

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

IMPACT DU DÉVERSEMENT PÉTROLIER «DEEPWATER HORIZON» SUR LE
STATUT ENDOCRINIEN D'UN OISEAU MIGRATEUR : CAS DU FOU DE BASSAN
(*MORUS BASSANUS*) DE L'ÎLE BONAVENTURE HIVERNANT DANS LE GOLFE
DU MEXIQUE

MÉMOIRE PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR
CYNTHIA DANIELA FRANCI

JUILLET 2013

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal 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 Montréal 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.»

AVANT-PROPOS

Ce projet de maîtrise s'inscrit au sein de la Chaire de recherche du Canada en toxicologie comparée des espèces aviaires dirigée par Dr Jonathan Verreault. Cette étude avait pour objectif de développer des outils pertinents pour l'évaluation des impacts d'une exposition sous-létale aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) présents dans le milieu marin lors de déversements de pétrole (cas étudié : «*Deepwater Horizon*» dans le Golfe du Mexique) sur la reproduction d'une espèce migratrice, le fou de bassan (*Morus bassanus*), nichant à l'île Bonaventure. La particularité de ce projet réside dans le suivi des oiseaux lors de leur migration vers une aire d'hivernage contaminée (vs une aire peu ou pas contaminée) par géolocalisation (consignateur d'intensité lumineuse). Les approches analytiques utilisées consistaient en l'identification et le dosage des HAPs présents dans les cellules sanguines de ces oiseaux ainsi que le dosage de deux hormones ayant un rôle clé lors de la reproduction. Plus précisément, cette étude avait pour objectif de comparer les taux hormonaux de fou de bassan de l'île Bonaventure en lien avec leur niveau de contamination selon leur lieu de migration, ainsi que l'évolution de ces variables physiologiques lors de la période d'incubation.

Le présent document est divisé en deux chapitres. Le premier est consacré à l'état des connaissances reliées à la contamination des milieux marins par le pétrole et les caractéristiques chimiques et toxicologiques de ces composantes; une description de la reproduction chez le fou de bassan et sa vulnérabilité face à une contamination au pétrole; l'opportunité d'étude que cela représente dans le cas du déversement «*Deepwater Horizon*»; ainsi que l'importance d'une telle étude. Le second chapitre présente les résultats obtenus lors de ce projet et est rédigé sous forme d'article scientifique en anglais. Ce dernier traite de la différence entre les concentrations hormonales (corticotérostérone et prolactine) des fous de bassan selon leur lieu de migration, leur taux de contamination et la période dans l'incubation. Cet article sera soumis à la revue «*Science of the Total Environment*». Lors de ce projet, j'ai pris en charge l'organisation et la récolte des échantillons sur le terrain avec l'aide d'étudiants stagiaires de l'UQÀR (sous la direction de Dr Magella Guillemette) et de bénévoles. J'ai également réalisé l'analyse des données ainsi que la rédaction de l'article et

de ce mémoire, avec l'aide de mon directeur de recherche Dr Jonathan Verreault et de mon co-directeur Dr Émilien Pelletier.

L'étude faisant l'objet de ce mémoire est importante de par l'originalité de son approche face à une problématique actuelle et inquiétante. Plusieurs études ont été réalisées quant à l'impact direct (à court et à long terme) de la présence de pétrole dans l'écosystème marin suite à un déversement de pétrole. Toutefois, celles-ci portent majoritairement sur des espèces locales. Notre étude étend la réflexion et émet l'hypothèse que les oiseaux non-résidents exposés à ces déversements pourraient souffrir d'effets différés et ainsi voir leur succès de reproduction amoindri plusieurs mois après une exposition au pétrole. De plus, les études effectuées sur les oiseaux marins suite à ces catastrophes écologiques sont souvent incomplètes due à l'absence de données sur la provenance des oiseaux touchés. L'approche expérimentale de cette étude comble en partie cette lacune. Malgré certaines contraintes expérimentales, cette étude ouvre la porte à d'autres études de la sorte afin de mieux comprendre le portrait global des impacts d'un déversement de pétrole, incluant les effets sur les espèces migratrices.

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche Dr Jonathan Verreault pour m'avoir donné l'occasion de travailler sur ce projet de recherche fascinant et actuel. Je tiens également à le remercier de m'avoir fait confiance au point de me laisser organiser les différents volets de ce projet et ainsi de me permettre de bien comprendre et apprécier les divers aspects de la gestion et de la réalisation d'un projet de recherche.

Je souhaite remercier mon co-directeur, Dr Émilien Pelletier, ainsi que Mathieu Babin pour leur supervision lors des analyses de contaminants par HPLC-FLD lors de mon séjour à l'ISMER-UQÀR. Je remercie également l'équipe de Dr Magella Guillemette pour leur aide sur le terrain (Sylvain Christin et Isabeau Pratte) ainsi que pour l'analyse des données de consigneurs d'intensité lumineuse (Salomé Bonnefoi et Gabrielle Robineau-Charette). Merci aussi à Dr Olivier Chastel et Charline Parenteau pour leur participation au projet en lien avec l'analyse de la prolactine.

J'aimerais également remercier du fond du cœur les personnes qui ont bien voulu m'accompagner bénévolement sur le terrain : Émilie De Champlain, Josée Dumas-

Campagna, Lynn Miller ainsi que les stagiaires d'un jour. Merci pour l'intérêt démontré envers ce projet de recherche et merci d'avoir également agrémente l'expérience sur le terrain de soupers animés et hilarants! Merci également à mes collègues de laboratoire : Marie-Line Gentes, Élyse Caron-Beaudoin, Bernice Chabot-Giguère, Stéphanie Pellerin-Ploude, Dr Sarah Martinson, Veronica Aponte, David Hernando Sánchez Ilano pour nos discussions divertissantes. Je tiens aussi à remercier Vicky Doré pour ses conseils au laboratoire.

Je dis un gros merci à mes parents pour leur encouragements, l'intérêt porté à mes études et leur soutien moral. Merci également à Francis Beaudet qui a su me faire sourire malgré la distance, lors de mes séjours à Percé ou à Rimouski. Merci pour ton écoute, ton soutien et ton amour.

Je remercie finalement le CRSNG pour leur soutien financier via la bourse *Alexander Graham-Bell* ainsi que l'attribution de fonds de recherche à Dr Jonathan Verreault, ce qui m'a permis de m'investir à temps plein sur ce projet de recherche durant les deux dernières années. Merci également à la fondation de l'Université du Québec à Montréal pour leur aide par l'entremise de bourse *Fonds à l'accessibilité et à la réussite des études* (FARE).

TABLE DES MATIÈRES

LISTES DES FIGURES	xi
LISTE DES ANNEXES.....	xiii
LISTE DES ABBRÉVIATIONS	xv
RÉSUMÉ	xvii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I	
ÉTAT DES CONNAISSANCES.....	3
1.1 Contamination de l'environnement : introduction du pétrole	3
1.1.1 Exploitation pétrolière en eaux profondes : le cas du «Deepwater Horizon»	3
1.1.2 Dynamique des HAPs dans l'environnement	4
1.1.3 Contamination et toxicité reliées aux HAPs chez les oiseaux aquatiques....	7
1.2 Le Fou de bassan (<i>Morus bassanus</i>) : une opportunité d'étude	9
1.2.1 Écologie de la reproduction	10
1.2.1.1 Rôle de la prolactine.....	11
1.2.1.2 Influence de la corticostérone	12
1.3 Conservation et géolocation	14
1.4 Objectifs et hypothèses de recherche	15
CHAPITRE II	
ENDOCRINE STATUS OF MIGRATORY BIRDS EXPOSED TO THE <i>DEEPWATER HORIZON</i> OIL SPILL : A CASE STUDY OF NORTHERN GANNETS BREEDING ON THE BONAVENTURE ISLAND, EASTERN CANADA.....	19
2.1 Abstract.....	20

