagnon, 1999; Saint-Louis et Pelletier, 2000). La pollution chimique altère non seulement la qualité de l'eau, mais elle aboutit à la contamination de la chaîne trophique incluant les ressources halieutiques faisant partie de l'alimentation du béluga (Bergeron et Gagnon, 1999).

La contamination du béluga du Saint-Laurent

Le béluga accumule les contaminants exclusivement à partir de son alimentation. Selon le modèle établie par Hickie *et al.* (2000), les concentrations des BPC observées chez le béluga de l'ESL entre 1950 et 1995 ont été concordantes lorsque l'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*) constitue 3% du régime alimentaire annuel. Ce même modèle a prédit une diminution accélérée des teneurs de BPC si l'anguille était exclue progressivement de l'alimentation du béluga (Hickie *et al.* 2000).

L'examen des tissus de bélugas récoltés dans le cadre du programme des carcasses a révélé la présence des concentrations très élevées en BPC, DDT, PBDE, HCB, HCH, CHL, HCB, TCPM, TCPMe, Toxaphène et Mirex (Lebeuf, 2009). Les biphényles polychlorés (BPC) et le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) ont été les premiers POPs rapportés chez le béluga (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Lebeuf, 2009). De nombreuses études ont montré que la population du béluga de l'ESL est la plus contaminée par les POPs parmi les autres populations canadiennes de béluga (Muir *et al.* 1990; Metcalfe *et al.* 1999; Devigne, 2003; McKinney *et al.* 2006).

L'exposition chronique des bélugas de l'ESL à une variété de POPs et d'autres composés tels que les HAP pourrait être à l'origine des maladies infectieuses, des cancers et des lésions observés (Sergeant et Hoek, 1988; Martineau *et al.* 1994, 2002; De Guise *et al.* 1995; Measures, 2008). Cependant, le lien causal reste difficile à démontrer entre l'état de santé des bélugas ou la dynamique de leur population et leur exposition aux contaminants (Bergeron et Gagnon, 1999; Hickie *et al.* 2000; Measures, 2008).

Plusieurs facteurs incluant le sexe, l'âge et la période d'exposition des bélugas sont susceptibles d'influencer les concentrations des POPs et leurs évolutions temporelles.

En effet, les femelles adultes sont généralement moins contaminées que les mâles en raison de leur capacité de "s'autoépurer" durant la gestation mais surtout durant toute la période de lactation qui dure en moyenne 18 mois (Hickie *et al.* 2000). La production du

lait nécessite la mobilisation de grandes quantités de lipides à partir du pannicule adipeux et puisque les contaminants lipophiles ont tendance à suivre les lipides, la mobilisation de ces derniers va produire une perte nette de contaminants (Martineau *et al.* 1987; Gauthier *et al.* 1998; Wolkers *et al.* 2006 a, b; Lebeuf *et al.* 2007). Les POPs entrent dans la circulation sanguine de la femelle et vont éventuellement se trouver dans le lait (Wolkers *et al.* 2006b). La lactation est considérée comme la principale voie de transfert de contaminants durant laquelle, le veau consomme du lait riche en lipides (27%) et protéines (10.6%) et ingère des teneurs relativement élevées en contaminants (Hickie *et al.* 1999). Le transfert maternel est si efficace que la femelle élimine environ 53% de sa charge totale en contaminants et le veau en assimile 90% (Hickie *et al.* 2000). Ainsi, le jeune béluga va se trouver avec des teneurs similaires à ceux des adultes mâles (Gauthier *et al.* 1998; McKinney *et al.* 2006) ce qui augmente davantage le risque sur les individus de cette population. Cependant, les congénères les moins substitués tels que ceux appartenant aux groupes homologues tétra- et penta- PBDE et BPC sont les plus faciles à se mobiliser depuis le pannicule adipeux au lait maternel, indiquant ainsi la sélectivité du transfert (Wolkers *et al.* 2006b). Ce patron a été observé chez un béluga nouveau né (Gauthier *et al.* 1998) et des jeunes bélugas (Devigne, 2003; McKinney *et al.* 2006) ainsi que chez le phoque à capuchon (*Cistophora cristata*) habitant le Golfe du Saint-Laurent (Wolkers *et al.* 2006b). Ainsi, les concentrations en POPs chez les femelles seront similaires à ceux chez les mâles pour les groupes plus lourds notamment hexa-, hepta-, nona- et déca- POPs (Gauthier *et al.* 1998; Devigne, 2003, Wolkers *et al.* 2006; Lebeuf *et al.* 2007; Lebeuf, 2009).

La longévité du béluga (en moyenne 45 ans) joue aussi un rôle crucial influençant sa charge en contaminants (Measures, 2008). Selon le modèle de Hickie *et al.* (2000), le béluga accumule les POPs durant toute sa vie via son alimentation et le mâle verrait sa contamination augmenter à partir de la fin sa croissance physique alors que, pour les femelles, le début de la reproduction marque une baisse importante de la contamination en raison du transfert durant la gestation et la lactation. L'activité reproductrice des femelles aboutit à un patron en dents de scie où les concentrations augmentent entre le sevrage d'un veau et la naissance suivante pour diminuer durant la lactation (Hickie *et al.* 2000).

La charge en contaminants augmentent de nouveau à la fin de la vie des femelles, notamment lorsqu'elles ne sont plus reproductives (Hickie *et al.* 2000, Lebeuf, 2009).

La réglementation de plusieurs POPs tels que les BPC dans les années 70 a vraisemblablement aboutit au changement de leurs patrons de distribution dans l'environnement et par conséquent un changement de la contamination des bélugas en terme de tendances temporelles (Lebeuf, 2009). En effet, l'intensité d'exposition des individus aux BPC a changé chez ceux qui ont vécu durant la forte production de ces composés depuis les années 30 jusqu'à leur prohibition. Ainsi, la charge en BPC a diminué chez les bélugas nés après l'arrêt de la production des BPC (Lebeuf, 2009).

La chute drastique de certains stocks de poissons tels que la morue franche (*Gadus morhua*) (Myers *et al.* 1997) et l'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*) (Castonguay *et al.* 1994) pourrait aussi avoir un impact sur l'alimentation du béluga et par conséquent sur sa contamination (Lebeuf, 2009).

Pour des composés émergents tels que les PBDE, les concentrations rapportées chez de jeunes bélugas étaient plus élevées que celles des adultes (McKinney *et al.* 2006). Selon Lebeuf (2009), ceci indique l'augmentation récente de l'exposition de la population de l'ESL à ces composés qui est reflétée principalement par l'importance du transfert maternel actuel vers les jeunes qu'il ne l'a été vers leurs parents. De plus, les concentrations de contaminants doublent en quelques années, par exemple, entre 1988 et 1999 les PBDE ont doublé à tous les 2-3 ans dans le gras du béluga de l'ESL (Lebeuf *et al.* 2004).

Une fois ingérés, les POPs sont acheminés via le sang au foie où certains composés sont métabolisés alors que les plus persistants sont conduits dans les tissus les moins irrigués tels que le pannicule adipeux (Martineau *et al.* 1987) où ils sont retenus durant une certaine période avant d'être libérés dans le sang pour être partiellement excrétés et réabsorbés par le pannicule adipeux (Massé *et al.* 1986; Hickie *et al.* 1999).

La distribution des POPs entre les organes dépend principalement des caractéristiques physico-chimiques des polluants, de la nature et la quantité des lipides dans les tissus

(Hickie *et al.* 1999). En général, la lipophilicité des POPs leur permet de s'entreposer préférentiellement dans le pannicule adipeux du béluga (Lebeuf, 2009).

Problématique

La caractérisation et le suivi des tendances temporelles des différents POPs chez le béluga ont été souvent réalisés en ciblant le pannicule adipeux (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Muir *et al.* 1990, 1996 a et b; Béland *et al.* 1993; Lebeuf *et al.* 2004, 2007; Lebeuf, 2009).

Ce tissu assure principalement la thermorégulation de l'animal et c'est le principal site de stockage des lipides (90-100%) (Martineau *et al.* 1987; Lebeuf *et al.* 2004) qui servent de réserve énergétique (Krahn *et al.* 2004; Strandberg *et al.* 2008). Les polluants lipophiles les plus résistants au métabolisme vont s'accumuler au niveau de ce tissu d'où son utilité dans le suivi de la contamination des mammifères marins. Chez le béluga, le pannicule adipeux peut renfermer jusqu'à 80-90% de la charge totale en POPs (Hickie *et al.* 2000) ce qui en fait un tissu représentatif de l'exposition des bélugas aux polluants et par conséquent, un outil approprié dans le suivi des contaminants chez cette population endémique de l'ESL.

L'analyse rétrospective des carcasses récoltées dans le cadre du programme des carcasses des bélugas échoués a permis d'identifier et de suivre le changement temporel de plusieurs POPs incluant les PBDE et les BPC (Lebeuf, 2009). Ces deux classes de POPs ont été présentes à fortes concentrations dans le pannicule adipeux des bélugas de l'ESL (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Muir *et al.* 1990, 1996 a et b; Béland *et al.* 1993; Lebeuf *et al.* 2004, 2007). Les récentes études sur les tendances temporelles ont montré l'augmentation exponentielle des PBDE dans le pannicule adipeux du béluga dans les années 1980-2000 (Lebeuf *et al.* 2004), tandis que les BPC ont diminué dans le même tissu durant la même période (Lebeuf *et al.* 2007).

Cependant, le pannicule adipeux n'est pas homogène sur toute sa profondeur mais il est composé de couches (ou strates) dont les rôles et la composition biochimique sont différents (Aguilar et Borrell, 1990). Au moins deux couches se distinguent : la couche externe et la couche interne. La présence d'une couche intermédiaire dépend des espèces de mammifères marins (Strandberg *et al.* 2008). La couche interne est surtout consacrée au stockage des lipides et son contenu lipidique fluctue énormément avec le cycle de reproduction et de migration de l'individu (Aguilar et Borrell, 1991, Strandberg *et al.* 2008). La couche externe, par contre, assure la thermorégulation et est peu affectée par les changements de la condition nutritive (Aguilar et Borrell, 1991; Krahn *et al.* 2004; Samuel et Worthy, 2004; Strandberg *et al.* 2008). En raison des différences de rôles des couches du pannicule adipeux, une stratification de la composition en acides gras a été observée chez plusieurs espèces de cétacés incluant le rorqual commun (*Balaenoptera physalus*) (Aguilar et Borrell, 1990, 1991), le grand dauphin (*Tursiops truncatus*) (Samuel et Worthy, 2004), l'épaulard (*Orcinus orca*) et le béluga (*Delphinapterus leucas*) (Krahn *et al.* 2004) et les pinnipèdes incluant le phoque annelé (*Pusa hispida*) (Strandberg *et al.* 2008). La couche interne, qui est métaboliquement active, est fortement affectée par une mobilisation ou un apport récent ou en cours des lipides (Strandberg *et al.* 2008) d'où son utilité dans la détermination de l'alimentation (Merete Dahl *et al.* 2000; Krahn *et al.* 2004; Strandberg *et al.* 2008). Étant donné que la distribution, le métabolisme et la mobilisation des POPs sont étroitement liés avec ceux des lipides, les concentrations pourraient ne pas être uniformes dans toutes les strates et les endroits du pannicule adipeux chez un animal donné même si les concentrations sont exprimées sur la base lipidique du tissu (Aguilar et Borrell, 1991; Samuel et Worthy, 2004). Une distribution hétérogène des POPs le long de la colonne du pannicule adipeux aurait de fortes implications quant à la méthodologie d'échantillonnage. Considérant la grande épaisseur que ce tissu pourrait atteindre chez certaines espèces, toutes les couches du pannicule adipeux ne sont pas d'habitude prélevées surtout lors des biopsies où uniquement la couche superficielle est échantillonnée (Aguilar et Borrell, 1991; Krahn *et al.* 2004; Lebeuf, 2009).

De plus, l'affinité de certains POPs vis-à-vis des acides gras peut différer le long de la colonne du pannicule adipeux (Lebeuf, 2009). Par conséquent, les concentrations déterminées des POPs chez les bélugas biopsiés pourraient être sous-estimées et ne seraient pas représentatives de l'accumulation depuis l'exposition. Certains polluants tels que les composés fluorés et certains métaux lourds tels que le mercure ne prédominent pas dans le pannicule adipeux mais sont surtout entreposés au niveau du foie (Houde *et al.* 2005; Lebeuf, 2009). Cet organe est possiblement représentatif des organes internes.

En effet, les POPs s'accumulent également dans des organes, tissus et sécrétions autres que le pannicule adipeux chez le béluga tels que le foie, le cerveau, les reins, le muscle, le sang et le lait (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Muir *et al.* 1990; Kiceniuk *et al.* 1997; Gauthier *et al.* 1998; Metcalfe *et al.* 1999; Devigne, 2003; McKinney *et al.* 2006).

Le foie présente le plus grand et le plus important organe viscéral dans le corps. Il joue un rôle prépondérant dans le métabolisme des lipides et des protéines et assure le stockage du glycogène et des vitamines, l'approvisionnement et la décomposition des globules rouges, la synthèse des protéines de plasma, la dégradation d'insuline et d'autres hormones, l'homéostasie, l'élimination des drogues et des xénobiotiques (la désintoxication) (Andrews, 1979). La désintoxication se produit principalement par oxydation et réduction. L'oxydation se fait particulièrement par le système de mono-oxygénase de Cytochrome P450, alors que la réduction a lieu avec de la réductase du NADPH-cytochrome P450 (Andrews, 1979; Houde *et al.* 2005).

Bien que certains travaux aient également rapporté des concentrations de BPC dans le foie du béluga de l'ESL (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Muir *et al.* 1990; Metcalfe *et al.* 1999; Devigne, 2003; McKinney *et al.* 2006), une seule étude a rapporté les concentrations de PBDE dans ce même organe (McKinney *et al.* 2006). Mais aucune de ces études n'a rapporté les tendances temporelles des PBDE et des BPC dans le foie.

Sur une base lipidique, les concentrations de certains POPs tels que les BPC ont été souvent similaires entre les différents tissus étudiés du béluga (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Gauthier *et al.* 1998; Metcalfe *et al.* 1999) suggérant que leur distribution dépend largement de la teneur et la composition lipidiques des différents tissus.

Cependant, une variabilité interindividuelle considérable dans les concentrations des BPC entre le foie et le pannicule adipeux des bélugas de l'ESL a été démontrée par Martineau *et al.* (1987) ce qui suggère que la distribution des POPs pourrait dépendre de plusieurs facteurs outre le contenu et la composition des lipides dans un tissu donné. La période d'exposition des individus peut aussi jouer un rôle dans la distribution des POPs considérant que l'équilibre de répartition entre les tissus n'est pas nécessairement instantané. L'état de reproduction des femelles pourrait aussi expliquer la variabilité interindividuelle. En effet, la composition en acides gras peut différer entre les femelles lactantes et non-lactantes (Kawai *et al.* 1988; Samuel et Worthy, 2004).

Le foie et le pannicule adipeux sont différents dans leurs structures, compositions biochimiques et fonctions. Le foie est un organe très dynamique et très irrigué facilitant les échanges avec le sang et les autres organes du corps. Le sang riche en nutriments provenant des intestins entre dans le foie et ce dernier assure le métabolisme de ces nutriments (Andrews, 1979). La composition biochimique du foie des mammifères marins est mal connue, toutefois, une étude sur la composition en lipides des différents organes du dauphin bleu et blanc (*Stenella coeruleoalba*) a montré que le foie contient aussi bien des acides gras neutres tels que les triglycérides et certains acides gras non-estérifiés et des acides gras plus polaires tels que les phospholipides et le cholestérol. De plus, la teneur de ces constituants varie selon l'état de reproduction (Kawai *et al.* 1988).

Contrairement au foie, le pannicule adipeux est un tissu qui assure principalement l'isolation thermique et le stockage d'énergie, il contribue aussi à la flottabilité de l'animal (Samuel et Worthy, 2004; Stranberg *et al.* 2008). Les études sur la composition en acides gras de ce tissu chez les mammifères marins incluant le béluga ont montré que le pannicule adipeux est constitué presque exclusivement de triglycérides et une petite proportion

d'acides gras libres non-estérifiés (Kawai *et al.* 1988; Gauthier *et al.* 1998; Merete Dahl *et al.* 2000; Krahn *et al.* 2004).