2.2 Introduction	21
2.3 Material and methods	24
2.3.1 Study area and sample collection	24
2.3.2 Telemetry data analysis	25
2.3.3 Chemical analysis	27
2.3.4 Prolactin analysis	28
2.3.5 Corticosterone analysis	28
2.3.6 Data treatment	28
2.4 Results	29
2.4.1 Wintering site determination	29
2.4.2 Body mass	30
2.4.3 PAH determination	31
2.4.4 Prolactin	31
2.4.5 Corticosterone	32
2.5 Discussion	33
2.5.1 Wintering site, population trends, and reproductive success	33
2.5.2 Body mass variation	35
2.5.3 Oil (PAHs) levels in gannets	35
2.5.4 Hormonal status and parental behavior	36
2.6 Conclusions	37
2.7 Acknowledgements	38
CONCLUSION	39
ANNEXE	43

BIBLIOGRAPHIE 45

LISTE DES FIGURES

Figures

Page

1.1 Formules structurales des 16 HAPs classés comme polluants prioritaires par l'US EPA (Harmens <i>et al.</i> , 2013)	5
2.1 Mean (\pm SD) body mass (g) of northern gannets during early and late incubation categorized by wintering site (Gulf of Mexico [n=3] and Atlantic Coast [n=14])....	30
2.2 Mean (\pm SD) plasma prolactin levels (ng/mL) in northern gannets during early and late incubation period categorized by wintering site (Gulf of Mexico [n=6] and Atlantic Coast [n=20]).....	32
2.3 Mean (\pm SD) plasma corticosterone levels (ng/mL) in northern gannets during early and late incubation period categorized by wintering site (Gulf of Mexico [n=5] or Atlantic Coast[n=20])... ..	33

LISTE DES ANNEXES

Tableaux	Page
A.1 List of PAH compounds screened in northern gannet red blood cells and method limits of detection (MLODs) and method limits of quantification (MLOQs).....	43

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACTH	Adrénocorticotrophine
ANOVA	Analysis of variance
CA	Côte Atlantique
CYP1A	Cytochrome P450 1A
EPA	Environmental Protection Agency (É-U)
FLD	Détecteur de fluorescence
GM	Golfe du Mexique
GSH	Glutathion
HAPs	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HPA	Hypothalamique-pituitaire-corticosurrénale
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
MLOD	Method limit of detection
MLOQ	Method limit of quantification
QA/QC	Quality Assurance/ Quality Control
SPE	Solid-phase extraction

RÉSUMÉ

L'explosion de la plateforme de forage «Deepwater Horizon» dans le Golfe du Mexique en avril 2010 a provoqué le déversement d'un grand volume de pétrole brut dans les eaux de la région ce qui a conduit à des répercussions importantes sur la faune locale. Les impacts d'une telle catastrophe à long terme sur les oiseaux de mer ont peu été étudiés par la communauté scientifique. Pourtant, les effets délétères induits par l'action des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) contenus dans le pétrole brut représentent la principale source d'inquiétude d'une exposition chronique sous-létale.

L'île Bonaventure, situé dans le parc national de l'île-Bonaventure-et-du-Rocher-Percé, accueille l'une des plus grandes colonies de fous de bassan (*Morus bassanus*) au monde. Environ un quart de cette colonie migre dans le Golfe du Mexique une fois la saison de reproduction terminée, courant ainsi le risque d'être exposé au pétrole déversé soit directement (ingestion et absorption dermique) ou indirectement (consommation de proies contaminées). Une contamination au pétrole peut engendrer une détérioration de la condition physiologique des oiseaux exposés et altérer, entre autres, le fonctionnement du système endocrinien. Ainsi, il est justifié de craindre une portée sur la santé de ces oiseaux et donc, ultimement sur la dynamique de population de cette colonie (taux de survie, succès de reproduction, etc.).

Cette étude avait pour but d'évaluer les effets potentiels de l'exposition aux HAPs, provenant du pétrole déversé dans le Golfe du Mexique, sur la santé de 34 fous de bassan de l'île Bonaventure lors de la période d'incubation à l'été 2011. Le premier objectif spécifique était de déterminer le lieu d'hivernage des fous de bassan à l'étude, soit le Golfe du Mexique ou la côte Atlantique, à l'aide de consigneurs d'intensité lumineuse afin de cibler les oiseaux potentiellement exposés au pétrole. Le second objectif consistait à déterminer le profil de contamination (HAPs) des oiseaux ainsi que de doser les concentrations hormonales (prolactine et corticostérone) circulant chez ces oiseaux. Finalement, il était question de mettre en relation le lieu d'hivernage, le profil de contamination et les concentrations hormonales des oiseaux en fonction du temps dans l'incubation (tôt ou tard). Il était attendu que les oiseaux ayant fréquenté le Golfe du Mexique aient des concentrations d'HAPs supérieures aux oiseaux de la côte Atlantique et que leurs concentrations en corticostérone et prolactine en soient affectés ce qui diminuerait leur succès de reproduction. Les concentrations sanguines en HAPs se sont révélées être sous les limites de détection de l'instrument analytique (HPLC). De plus, les concentrations hormonales ne semblaient pas différer selon le lieu de migration des oiseaux, ni le temps dans l'incubation. Leur succès de reproduction ne semblait pas affecté à l'été 2011. Toutefois, l'absence d'effets visibles au niveau de la reproduction de ces oiseaux n'implique pas nécessairement une absence d'impact physiologique. Finalement, cette étude a permis de démontrer l'utilité de la géolocalisation dans un contexte d'étude d'impact lors de déversement pétrolier, ce qui n'avait encore jamais été fait.

Mots clés : prolactine, corticostérone, HAPs, Golfe du Mexique, Sulidae, oiseaux de mer

INTRODUCTION

L'or noir est une richesse inestimable qui fait l'objet d'une perpétuelle quête justifiée par le besoin, toujours grandissant, de cette ressource dans le secteur énergétique (RNCAN, 2010). Ayant un poids considérable sur le plan économique également, l'exploitation de cette ressource non renouvelable s'effectuera fort probablement jusqu'à son épuisement définitif, mais à quel prix?

L'exploitation pétrolière n'est pas sans conséquence pour l'environnement. De nombreux déversements de petites envergures se produisent annuellement. À l'occasion, un important accident a lieu introduisant une quantité faramineuse de pétrole dans les écosystèmes marins. C'est ce qui s'est produit dans le Golfe du Mexique, entre le 20 avril et le 15 juillet 2010, où plus de 780 millions de litres de pétrole brut ont été libérés dans l'environnement marin suite à l'explosion de la plateforme «*Deepwater Horizon*» (Bélaïr-Cirino, 2010; BP, 2010a; Camilli *et al.*, 2010).

La présence d'une grande quantité de pétrole dans l'environnement marin entraîne la mort de plusieurs organismes, incluant les oiseaux de mer (Whitacre, 2008; Castege *et al.*, 2007; Heubeck *et al.*, 2003), dont la vulnérabilité découle de leur dépendance envers cet écosystème pour s'y alimenter, ce qui augmente également leur risque d'exposition à des concentrations importantes d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) retrouvé dans le pétrole (Perez *et al.*, 2008; Wells *et al.*, 1995; Whitacre, 2008; Reid *et al.*, 2001). La présence de ce pétrole à la surface de l'eau peut entrer en contact avec le plumage des oiseaux marins et augmenter ainsi leur risque de mortalité par hypothermie et limiter leur capacité à s'alimenter due à une imperméabilité réduite du plumage (Troisi *et al.*, 2006; Balseiro *et al.*, 2005; Stephensen, 1997; Wells *et al.*, 1995). D'autre part, l'ingestion de pétrole ou la consommation de proies contaminées peut entraîner des répercussions à long terme (Alsop III, 2004; Golet *et al.*, 2002; Wells *et al.*, 1995; Gorsline and Holmes, 1981). Une contamination chronique à des concentrations sous-létales de pétrole peut notamment mener à une détérioration importante de la condition physique des oiseaux exposés (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007; Troisi *et al.*, 2006; Burger

and Fry, 1993). En effet, elle peut induire des dommages structuraux à plusieurs niveaux de l'organisation biologique et affecter divers processus physiologiques dont la réponse hormonale (Verboven *et al.*, 2010 ; Whitacre, 2008; Chastel *et al.*, 2004; Rattner *et al.*, 1984). Ces effets subtils pourraient diminuer le succès de reproduction ou le taux de survie des individus atteints, ce qui pourrait ultimement jouer sur la dynamique de population des espèces touchées (Whitacre, 2008; Castege *et al.*, 2007; Golet *et al.*, 2002).

Le Golfe du Mexique, où le récent déversement de pétrole a eu lieu, supporte de nombreuses espèces d'oiseaux de mer en hiver, notamment le fou de bassan (Montevecchi *et al.*, 2011; Clapp *et al.*, 1982; Moisan et Scherrer, 1973). Ces oiseaux migrateurs nichent essentiellement dans le Golfe du Saint-Laurent et à Terre-Neuve (Nelson, 2001). En 2008, plus de 58 000 couples de fous de bassan constituaient la colonie de l'île Bonaventure dans le parc national de l'île-Bonaventure-et-du-Rocher-Percé au Québec, s'y regroupant pour la saison de reproduction (Réseau Sépaq, 2011b). Il a été démontré qu'environ un quart des fous de bassan de l'Amérique du Nord migre dans le Golfe du Mexique pour y passer l'hiver (Montevecchi *et al.*, 2011).

L'accessibilité des fous de bassan de la colonie de l'île Bonaventure facilite la récolte d'informations (démographiques, phénologiques, etc.) permettant d'étudier l'impact d'un déversement de pétrole dans l'aire d'hivernage d'une fraction de la population d'une espèce migratrice du Québec. Ce projet de recherche consiste donc à évaluer les effets potentiels de l'exposition au pétrole déversé sur les fonctions endocriniennes (corticotérostérol et prolactine) et la reproduction des fous de bassan de l'île Bonaventure ayant hiverné dans le Golfe du Mexique (population potentiellement contaminée), comparativement à ceux qui auront séjourné sur la côte Atlantique (population référence).

CHAPITRE 1

ÉTAT DES CONNAISSANCES

1.1 Contamination de l'environnement: déversement de pétrole

Le transport océanique du pétrole a donné lieu à plusieurs grands déversements impliquant des pétroliers de forts tonnages dont: le pétrolier *Exxon Valdez* qui s'est échoué près de côtes de l'Alaska en 1989 et l'*Erika* qui a coulé près des côtes Bretonnes en 1999. En 2002, le bris de la coque du *Prestige* a causé l'écoulement de son cargo sur les côtes de l'Espagne et de la France (Whitacre, 2008; Castege *et al.*, 2007; Balseiro *et al.*, 2005; Heubeck *et al.*, 2003), causant de nombreuses mortalités chez les espèces marines (Whitacre, 2008; Castege *et al.*, 2007; Heubeck *et al.*, 2003). La pollution marine liée au pétrole étant majoritairement reliée au transport de cette ressource, qu'en est-il de son exploitation?

1.1.1 Exploitation pétrolière en eaux profondes: cas de la plateforme «Deepwater Horizon»

À la fin du XX^e siècle, la demande toujours croissante d'hydrocarbures en Amérique du Nord, utilisés majoritairement dans le secteur énergétique (RNCAN, 2010), et la crainte d'épuiser les ressources en eaux peu profondes, justifient l'augmentation des efforts de forage en eaux profondes dans la région du Golfe du Mexique (MMS, 2004). Motivée par la politique gouvernementale américaine réduisant les redevances sur l'exploitation pétrolière en eaux très profondes, la compagnie «British Petroleum» (BP) propose, en 2009, de réaliser le forage en mer le plus profond au monde. Elle loue alors la plate-forme de forage pétrolière «Deepwater Horizon» et la positionne à 40 km des côtes américaines au large de la Louisiane (Eilperin, 2010). Le 20 avril 2010, l'explosion de cette même plate-forme de forage a entraîné l'introduction de 780 millions de litres de pétrole brut dans l'environnement marin du Golfe du Mexique (20 avril au 15 juillet 2010) et la formation d'une énorme marée noire près des côtes de la Louisiane, du Mississippi et de l'Alabama (Bélaïr-Cirino, 2010; BP, 2010a; BP, 2010b; Hagerty, 2010). Un déversement de cette importance, le pire de l'histoire des États-Unis, ne peut qu'entraîner de nombreuses

conséquences néfastes sur les plans politique, économique et environnemental (Bélaïr-Cirino, 2010; BP, 2010a; BP, 2010b; Hagerty, 2010).

1.1.2 Dynamique des HAPs dans l'environnement

Le pétrole brut (hydrocarbures) est composé majoritairement de chaînes carbonées et de cycles de carbone (alcanes, cycloalcanes, composés aromatiques et asphalthènes), mais également d'hétérocycles contenant du soufre et de l'azote, souvent très toxiques (Legault, 2007; Hyne, 2001). La diversité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) au niveau de leur structure moléculaire leur confère des caractéristiques physico-chimiques et toxicologiques très différentes les unes des autres (Fig. 1) (Leaute, 2008; Stellman et Dufresne, 2000; Neilson and Hutzinger, 1997), permettant de les classer en trois groupes. Les composés du premier groupe, dit légers (2-3 cycles; p.m. 152-178), ont une solubilité et une volatilité élevées et ont généralement une forte toxicité à court terme (ex. : naphthalène, acénaphthène, fluorène, anthracène et phénanthrène) (INERIS, 2005). Les HAPs dits intermédiaires (4 cycles; p.m. environ 202), incluent le fluoranthène et le pyrène. Les HAPs lourds (4-6 cycles; p.m. 228-278) ont une forte capacité de sorption et certains sont considérés comme étant cancérigènes (ex. : benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(a)pyrène et dibenzo(ah)anthracène) (Leaute, 2008).

L'utilisation de dispersants chimiques est une pratique courante lors de déversements afin de réduire la concentration de pétrole retrouvée à la surface de l'eau (marée noire). Cette pratique vise à favoriser la dissolution et la dispersion du pétrole dans la colonne d'eau (Leaute, 2008 ; Pêche et Océans Canada, 2004; Eastin and Rattner, 1982), où elle devient moins visible à la surface, ce qui ne réduit en rien les conséquences causées dans l'écosystème marin.

Dans la colonne d'eau, les HAPs se distribuent entre les phases liquide, solide ou gazeuse selon leurs caractéristiques physico-chimiques et celles des phases en question (Leaute, 2008; INERIS, 2005). Les principaux processus influençant la demi-vie des HAPs dans l'eau sont : la volatilisation, la photolyse, l'hydrolyse, la biodégradation, l'adsorption à la matière particulaire et la sédimentation (Santé Canada, 2007; Neilson and Hutzinger, 1997).