En raison de leurs caractères distincts, le foie et le pannicule adipeux réagissent probablement dans des délais différents aux changements de l'exposition aux POPs.

Est-ce que le foie ou le pannicule adipeux peuvent être utilisé alternativement pour évaluer la contamination? Est-ce que le foie et le pannicule adipeux présentent la même répartition et les mêmes tendances au cours du temps?

Objectifs

Le suivi de la contamination de la population du béluga du Saint-Laurent par les PBDE et les BPC montre que les concentrations de ces deux classes de POPs sont très élevées. Ces deux composés sont similaires de point de vue structure mais opposés de point de vue réglementation et tendances temporelles expliquant ainsi le choix de ces polluants parmi les POPs auxquels la population du béluga est exposée.

Le pannicule adipeux, en raison de sa richesse en lipides, est le plus souvent utilisé dans le suivi de la contamination des bélugas de l'ESL. Cependant, ce tissu pourrait ne pas être représentatif de la contamination récente du béluga puisque la couche externe est considérée peu active.

Par contre, le foie, qui est un organe très dynamique, est possiblement représentatif de la contamination des organes internes du béluga de l'ESL. Il pourrait être utilisé comme outil de suivi de l'exposition des bélugas aux polluants chimiques, cependant aucune étude n'a rapporté l'évolution temporelle des POPs dans cet organe chez le béluga.

La présente étude vise à :

- (i) Déterminer les concentrations des PBDE et des BPC dans le foie de béluga de l'ESL.
- (ii) Suivre les tendances temporelles de ces deux POPs dans le foie sur une période de 15 ans (1993-2007).
- (iii) Comparer la distribution et les tendances temporelles des PBDE et BPC entre le foie et le pannicule adipeux (données déjà disponibles sauf pour l'année 2007) chez les mêmes animaux.
- (iv) Proposer un modèle qui explique la répartition et les tendances temporelles des contaminants dans le foie et le pannicule adipeux.

CHAPITRE 2:

PBDE ET BPC DANS LE FOIE DU BÉLUGA DU SAINT-LAURENT (*DELPHINAPTERUS LEUCAS*): COMPARAISON DES CONCENTRATIONS ET DES TENDANCES TEMPORELLES AVEC LE PANNICULE ADIPEUX

Meriem Raach^{1,2}, Michel Lebeuf², Émilien Pelletier¹

Manuscrit soumis pour publication sous le titre de:

«PBDEs and PCBs in the liver of the St. Lawrence Estuary beluga (*Delphinapterus leucas*):
A comparison of levels and temporal trends with the blubber»

1) *Institut des Sciences de la Mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, 310 allée des Ursulines, C.P. 3300, Rimouski (Québec), Canada G5L 3A1*

2) *Ministère des Pêches et des Océans, Institut Maurice-Lamontagne, 850 route de la mer C.P.1000, Mont-Joli, Québec, Canada G5H 3Z4*

J'ai rédigé l'article, intitulé «PBDEs and PCBs in the liver of the St. Lawrence Estuary beluga (*Delphinapterus leucas*): A comparison of levels and temporal trends with the blubber», en collaboration avec le Dr. Michel Lebeuf et le Dr. Émilien Pelletier.

En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail a consisté à faire le traitement des échantillons suivant le protocole élaboré par le Ministère des Pêche et des océans, la quantification des contaminants, le traitement des données et les analyses statistiques et la rédaction de l'article. Dr. Michel Lebeuf, second auteur, est à l'origine de l'idée du projet de recherche. Il a fourni les échantillons de foie et certaines données brutes archivées depuis 1993. Il a contribué à la correction et la révision de l'article. Dr. Émilien Pelletier, en tant que troisième auteur, a contribué à la correction et la révision de l'article.

2.1. RÉSUMÉ

En raison de leurs propriétés lipophiles, les polluants organiques persistants (POPs) sont communément évalués en ciblant le pannicule adipeux chez les mammifères marins. Cependant, ces composés s'accumulent également dans des organes tels que le foie. Certains polluants, notamment les acides perfluorés sont prédominants dans le foie et sont donc suivis dans cet organe. Ceci soulève la question à savoir si les deux tissus présentent les mêmes tendances de POPs chez le béluga du Saint Laurent. La présente étude rapporte les premiers résultats sur les tendances temporelles de la contamination hépatique du béluga de l'estuaire du St-Laurent (ESL) par deux classes de POPs: les PBDE et les BPC. Ni la \sum_7 PBDE, ni les groupes homologues des PBDE ont montré une tendance temporelle entre 1993 et 2007. Similairement, la \sum_{32} BPC n'a pas changé au cours des années. Par contre, les tétra, penta et hepta-BPC ont diminué annuellement de 7, 6.8 et 8.5%, respectivement chez les mâles. Chez les femelles, les tétra, penta et octa-BPC ont diminué respectivement de 11, 12 et 12.9% annuellement. Afin de comparer la distribution des POPs entre le foie et le pannicule adipeux, les ratios des concentrations des PBDE et BPC (rapportées sur base lipidique) ont été calculés pour chaque béluga. Pour tous les PBDE et la majorité des BPC, R n'était pas différent d'une unité suggérant que la répartition de ces composés est influencée par le contenu lipidique des tissus. Les tendances temporelles des ratios des PBDE et des BPC ont été également examinées. Généralement, les ratios n'ont pas changé au cours des années à l'exception des PBDE chez les mâles où R augmente annuellement en moyenne $12.7 \pm 2.9\%$. La stratification du pannicule adipeux en couche métaboliquement active (interne) et une couche moins active (externe) pourrait engendrer une réponse plus lente du pannicule adipeux (entier) que le foie aux récents changements de la contamination dans l'environnement et expliquer les différences dans les tendances temporelles observées entre les sexes et les tissus. La présente étude suggère que le foie est plus représentatif de l'exposition récente aux contaminants lipophiliques.

Mots clés : Béluga, POP, PBDE, BPC, foie, gras hypodermique, tendance temporelle, ratio (gras/foie).

2.2. PBDES AND PCBs IN THE LIVER OF THE ST. LAWRENCE ESTUARY BELUGA WHALE (*DELPHINAPTERUS LEUCAS*): A COMPARISON OF LEVELS AND TEMPORAL TRENDS WITH THE BLUBBER

Introduction

The population of beluga whale (*Delphinapterus leucas*) inhabiting the St. Lawrence Estuary (SLE) is currently listed as threatened by the Committee on the Status of Endangered Wildlife in Canada (COSEWIC, 2004). The size of this population went from 7800-10100 individuals about a century ago to no more than 1100 belugas (Hammill *et al.* 2007). The severe depletion was mainly caused by the intensive commercial hunting which occurred especially between 1880 and 1960 (Sergeant and Hoek, 1988). Protected since 1979, the population was expected to increase but no sign of recovery was observed (Hammill *et al.* 2007). One of the possible causes of the lack of recovery has been attributed to the effects of high body burden of several persistent and bioaccumulative organic pollutants (POPs) found in beluga tissues especially in fatty ones like the blubber (Lebeuf, 2009). The blubber is made of connective tissue and mainly of fat (>90%) (Martineau *et al.* 1987; Lebeuf *et al.* 2004, 2007) located between the skin and the muscle of marine mammals (Aguilar and Borell, 1991). The blubber comprises at least two chemically distinct layers. The outer one ensures primarily the body insulation, while, the inner layer is subjected to active lipid metabolism (Aguilar and Borell, 1991; Krahn *et al.* 2004; Strandberg *et al.* 2008). Because of their lipophilic properties, POPs are accumulated preferentially in the blubber, the common targeted tissue to assess marine mammal contamination.

High body burden of both polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) have been reported in the SLE beluga blubber (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Muir *et al.* 1990, 1996 a and b; Lebeuf *et al.* 2004, 2007). PBDEs were increasingly produced and used as flame retardants in the 1980-1990s in North America (Hites, 2006). The productions of penta-BDE and octa-BDE mixtures were

voluntarily phased out in 2004, but the deca-BDE is still produced (Lebeuf, 2009; Shaw and Kannan, 2009). PBDEs have never been manufactured in Canada, but were imported for use. The regulations adopted in July 2008 prohibit the manufacture, use, sale, offer for sale and import of penta- and octa-BDE mixtures including polymers and resins containing these substances. An extension of the prohibition was proposed in 2009 for deca-BDE mixtures in electronics and electrical equipment (Canada gazette, 2008).

PCB production was initiated in the 1920s and steadily increased until their prohibition in the 1970s in North America. PCBs are still detected in the aquatic environment and biota (Lebeuf and Nunes, 2005; Hornbuckle *et al.* 2006; Lebeuf, 2009). Previous temporal trend studies showed that PBDEs have increased exponentially in beluga blubber in the 1980-2000s (Lebeuf *et al.* 2004), while PCBs decreased in the same tissue in the same period (Lebeuf *et al.* 2007).

POPs are also accumulating in various organs, tissues or secretions including the liver, brain, kidney, blood and milk (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Muir *et al.* 1990; Gauthier *et al.* 1998; Metcalfe *et al.* 1999; Devigne, 2003; McKinney *et al.* 2006). The liver presents the largest and the most important visceral organ in the body. It plays a major role in lipid and protein metabolism and ensures many functions including the breakdown of diverse classes of contaminants which occurred by producing a specific proteins like CYP450 family (Andrews, 1979). In order to facilitate their excretion from the body, xenobiotics are biotransformed principally in the liver into metabolites (e.g. OH-PCBs) (Letcher *et al.* 2000; Houde *et al.* 2005).

The liver is commonly used in assessing and monitoring some pollutants, particularly perfluorinated acids including perfluorooctane sulfonates (PFOS) (Houde *et al.* 2005). PCB levels in the SLE beluga liver have been reported in a few studies (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Muir *et al.* 1990; Gauthier *et al.* 1998; Metcalfe *et al.* 1999; Devigne, 2003; McKinney *et al.* 2006), whereas only one study reported PBDE levels (McKinney *et al.* 2006). None of these studies have examined temporal trends of PBDEs or PCBs in liver.

When normalized on a lipid basis, concentrations of POPs such as PCBs were often similar between body tissues (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Gauthier *et al.* 1998; Metcalfe *et al.* 1999), suggesting that their distribution is governed by the tissue-lipid content. However, a considerable variability in normalized POP concentrations between blubber and liver among beluga individuals was shown by Martineau *et al.* (1987). These observations suggest that POP distribution among tissues could depend on several factors including the content and composition of lipids in tissues. Additionally, the exposure period may also play a role in the POP distribution since the equilibrium-partitioning is likely not instantaneous among all tissues. Thus, it raises the question whether any tissue of beluga would provide the same trends of POP contamination.

The aim of this study was to report levels and temporal trends of PBDEs and PCBs over a fifteen years time period (1993-2007) in the liver of the SLE beluga. Then, levels and temporal trends in the liver were compared to those in the blubber in order to evaluate if both tissues provide the same distribution and trends.

Experimental Section

1. Samples

Since 1982, a carcass monitoring program has been carried out in order to assess causes of mortality of the beluga whale from the SLE (DFO, 2007; Measures, 2008). Beached carcasses were examined and, if in a reasonably good state of preservation, were transported to the faculty of veterinary medicine at Ste-Hyacinthe (QC), where a complete necropsy was performed. Carcasses that were not transported were documented, biological parameters were determined and teeth were removed for age determination. Blubber was sampled and whenever possible, liver, brain, muscle, kidney, blood and other tissues were

sampled in order to evaluate and assess trends and dynamic of POPs (Martineau *et al.* 1987; Béland *et al.* 1993; Muir *et al.* 1996 b; Gauthier *et al.* 1998; DFO, 2007)

Carcass state was coded according to Geraci and Lounsbury classification (2005). For example, code of 1 refers to a good carcass condition while code of 4 means that the carcass is in fair condition. In such a case, a necropsy is not required, and only the blubber and a few teeth are removed for age determination. Biological parameters including total length and sex were recorded for each whale. Total length was measured from the rostrum to the notch of tail fluke. The age estimation is based on counting the number of growth layer groups (GLGs) on longitudinal sectioned teeth and considering the deposition of one GLG yearly (Stewart *et al.* 2006).

In this study, 65 livers were obtained from 32 female and 33 male stranded beluga whales along the SLE shores between 1993 and 2007. Stranded whales were found between March and December when shores are accessible to observers. Stranding location and date of examined belugas are reported in Figure 1 and Table 1. Liver samples were immediately wrapped in solvent-rinsed foil and placed in a sealed plastic bag and then stored at -20°C. In order to minimise possible contamination due to handling and storage, the outer exposed tissue layer was cut away. The subsample representative of the whole liver was then homogenised and used for chemical analysis.

2. Liver characterization

Water, lipid and protein contents were determined in beluga liver.

Water content

1.25g of liver wet weight was dried at 70°C over night. Water percentage was calculated using the following formula:

$$\% \text{ water} = [1 - (\text{dried weight sample} / \text{wet weight sample}) * 100].$$

Lipid content

This parameter was determined gravimetrically by measuring the total non volatile solvent (Dichloromethane/Hexanes 50/50 v/v) extractable material on subsamples taken from the original extracts.

$$\% \text{ lipid} = [(\text{lipid extract weight} * 100) / \text{liver wet weight}]$$

Protein content

The total protein was determined following the Kjeldahl method (Bradstreet, 1965). Briefly, proteinic nitrogen is converted into ammonia (NH₃) at the time of hot digestion with sulphuric acid concentrate, peroxide and a K/Cu/Ti catalyst.

Ammonia is fixed by acid excess in the form of sulphate ammonium. In alkaline solution, this salt releases ammonia, which is collected by drive with the vapour in some boric acid. The nitrogen concentration is determined by titrating with hydrochloric acid.

The percentage of proteins is obtained by multiplying by a factor predetermined according to the nature of the product to analyze. In fish, this factor is 6.25 (the Quebec Department of Agriculture, Fisheries and Food, MAPAQ). This value was used for the liver.

3. Chemicals

All chromatography grade solvents used for chemical analyses were provided by EM Science (Gibbstown, NJ, USA). Anhydrous sodium sulphate (BDH, Toronto, ON, Canada), alumina oxide (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA), silica gel (EM Science) were extracted three times with dichloromethane (DCM) followed by n-hexane prior to their use.

Bio-Beads SX-3 for the gel permeation chromatography (GPC) was obtained from Bio-Rad laboratories. Standard solutions were supplied by AccuStandards Inc. (New

Haven, CT, USA) or Wellington Laboratories (Guelph, ON, Canada) while ^{13}C labelled compounds were obtained from Cambridge Isotope Laboratories (Andover, MA, USA) or Wellington Laboratories.

4. Organohalogen residue analyses

PBDEs and PCBs were determined in liver samples according to analytical methods described previously for marine mammal blubber with slight modifications (Lebeuf *et al.* 2004, 2007).

Briefly, homogenized liver (12g ww) were chemically dried with anhydrous sodium sulphate before being transferred to a glass column. Lipids and lipophilic compounds were extracted from the sample and 40% was used for chemical analysis. Labelled surrogates of five PBDEs and eight PCBs were added in all extracts. Lipids were removed from the extract by Gel Permeation Chromatography (GPC). The cleaning-up of each extract was performed by elution through a two-layer column packed with silica, hydrated alumina and anhydrous sodium sulphate. Extracts were reduced in volume and spiked with an instrument performance solution containing two additional labelled $^{13}\text{C}_{12}$ PCBs for a final volume of 100 μL . Each extract was injected in gas chromatography coupled to an ion trap mass detector operated in MS-MS mode (GC/MS/MS). The injection of each sample was performed in a separate run for PBDEs and PCBs. The quantification was then achieved by comparing retention times and integrated area in the sample chromatogram to chromatograms of standard PBDEs and PCBs solutions analysed on the GC/MS/MS. Concentrations were calculated using relative response factor (RRF). The final concentration of the extracted compounds was corrected for the recovery of the labelled surrogates added during analysis, which characterize the losses of the target compounds during the extraction and purification process.