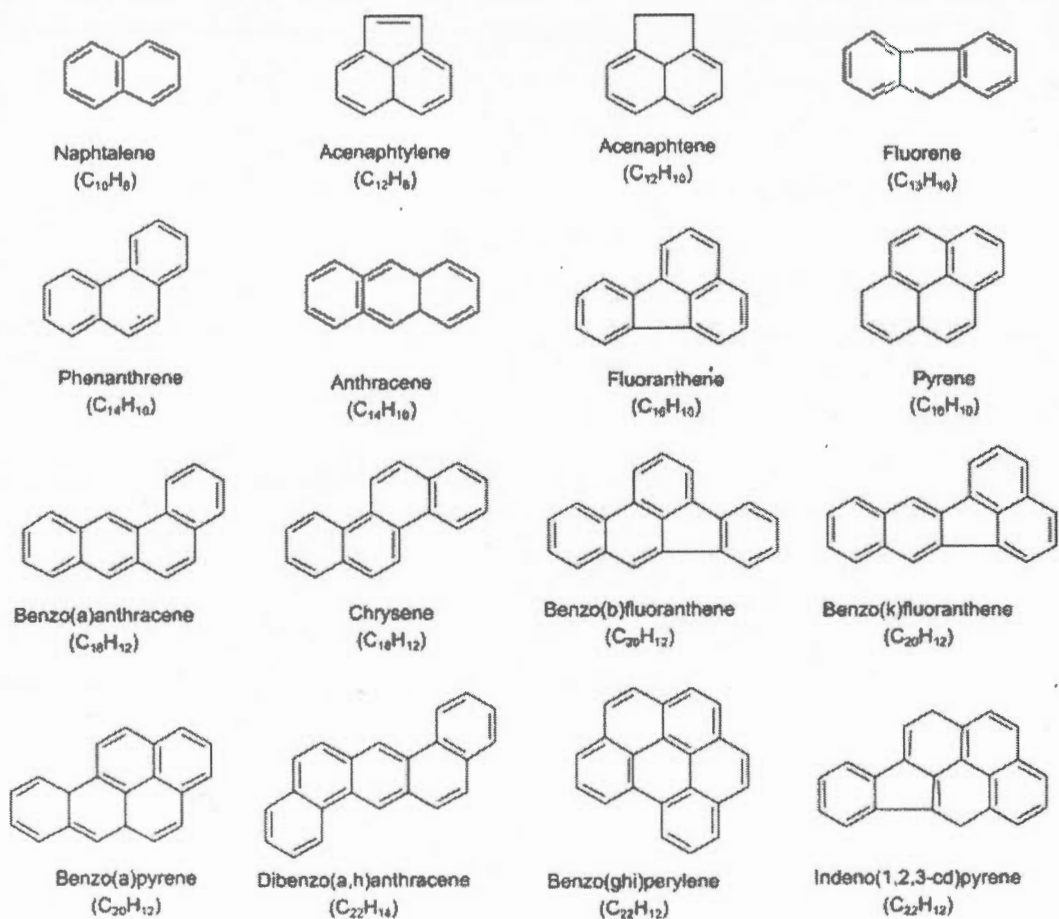


Figure 1 : Formules structurales des 16 HAPs classés comme polluants prioritaires par l'US EPA (Harmens *et al.*, 2013).

Généralement, les HAPs sont associés à de la matière particulaire en raison de leur faible solubilité (30mg/L pour les composés légers et 10⁻⁴mg/mL pour les lourds) et volatilité (à l'exception des composés à 2-3 cycles aromatiques) (Leaute, 2008; INERIS, 2005). La sédimentation des composés adsorbés à la matière particulaire est un processus qui diminue la biodisponibilité des HAPs pour la plupart des organismes se trouvant dans la colonne d'eau, mais l'augmente toutefois pour la faune benthique. La quantité de contaminants pouvant sédimenter dépend de la quantité d'HAPs volatilisés, dégradés ou transportés par les eaux de surface, les eaux d'infiltration ou les eaux souterraines (Leaute, 2008; INERIS, 2005). Ces composés peuvent toutefois être remis en suspension et se retrouver de nouveau dans la colonne d'eau (Santé Canada, 2007).

Outre les caractéristiques physiques influençant la demi-vie des hydrocarbures pétroliers dans l'environnement marin, la plupart de ces HAPs sont biodégradables en conditions aérobies, bien que quelques composés trouvés dans le pétrole brut, tels les molécules polaires et les asphaltènes, aient des taux de biodégradation pratiquement imperceptibles (Atlas, 2011). Les bruts plus légers, comme celui déversé dans le Golfe du Mexique (type Macondo 252) se caractérisent par une proportion plus élevée d'hydrocarbures légers. Ceci facilite grandement leur biodégradation par les micro-organismes contrairement aux bruts lourds comme celui déversé par l'Exxon Valdez (Atlas, 2011).

Dans le cas du déversement «Deepwater Horizon», près de 40% du pétrole déversé s'est retrouvé dans la colonne d'eau (Atlas, 2011). Les échantillons prélevés dans le panache de pétrole par Camilli *et al.* (2010) ont révélé un apport journalier en hydrocarbures monoaromatiques (benzène, toluène et xylène) d'au moins 5500 kg, ce qui représente plus de deux fois la quantité totale retrouvée dans les écoulements naturels du nord du Golfe du Mexique. Toutefois, l'atténuation rapide de la quantité de pétrole présente dans le Golfe du Mexique est due à plusieurs paramètres dont le type de brut, divers processus physiques (dont l'évaporation) (Atlas, 2011), ainsi que l'adaptation des microorganismes responsable de la biodégradation induit par l'écoulement naturel de pétrole dans le Golfe du Mexico. Néanmoins, dans les zones de fortes concentrations de pétrole, ces processus pourraient prendre des mois voire des années pour réduire les concentrations en HAPs introduites suite à un déversement (Atlas, 2011).

À ce jour, environ 130 HAPs ont été identifiés (sources naturelles et anthropiques). Toutefois, seulement une partie est quantifiée lors d'études environnementales en raison de leur toxicité connue (INERIS, 2005). Il s'agit des 16 HAPs considérés prioritaires par l'agence de protection environnementale américaine (US-EPA) (Fig. 1). Les études écotoxicologiques effectuées suite à de telles catastrophes permettent donc de décrire qu'une partie des effets qui pourraient découler d'une contamination aux HAPs suite à un déversement de pétrole.

1.1.3 Contamination et toxicité reliées aux HAPs chez les oiseaux aquatiques

Chez les oiseaux aquatiques, le plumage est une barrière poreuse où l'air et l'eau emprisonnés constituent une isolation thermique (Stephensen, 1997). Lorsque celle-ci est perturbée via un contact avec le pétrole, la capacité de thermorégulation et de flottaison des oiseaux est considérablement réduite (Balseiro *et al.*, 2005; Sturkie and Wittow, 2000). La dépense énergétique ainsi requise afin de maintenir une température corporelle optimale peut entraîner l'épuisement des réserves de lipides et éventuellement la mort par hypothermie de ces oiseaux (Stephensen, 1997, Troisi *et al.*, 2006). Les oiseaux peuvent également être exposés directement au pétrole en l'ingérant suite au toilettage de leur plumage souillé (exposition aiguë) ou indirectement suite à la consommation de proies contaminées (exposition chronique sous-létale) (Pereira *et al.*, 2008; Balseiro *et al.*, 2005). La présence de composés irritants dans le pétrole, dont le naphthalène, peut mener à l'irritation des muqueuses du tractus digestif, réduisant ainsi l'absorption de nutriments qui pourrait, à long terme, entraîner une famine et une anémie hémolytique chez les oiseaux contaminés (Balseiro *et al.*, 2005). Une exposition chronique sous-létale aux HAPs peut également entraîner une large gamme d'effets inflammatoires et toxiques : une augmentation du stress oxydatif, des lésions au foie et aux reins, des problèmes neurologiques, une immunosuppression et ultimement une dépréciation du statut général de la santé des individus atteints (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007; Balseiro *et al.*, 2005; Golet *et al.*, 2002). Dans le cas d'HAPs volatiles, une exposition peut également se produire par voie cutanée ou respiratoire (Pereira *et al.*, 2008; Burger and Fry, 1993; Gorsline and Holmes, 1981).

La présence de pétrole dans le milieu aquatique peut affecter les populations de proies, particulièrement les poissons et le zooplancton, diminuant les populations au point d'influencer directement les populations d'oiseaux prédateurs (Whitacre, 2008; Alonso-Alvarez *et al.* 2007). Pour ces oiseaux, situés à un niveau supérieur de la chaîne trophique, la consommation de proies peut entraîner une accumulation considérable de composés bioaccumulables (Pérez *et al.*, 2008; Alonso-Alvarez *et al.* 2007; Balseiro *et al.*, 2005; Doornaert et Pichard, 2005). En effet, une étude effectuée par Alonso-Alvarez *et al.* (2007) a révélé la présence d'HAPs chez les poussins de goélands leucophées

(*Larus michahellis*) nourris de poissons pêchés par leurs parents, et ce 17 mois après le déversement du «Prestige» sur les côtes de l'Espagne et de la France, confirmant l'incorporation et la bioaccumulation d'HAPs dans la chaîne alimentaire. Une contamination aux HAPs pourrait ainsi se manifester par une réduction du succès d'éclosion et un développement anormal des poussins, ainsi qu'une perturbation du statut endocrinien des adultes affectés (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007; Heubeck *et al.*, 2003). Les effets inhibiteurs du pétrole sur la reproduction des oiseaux ont été confirmés par plusieurs études à grandes échelles effectuées sur le terrain, dont celle de Fowler *et al.* (1995) concernant les manchots de Magellan (*Spheniscus magellanicus*) exposés au pétrole déversé près des côtes de la Patagonie ainsi que celle de Giese *et al.* (2000) concernant la reproduction de manchots pygmées (*Eudyptula minor*) réhabilités suite à un contact avec le pétrole.

Les oiseaux possèdent un système de mono-oxygénases capable de métaboliser les contaminants, dont les HAPs, en produits hydrophiles (métabolites) favorisant leur excrétion (Varanasi *et al.*, 1989; Hall, 1988). Pour ce faire, les enzymes du cytochrome P450 1A (CYP1A) transforment les HAPs par époxydation (Lauwerys *et al.*, 2007; Guéguen *et al.*, 2006; Hodgson, 2004). Certains métabolites époxydes, comme ceux du benzo[a]pyrène et du naphtalène, seraient responsables des effets biologiques nocifs de par leur toxicité supérieure à la molécule mère (bioactivation) (Lauwerys *et al.*, 2007). De plus, le CYP1A est inductible par certains HAPs, accentuant ainsi la bioactivation de ces derniers (Guéguen *et al.*, 2006). Les métabolites oxydés, réagissant avec les groupements thiols riches en électrons, sont ensuite conjugués au glutathion (GSH) ce qui entraîne une liaison covalente irréversible permettant leur élimination (Wells and Winn, 1996). La saturation de ce système de conjugaison (GSH) entraîne des dommages oxydatifs aux cellules due à l'accumulation de ces métabolites oxydés (INRS, 2009; Guéguen *et al.*, 2006).

La concentration de HAPs chez les femelles contaminées diminue lors du transfert de ces composés lipophiles aux œufs (Pereira *et al.*, 2008). Ainsi, les femelles nicheuses ont souvent des concentrations en HAPs moindres que les mâles lors de la reproduction, la différence se résorbant graduellement par la suite. Par contre, celles-ci souffriraient d'un

stress supplémentaire à la toxicité des HAPs induit par l'effort de la ponte (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007).

1.2 Le fou de bassan (*Morus bassanus*): une opportunité d'étude unique

Le parc national de l'Île-Bonaventure-et-du-Rocher-Percé, situé à la pointe de la péninsule gaspésienne, représente le plus important sanctuaire d'oiseaux migrateurs au Québec (Réseau Sepaq, 2011a; Réseau Sepaq, 2011b). Il compte comme emblème touristique l'impressionnante colonie de fous de bassan nichant sur l'île (Réseau Sepaq, 2011a). Environ un quart des fous de bassan de l'Amérique du Nord, comprenant ceux de l'île Bonaventure, migrent dans le Golfe du Mexique suite à la période de reproduction (Moisan et Scherrer, 1973; Montevecchi *et al.*, 2011). Il est donc légitime d'avoir certaines appréhensions face à l'avenir d'une partie de cette colonie dans le contexte actuel où un important déversement de pétrole s'est produit dans les eaux où ils séjournent et s'alimentent de novembre à avril (Montevecchi *et al.*, 2011; Alsop III, 2004).

La vulnérabilité des oiseaux de mer aux déversements de pétrole affectant leur aire d'hivernage est sans conteste (Wells *et al.*, 1995). De ce fait, le fou de bassan a été la troisième espèce la plus touchée par le déversement dans le Golfe du Mexique en nombre d'individus, après les goélands et les pélicans bruns, mais l'espèce avec le plus haut pourcentage d'individus huilés (63%) (Montevecchi *et al.*, 2011). Toutefois, l'ampleur réelle des conséquences des déversements pétroliers sur ces oiseaux migrateurs reste, à ce jour, peu documentée puisque les impacts sur la dynamique des populations d'oiseaux sont souvent difficiles à évaluer en raison du manque de données concernant l'emplacement de la colonie reproductrice (Heubeck *et al.*, 2003; Golet *et al.*, 2002; Burger and Fry, 1993). Ainsi, l'impact d'une contamination à des concentrations sous-létales de pétrole sur la dynamique des populations à long terme ne peut être écarté. L'évaluation des effets induits par une exposition aux HAPs représente donc un défi (Doornaert et Pichard, 2005).

La protection des colonies reproductrices est essentielle. La conservation des oiseaux de mer requiert une compréhension de leurs réponses aux perturbations environnementales

(Micol and Joventin, 2001), qui par des études à long terme permettraient d'étendre notre savoir des mœurs et de la dynamique de ces communautés (Heubeck *et al.*, 2003; Sturkie and Wittow, 2000). Par conséquent, la situation des fous de bassan de l'île Bonaventure, suivie depuis 2008 par des chercheurs de l'Université du Québec à Rimouski (UQÀR), offre une opportunité inégalée pour l'étude des effets différés des déversements de produits pétroliers dans l'environnement marin.

1.2.1 Écologie de la reproduction des fous de bassan

En Amérique du Nord, six colonies de fous de bassan sont formées lors de la saison de la reproduction; trois dans le Golfe du Saint-Laurent, dont celle de l'île Bonaventure et trois à Terre-Neuve (Thériault, 2010; Godfrey, 1990; Nettleship and Chapdelaine, 1988).

Un seul œuf est pondu par la femelle, début mai, et est incubé pendant une période d'environ 44 jours. Suite à l'éclosion, le jeune reste au nid pour une durée de 95 à 107 jours, période pendant laquelle il sera gavé de poissons (réserve de graisse) afin d'atteindre 150% du poids de l'adulte (Nelson, 2001; Neilson, 1963) avant l'envol de la colonie vers la fin septembre (Alsop III, 2004). De ce fait, le couple de fou de bassan couve l'œuf, puis assiste le jeune, sans relâche pendant environ 13 à 15 semaines afin de protéger leur progéniture du comportement agressif des autres adultes et ainsi accroître ses chances de survie (Nelson, 2001; Neilson, 1963). Cependant, ce comportement diminue considérablement le temps que les adultes peuvent allouer à leur alimentation, ne s'absentant jamais simultanément du nid (Nelson, 2001; Neilson, 1963). Ceci dit, la saison de reproduction requiert une énorme dépense énergétique pour les adultes (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007), expliquant la nécessité d'une coopération étroite entre les deux partenaires (Schreiber and Burger, 2002; Neilson, 1963). Les comportements du couple lors de la reproduction, c'est-à-dire la territorialité, la nidification, l'accouplement, l'incubation et la couvaison (Sharp, 1996), régulés par plusieurs hormones, jouent donc un rôle essentiel dans le succès reproducteur de ce dernier (McFarland, 2001; Sturkie and Wittow, 2000; Lormée *et al.*, 1999; Lea *et al.*, 1981).

L'état de santé général d'un individu et son expérience peut ainsi influencer la performance reproductive (Horak *et al.*, 1999). Un état de santé amoindri par la

contamination aux HAPs pourrait donc avoir des répercussions sur le succès de reproduction de ces oiseaux (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007; Heubeck *et al.*, 2003).