Forty individual PBDEs and 45 individual PCBs for which authentic standards were available were measured in all liver samples. The following PBDE congeners were analyzed: mono (-1, -2, -3), di-tri (-7, -8, -10, -11, -12, -13, -15, -17, -25, -28, -30, -32, -33, -35, -37), tetra (-47, -49, -66, -71, -75, -77), penta (-85, -99, -100, -116, -118, -119, -126), hexa (-138, -140, -153, -154, -155, -166) and hepta (-181, -183, -190) bromo-substituted PBDE congeners. Only seven PBDE congeners were systematically detected in all samples. PBDE levels were reported as \sum_7 PBDEs and as tetra (-47, -49), penta (-99, -100) and hexa (-153, -154 and -155) PBDE homolog groups.

Analysed PCB congeners were di-tri (-8, -15, -18, -28, -31, -33, -37), tetra (-40, -44, -49, -52, -66+70, -74, -77), penta (-87, -95, -99, -101, -105, -110, -118, -123, -126), hexa (-128, -138, -149, -151, -153, -156,-169), hepta (-170, -171, -177, -180, -183, -187, -191), octa (-194, -195, -199, -205), nona (-206, -208) and deca (-209) chloro-substituted PCB congeners. In all samples, 32 PCB congeners were systematically detected. PCBs results were also reported as \sum_{32} PCBs and as homolog groups which combine the following congeners for tetra (-44, -49, -52, -66+70 and -74), penta (-87, -95, -99, -101, -105, -110 and -118), hexa (-128, -138, -149, -151, -153 and -156), hepta (-170, -171, -177, -180, -183, -187 and -191) and octa-deca (-194, -195, -199, -205, -206, -208 and -209).

5. Quality assurance and quality control program (QA/QC)

For each batch of 10 samples, one procedural blank and one Standard Reference Material (SRM, a liver-cod oil sample) followed all analytical steps described previously to check for contamination gain or lost. The precision of PBDEs and PCBs analytical method was assessed by calculating the coefficient of variance (CV) for each chemical measured in repeated analysis (n=7) of the SRM 1588. CV ranged from 1 to 20% and from 6 to 36% of average values for PBDEs and PCBs, respectively. The accuracy of analyses was within 30% of expected values. No systematic and/or significant contamination was detected in the procedural blanks.

6. Statistics

Statistical analyses were conducted using SYSTAT12 software. In all tests, statistical significance was set at $\alpha = 0.05$. The normality of each variable with or without logarithmic transformation was confirmed with the Shapiro-Wilk test. Differences in biological parameters, liver characteristics and stranded carcasses between genders were examined by a single-factor analysis of variance (ANOVA) without logarithmic transformation. Temporal trends of these parameters were assessed by linear regression followed by ANOVA to confirm the significance of the slope (Zar, 2010).

PBDE and PCB concentrations were lipid-normalised and ln-transformed. Differences in POP concentrations between genders were examined by a single-factor analysis of variance (ANOVA). Temporal trends of hepatic contaminant concentrations for males and females were performed by simple least-squared regression using ln-linear model followed by ANOVA.

Blubber/liver ratio of lipid-normalised PBDE and PCB concentrations were determined for each congener detected in both tissues. A mean R ratio close to unity is expected for each contaminant since the POP distribution is driven by lipids. However, to fulfil the normality condition, ratio values needed to be ln-transformed. A Two-tailed *t* test was used to determine if ln-mean ratios (blubber/liver) were different from zero. A simple least-squared regression using ln-linear model followed by ANOVA was used to assess temporal trends of ratios for males and females. When significant, the estimated slope (*b*) of the ln-linear regression was used to calculate the yearly percentage change of contaminant concentrations using the expression $[(1 - e^{-b}) * 100]$.

Results and discussion

1. Stranded carcasses

Stranded belugas were found at more than 30 locations on the SLE shores (Fig.1, Table1). The mean month of stranding was 7.0 (July) for females and 7.5 (July- August) for males which was not different ($p= 0.392$) between genders (Table 2). The mean carcass code was 3.00 and 3.23 for females and males, respectively. These results show that examined carcasses were in fair condition. No difference was detected in mean carcass code between sexes ($p= 0.210$). Month of stranding (females, $p= 0.457$; males, $p= 0.452$) and carcass code (females, $p= 0.168$) did not significantly change during the sampling period except for males where the carcass code increase as a function of sampling years (Table 2). However, it is not clear what impact, if any, would result of such a change in time.

2. Biological parameters and liver characteristics

The mean age of examined belugas was 38.0 ± 12.1 and 37.5 ± 9.6 years for females and males, respectively. The mean GLG was not different between sexes ($p= 0.847$). The mean length was 4.15 ± 0.20 m and 3.64 ± 0.17 m for males and females, respectively. As expected, males were longer than females ($p < 0.001$). Neither the age nor total length changed over the sampling period (1993-2007) (Table 2). No difference was found between males and females for lipid, water and protein contents (Table 2). Liver lipid contents were within the range of those reported previously for SLE beluga (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Muir *et al.* 1990; Gauthier *et al.* 1998; Metcalfe *et al.* 1999; Devigne, 2003), except for four individuals (Table 1). These outliers were removed from statistical analyses for this parameter. No linear relationships were found between lipid, water or protein contents and the year of stranding for both males and females (Table 2).

Table 1 Data of individual belugas stranded between 1993 and 2007 on the SLE shores

Sample ID	Stranding date	Stranding location	Gender	Length (m)	Age (GLG)	Carcass Code	Lipid (%)	Water (%)	Total protein (%)
DL-02-93	May-93	Ruisseau castor	M	3.97	50	3.0	3.3	74.8	17.6
DL-01-94	May-94	Tadoussac	M	4.56	55	2.5	1.4	73.7	23.2
DL-11-95	October-95	Les Escoumins	M	4.19	52	2.5	3.4	67.7	24.1
DL-12-95	October-95	Grandes-Bergeronnes	M	4.00	22	3.5	1.7	n.d ^a	n.d
DL-01-96	May-96	Les Escoumins	M	4.27	42	2.5	1.3	n.d	n.d
DL-02-98	May-98	Ste-Flavie	M	4.01	24	3.0	1.1	74.4	22.7
DL-07-98	August-98	Petit Matane	M	4.06	35	2.0	3.2	71.5	22.4
DL-08-98	September-98	Port Cartier	M	3.96	44	3.5	3.9	73.3	20.7
DL-09-98	December-98	Ste-Flavie	M	4.06	36	3.0	1.9	75.3	22.9
DL-01-99	April-99	Ste-Flavie	M	4.02	31	3.0	2.9	67.0	21.3
DL-02-99	April-99	Métis-sur-Mer	M	4.16	35	3.5	2.4	74.6	20.3
DL-04-99	June-99	Trois Pistoles	M	3.98	34	2.5	2.9	72.0	21.4
DL-03-00	July-00	Les Escoumins	M	4.11	35	3.5	3.1	69.0	29
DL-01-01	April-01	Pointe-au-père	M	4.40	48	3.0	2.0	71.0	26.1
DL-04-01	July-01	Ile-au-Caribou	M	4.10	54	3.5	3.7	72.6	25.8
DL-07-01	November-01	Baie des Ha! Ha!	M	3.85	55	3.5	2.5	74.9	24.9
DL-03-02	June-02	Matane	M	4.33	30	3.0	2.5	72.0	29.0
DL-08-02	November-02	Matane	M	4.25	24	3.0	2.9	76.9	19.9
DL-09-02	November-02	Baie-des-sables	M	4.20	40	3.0	1.5	71.0	27.5
DL-102-02	May-02	Rivière Ouelle	M	4.20	74	4.0	5.6	66.1	28.4
DL-01-2003	May-03	Ste-Flavie	M	4.13	33	4.0	3.2	76.0	19.8
DL-08-2003	November-03	Tadoussac	M	3.74	33	3.0	2.7	69.5	29.9
DL-10-2004	December-04	Rivière-à-Claude	M	4.23	29	3.5	2.1	71.0	28.5
DL-101-2004	April-04	Île-Verte	M	3.90	44	4.0	1.2	74.9	24.1

Sample ID	Stranding date	Stranding location	Gender	Length (m)	Age (GLG)	Carcass Code	Lipid (%)	Water (%)	Total protein (%)
DL-105-2004	July-04	Ste-Anne-des-Monts	M	4.18	39	4.0	10.7	72.0	18.8
DL-108-2004	September-04	Baie-des-mille-vaches	M	4.51	30	4.0	1.6	76.8	20.1
DL-01-2005	May-05	St-Ulric	M	4.20	39	3.0	3.5	70.0	24.5
DL-05-2005	September-05	Les Escoumins	M	4.37	28	3.5	3.2	71.0	25.7
DL-01-2006	July-06	Pointe-au-père	M	4.36	47	3.0	2.9	72.6	22.8
DL-101-2006	March-06	Cloridorme	M	4.57	43	4.0	14.9	59.9	21.0
DL-09-2007	September-07	Forestville	M	4.05	33	2.5	2.5	70.3	25.8
DL-10-2007	November-07	Baie-des-Sables	M	3.92	21	2.0	1.9	74.4	21.5
DL-107-2007	October-07	Les Méchins	M	4.17	37	4.0	2.2	69.7	26.3
DL-08-1993	October-93	Les Méchins	F	3.55	25	2.5	0.9	71.0	26.2
DL-04-1994	September-94	St-Joachim Tourelles	F	3.39	20	3.0	2.0	72.6	18.4
DL-05-1995	June-95	St-Ulric	F	3.70	52	3.0	1.3	70.7	26.6
DL-02-1997	May-97	Iles-aux-lièvres	F	3.38	57	2.0	2.7	71.7	22.4
DL-03-1997	June-97	Rivière Ouelle	F	3.63	42	2.0	1.0	70.4	22.4
DL-105-1997	September-97	Bic	F	3.91	60	4.0	2.4	71.9	27.7
DL-03-1998	May-98	Anse-au-persil	F	3.77	53	2.5	1.6	71.0	24.4
DL-04-1998	May-98	Ste-Flavie	F	3.56	41	2.5	3.1	71.9	22.8
DL-06-1998	July-98	Bic	F	3.88	22	3.5	4.5	72.6	22.5
DL-03-1999	May-99	Iles-aux-lièvres	F	3.66	54	4.0	2.8	71.5	n.d
DL-05-1999	July-99	St-Ulric	F	3.57	22	2.5	3.1	72.0	21
DL-07-1999	August-99	Trois Pistoles	F	3.38	20	3.0	2.2	70.0	24.5
DL-107-1999	November-99	Baie-des-Rochers	F	3.64	30	4.0	0.7	78.0	17.6
DL-05-2000	October-00	Bic	F	4.01	34	3.0	6.2	67.0	22.6
DL-02-2001	May-01	Ste-Thérèse-de-cap-Colombier	F	3.75	40	3.0	4.5	68.0	31.2
DL-01-2002	April-02	St-Irénée	F	3.76	28	2.0	3.5	72.0	22
DL-05-2002	July-02	Île-Verte	F	3.71	40	2.0	1.7	73.0	24.4
DL-02-2003	June-03	St-Ulric	F	3.56	46	2.0	6.9	69.4	20.7

Sample ID	Stranding date	Stranding location	Gender	Length (m)	Age (GLG)	Carcass Code	Lipid (%)	Water (%)	Total protein (%)
DL-06-2003	October-03	Longue-Rive	F	3.83	45	2.5	26.0	55.0	16
DL-07-2003	October-03	Rimouski	F	3.10	33	2.5	2.1	73.0	23.4
DL-101-2003	May-03	Baie-des-Rochers	F	3.46	50	4.0	1.8	72.0	23
DL-102-2003	May-03	New Richmond	F	3.54	28	4.0	0.8	81.0	17
DL-02-2004	June-04	Port-au-Persil	F	3.47	45	2.5	3.2	73.0	22.3
DL-03-2004	June-04	Rimouski	F	3.30	61	2.5	1.5	72.4	23
DL-107-2004	August-04	Grosse roche	F	3.88	39	4.0	19.2	65.3	n.d
DL-02-2005	May-05	Ste-Luce	F	3.77	33	3.5	3.9	69.0	24.8
DL-03-2005	August-05	Pointe-au-père	F	3.62	32	3.0	7.0	70.6	n.d
DL-06-2005	September-05	Baie des Ha! Ha! Saguenay	F	3.73	37	3.5	3.3	69.0	28.4
DL-102-2006	May-06	Notre-Dame-du-Portage	F	3.45	21	4.0	1.6	79.4	17.5
DL-103-2006	July-06	Rivière-à-Claude	F	3.69	44	4.0	3.2	80.5	15
DL-03-2007	July-07	Île-Verte	F	3.74	40	3.0	1.2	72.7	24.4
DL-04-2007	July-07	Anse Pleureuse	F	3.80	25	3.5	6.1	73.2	22.7

^a: not determined

Table 2 Data on biological parameters, liver characteristics and results of linear regression analyses between each parameter and the year of stranding

Biological parameter	Males				Females			
	Mean	Min-Max	p^a (n)	r^2	Mean	Min-Max	p^a (n)	r^2
Growth Layer Group (GLGs)	37.5	21-55	0.132 (32)	0.07	38	20-60	0.868 (32)	0.01
Length(m)*	4.15	3.7-4.6	0.462 (33)	0.02	3.65	3.3-4.0	0.792 (32)	0.02
Carcass code	3.2	2.0-4.0	0.007 (32)	0.21	3	2.0-4.0	0.168 (32)	0.06
Month of stranding ^b	7.5	3.0-12.0	0.452 (33)	0.01	7	4.0-11.0	0.457 (32)	0.01
Lipid content (%)	2.5	1.2-3.9	0.948 (30)	0.01	2.9	0.7-7.0	0.086 (30)	0.1
Water content (%)	72.2	67-76.9	0.734 (30)	< 0.01	72.1	67.0-81.0	0.295 (31)	0.03
Total protein content (%)	23.8	17.6-29.9	0.187 (31)	0.06	22.6	16.0-31.2	0.292 (29)	0.04

^a probability that the slope significantly differ from zero (number of data points included in the regression)

^b coded according to the number of the month (e.g. July=7)

*significant difference between males and females ($p < 0.05$)

3. Patterns, concentrations and temporal trends of PBDEs in SLE beluga liver

Among the PBDEs detected, the tetra-BDE was the most dominant homolog group (Fig. 2A). The BDE-47 was the most dominant congener accounting for c.a.50% of \sum_7 PBDEs. These results are in agreement with the general pattern reported in several marine mammal species (Boon *et al.* 2002; Law *et al.* 2003, 2010; Wolkers *et al.* 2004, 2006 a and b; Lebeuf *et al.* 2004; Ramu *et al.* 2005; De Wit *et al.* 2006; McKinney *et al.* 2006; Muir *et al.* 2006; Rigét *et al.* 2006; Kannan *et al.* 2007; Gebbink *et al.* 2008; Shaw *et al.* 2008; Lebeuf, 2009; Shaw and Kannan, 2009). Mean concentrations of \sum_7 PBDEs reached 489 ± 292 and 404 ± 205 ng/g lw in females and males, respectively (Table 3). PBDEs in beluga liver reported in the current study were lower than those reported in younger SLE beluga (McKinney *et al.* 2006). These weaned calves have received PBDEs during gestation and lactation as well as through their diet whereas belugas examined in this study, all older than 20 years, have received a significant amount of PBDEs only from their diet.

Table 4 summarizes PBDE levels previously reported in hepatic tissue on a lipid weight basis in beluga from SLE and the Arctic and other marine mammal species from North American, European and Asian coasts. PBDE levels in Arctic beluga liver collected between 2000 and 2003 were roughly 40 times lower than those in the current study (McKinney *et al.* 2006). The presence of these compounds in the Arctic is due to the efficient long-range atmospheric transport from urbanized centers to remote regions like the Arctic region (Ikonomidou *et al.* 2002; De Wit *et al.* 2006). The \sum_7 PBDE levels reported in this study were in the range of those reported in the polar bear from East Greenland but they stand at the lower end of the range of levels reported in other marine mammals from California, North Sea and China. Although, these data must be compared with caution because of the analytical methods differences including the number of congeners reported.