1.2.1.1 Rôle de la prolactine chez les oiseaux

Participant à l'initiation et la régulation de processus physiologiques indispensables ainsi que le comportement parental, la prolactine est une hormone essentielle lors de la reproduction (Buntin, 1996; Sharp *et al.*, 1988). Produites par les cellules lactotrophes, situées au niveau du lobe céphalique de la glande hypophysaire antérieure (Mikami and Yamada, 1984), les concentrations sanguines de prolactine changent selon la période du cycle de vie de l'oiseau. On observe généralement, une augmentation des niveaux sanguins chez la femelle au début de la période de ponte et la première moitié de l'incubation (Lormée *et al.*, 2000; Sharp *et al.*, 1998; Buntin, 1996; Lormée *et al.*, 1999; Cavanaugh *et al.*, 1983; Lea *et al.*, 1981). Parallèlement, les mâles des espèces nidicoles ont également un taux de prolactine élevé favorisant les soins parentaux (Lormée *et al.*, 1999; Schoech *et al.*, 1996). Suite à l'éclosion, le taux de prolactine circulant diminue lentement ce qui assure la protection et la couvaison du jeune (Lormée *et al.*, 1999; Sharp *et al.*, 1998; Buntin, 1996). El Halawani *et al.* (1993) ont constaté que les concentrations de prolactine chutaient drastiquement suite à l'arrêt du comportement de nidification ou d'incubation chez les *columbidae* (ex. pigeons), démontrant bien le lien entre le comportement et sa source hormonale.

Plusieurs facteurs naturels peuvent influencer la concentration de prolactine dans le sang de l'oiseau, tels la photopériode, le statut nutritionnel de l'oiseau, le stress encouru par celui-ci, le statut reproducteur et la maturité de l'individu (Angelier *et al.*, 2007; Angelier *et al.*, 2006; Chastel *et al.*, 2005). Un stress important peut entraîner une diminution marquée de la prolactine circulante chez les espèces longévives (Chastel *et al.*, 2005; Cherel *et al.*, 1994). En présence de prédateurs, ce phénomène pourrait être une réponse adaptative favorisant la survie de l'individu au dépend de sa descendance via l'abolition des comportements parentaux (Chastel *et al.*, 2005). Les contaminants environnementaux, dont le pétrole, peuvent également altérer la réponse hormonale et ainsi entraîner une modification du comportement reproducteur (assiduité et protection du

nid, couvaison, etc.) (Giese *et al.*, 2000; Fowler *et al.*, 1995; Cavanaugh *et al.*, 1983; Peakall *et al.*, 1981). Cavanaugh *et al.*, (1983) ont démontré que l'ingestion de pétrole chez les canards colverts (*Anas platyrhynchos*) diminuait significativement la concentration moyenne de prolactine en circulation durant la ponte et l'incubation comparativement au témoin via la perturbation de la synthèse de la prolactine ou de sa libération par l'hypophyse.

Chez les goélands, la réponse physiologique serait différente entre les mâles et les femelles lors d'une contamination aux organohalogénés persistants (Verreault *et al.*, 2008). En effet, le taux élevé de prolactine chez les mâles fortement contaminés indiquerait une réponse adaptative à une contamination chronique. Par contre, l'absence d'effets détectables chez les femelles pourrait s'expliquer par un niveau basal supérieur de prolactine, une dose trop faible pour perturber sa libération ou le transfert dans les œufs d'une partie de leur charge en contaminants (Verreault *et al.*, 2008). On pose l'hypothèse qu'un phénomène similaire pourrait être observé lors d'une contamination aux HAPs chez les fous de bassan à l'étude.

1.2.1.2 Influence de la corticostérone

De nombreux stimuli présents dans l'environnement peuvent engendrer une réponse physiologique défensive ou de fuite (stress) requérant parfois des ajustements majeurs afin de rétablir l'homéostasie (Wingfield *et al.*, 1992; Harvey *et al.*, 1984; Siegel, 1980). Ceux-ci varient selon l'espèce d'oiseau en fonction de leur comportement et de leur stade de vie (Golet *et al.*, 2002; Sturkie and Wittow, 2000). Le succès de l'oiseau à réagir à un stress dépend donc de la sévérité de celui-ci et de sa capacité physiologique à y répondre adéquatement via des systèmes neurologiques et endocriniens, dont l'activation de l'axe hypothalamique-hypophyse-corticosurrénale (HPA) (Wingfield *et al.*, 1998; Astheimer *et al.*, 1995; Siegel, 1980). Lorsqu'un stress est d'une intensité et/ou d'une durée suffisante pour atteindre le seuil d'initiation de cet axe, des glucocorticostéroïdes (principalement la corticostérone chez les oiseaux) sont alors libérés en quantité plus importante (Sturkie and Whittow, 2000; Wingfield *et al.*, 1998; Harvey *et al.*, 1984; De Roos, 1961). Ceci entraîne des changements physiologiques et comportementaux, telles une élévation du

glucose dans le sang et une augmentation de la glycogénèse (formation du glucose par hydrolyse du glycogène) dans le foie qui facilitent la fuite (Wingfield *et al.*, 1998; Harvey *et al.*, 1984; Siegel, 1980). L'axe HPA est muni d'une certaine plasticité afin d'éviter que la réponse au stress engendre un déséquilibre de l'homéostasie et perturbe les fonctions propres aux stades de vie de l'espèce (Sturkie and Whittow, 2000; Wingfield *et al.*, 1998; Wingfield *et al.*, 1992; Wingfield, 1984). Néanmoins, un taux anormal de corticostérone en circulation peut s'avérer nuisible selon le contexte écologique et physiologique de l'individu (Sturkie and Whittow, 2000; Silverin, 1986; Siegel, 1980).

Il existe un patron distinct de variation journalière des concentrations plasmatiques de corticostérone chez les oiseaux. Généralement, le pic coïncide avec la période nocturne, ce qui assurerait un apport énergétique durant l'inactivité locomotrice ou alimentaire de l'oiseau (Romero & Remage-Healey, 2000; Joseph and Meier, 1973). La corticostérone module également certains paramètres physiologiques lors de la reproduction (Romero & Remage-Healey, 2000; Wingfield *et al.*, 1992; Siegel, 1980). Sa concentration augmenterait légèrement lors de cette période (Love *et al.*, 2004; Romero & Remage-Healey, 2000; Logan & Wingfield, 1995), en partie due à une réduction du rétrocontrôle négatif qu'exercent les glucocorticoïdes sur l'axe HPA et à une augmentation de la stimulation des corticosurrénales par l'adrénocorticotrophine (ACTH) (Sturkie & Wittow, 2000; Wingfield *et al.*, 1998). Toutefois, les niveaux de corticostérone semblent varier grandement selon les espèces et les différentes études effectuées (Sturkie & Wittow, 2000). Il est maintenant établi que des concentrations élevées de corticostérone plasmatique peuvent inhiber des composantes essentielles aux comportements de reproduction, telle la territorialité (Wingfield & Sapolsky, 2003; Wingfield *et al.*, 1998). Chez certaines espèces d'oiseaux, un stress sévère excédant les limites de l'adaptation, perturbe le système endocrinien, certains composants liés au comportement reproductif et diminue le taux de survie (Verboven *et al.*, 2010; Wingfield & Sapolsky, 2003; Astheimer *et al.*, 1995; Burger & Fry, 1993).

En conditions de stress, les mouettes tridactyles (*Rissa tridactyla*) en reproduction diminuent légèrement leur concentration de prolactine tout en augmentant leur sécrétion de corticostérone. Cette dernière déclenche l'effort de quête alimentaire et diminue la

fréquentation du nid, tandis qu'une faible diminution de la prolactine maintient le comportement parental, facilitant ainsi une certaine flexibilité comportementale face aux variations des stressors environnementaux (Chastel *et al.*, 2005). Toutefois, lorsque l'augmentation du taux plasmatique de corticostérone est importante, le succès reproducteur des individus diminue suite à l'abandon de leur nid (Silverin, 1986). Le rôle de la corticostérone plasmatique est donc complexe à interpréter lors de la reproduction, les conséquences de son augmentation variant selon les situations (Love *et al.*, 2004).

Des études ont démontré que la contamination au pétrole peut également modifier la réponse hormonale des oiseaux en augmentant la concentration de corticostérone plasmatique (Peakall *et al.*, 1981) : chez les goélands argentés (*Larus argentatus*) (Peakall *et al.*, 1981), chez les guillemots communs (*Uria aalge*) suite au déversement de l'Exxon Valdez (Khan and Ryan, 1991) et chez les manchots de Magellan (*Spheniscus magellanicus*) suite au déversement sur la côte de Patagonie (Fowler *et al.*, 1995). Dans d'autres cas, de faibles niveaux de corticostérone, suite à une exposition au pétrole, révèlent un effet direct sur la médullosurrénale, une diminution de sa réponse à l'ACTH et une réduction du taux de corticostérone sécrétée (Rattner *et al.*, 2001).

1.3 Conservation et géolocalisation

La protection de colonies reproductrices et de leur habitat est nécessaire afin de s'assurer du maintien des populations d'oiseaux. Par contre, hors de la saison de reproduction, les déplacements de ces oiseaux migrateurs et leur secteur d'alimentation sont généralement mal documentés (Marzluff & Sallabanks, 1998). Toutefois, depuis l'avancement technologique dans le domaine de la géolocalisation, il est maintenant possible de faire un suivi plus détaillé des mouvements de ces oiseaux comparativement à l'information incomplète obtenue à l'aide du baguage uniquement (Montevecchi *et al.*, 2011; Burger & Shaffer, 2008). Ainsi, avec l'aide de consigneurs d'intensité lumineuse, par exemple, il est possible de déterminer les aires d'hivernages des espèces migratrices et donc de savoir dans quel secteur elles s'alimentent lors de leur séjour (Montevecchi *et al.*, 2011; Burger & Shaffer, 2008) et donc si elles ont fréquenté des zones contaminées. Considérant que la conservation des oiseaux de mer requière une compréhension de leurs réponses aux

perturbations environnementales (Micol & Jouventin, 2001), un suivi échelonné sur plusieurs années permettrait d'étendre notre savoir des mœurs et dynamiques de ces communautés (Sturkie & Whittow, 2000; Heubeck *et al.*, 2003) et de déceler l'impact d'une exposition sous-létale au pétrole.

Sachant qu'un déversement de pétrole de grande envergure s'est produit dans le Golfe du Mexique en avril 2010, une espèce migratrice de la famille des Sulidées nichant au Québec offre une opportunité de recherche inégalée. En effet, l'accessibilité de la colonie de fous de bassan dans le parc national de l'Île-Bonaventure-et-du-Rocher-Percé, situé à la pointe de la péninsule gaspésienne (Réseau Sépaq, 2011a; Réseau Sépaq, 2011b), permet d'effectuer des recherches sur la perturbation endocrinienne induite par les contaminants environnementaux. Considérant le rôle clé de la prolactine et de la corticostérone pour la reproduction et la survie des oiseaux, ainsi que les effets connus du pétrole sur l'homéostasie de ces hormones (Lormée *et al.*, 2000; Romero & Remage-Healey, 2000; Butin, 1996; Sharp *et al.*, 1988; Siegel, 1980), il devient donc pertinent de faire de telles recherches. Ces données pourraient être d'autant plus importantes du fait que les effets sous-létaux chez les oiseaux nichant à de grandes distances n'ont pas été étudiés dans le cas de déversement de cette ampleur (Heubeck *et al.*, 2003). Il ne faut pas perdre de vue qu'un tel événement pourrait également se produire dans le Golfe du Saint-Laurent suite à un accident de transport, c'est pourquoi il est pertinent d'évaluer les mécanismes de toxicité du pétrole à long terme sur des systèmes physiologiques potentiellement sensibles, comme les fous de Bassan.

1.4 Objectifs de recherche et hypothèses de travail

L'objectif principal de ce projet de recherche consistait à évaluer les effets sous-létaux, principalement endocriniens, d'une exposition aux HAPs présents dans le pétrole, chez les fous de bassan de l'île Bonaventure hivernant dans le Golfe du Mexique lors de la période d'incubation 2011 en comparaison avec les individus de la même population hivernant sur la côte Atlantique. Les objectifs spécifiques étaient les suivants :

- 1) Déterminer le site d'hivernage des fous de bassan à l'étude, soit le Golfe du Mexique (population potentiellement contaminée) ou la côte Atlantique (population de référence).

Hypothèse I: Considérant l'étude publiée par Montevecchi *et al.* (2011) démontrant qu'approximativement un quart des fous de bassan de l'Amérique du Nord migrent dans le Golfe du Mexique annuellement, il est prévu que notre échantillonnage soit représentatif de la population et respecte cette proportion; $\frac{1}{4}$ Golfe du Mexique et $\frac{3}{4}$ côte Atlantique.

- 2) Établir un profil de contamination au pétrole, identifier les HAPs présents dans le sang des oiseaux à l'étude et leur concentration. Vérifier s'il y a une différence de profil de contamination entre les deux sites à l'étude ainsi qu'en fonction du temps dans l'incubation.

Hypothèse II: Considérant que plusieurs composés des HAPs sont ubiquistes dans l'environnement (Doornaert et Pichard, 2005; Leaute, 2008), la présence de ceux-ci dans le sang des oiseaux est attendue (Pereira *et al.*, 2008; Pérez *et al.*, 2008; Troisi et Borjesson; 2005). Toutefois, la signature des HAPs étant différente selon l'origine de la pollution (Leaute, 2008; Pérez *et al.*, 2008; Doornaert et Pichard, 2005) et que la présence d'HAPs dans l'écosystème du Golfe du Mexique y a été considérablement accrue (Bélair-Cirino, 2010; Camilli *et al.*, 2010), on prévoit que le profil de contamination soit différent chez les fous de bassan ayant migré dans le Golfe du Mexique par rapport à ceux ayant migré sur la côte Atlantique.

- 3) Déterminer les concentrations plasmatiques de la corticostérone et de la prolactine chez les oiseaux à l'étude à deux reprises durant la période d'incubation 2011. Vérifier s'il y a une différence dans les concentrations de ces deux hormones selon le site d'hivernage des oiseaux, le profil de contamination et le temps dans l'incubation.

Hypothèse III: En raison du stress encouru par les individus exposés au pétrole, sans négliger la longue migration et la mobilisation d'énergie nécessaire pour l'établissement du nid et la reproduction, il est attendu qu'une perturbation du système endocrinien soit perceptible lors de la période d'incubation 2011 chez les oiseaux ayant migré dans le Golfe du Mexique par rapport aux oiseaux de la côte Atlantique (Whitacre, 2008; Alonso-Alvarez *et al.*, 2007; Heubeck *et al.*, 2003; Rattner *et al.*, 1984). Il est prévu que les niveaux basaux de corticostérone circulant soient plus élevés chez les oiseaux contaminés que chez les oiseaux témoins (Chastel *et al.*, 2005; Astheimer *et al.*, 1995; Wingfield *et al.*, 1992), tandis que la concentration de prolactine plasmatique devrait, quant à elle, être inférieure à celle des oiseaux de la côte Atlantique (Chastel *et al.*, 2005; Cavanaugh *et al.*, 1983). Une telle altération de ces hormones pourrait entraîner la diminution du succès reproducteur des oiseaux contaminés (Chastel *et al.*, 2005; Love *et al.*, 2004; Lormée *et al.*, 2000).

CHAPITRE 2

ENDOCRINE STATUS OF MIGRATORY BIRDS POTENTIALLY EXPOSED TO THE *DEEPWATER HORIZON* OIL SPILL: A CASE STUDY OF NORTHERN GANNETS BREEDING ON BONAVENTURE ISLAND, EASTERN CANADA

FRANCI, Cynthia D.¹; GUILLEMETTE, Magella²; PELLETIER, Émilien³; CHASTEL,
Olivier⁴ and VERREAULT, Jonathan¹

¹ Centre de recherche en toxicologie de l'environnement (TOXEN), Département des
sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Succursale Centre-
ville, Montréal, QC, H3C 3P8

² Département de biologie, chimie et géographie, Université du Québec à Rimouski, 300
allée des Ursulines, Rimouski, QC, G5L 3A1

³ Institut des Sciences de la Mer de Rimouski (ISMER), Université du Québec à
Rimouski, 310 allée des Ursulines, Rimouski, QC, G5L 3A1

⁴ Centre d'Études Biologiques de Chizé (CEBC), Centre National de la Recherche
Scientifique, Villiers en Bois, Deux-Sèvres F-79360, France

2.1 Abstract

The "Deepwater Horizon" oil spill caused the death of a large number of seabirds in the Gulf of Mexico. However, the long term consequences of an oil exposure on migratory birds have received limited attention. The present study aimed to investigate the impact of oil contamination on the levels of prolactin and corticosterone, two hormones influencing reproductive success in birds, in northern gannets (*Morus bassanus*) nesting on Bonaventure Island (QC, Canada). Using light-based geolocators, it was found that 23.5% of Northern gannets overwintered in the Gulf of Mexico in 2010-2011; the remainder overwintered along the Atlantic Coast. PAH concentrations in blood cells were found to be under the quantification limit of the analytical method. Hormone (corticosterone and prolactin) levels and body mass did not differ according to the bird's wintering site. Moreover, concentrations of both hormones did not vary from early to late incubation. Present results showed that potential exposure to oil contamination could not be detected possibly because the time interval between exposure on the wintering site and sampling on the breeding sites allowed the birds to metabolize these compounds and so oil contamination was not associated with long-term physiological impact in these birds during the incubation period.