No difference between genders was found for the \sum_7 PBDEs ($p= 0.283$). These results agree with those observed in blubber of beluga (Lebeuf *et al.* 2004) and polar bear

(Gebbink *et al.* 2008) and the liver and the blubber of hooded seal (Wolkers *et al.* 2006b). The lack of difference in PBDE contamination between genders highlights a relatively recent and fast increase of PBDE inputs in the environment, such that PBDEs are rather accumulated than be eliminated by both males and females. In other words, the rate of PBDE increasing is so fast that it dissimulates all other elimination processes (Lebeuf *et al.* 2004). Alternatively, it has been suggested that the similarity between males and females in PBDE contamination results from a higher efficiency of males to biotransform PBDEs than females which compensates for PBDEs elimination during gestation and lactation (Wolkers *et al.* 2006b).

No temporal change of \sum_7 PBDEs in beluga liver was detected between 1993 and 2007 for both males and females (Fig.3A). Linear regression analyses between individual homolog group and the year of stranding showed no trends (Table 3). Since biological parameters and liver characteristics did not show any significant trends over the years, temporal trends of PBDEs were considered not biased by these factors. These results contrast with the exponential increase of PBDE in blubber of SLE beluga between 1988 and 1999 characterized by a doubling time averaged to 3 years (Lebeuf *et al.* 2004). In North America, exponential increases of total PBDEs have also been reported in fish, aquatic birds and other marine mammals (Ikonomou *et al.* 2002; Lebeuf *et al.* 2004; Zhu and Hites, 2004; De Wit *et al.* 2006; Hites, 2006; Shaw and Kannan, 2009). In fish from the Great lakes, PBDE levels increased exponentially between 1980 and 2000 (Zhu and Hites, 2004), doubling every 3-4years. Similarly, PBDE levels increased in herring gull eggs during the time period from 1981 to 2000 (Norstrom *et al.* 2002; Hites, 2006). On the other hand, recent change in PBDE temporal trends in environmental samples is observed, likely due to increased regulation of penta and octa-BDE mixtures in many countries including those in North America and Europe (Canada gazette, 2008; Shaw and Kannan, 2009; Law *et al.* 2010). Concentrations of PBDEs in the blubber of SLE beluga levelled off since 2000 in males, while in females; PBDEs decreased at a rate of 18% yearly in the 2003-2007 time period (Lebeuf *et al.* 2009). Similarly, trends of \sum_{39} PBDEs in herring gull eggs from the Laurentian Great Lakes seem to decrease post-2000 (Gauthier *et al.* 2008). Likewise,

PBDE concentrations in the blubber of porpoises from U.K showed a significant decrease between 1992 and 2008 (Law *et al.* 2010).

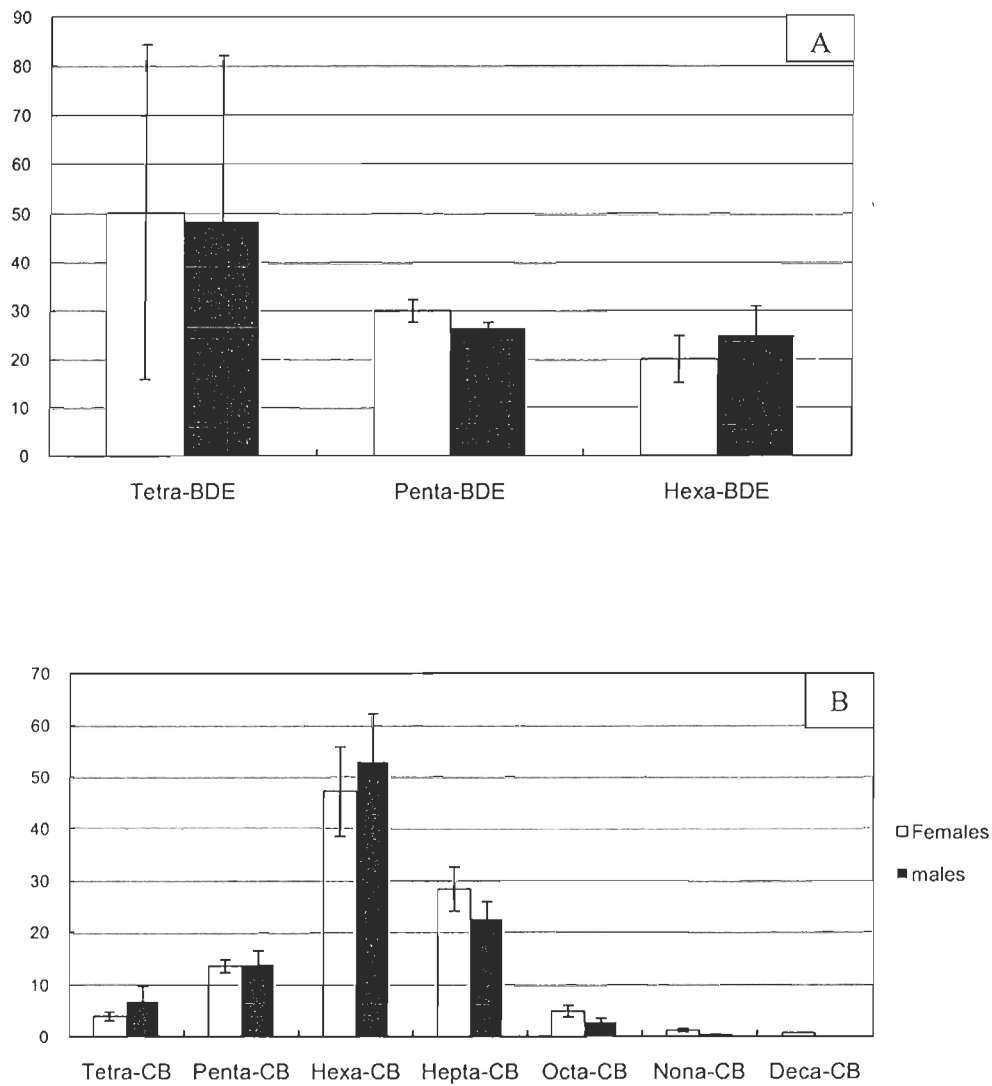


Fig. 2 Relative contributions (%; mean \pm SD) of homolog groups to the $\sum 7$ PBDE (A) and $\sum 32$ PCBs (B).

Table 3 Mean hepatic concentrations \pm SD of PBDEs (ng/g lw) and PCBs (μ g/g lw) and their time trends in SLE beluga between 1993 and 2007

	Homolog group	Males				Females			
		Mean \pm SD	Trend	p^a (N)	% decrease	Mean \pm SD	Trend	p^a (N)	% decrease
PBDEs	Tetra	245 \pm 182	n.s	0.054 (32)	—	348 \pm 289	n.s	0.913 (31)	—
	Penta	107 \pm 68.7	n.s	0.628 (32)	—	152 \pm 89.5	n.s	0.728 (31)	—
	Hexa	111 \pm 62.1	n.s	0.585 (32)	—	91.5 \pm 73.5	n.s	0.863 (32)	—
	\sum_7 PBDEs	404 \pm 205	n.s	0.214 (32)	—	489 \pm 292	n.s	0.853 (31)	—
PCBs	Tetra*	4.72 \pm 3.44	↓	0.021 (33)	7.1	0.98 \pm 1.62	↓	0.021 (31)	11
	Penta*	6.65 \pm 2.58	↓	0.009 (31)	6.8	2.17 \pm 1.93	↓	0.022 (31)	12
	Hexa*	30.3 \pm 21	n.s	0.30 (33)	—	6.65 \pm 9.81	n.s	0.157 (32)	—
	Hepta*	9.30 \pm 4.41	↓	0.012 (32)	8.5	3.28 \pm 3.44	n.s	0.186 (32)	—
	Octa*	1.42 \pm 0.81	n.s	0.109 (33)	—	0.57 \pm 0.58	↓	0.018 (30)	12.9
	Nona*	0.24 \pm 0.17	n.s	0.069 (33)	—	0.13 \pm 0.12	n.s	0.182 (32)	—
	Deca	0.09 \pm 0.06	n.s	0.065 (33)	—	0.07 \pm 0.06	n.s	0.298 (32)	—
	\sum_{32} PCBs*	48.8 \pm 24.9	n.s	0.132 (33)	—	14.2 \pm 16.9	n.s	0.152 (32)	—

^a probability that the slope significantly differ from zero (number of data points included in the regression)

* Significant difference in POP concentration between males and females after ln transformation ($p < 0.05$)

n.s not significant

Table 4 Mean PBDE (\pm SD) (ng/g lipid weight) in liver of Marine Mammals from North American, European and Asian coasts

Species	Location	Sampling period	n	Gender	Age (yr)	Σ PBDE (ng/ g lw)	Ref
Beluga whale (<i>Delphinapterus leucas</i>)	St. Lawrence Estuary	1993-2007	32	F	20-61	489 \pm 292	This study
			33	M	21-74	404 \pm 205	
	Western Hudson Bay	2000-2003	3	M	8	2210 \pm 656	McKinney <i>et al.</i> 2006
			3	F	7		
			3	M	8	53 \pm 16	
7	F	7					
Polar Bear (<i>Ursus maritimus</i>)	East Greenland	1999-2001	20 (pooled)	-	5.5- 25	363.7 \pm 300	Gebbink <i>et al.</i> 2008
Sea otter (<i>Enhydra lutris nereis</i>)	California	1992-2002	80	F	n.m*	2170 \pm 3710	Kannan <i>et al.</i> 2007
Striped dolphin (<i>Stenella coeruleoalba</i>)	Japan	2003	6 (pooled)	5M + 1F	n.m	84-850	Isobe <i>et al.</i> 2009
Harbour porpoise (<i>Phocoena phocoena</i>)	Belgian North Sea	1997-2000	21 (pooled)	n.m	young + adults	2290 \pm 1790	Covaci <i>et al.</i> 2002
Finless porpoise (<i>Neophocaena phocaenoides</i>)	Hong Kong	2000-2001	2	M	n.m	2273-6744	Ramu <i>et al.</i> 2005
	Hong Kong	2000-2001	1	F	n.m	5352	
Humpback dolphin (<i>Sousa chinensis</i>)	Hong Kong	2000-2001	2	M	n.m	7353-12540	
	Hong Kong	2000-2001	1	F	n.m	3100	
Harbour porpoise (<i>Phocoena phocoena</i>)	North Sea	n.m	3	n.m	n.m	3124	Boon <i>et al.</i> 2002
Harbor seal (<i>Phoca vitulina</i>)	Wadden Sea (Germany)	n.m	3	n.m	n.m	2131	

* not mentioned

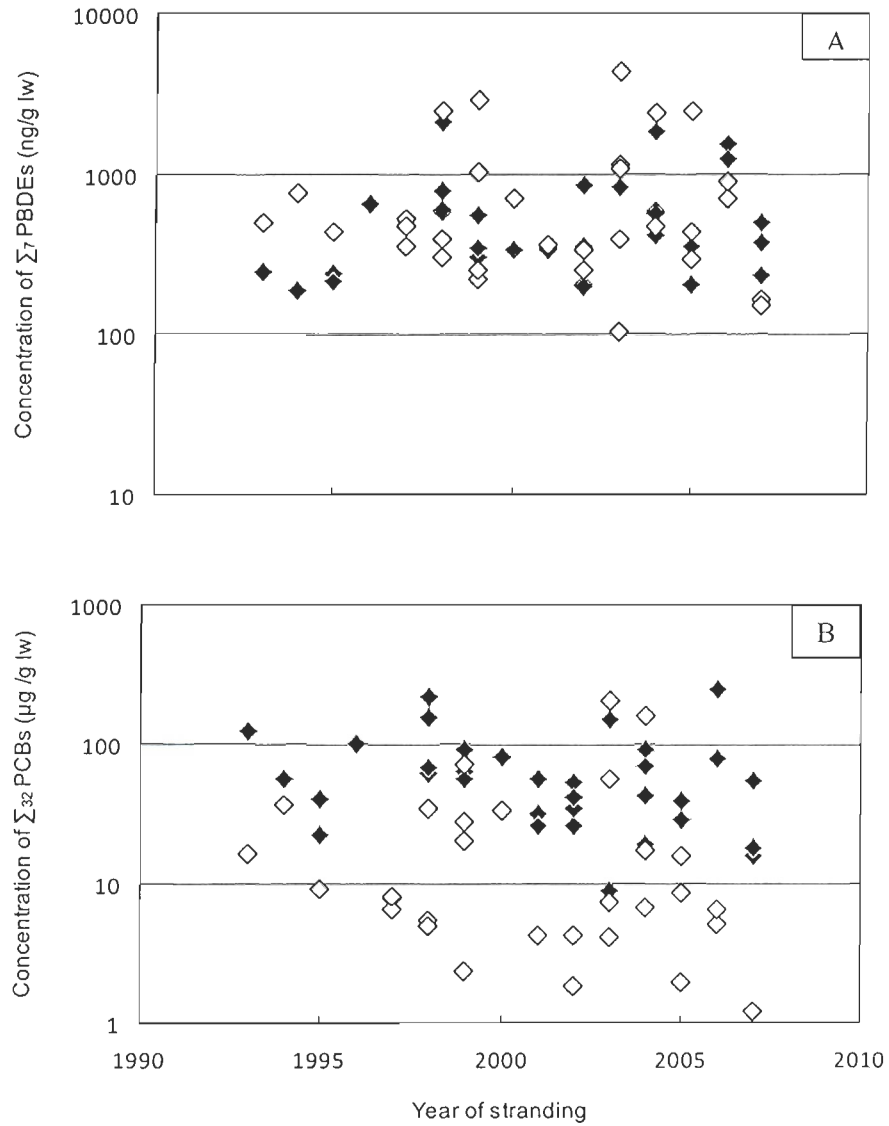


Fig. 3 Temporal trends of \sum_7 PBDE (ng/g lw) (A) and \sum_{32} PCBs ($\mu\text{g/g lw}$) (B) in male (solid diamonds) and female (open diamonds) SLE beluga liver between 1993 and 2007. PBDE and PCB concentrations (y axis) are on a log scale.

4. Patterns, concentrations and temporal trends of PCBs in SLE beluga liver

Di and tri-PCB were occasionally above the detection limit, thus, they were not reported in this paper. Penta-, hexa- and hepta-PCBs were the predominant homolog groups in beluga liver (Fig. 2B). A similar pattern was also found in the blubber of SLE beluga or the liver and blubber of Arctic beluga (Massé *et al.* 1986; Muir *et al.* 1990, 1996 a; Gauthier *et al.* 1998; Metcalfe *et al.* 1999; Devigne, 2003; Lebeuf, 2009). Among all detected congeners, CB-153, -138 and -180 were the most predominant in both males and females and the CB-153 was the major congener accounting for 22% \pm 4.6 and 23% \pm 7.5 of the \sum_{32} PCBs for females and males, respectively. These results are in agreement with those found in the liver of the beluga from SLE and Hudson Bay (Devigne, 2003). Similar patterns were also observed in the blubber of the fin whales from Eastern Canada (Hobbs *et al.* 2001) and Balaenopterid whales from the Gulf of St. Lawrence (Gauthier *et al.* 1997).

The mean \pm SD PCB concentrations in beluga liver reached 14.16 \pm 16.85 and 48.77 \pm 24.94 μ g/g lw in females and males, respectively (Table 3). The \sum_{32} PCBs reported in the current study seems lower than those reported by Metcalfe *et al.* (1999) and Devigne (2003). However, results must be compared with caution considering the differences in analytical methods, the sum of analysed congeners and the sampling time periods.

Females were about three times less contaminated in PCBs than males ($p < 0.001$), in agreement with previous studies (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Muir *et al.* 1990; Devigne, 2003; McKinney *et al.* 2006). Generally, this difference is explained by the gestational and lactational transfers of PCBs from the mother to her calf. In this study, all females were adults and have presumably given birth to at least one calf. PCB concentrations began to decline when females give birth for the first time (Hickie *et al.* 1999, 2000). The difference in diet between males and females may also contribute to the lower contamination in females (Martineau *et al.* 1987) but the lactation remains the most important pathway of PCBs loss (Hickie *et al.* 2000). Over 18 months of nursing, the mother transfers about 53% of her PCBs body burden to her calf via milk and the calf is

assumed to assimilate 90% of such a transfer (Hickie *et al.* 2000). However, the difference in PCB concentrations between genders was less important for highly chlorinated congeners, namely nona and deca-PCB, supporting a selective maternal transfer of PCBs driven by the *Kow* of the congeners as reported for beluga and other species (Gauthier *et al.* 1998; Devigne, 2003; Hickie *et al.* 2005; Lebeuf *et al.* 2007).

None of the PCB homolog groups increased in SLE beluga liver between 1993 and 2007 (Table 3). Between 1993 and 2007, tetra-, penta- and hepta-PCB declined in male livers by about 7.1, 6.8 and 8.5% yearly, respectively (Table 3). In females, tetra-, penta- and octa-PCB decreased over years by about 11, 12 and 12.9% yearly, respectively (Table 3).

Conversely, the \sum_{32} PCBs as well as other PCB homolog groups did not change over the sampling period in males or females (Fig.3B, Table 3). Like for PBDEs, temporal trends of PCBs in liver were considered not biased by factors like biological parameters and liver characteristics.

The level off of hepatic PCBs in beluga is due to the absence of recent PCB inputs in the beluga diet and ultimately in the beluga itself (Lebeuf *et al.* 2007). Long PCB half-lives in the order of 10-15 years in beluga blubber (Lebeuf *et al.* 2007, Lebeuf, 2009) make their change over time difficult to observe. On the other hand, the decline of some PCB homolog groups may be related to the biotransformation of some congeners into metabolites such as OH-PCBs which are more easily eliminated (Houde *et al.* 2005; Wolkers *et al.* 2006 a). The observed decreasing trends of some PCBs may also due to their selective affinity for the sediments, which isolate and make them less bioavailable (Lebeuf and Nunes, 2005; Lebeuf *et al.* 2007).

5. Comparison of concentrations and trends of PBDEs and PCBs between liver and blubber

PBDE and PCB concentrations were compared between liver and blubber (full depth) using the ratio R defined as $R = [\sum_{i=1}^n ([POP]_i \text{ blubber} / [POP]_i \text{ liver})] / n$ which represents the mean value of the ratio of a given POP homolog group calculated for every animal. PBDE and PCB concentrations in beluga blubber are from Lebeuf *et al.* (2004, 2007, 2009 and personal communication). All concentrations were reported on lipid weight and only congeners detected in both tissues were used to calculate the ratios. Lipid content in blubber is generally 30 times higher than in the liver. A ratio of 1 would indicate that the partitioning of contaminants is driven by the lipids in both tissues. To our knowledge, the current study is the first one to compare PBDE concentrations in blubber and liver in cetacean species.

Mean R ratios of \sum_7 PBDEs and all individual homolog groups did not statistically differ from unity for both genders (Table 5). This shows that PBDEs distribution between both tissues is governed by tissue-lipid contents. Moreover, R was not statistically different between genders for \sum_7 PBDEs and PBDE-homolog groups.

Mean R ratios of \sum_{32} PCBs and all homolog groups were not different between genders except for tetra-PCB where R was greater in males (Table 5).

On the other hand, male blubber samples were statistically enriched in tetra- and penta-PCBs relative to liver ($R > 1$), while liver was enriched in deca-PCBs ($R < 1$). In females, tetra-PCBs were significantly dominant in liver ($R < 1$). For the \sum_{32} PCBs and remaining PCB homolog groups, mean R ratios were not statistically different from unity suggesting that these compounds are distributed between blubber and liver on the basis of their lipid content. Both similar and dissimilar lipid normalised PCB concentrations between blubber and liver have been reported in SLE beluga (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987; Gauthier *et al.* 1998).

The differences in lipid cycling (e.g. gestation and lactation) between males and females could likely explain the higher retention ($R > 1$) of some PCBs in male blubbers. Male belugas accumulate POPs during their entire life and store them in their blubber, while females use lipids from their blubber during gestation and lactation periods and thus eliminate periodically PCBs, especially the less substituted ones (Hickie *et al.* 1999).

Many factors including the physicochemical properties of the chemical, like *Kow*, and the biochemical and physiological functions that possess the body organs may influence the accumulation and/or the retention of contaminants. As a result, some PCB congeners showed a higher retention in the blubber ($R > 1$), or in the liver ($R < 1$) while other PCBs did not show any tissue-preference ($R = 1$) (Table 5). A high variability in R values among individuals was reported in SLE beluga by Martineau *et al.* (1987) where ratios ranged from 0.04 to 3.24 in females and from 0.42 to 2.99 in males. A high inter-individual variability in R was also observed in the current study (Table 5) and may be related to several factors including body condition of the animals and preservation state of the carcasses. The growth rate, contaminant assimilation efficiency and contaminant exposure history may also explain inter-individual differences (Hickie *et al.* 2000). Fatty acid composition in blubber is subject to variation especially with the reproductive state of females as seen in bottlenose dolphin (Samuel and Worthy, 2004), fin whale (Aguilar and Borrell, 1990) and striped dolphin (Kawai *et al.* 1988). Although, the blubber thickness is known for most of the examined animals, there is apparently no indication that this parameter represents the body condition of beluga. No relationship was shown between the preservation state of carcasses and PBDEs ($p = 0.590$ for males and $p = 0.108$ for females) or PCBs ratios ($p = 0.283$ for males and $p = 0.425$ for females). Moreover, beluga age did not explain the inter-individual variability in R for PBDEs ($p = 0.204$ for males and $p = 0.093$ for females) and PCBs ($p = 0.070$ for males and $p = 0.074$ for females).

The liver and the blubber are very different in their structure, composition and functions. The liver is a highly irrigated organ which facilitates the exchanges with blood and the other organs (Andrews, 1979); blood rich in nutrients coming from the gut enters

the liver and then, the latter breaks down nutrients and drugs. Moreover, the liver stores glycogen, vitamins and minerals and produces proteins (Andrews, 1979). In contrast, the blubber allows mainly insulation and energy storage (Strandberg *et al.* 2008). Due to their distinct character, blubber and liver are likely responding within different time frame to changes of POP exposure. Thus, a steady state-partitioning of POPs between tissues is likely slow to reach. The response time of the liver to changes of contamination level in the environment is expected to be faster than the one of blubber and thus affects the R ratios with time under constant exposure. None of the studies that examined chemical distribution between tissues also assessed their change over time. Thus, it is not clear if liver and blubber of beluga represents the same temporal trends of PBDEs or PCBs.

Changes in R ratio between 1993 and 2007 were assessed for \sum_7 PBDEs, \sum_{32} PCBs and their individual homolog groups (Table 5). R ratios of \sum_7 PBDEs and homolog groups in females did not change with time indicating that both tissues provide the same temporal trends for these compounds. In contrast, in males, mean PBDE ratios increased by $12.7 \pm 2.4\%$ yearly ($p < 0.05$) (Fig.4A, Table 5). These results show that an enrichment of PBDEs with time is occurring in male blubbers compared to liver and thus monitoring PBDEs in blubber or liver will lead to different PBDE temporal trends.

The differences in PBDE trends between genders could be explained by considering the blubber as a tissue that comprises a metabolically active (inner) layer and a less active (outer) layer (Krahn *et al.* 2004; Strandberg *et al.* 2008), whereas, the whole liver is considered similarly active as the inner blubber layer. Females and males accumulate PBDEs via their diet but females are much more active in eliminating lipophilic chemicals, especially during lactation (Hickie *et al.* 1999). Maternal pre- and post-natal transfers require the mobilization of lipids and associated PBDE congeners from blubber (especially the inner blubber) to the blood which distribute contaminants through the exchanges with body organs (Fig.5).

Table 5 Mean concentration ratios (blubber/liver) \pm SD of PBDEs and PCBs and their temporal trends in SLE beluga between 1993 and 2007

		Homolog group	Mean ratio \pm SD	p^a	Ratio time trend	p^b	% change /year	
Males	PBDEs	Tetra	1.35 \pm 0.83	0.153	↑	0.017	14.65	
		Penta	1.28 \pm 0.82	0.385	↑	0.013	14.25	
		Hexa	0.86 \pm 0.63	0.064	↑	0.014	9.41	
		Σ_7 PBDEs	0.97 \pm 2.00	0.909	↑	0.007	8.22	
	PCBs	Tetra*	1.36 \pm 0.61	0.006	n.s	0.306	—	
		Penta	1.38 \pm 0.69	0.021	n.s	0.298	—	
		Hexa	1.31 \pm 0.95	0.172	n.s	0.276	—	
		Hepta	1.51 \pm 0.99	0.248	n.s	0.169	—	
		Octa	1.31 \pm 0.75	0.407	n.s	0.249	—	
		Nona	1.19 \pm 0.73	0.837	n.s	0.168	—	
		Deca	0.68 \pm 0.43	0.004	n.s	0.465	—	
		Σ_{32} PCBs	1.40 \pm 0.83	0.309	n.s	0.461	—	
	Females	PBDEs	Tetra	0.96 \pm 0.52	0.359	n.s	0.102	—
			Penta	0.97 \pm 0.63	0.097	n.s	0.142	—
Hexa			0.78 \pm 0.54	0.056	n.s	0.084	—	
Σ_7 PBDEs			0.77 \pm 1.88	0.08	n.s	0.124	—	
PCBs		Tetra	0.65 \pm 0.53	<0.001	↓	0.019	5.58	
		Penta	1.15 \pm 0.64	0.982	n.s	0.921	—	
		Hexa	1.29 \pm 0.84	0.981	n.s	0.472	—	
		Hepta	1.25 \pm 0.86	0.842	n.s	0.744	—	
		Octa	1.53 \pm 1.01	0.49	n.s	0.531	—	
		Nona	1.47 \pm 1.23	0.948	n.s	0.523	—	
		Deca	0.95 \pm 0.85	0.092	n.s	0.37	—	
		Σ_{32} PCBs	1.25 \pm 0.81	0.981	n.s	0.627	—	

^a: probability that ln-mean ratio is not different from zero

^b: probability that the slope is not different from zero

^c: not significant

* Significant difference between males and females ($p < 0.05$)

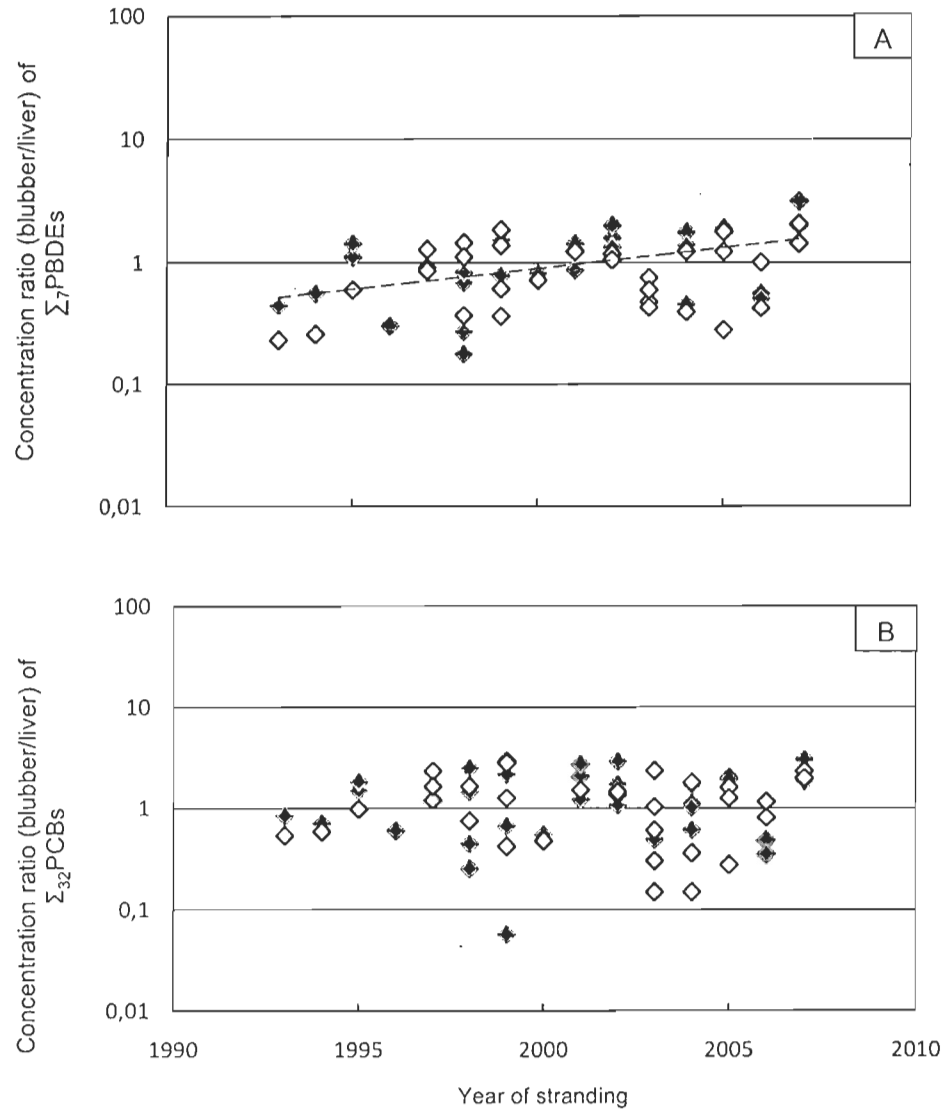


Fig. 4 Changes of PBDE (A) and PCB (B) concentration ratios (blubber / liver) in male (solid diamonds) and female (open diamonds) SLE beluga between 1993 and 2007. The linear regression line for Σ_7 PBDEs in males shows significant change over time ($p < 0.05$).

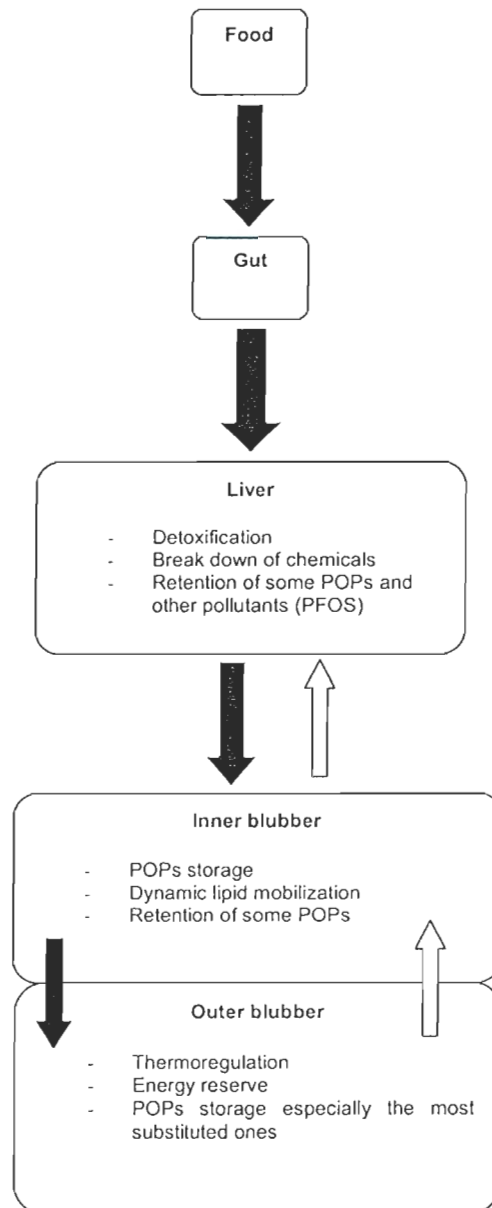


Fig. 5 Simplified scheme of contaminants exchanges between the liver and the blubber layers (Black arrow: chemical inflow; white arrow: chemical outflow)

The constancy of R ratios with time in females suggests that the exchanges (accumulation and depuration) of chemicals between inner and outer blubber layers is likely facilitated by the milk production and prone to reach a steady state partitioning. On the other hand, the increase of R ratios over the sampling years in males suggests that the outer blubber layer is slow in reaching steady state equilibrium with the inner blubber layer and thus continues to accumulate PBDEs. For both genders, the liver and the inner blubber layer reach quickly steady state equilibrium with beluga diet, which best represents the contamination of its environment.

Ratios of \sum_{32} PCBs did not change over the sampling period in SLE beluga (Fig.4B, Table 5). The constancy in R ratios with time is likely due to the absence of recent changes in PCB inputs to the SLE and the slow PCBs depuration (Lebeuf *et al.* 2007; Lebeuf, 2009). This suggests that PCBs have reached steady state equilibrium between body organs, including inner and outer blubber layers. As a result, PCBs monitoring using blubber or liver samples provides the same temporal trends. There is one exception, however, the decrease of R for low chlorinated tetra-PCBs with time in females. This could be explained by the highly efficient transfer of less substituted congeners from the blubber to milk as reported in Arctic ringed seal (*Phoca hispida*) (Hickie *et al.* 2005) and hooded seals (*Cistophora cristata*) (Wolkers *et al.* 2006b). Considering again the active character of the liver and the inner blubber of beluga, and that the outer blubber layer acts as a reservoir, thus the depuration of PCBs is expected to differ between genders. In males, the slow PCBs depuration process from blubber does not lead to any significant change in R ratios. However, in females, the depuration of PCBs from the outer layer is accelerated during nursing leading to the mobilization of low chlorinated PCBs from the blubber and reflected by a decrease in R ratios for the tetra-PCBs at a rate about 5.58% yearly.

The differences in temporal trends of POPs in males between liver and blubber are likely the results of the response time of the examined tissues to reflect changes of contaminant trends, either increase or decrease, in the environment. In contrast, the blubber of females is responding more rapidly to environmental changes because of its active role during lactation. The presence of two distinctive blubber layers in beluga, as considered to describe the partitioning and temporal trends of POPs, suggests that the use of biopsy sampling could lead to significant differences in POPs levels and trends when compared to full blubber depth or liver as biopsies sample only the skin and the outer layer of blubber. The current study suggests that the liver is a better indicator of recent exposure to chemicals, whereas, the blubber, with combined layers, reflects more historical POPs accumulation.

Aknowledgements

This study was funded by the Department of Fisheries and Oceans Canada and the Department of Higher Education and Scientific Research of Tunisia.

Special thanks to Dr. Lena Measures (Department of Fisheries and Oceans Canada/ Maurice-Lamontagne Institute) for supplying date, stranding locations, ages, carcass codes of stranded belugas.

The technical assistance of Steve Trottier (Department of Fisheries and Oceans Canada/ Maurice-Lamontagne Institute) is gratefully acknowledged.

CHAPITRE 3

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La récolte des différents tissus du béluga dans le cadre du programme des carcasses a permis d'identifier et de suivre l'évolution temporelle des polluants anthropiques auxquels la population du béluga est exposée. Un tel suivi permet à la fois d'identifier la présence de nouveaux composés et de vérifier, d'une part, si les réglementations mises en place ont été efficaces et de voir si certains composés nécessitent une réglementation urgente, d'autre part.

La présente étude avait pour premier objectif la détermination des concentrations de deux classes de POP (les PBDE et les BPC). Le second objectif visait à suivre leurs tendances temporelles entre 1993 et 2007 chez le béluga du Saint-Laurent dans un organe qui n'est pas communément utilisé dans le suivi de la contamination : le foie. Les échantillons de foie provenaient de 32 femelles et 33 mâles échoués.

Afin d'éviter le biais causé par le sexe et l'âge dans la caractérisation des tendances temporelles des deux polluants, les individus sélectionnés présentaient des caractéristiques semblables. En considérant un seul genre à la fois, ni l'âge, ni les caractéristiques biologiques (longueur, code de carcasse, teneur des foies en eau, lipides et protéines) n'ont changé durant la période étudiée. Aucune différence significative n'a été montrée entre les mâles et les femelles concernant les paramètres biologiques, à l'exception de la longueur où les mâles étaient plus longs.

Sept congénères de PBDE et 32 congénères de BPC ont été systématiquement détectés dans tous les échantillons de foie. Les concentrations moyennes des PBDE ont atteint 404 ± 205 et 489 ± 292 ng/g b.p.l respectivement chez les mâles et les femelles. Les concentrations ont été similaires chez les deux sexes.

Entre 1993 et 2007, ni la Σ_7 PBDE ni les groupes homologues n'ont montré une tendance temporelle. Ces résultats sont contradictoires par rapport à ceux observés dans le pannicule adipeux du béluga entre 1988 et 1999 (Lebeuf *et al.* 2004). Cependant, suite aux restrictions récentes des mélanges commerciaux octa- et penta-BDE au Canada et aux États-Unis, les concentrations des PBDE ont commencé à se stabiliser pour atteindre un plateau dans le pannicule adipeux des bélugas mâles entre 1987 et 2007, alors que chez les femelles, le taux de diminution annuel a été estimé à 18% dans le même tissu et durant la même période (Lebeuf *et al.* 2009).

En dépit des mesures prises dans la réglementation des BPC, ces polluants sont toujours détectés dans les tissus du béluga de l'ESL. La Σ_{32} BPC a atteint $48,8 \pm 24,9$ et $14,2 \pm 16,9$ $\mu\text{g/g}$ b.p.l respectivement chez les mâles et les femelles. Les femelles étaient trois fois moins contaminées par les BPC que les mâles. Ce patron a été observé aussi bien dans le foie que dans le pannicule adipeux du béluga. Le transfert maternel durant la gestation et la lactation constitue la principale voie d'élimination des polluants chez les femelles. Cependant, les concentrations des groupes homologues les plus substitués tels que le déca-BPC ont été similaires entre les deux sexes ce qui supporte l'hypothèse de la sélectivité du transfert maternel (Tableau 3, p. 47).

Entre 1993 et 2007, la Σ_{32} BPC dans le foie n'a pas changé chez les deux sexes. Les premières contaminations hépatiques des bélugas par les BPC ont été rapportées dans les années 1980 (Massé *et al.* 1986; Martineau *et al.* 1987). Dans la présente étude, seulement les échantillons à partir de 1993 étaient disponibles. Cette période est éloignée de la période du maximum d'exposition et de contamination. De plus, les longues demi-vies des BPC rapportées dans le pannicule adipeux du béluga rendent leurs changements temporels difficiles à distinguer (Lebeuf *et al.* 2007). La stabilité des BPC est due à l'absence de récents apports à l'ESL, par conséquent aux proies du béluga et ultimement au béluga même (Lebeuf *et al.* 2007).

En outre, certains groupes homologues tels que les tétra-, penta-, et hepta-BPC ont montré des tendances à la baisse chez les mâles alors que les tétra-, penta-, et octa-BPC ont

diminué chez les femelles. La biotransformation de certains congénères de BPC en métabolites (ex. OH-BPC) pourrait expliquer cette diminution (Wolkers *et al.* 2006a). De plus, les sédiments pourraient agir comme un réservoir isolant les BPC et les rendant moins biodisponibles (Lebeuf et Nunes, 2005; Lebeuf *et al.* 2007), expliquant ainsi les diminutions observées de ces groupes de BPC.

La majorité des études antérieures ont ciblé le pannicule adipeux pour suivre la contamination du béluga. En raison de sa richesse en lipides et considérant le caractère lipophile des polluants, le pannicule adipeux est considéré comme étant un tissu approprié dans le suivi des POPs chez le béluga.

Le foie, est un organe très dynamique et peut, par conséquent, constituer un meilleur outil que le pannicule adipeux pour suivre la contamination récente. Afin de vérifier la similarité de répartition des contaminants entre le foie et le pannicule adipeux, les concentrations et les tendances temporelles des PBDE et des BPC dans le foie (rapportées sur base de poids lipidique) ont été comparées à celles dans le pannicule adipeux en utilisant le ratio R (gras/foie). Seuls les congénères détectés dans les deux tissus ont été utilisés pour calculer le ratio. La teneur en lipides du pannicule adipeux est généralement 30 fois supérieure à celle du foie. Sur une base lipidique, un ratio de 1 indiquerait que la répartition des polluants dépend principalement de la teneur en lipides des deux tissus étudiés.

Le ratio moyen de Σ_7 PBDE, qui était de $0,97 \pm 2,00$ chez les mâles et de $0,77 \pm 1,88$ chez les femelles, n'était pas statistiquement différent d'une unité chez les deux sexes suggérant que les PBDE sont principalement répartis selon la teneur en lipides des deux tissus. Les ratios de Σ_7 PBDE et des groupes homologues étaient similaires entre les deux sexes.

Le ratio moyen de Σ_{32} BPC était de $1,40 \pm 0,83$ chez les mâles et de $1,25 \pm 0,81$ chez les femelles. Pour la Σ_{32} BPC et tous les groupes homologues, les ratios n'étaient pas différents entre les deux sexes, à l'exception des tétra-BPC où R était plus important chez les mâles.

Chez les mâles, les échantillons du pannicule adipeux étaient statistiquement plus enrichis que le foie en tétra- et penta-BPC ($R > 1$), par contre le foie était plus enrichi en déca-BPC ($R < 1$). Pour tous les groupes homologues de BPC et Σ_{32} BPC, R n'était pas statistiquement différent d'une unité chez les femelles, suggérant que ces composés sont répartis entre le foie et le pannicule adipeux sur la base de leur contenu lipidique.

La différence dans le cycle des lipides (ex. la gestation et la lactation) entre les mâles et les femelles pourrait expliquer la forte rétention ($R > 1$) de certains BPC dans le pannicule adipeux des mâles. Les bélugas mâles accumulent les POPs durant toute leur vie et les entreposent dans le pannicule adipeux, alors que les femelles sont dotées d'une capacité d'éliminer périodiquement les contaminants surtout les moins substitués, durant les périodes de gestation et de lactation.

Les propriétés physicochimiques du polluant et les fonctions biochimiques et physiologiques que possèdent les différents organes, peuvent influencer l'accumulation et/ou la rétention des polluants organiques. Ainsi, certains congénères présentent une forte rétention dans le pannicule adipeux ($R > 1$), ou dans le foie ($R < 1$) alors que d'autres congénères n'ont aucune préférence ($R = 1$). Cependant, une forte variabilité interindividuelle dans les niveaux des ratios a été observée chez les bélugas étudiés. L'état de santé des individus et la condition des carcasses ainsi que l'historique d'exposition pourraient être à l'origine de cette variabilité. Aucun de ces facteurs ne semble influencer les ratios des PBDE et des BPC chez les bélugas étudiés. De plus, la composition lipidique du pannicule adipeux varie surtout avec l'état reproductif des femelles, la nutrition et la migration.

Le foie et le pannicule adipeux sont très différents dans leurs structures, compositions et fonctions. Le foie est un organe très irrigué facilitant les échanges entre le sang et le reste des organes du corps. Il est riche en eau, protéines et phospholipides et contient une faible proportion en triglycérides. C'est un organe très dynamique et assure plusieurs fonctions incluant le stockage du glycogène, des vitamines et des minéraux et produit les protéines. À l'inverse, le pannicule adipeux est un tissu qui contient presque exclusivement des

triglycérides et une faible proportion d'acides gras non estérifiés. Son rôle principal est l'isolation thermique et le stockage d'énergie.

En raison de cette différence, le foie et le pannicule adipeux répondent probablement dans des délais différents aux changements d'exposition aux POPs. Un état stationnaire de répartition des polluants entre les deux tissus pourrait être lent à atteindre. La réponse du foie aux changements de niveau de contamination dans l'environnement pourrait être plus rapide que celle du pannicule adipeux ce qui pourrait affecter ainsi les ratios R avec le temps sous une exposition constante.

Aucune étude montrant la distribution des contaminants entre les tissus et organes n'a suivi leurs évolutions temporelles. Le suivi temporel des ratios des deux classes de composés dans le foie et le pannicule adipeux est nécessaire afin de comparer leurs tendances temporelles.

Entre 1993 et 2007, les ratios de Σ_7 PBDE ainsi que leurs groupes homologues n'ont pas changé chez les femelles indiquant que les deux tissus présentent les mêmes tendances temporelles pour ces composés. Par contre, l'augmentation de R chez les mâles a été estimée à $12,7 \pm 2,4\%$ annuellement. Ces résultats montrent que le pannicule adipeux des mâles continue de s'enrichir en PBDE alors que le foie a déjà atteint son état stationnaire. Donc le suivi des PBDE dans le foie ou le pannicule adipeux conduit à des tendances temporelles différentes.

La stratification du pannicule adipeux en une couche métaboliquement active (interne) et une couche moins active (externe) pourrait être à l'origine des différences dans les tendances observées des PBDE entre les mâles et les femelles. Les femelles, à l'opposé des mâles, éliminent une bonne partie de leur charge totale en contaminants durant la lactation. La production du lait nécessite la mobilisation des lipides et des congénères des PBDE à partir du pannicule adipeux (couche interne) vers le lait. L'absence de tendances temporelles des ratios des PBDE chez les femelles suggère que les échanges (accumulation

et dépuration) des polluants entre les organes et qui sont facilités par la production du lait vont atteindre un état stationnaire entre la couche externe et interne du pannicule adipeux.

L'augmentation des ratios avec les années chez les mâles suggère que la couche externe du pannicule adipeux est lente à atteindre l'état stationnaire avec la couche interne et donc continue d'accumuler les PBDE en dépit des changements d'apports récents des PBDE dans l'ESL. Chez les deux sexes, le foie et la couche interne du pannicule adipeux ont atteint rapidement un état stationnaire avec l'alimentation du béluga qui représente le mieux la contamination actuelle de son environnement.

Pour les BPC, les ratios de Σ_{32} BPC et leurs groupes homologues n'ont pas changé durant la période étudiée chez les deux sexes à l'exception des tétra-BPC chez les femelles qui ont montré une baisse annuelle d'environ 5,59%. L'absence de récents apports à l'ESL ainsi que la lente dépuration de ces composés persistants pourraient expliquer la constance des ratios. Ceci suggère que les BPC ont atteint un état stationnaire entre les deux couches de pannicule adipeux. Le suivi des BPC en utilisant des échantillons du pannicule adipeux ou de foie présentent les mêmes tendances sauf dans le cas des tétra-BPC chez les femelles. La tendance à la baisse du ratio pour les tétra-BPC est probablement le résultat de l'efficacité du transfert des congénères les moins substitués à partir du pannicule adipeux vers le lait.

En considérant le dynamisme du foie et de la couche interne du pannicule adipeux du béluga, et que la couche externe agit comme un réservoir, une différence dans la dépuration des BPC entre les mâles et les femelles est attendue. Chez les mâles, le lent processus de dépuration à partir du pannicule adipeux externe n'a abouti à aucun changement temporel significatif, cependant chez les femelles, ce processus est accéléré durant la lactation permettant ainsi la mobilisation des groupes les moins substitués à partir de la couche externe du pannicule adipeux vers le lait.

Les différences dans les tendances temporelles des deux classes de POPs entre le pannicule adipeux et le foie chez les mâles sont probablement les résultats des différents

temps de réponse des deux tissus étudiés pour refléter les changements des tendances des contaminants (augmentation ou diminution) dans l'environnement. Ainsi, le pannicule adipeux (entier) des femelles réagit plus rapidement aux changements environnementaux en raison de la lactation.

En considérant la stratification du pannicule adipeux en deux couches distinctes, l'utilisation des échantillons à partir des biopsies pourrait mener à des concentrations et des tendances des POPs significativement différentes par rapport au foie et toute la colonne du pannicule adipeux puisque les biopsies permettent d'échantillonner uniquement la peau et la couche externe du pannicule adipeux.

Dans la presque totalité des études, le pannicule adipeux utilisé dans le suivi de la contamination du béluga de l'ESL provenait des animaux échoués (Lebeuf, 2009) et rarement des biopsies (Letcher *et al.* 2000; Hobbs *et al.* 2003) ce qui soulève la question quant à la représentativité des tissus provenant des bélugas morts *versus* des bélugas vivants. La comparaison des concentrations avec des animaux fraîchement chassés n'est pas possible dans le cas du béluga de l'ESL ce qui rend l'extrapolation des concentrations dosées à la population vivante plus difficile. L'avantage des biopsies est de réduire les biais quant à la qualité des tissus et les changements post-mortem des carcasses échouées (Hobbs *et al.* 2003; Krahn *et al.* 2004). L'inconvénient de cette technique invasive est que seulement la peau et la couche superficielle du pannicule adipeux sont prélevées, contrairement aux carcasses où le prélèvement permet d'intégrer le pannicule adipeux sur toute son épaisseur (Krahn *et al.* 2004; Lebeuf, 2009).

Les résultats de la présente étude suggèrent que le foie représente le mieux une exposition récente aux contaminants, alors que le pannicule adipeux (en intégrant les deux couches) est un bon indicateur de l'accumulation des contaminants à long terme.

Comme perspectives futures à ce travail, il sera intéressant de :

- Étudier les patrons des acides gras dans les différents organes et tissus du béluga pour mieux comprendre la répartition des PBDE et des BPC dans le corps.
- Vérifier l'affinité de ces POP à certains composants (ex. acides gras ou protéines) en effectuant diverses analyses biochimiques des organes et tissus. L'étude de l'affinité permettra de sélectionner l'organe ou le tissu approprié dans le suivi de la contamination. De plus, l'accumulation spécifique des POPs dans un tissu donné permettrait ultérieurement de mieux comprendre la toxicologie des PBDE et BPC.
- Étudier la distribution des contaminants au niveau des couches interne et externe du pannicule adipeux afin de supporter ou non l'interprétation des résultats de la présente étude.
- Modéliser les tendances temporelles des contaminants chez les bélugas mâles et femelles tout en considérant les deux couches du pannicule adipeux, d'une part, et le foie d'autre part.
- Poursuivre les études sur les tendances temporelles des PBDE afin de voir si les femelles seront moins contaminées que les mâles comme c'est le cas pour les BPC.
- Le groupe déca-BDE est un groupe à risque élevé pour le biote et les mammifères marins puisqu'il se métabolise en congénères persistants tels que BDE-47 et BDE-99. Certaines études ont rapporté le déca-BDE (ou BDE-209) chez les poissons mais il est très peu étudié chez les mammifères marins. En considérant le dynamisme du foie et que l'état stationnaire n'est pas instantané, il sera donc intéressant d'étudier ce congénère dans le foie du béluga afin de mieux comprendre ses propriétés et si c'est possible rapporter ses tendances temporelles.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aguilar, A. et Borrell, A. 1990. «Patterns of lipid contents and stratification in the blubber of fin whales (*Balaenoptera physalus*)». *Journal of Mammalogy*, volume 71, numéro 4, pp. 544-554.
- Aguilar, A. et Borrell, A. 1991. «Heterogeneous distribution of organochlorine contaminants in the blubber of baleen whales: Implications for sampling procedures». *Marine Environmental Research*, volume 31, pp. 275-286.
- Andersen, G.; Kovacs, K. M.; Lydersen, C.; Skaare, J. U.; Gjertz, I. et Jenssen, B. M. 2001. «Concentrations and patterns of organochlorine contaminants in white whales (*Delphinapterus leucas*) from Svalbard, Norway». *The Science of the Total Environment*, volume 264, pp. 267-281.
- Andrews, W. H. H. 1979. «Liver». Southampton: The Camelot Press Ltd. 56 p.
- Beineke, A.; Siebert, U.; McLachlam, M.; Bruhn, R.; Thron, K.; Failing, K.; Müller, G. et Baumgärtner, W. 2005. «Investigations of the potential influence of environmental contaminants on the thymus and spleen of harbor porpoises (*Phocoena phocoena*)». *Environmental Science and Technology*, volume 39, 3933-3938.
- Béland, P.; DeGuise, S.; Girard, C.; Lagace, A.; Martineau, D.; Michaud, R.; Muir, D. C. G.; Norstrom, R. J.; Pelletier, É.; Ray, E. et Shugart, L. R. 1993. «Toxic compounds and health and reproductive effects in the St. Lawrence beluga whales». *Journal of Great Lakes Research*, volume 19, pp. 766-775.
- Bergeron, P. et Gagnon, M. 1999. «Béluga (*Delphinapterus leucas*). Dans: Caractérisation biophysique et des usages d'un secteur retenu pour la détermination d'une zone de protection marine dans l'estuaire du Saint-Laurent – volume 2 : Les mammifères marins et leurs principales ressources alimentaires». Rapport de Biorex inc. pp. 16-64.
- Bergeron, P. et Gagnon, M. 1999. «Caractérisation biophysique et des usages d'un secteur retenu pour la détermination d'une zone de protection marine dans l'estuaire du Saint-

Laurent - volume 1 : Introduction, cadre biophysique et anthropique». Rapport de Biorex inc. 158p.

Boon, J. P.; Lewis, W. E.; Tjoen-A-Choy, M. R.; Allchin, C. R.; Law, R. J.; De Boer, J.; Ten Hallers-Tjabbes, C. C. et Zegers, B. N. 2002. «Levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDE) flame retardants in animal representing different trophic levels of the North Sea food web». *Environmental Science and Technology*, volume 36, pp. 4025-4032.

Borrell, A.; Cantos, G.; Pastor, T. et Aguilar, A. 2001. «Organochlorine compounds in common dolphins (*Delphinus delphis*) from the Atlantic and Mediterranean waters of Spain». *Environmental Pollution*, volume 114, pp. 265-274.

Bradstreet, R. B. 1965. «The Kjeldahl method for organic nitrogen». New York: Academic Press. 239 p.

Canada gazette II. 2008. «Gazette du Canada partie II. En ligne.< <http://gazette.gc.ca/rp-pr/p2/2008/2008-07-09/pdf/g2-14214.pdf>>. Consulté en Juillet 2009.

Castonguay, M.; Hodson, P. V.; Couillard, C. M.; Eckersley, M. J.; Dutil, J. D.; et Verrault, G. 1994. «Why is recruitment of the American eel declining in the St. Lawrence River and Gulf? ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 1, pp. 479-488.

Convention de Stockholm. 2001. «Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants» Dans Convention de Stockholm. En ligne. <http://www.pops.int/documents/convtext/convtext_fr.pdf>. Consulté en Septembre 2009.

Convention de Stockholm. 2009. «Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants, Adoption d'amendements aux annexes A, B et C» Dans Convention de Stockholm. En ligne. <<http://chm.pops.int/default.aspx>>. Consulté en Septembre 2009.

- COSEPAC, Comité sur la Situation des Espèces en Péril au Canada. 2004. En ligne. <http://www.cosewic.gc.ca/fra/sct1/SearchResult_f.cfm?commonName=&scienceName=delphinapterus+leucas&Submit=Soumettre>. Consulté en Décembre 2008.
- COSEWIC, Committee on the Status of Endangered Wildlife in Canada. 2004. En ligne. <http://www.cosewic.gc.ca/eng/sct1/SearchResult_e.cfm?commonName=&scienceName=delphinapterus+leucas&Submit=Soumettre>. Consulté en Décembre 2008.
- Covaci, A.; Van de Vijver, K. V.; DeCoen, W.; Das, K.; Bouquegneau, J. M.; Blust, R. et Schepens, P. 2002. «Determination of organohalogenated contaminants in liver of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded on the Belgian North Sea coast». *Marine Pollution Bulletin*, volume 44, pp. 1152-1169.
- Das, K.; Vossen, A.; Tolley, K.; Víkingsson, G.; Thron, K.; Müller, G.; Baumgärtner, W. et Siebert, U. 2006. «Interfollicular fibrosis in the thyroid of the harbour porpoise: An endocrine disruption?». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, volume 51, pp. 720-729.
- De Guise, S.; Lagacé, A.; Béland, P.; Girard, C.; et Higgins, R. 1995. «Non-neoplastic lesions in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) and other marine mammals from the St. Lawrence Estuary». *Journal of Comparative Pathology*, volume 112, pp. 257-271.
- De Wit, C.; Alaee, M. et Muir, D. C. G. 2006. «Levels and trends of brominated flame retardants in the Arctic». *Chemosphere*, volume 64, pp. 209-233.
- Debier, C.; Ylitalo, G. M.; Weise, M.; Gulland, F.; Costa, D. P.; Le Boeuf, B. J.; De Tillesse, T.; Larondelle, Y. 2005. «PCBs and DDT in the serum of juvenile California sea lions: associations with vitamins A and E and thyroid hormones.» *Environmental Pollution*, volume 134, pp. 323-332.
- Devigne, C. 2003. «La contamination hépatique des bélugas (*Delphinapterus leucas*) du St- Laurent et du détroit d'Hudson par les biphényles polychlorés (BPC) et les pesticides organochlorés». Mémoire de maîtrise en océanographie. Rimouski: Université du Québec à Rimouski, 144 p.

- DFO, 2007. «Proceedings of the workshop on the St. Lawrence Estuary beluga – review of carcass program». *DFO Canadian Science Advisory Secretariat, Proceeding Series* 2007/005.
- Fisk, A. T.; Norstrom, R. J.; Cymbalisky, C. D. et Muir, D. C. G. 1998. «Dietary accumulation and depuration of hydrophobic organochlorines: Bioaccumulation parameters and their relationship with the octanol/water partition coefficient». *Environmental toxicology and chemistry*, volume 17, pp. 951-961.
- Gauthier, J. M.; Metcalfe, C. D. et Sears, R. 1997. «Chlorinated organic contaminants in blubber biopsies from northwestern Atlantic balaenopterid whales summering in the Gulf of St. Lawrence». *Marine Environmental Research*, volume 44, numéro 2, pp. 201-223.
- Gauthier, J. M.; Pelletier, É.; Brochu, C.; Moore, S.; Metcalfe, C. D. et Béland, P. 1998. «Environmental contaminants in tissues of a neonate St. Lawrence beluga whale (*Delphinapterus leucas*)». *Marine Pollution Bulletin*, volume 36, pp. 102-108.
- Gauthier, L. T.; Hebert, C. E.; Chipweseloh, D. V. et Letcher, R. J. 2008. «Dramatic changes in the temporal trends of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Herring gull eggs from the Laurentian Great Lakes: 1982-2006». *Environmental Science and Technology*, volume 42, pp. 1524-1530.
- Gebbink, W. A.; Sonne, C.; Dietz, R.; Kirkegaard, M.; Born, E. W.; Muir, D. C. G. et Letcher, R. J. 2008. «Target tissue selectivity and burdens of diverse classes of brominated and chlorinated contaminants in polar bears (*Ursus maritimus*) from East Greenland». *Environmental Science and Technology*, volume 42, pp. 752-759.
- Geraci, J. R. et Lounsbury, V. J. 2005. «Marine mammals ashore: a field guide for strandings». 2^{ème} édition. Baltimore: MD, National Aquarium in Baltimore. 372 p.
- Gosselin, J. F.; Lesage, V. et Robillard, A. 2001. «Population index estimate for the beluga of the St. Lawrence Estuary in 2000». Department of Fisheries and Oceans Canada, Canadian Science Advisory Secretariat Research Document 2001/049. 13 p.

- Hall, A. J. et Thomas, G. O. 2007. «Polychlorinated biphenyls, DDT, polybrominated diphenyl ethers and organic pesticides in United Kingdom harbour seals (*Phoca vitulina*)- mixed exposures and thyroid homeostasis.» *Environmental Toxicology and Chemistry*, volume 26, pp. 851-861,
- Hall, A. J.; Kalantzi, O. I. et Thomas, G. O. 2003. «Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in grey seals during their first year of life-are they thyroid hormone endocrine disrupters?.» *Environmental Pollution*, volume 126, pp. 29-37.
- Hammill, M. O.; Measures, L. N.; Gosselin, J. F. et Lesage, V. 2007. «Lack of recovery in the St. Lawrence Estuary beluga». *Canadian Science Advisory Secretariat Research Document 026/2007*.
- Hickie, B. E.; Kingsley, M. C. S.; Hodson, P. V.; Muir, D. C. G.; Béland, P. et Mackay, D. 2000. «A modelling-based perspective on the past, present, and future polychlorinated biphenyl contamination of the St. Lawrence beluga whale (*Delphinapterus leucas*) population». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 57, pp. 101-112.
- Hickie, B. E.; Mackay, D. et De Koning, J. 1999. «Lifetime pharmacokinetic model for hydrophobic contaminants in marine mammals». *Environmental Toxicology and Chemistry*, volume 18, numéro 11, pp. 2622-2633.
- Hickie, B. E.; Muir, D. C. G.; Addison, R. F. et Hoekstra, P. F. 2005. «Development and application of bioaccumulation models to assess persistent organic pollutant temporal trends in arctic ringed seal (*Phoca hispida*) populations». *Science of the Total Environment*, volume 351-352, pp. 413-426.
- Hites, R. A. 2006. «Brominated flame retardant in the Great Lakes. Dans: Persistent organic pollutant in the Great Lakes». *Handbook of environmental chemistry*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, volume 5. pp. 355-390.
- Hobbs, K. E.; Muir, D. C. G. et Mitchell, E. 2001. «Temporal and biogeographic comparisons of PCBs and persistent organochlorine pollutants in the blubber of fin whales from Eastern Canada in 1971-1991». *Environmental Pollution*, volume 114, pp. 243-254.
- Hobbs, K. E.; Muir, D. C. G.; Michaud, R.; Béland, P.; Letcher, R. J. et Norstrom, R. J. 2003. «PCBs and organochlorine pesticides in blubber biopsies from free-ranging St.

Lawrence River Estuary beluga whales (*Delphinapterus leucas*), 1994-1998». *Environmental Pollution*, volume 122, pp. 291-302.

Hornbuckle, K. C.; Carlson, D. L.; Swackhamer, D. L.; Baker, J. E. et Eisenreich, S. 2006. «Polychlorinated Biphenyls in the Great Lakes. Dans: Persistent organic pollutant in the Great Lakes». Handbook of environmental chemistry. Berlin, Germany: Springer-Verlag, volume 5, part N. pp. 13-70.

Houde, M.; Hoekstra, P. F.; Solomon, K. R. Et Muir, D. C. G. 2005. «Organohalogen contaminants in Delphinoid cetaceans.» *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, volume 184, pp. 1-57.

Ikonomou, M. G.; Sierra, R.; Addison, R. F. 2002. «Exponential increases of the brominated flame retardants, polybrominated diphenyl ethers, in the Canadian Arctic from 1981 to 2000». *Environmental Science and Technology*, volume 36, pp. 1886-1892.

Isobe, T.; Ochi, Y.; Ramu, K.; Yamamoto, T.; Tajima, Y.; Yamada, T. K.; Amano, M.; Miyazaki, N.; Takahashi, S. et Tanabe, S. 2009. «Organohalogen contaminants in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from Japan: Present contamination status, body distribution and temporal trends (1978–2003) ». *Marine Pollution Bulletin*, volume 58, pp. 396-401.

Jepson, P. D.; Bennett, P. M.; Allchin, C. R.; Law, R. J.; Kuiken, T.; Baker, J. R.; Rogan, E. et Kirkwood, J. K. 1999. «Investigating potential associations between chronic exposure to polychlorinated biphenyls and infectious disease mortality in harbour porpoises from England and Wales.» *The Science of the Total Environment*, volume 243/244, pp. 339-348.

Johnson-Restrepo, B.; Kannan, K.; Rapaport, D. P. et Rodan, B. D. 2005. «Polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue from New York». *Environmental Science and Technology*, volume 39, pp. 5177-5182.

Kajiwara, N.; Ueno, D.; Takahashi, A.; Baba, N. et Tanabe, S. 2004. «Polybrominated diphenyl ethers and organochlorines in archived northern fur seal samples from the Pacific coast of Japan, 1972-1998.» *Environmental Science and Technology*, volume 38, pp. 3804-3809.

- Kannan, K.; Blankenship, A. L.; Jones, P. D. et Giesy, J. P. 2000. «Toxicity reference values for the toxic effects of polychlorinated biphenyls to aquatic mammals.» *Human and Ecological Risk Assessment*, volume 6, pp. 181-201.
- Kannan, K.; Perrotta, E.; Thomas, N. J. et Aldous, K. M. 2007. «A comparative analysis of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in Southern Sea otters that died of infectious diseases and noninfectious causes.» *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, volume 53, pp. 293-302.
- Kawai, S.; Fukushima, M.; Miyazaki, N. et Tatsukawa, R. 1988. «Relationship between lipid composition and organochlorine levels in the tissues of striped dolphin.» *Marine Pollution Bulletin*, volume 19, numéro 3, pp. 129-133.
- Kiceniuk, J. W.; Holzbecher, J. et Chatt, A. 1997. «Extractable organohalogens in tissues of beluga whales from the Canadian Arctic and St. Lawrence estuary.» *Environmental Pollution*, volume 97, pp. 205-211.
- Krahn, M. M.; Herman, D. P.; Ylitalo, G. M.; Sloan, C. A.; Burrows, D. G.; Hobbs, R. C.; Mahoney, B. A.; Yanagida, G. K.; Calambokidis, J. et Moore, S. E. 2004. «Stratification of lipids, fatty acids and organochlorine contaminants in blubber of white whales and killer whales.» *Journal of Cetacean Research and Management*, volume 6, numéro 2, pp. 175-189.
- Law, R. J.; Alaei, M.; Allchin, C. R.; Boon, J. P.; Lebeuf, M.; Lepom, P. et Stern, G. A. 2003. «Levels and trends of polybrominated diphenylethers and other brominated flame retardants in wildlife.» *Environment International*, volume 29, pp. 775-770.
- Law, R. J.; Barry, J.; Bersuder, P.; Barber, J. L.; Deaville, R.; Reid, R. J. et Jepson, P. D. 2010. «Levels and trends of brominated diphenyl ethers in blubber of harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) from the U. K., 1992-2008.» *Environmental Science and Technology*, volume 44, pp. 4447-4451.
- Lebeuf, M. 2009. «La contamination du béluga de l'Estuaire du Saint-Laurent par les polluants organiques persistants.» *Revue des sciences de l'eau*, volume 22, pp. 199-233.

- Lebeuf, M. et Nunes, T. 2005. «PCBs and OCPs in sediment cores from the Lower St. Lawrence Estuary, Canada: Evidence of fluvial inputs and time lag in delivery to coring sites». *Environmental Science and Technology*, volume 39, pp. 1470-1478.
- Lebeuf, M.; Gouteux, B.; Measures, L. et Trottier, S. 2004. «Levels and temporal trends (1988-1999) of Polybrominated diphenyl ethers in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence Estuary, Canada». *Environmental Science and Technology*, volume 38, pp. 2971-2977.
- Lebeuf, M.; Noël, M.; Trottier, S. et Measures, L. 2007. «Temporal trends (1987-2002) of persistent, bioaccumulative and toxic (PBT) chemicals in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence Estuary, Canada». *The Science of the Total Environment*, volume 383, pp. 216-231.
- Lebeuf, M.; Trottier, S.; Noël, M.; Raach, M. et Measures, L. 2009. «A twenty year (1987-2007) trend of PBDEs in beluga from the St. Lawrence Estuary, Canada». Dans Proceeding of the 29th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (DIOXIN 2009), *Organohalogen Compounds*, volume 71, pp. 372-376.
- Letcher, R. J.; Norstrom, R. J.; Muir, D. C. G.; Sandau, C. D.; Koczanski, K.; Michaud, R.; DeGuise, S. et Béland, P. 2000. «Methylsulfone polychlorinated biphenyl and 2,2- (BIS) (chlorophenyl)-1, 1- dichloroethylene metabolites in beluga whale (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence River Estuary and western Hudson Bay, Canada». *Environmental toxicology and chemistry*, volume 19, pp. 1378-1388.
- Martineau, D.; Béland, P.; Desjardins, C. et Lagacé, A. 1987. «Levels of organochlorine chemicals in tissues of beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence Estuary, Québec, Canada». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, volume 16, pp. 137-147.
- Martineau, D.; DeGuise, S.; Fournier, M.; Shugart, L.; Girard, C.; Lagacé, A. et Béland, P. 1994. «Pathology and toxicology of beluga whales from the St. Lawrence Estuary, Quebec, Canada. Past, present and future». *The Science of the Total Environment*, volume 154, pp. 201-215.
- Martineau, D.; Lemberger, K.; Dallaire, A.; Labelle, P.; Lipscomb, T. P.; Michel, P. et Mikaelian, I. 2002. «Cancer in Wildlife, a Case Study: Beluga from the St. Lawrence

Estuary, Québec, Canada». *Environmental Health Perspectives*, volume 110, numéro 3, pp. 285-292.

Massé, R.; Martineau, D.; Tremblay, L. et Béland, P. 1986. «Concentrations and chromatographic profile of DDT metabolites and polychlorobiphenyl (PCB) residues in stranded beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence Estuary, Canada». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, volume 15, pp. 567-579.

McKinney, M. A.; De Guise, S.; Martineau, D.; Béland P.; Lebeuf, M. et Letcher, R. J. 2006. «Organohalogen contaminants and metabolites in beluga whale (*Delphinapterus leucas*) liver from two Canadian populations». *Environmental Toxicology and Chemistry*, volume 25, pp. 1246-1257.

Measures, L. 2008. «Les causes de mortalité du béluga du Saint-Laurent». *Le Naturaliste Canadien*, volume 132, pp. 75-79.

Merete Dahl, T.; Lydersen, C.; Kovacs, K. M.; Falk-Petersen, S.; Sargent, J.; Gjertz, I. et Gulliksen, B. 2000. «Fatty acid composition of the blubber in white whales (*Delphinapterus leucas*)». *Polar Biology*, volume 23, pp. 401-409.

Metcalf, C.; Metcalf, T.; Ray, S.; Paterson, G. et Koenig, B. 1999. «Polychlorinated biphenyls and organochlorine compounds in brain, liver and muscle of beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the Arctic and St. Lawrence estuary». *Marine Environmental Research*, volume 47, pp. 1-15.

Michaud, R. 1993. «Distribution estivale du béluga du Saint-Laurent; synthèse 1986 à 1992». Rapport Technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques, Document 1906, 28 p.

MPO, 2007. Compte-rendu de l'atelier de travail sur le béluga de l'estuaire du Saint-Laurent – revue de programme de suivi des carcasses. Secrétariat canadienne de consultation scientifique du MPO, Compte rendu, 2007/005.

- Muir, D. C. G.; Backus, S.; Derocher, A. E.; Dietz, R.; Evans, T. J.; Gabrielsen, G. W.; Nagy, J.; Norstrom, R. J.; Sonne, C.; Stirling, I.; Taylor, M. K. et Letcher, R. J. 2006. «Brominated flame retardants in polar bears (*Ursus maritimus*) from Alaska, the Canadian Arctic, East Greenland, and Svalbard». *Environmental Science and Technology*, volume 40, pp. 449-455.
- Muir, D. C. G.; Ford, C. A.; Rosenberg, B.; Norstrom, R. J.; Simon, M. et Béland, P. 1996. «Persistent organochlorines in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence River Estuary-I. Concentrations and patterns of specific PCBs, chlorinated pesticides and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans». *Environmental Pollution*, volume 93, pp. 219-234.
- Muir, D. C. G.; Ford, C. A.; Stewart, R. E. A.; Smith, T. G.; Addison, R. F.; Zinck, M. E. et Béland, P. 1990. «Organochlorine contaminants in belugas, *Delphinapterus leucas*, from Canadian waters». *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Science*, volume 224, pp. 165-190.
- Muir, D. C. G.; Koczanski, K.; Rosenberg, B. et Béland, P. 1996. «Persistent organochlorines in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence River Estuary-II. Temporal trends, 1982-1994». *Environmental Pollution*, volume 93, pp. 235-245.
- Muir, D.; Braune, B.; DeMarch, B.; Norstrom, R.; Wagemann, R.; Lockhart, L.; Hargrave, B.; Bright, D.; Addison, R.; Payne, J. et Reimer, K. 1999. «Spatial and temporal trends and effects of contaminants in the Canadian Arctic marine ecosystem: a review». *The Science of the Total Environment*, volume 230, pp. 83-144.
- Myers, R. A.; Hutchings, J. A. et Barrowman, N. J. 1997. «Why do fish stocks collapse? The example of cod in Atlantic Canada». *Ecological Applications*, volume 7, numéro 1, pp. 91-106.
- Norstrom, R. J.; Simon, M.; Moisey, J.; Wakeford, B. et Chipweseloh, D. V. 2002. «Geographical distribution (2000) and temporal trends (1981-2000) of brominated diphenyl ethers in Great Lakes herring gull eggs». *Environmental Science and Technology*, volume 36, pp. 4783-4789.

- Pierce, G. J.; Santos, M. B.; Murphy, S.; Learmonth, J. A.; Zuur, A. F.; Rogan, E.; Bustamante, P.; Caurant, F.; Lahaye, V.; Ridoux, V.; Zegers, B. N.; Mets, A.; Addink, M.; Smeenk, C.; Jauniaux, T.; Law, R. J.; Dabin, W.; López, A.; Alonso Farré, J. M.; González, A. F.; Guerra, A.; García-Hartmann, M.; Reid, R. J.; Moffat, C. F.; Lockyer, C. et Boon, J. P. 2008. «Bioaccumulation of persistent organic pollutants in female common dolphins (*Delphinus delphis*) and harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from western European seas: geographical trends, causal factors and effects on reproduction.» *Environmental Pollution*, volume 153, pp. 401-415.
- Ramu, K.; Kajiwara, N.; Tanabe, S.; Lam, P. K. S. et Jefferson, T. A. 2005. «Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and organochlorines in small cetaceans from Hong Kong waters: levels, profiles and distribution». *Marine Pollution Bulletin*, volume 51, pp. 669-676.
- Rayne, S.; Ikonomou, M. G.; Ross, P. S.; Ellis, G. M. et Barrett-Lennard, L. G. 2004. «PBDEs, PBBs, and PCNs in three communities of free-ranging killer whales (*Orcinus orca*) from the Northeastern Pacific Ocean». *Environmental Science and Technology*, volume 38, pp. 4293-4299.
- Reddy, M. L.; Reif, J. S., Bachand, A.; Ridgway, S. H. 2001. «Opportunities for using Navy marine mammals to explore associations between organochlorine contaminants and unfavorable effects on reproduction.» *Science of the Total Environment*, volume 274, pp. 171-182.
- Reeves, R. R. 1990. «An overview of the distribution, exploitation and conservation status of belugas, worldwide». Dans : Pour l'avenir du béluga : compte rendu du forum international pour l'avenir du béluga. pp. 47-58. Tadoussac, Québec : Les Presses de l'Université du Québec.
- Reeves, R. R.; Stewart, B. S.; Clapham, P. J. et Powell, J. A. 2002. «Sea mammals of the world, a complete guide to whales, dolphins, seals, sea lions and sea cows». 1^{ère} édition. London: A&C Black Publishers Ltd. 527p.
- Reijnders, P. J. H. 1986. «Reproductive failure in common seals feeding on fish from polluted coastal waters.» *Nature*, volume 324, pp. 456-457.

- Rice, D. W. 1998. «Marine mammals of the world, systematics and distribution», special publication n° 4. The society for Marine Mammalogy series Editor (USA): Douglas Wardzok. 227p.
- Rigét, F.; Vorkamp, K.; Dietz, R. et Rastogi, S. C. 2006. «Temporal trend studies on polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in ringed seals from East Greenland». *Journal of Environmental Monitoring*, volume 8, pp. 1000-1005.
- Ross, P. S.; Couillard, C. M.; Ikonomou, M. G.; Johannessen, S. C.; Lebeuf, M.; McDonald, R. W. et Tomy, G. T. 2009. «Large and growing environmental reservoirs of Deca-BDE present an emerging health risk for fish and marine mammals». *Marine Pollution Bulletin*, volume 58, numéro 1, pp. 7-10.
- Saint-Louis, R. et Pelletier, É. 2005. «Unsuspected organic pollutants in marine mammals : halogenated naphthols. » *Baseline/Marine Pollution Bulletin*, volume 50, pp. 889-903.
- Samuel, A. M. et Worthy, G. A. J. 2004. «Variability of fatty acid composition of bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) blubber as a function of body site, season, and reproductive state». *Canadian Journal of Zoology*, volume 82, pp. 1933-1942.
- Sergeant, D. E. et Hoek, W. 1988. «An update of the status of white whales *Delphinapterus leucas* in the Saint Lawrence Estuary, Canada». *Biological conservation*, volume 45, pp. 287-302.
- Shaw, S. D. et Kannan, K. 2009. «Polybrominated diphenyl ethers in marine ecosystems of the American continents: Foresight from current knowledge». *Reviews of Environmental Health*, volume 24, pp. 157-229.
- Shaw, S. D.; Brenner, D.; Berger, M. L.; Fang, F.; Hong, C.; Addink, R. et Hilker, D. 2008. «Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers in harbour seals from the Northwest Atlantic». *Chemosphere*, volume 73, pp. 1773-1780.
- Stewart, R. E. A.; Campana, S. E.; Jones, C. M. et Stewart, B. E. 2006. «Bomb radio dating calibrates beluga (*Delphinapterus leucas*) age estimates». *Canadian Journal of Zoology*, volume 84, pp. 1840-1852.

- Strandberg, U.; Käkälä, A.; Lydersen, C.; Kovacs, K. M.; Grahl-Nielsen, O.; Hyvärinen, H. et Käkälä, R. 2008. «Stratification, composition, and function of marine mammal blubber: The ecology of fatty acids in marine mammals». *Physiological and Biochemical Zoology*, volume 81, numéro 4, pp. 473-485.
- Tanabe, S. 1988. «PCB problems in the future: Foresight from current knowledge». *Environmental Pollution*, volume 50, pp. 5-28.
- Thomas, G. O.; Moss, S. E. W.; Asplund, L. et Hall, A. J. 2005. «Absorption of decabromodiphenyl ether and other organohalogen chemicals by grey seals (*Halichoerus grypus*).» *Environmental Pollution*, volume 133, pp. 581-586.
- Union Européenne, 2003. «Directive 2003/11/CE du parlement Européen et du conseil du 6 février 2003 portant vingt-quatrième modification de la directive 76/769/CEE du Conseil relative à la limitation de la mise sur le marché et de l'emploi de certaines substances et préparations dangereuses (pentabromodiphényléther, octabromodiphényléther)» Dans UE-DIRECTIVE 2003/11/CE [en ligne]. <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:042:0045:0046:fr:PDF>>. Consulté en Mai 2009.
- Vladykoff, V. D. 1944. «Chasse, biologie et valeur économique du marsouin blanc ou beluga (*Delphinapterus leucas*) du fleuve et du golfe Saint-Laurent». Contribution du département des pêcheries du Québec, n° 14.
- Wolkers, H.; Hammill, M. O. et Van Bavel, B. 2006b. «Tissue-specific accumulation and lactational transfer of polychlorinated biphenyls, chlorinated pesticides, and brominated flame retardants in hooded seals (*Cistophora cristata*) from the Gulf of St. Lawrence: Applications for monitoring». *Environmental Pollution*, volume 142, pp. 476-486.
- Wolkers, H.; Lydersen, C.; Kovacs, K. M.; Burkow, I. et Van Bavel, B. 2006a. «Accumulation, metabolism and food-chain transfer of chlorinated and brominated contaminant in sub adult white whales (*Delphinapterus leucas*) and narwhals (*Monodon monoceros*) from Svalbard, Norway.» *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, volume 50, pp. 69-78.

- Wolkers, H.; Van Bavel, B.; Derocher, A. E.; Wiig, Ø.; Kovacs, K. M.; Lydersen, C. et Lindström, G. 2004. «Congener-specific accumulation and food chain transfer of polybrominated diphenyl ethers in two arctic food chains». *Environmental Science Technology*, volume 38, pp. 1667-1674.
- Zar, J. H. 2010. «*Biostatistical Analysis*». 5^{ème} édition. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice-Hall, 944p.
- Zhu, L. Y. et Hites, R. A. 2004. «Temporal trends and special distributions of brominated flame retardants in archived fishes from the Great Lakes». *Environmental Science and Technology*, volume 38, pp. 2779-2784.