Keywords: prolactin, corticosterone, PAHs, Gulf of Mexico, Sulidae, seabirds

2.2 Introduction

Accidental oil spills are responsible for the introduction of large volumes of crude oil into the marine environment, often causing the death of an impressive number of marine organisms, most of which being seabirds (Whitacre, 2008; Castege *et al.*, 2007). Starting on April 20th, 2010, a large amount of crude oil was spilled into the Gulf of Mexico following the explosion of the "Deepwater Horizon" drilling platform owned by British Petroleum (Bélair-Cirino, 2010; BP, 2010a; Camilli *et al.*, 2010; Hagerty, 2010), thus forming a large plume off the coasts of Louisiana, Mississippi, and Alabama (Bélair-Cirino, 2010; BP, 2010b; Hagerty, 2010). Forty percent of the nearly 780 million liters of oil was then mixed in the water column between the well and the ocean surface (Atlas, 2011). Considering that many organisms depend on the marine ecosystem to fulfil their daily energetic needs, the magnitude of the consequences related to the presence of this large quantity of oil is undeniable. Seabirds are dependent on the marine ecosystem to feed and rest (Nelson, 2001), and are particularly vulnerable to oil spills due to their exposure to potentially elevated levels of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) compounds found in oil (Troisi and Borjesson, 2005; Neilson and Hutzinger, 1997; Tricart, 1987). The ingestion of oil or oil residues, by preening or via the consumption of contaminated preys, can thus cause long term repercussions on their organism (Guéguen *et al.*, 2006; Alsop III, 2004; Giese *et al.*, 2000; Tricart, 1987). Chronic exposure to sub lethal concentrations of PAHs can elicit diverse physiological effects including increased oxidative stress in liver and kidney, neurological problems, endocrine disruption, immune suppression and ultimately impairment of general health condition (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007; Balseiro *et al.*, 2005; Chastel *et al.*, 2005; Troisi and Borjesson, 2005; Golet *et al.*, 2002; Neilson, 1963). This can in turn have a negative impact on the reproductive success of oil-exposed individuals (Whitacre, 2008; Castege *et al.*, 2007; Alonso-Alvarez *et al.*, 2007; Heubeck *et al.*, 2003). Nonetheless, very few studies have addressed the sub lethal physiological effects and ecological consequences of petroleum exposure on breeding birds exposed in their wintering grounds (Heubeck *et al.*, 2003). It is therefore appropriate to conduct studies to determine the long-term impacts of such environmental disasters on migratory birds as this can potentially have far reaching consequences on their population dynamics.

Reproductive performance of seabirds is dependent on their ability to provide parental care to progeny (Clutton-Brock, 1991), which is mainly regulated by the hormone prolactin (Buntin, 1996; El Halawani *et al.*, 1993; Sharp *et al.*, 1988). Generally, prolactin levels are high in breeding seabirds at the beginning and during most of the incubation period (Lormée *et al.*, 2000; Sharp *et al.*, 1998; Buntin, 1996; Lormée *et al.*, 1999). Levels of this pituitary hormone can be influenced by a number of natural factors including the reproductive status and maturity (age) of the individual (Angelier *et al.*, 2007; Angelier *et al.*, 2006; Chastel *et al.*, 2005). Environmental contaminants such as oil components (mainly PAHs) can also alter prolactin levels in birds, and thus lead to impairment of reproductive behaviors (e.g., attendance and protection of the nest, incubation, etc.) (Giese *et al.*, 2000; Cavanaugh *et al.*, 1983; Peakall *et al.*, 1981). More specifically, Cavanaugh *et al.*, (1983) have shown that mallard ducks (*Anas platyrhynchos*) fed oil had a significant decrease in circulating prolactin concentrations during the egg laying and incubation period through disruption of prolactin synthesis and release from the pituitary. Other studies have also found reduced levels of plasma prolactin in breeding female ducks fed diets containing crude oils (Cavanaugh and Holme, 1987; Cavanaugh, 1983; Harvey *et al.*, 1982). Overall, these findings suggest an underlying toxic mechanism of oil exposure affecting prolactin status in birds, which in turn resulted in failure to incubate and successfully reproduce (Ainley *et al.*, 1981; Barrett, 1979).

Corticosterone plays a central role in the energy metabolism of birds and levels of this glucocorticoid hormone have been shown to slightly increase during reproduction (Chastel *et al.*, 2005; Love *et al.*, 2004; Romero and Ramage-Healey, 2000). In fact, the stimulating effect of moderately elevated corticosterone levels on foraging activities of breeding birds (Angelier *et al.*, 2007a; Astheimer *et al.*, 1995) may be necessary for successful reproduction (Love *et al.*, 2004; Moore and Jessop, 2003). However, Peakall *et al.* (1981) showed that an oral dose of 0.1 to 1.0 ml of crude oil or its aromatic fraction could cause an important rise in plasma corticosterone concentration in herring gulls (*Larus argentatus*). Consistent findings were observed in common guillemots (*Uria aalge*) following the Exxon Valdez spill (Khan and Ryan, 1991) and in magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) exposed to a spill off the Coast of Patagonia (Fowler

et al., 1995). In other studies, a reduction in corticosterone levels associated with oil exposure was reported to be related to a decreased adrenal response to the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) due to extensive damage to the inner cortex of the adrenal gland (Rattner *et al.*, 1984). This can in turn inhibit reproductive behavior including territoriality (Wingfield and Sapolsky, 2003; Wingfield *et al.*, 1998), and ultimately lead to reproduction failure (e.g., nest abandonment) (Love *et al.*, 2004; Wingfield *et al.*, 1998; Silverin, 1986). Poor reproduction success can influence the size of the population in the long term for long-lived seabird species in particular (Atlas, 2011; Balseiro *et al.*, 2005; Wermerskirch *et al.*, 2003).

The Gulf of Mexico supports a large number of seabirds during the winter season including the northern gannet (Montevecchi *et al.*, 2011; Clapp *et al.*, 1982). A recent study showed that white pelicans overwintering in the Gulf of Mexico and breeding in Minnesota, produced eggs that contained compounds traceable back to the BP spill. Thus, specimens not directly contaminated by oil were affected (Encyclopædia Britannica Inc.a, 2013). In North America, this altricial migratory bird nests essentially in the eastern part of Canada. The Bonaventure Island in the Gulf of St. Lawrence (Quebec) (Nelson, 2001) hosts one of the largest colonies of northern gannets in the world (59 586 breeding pairs in 2009; Chardine *et al.* (accepted)). Because one quarter of northern gannets have been shown to migrate annually to the Gulf of Mexico (Montevecchi *et al.*, 2011; Moisan et Scherrer, 1973), the remainder of the population overwintering along the Atlantic Coast, it can be postulated that these birds were exposed to PAHs via direct ingestion of crude oil and/or the consumption of contaminated prey in the aftermath of the Deepwater Horizon spill. Oil-related exposure of gannets from Bonaventure Island may thus lead to adverse health impacts, and ultimately affect their population dynamics. In fact, the breeding population size of this colony has been reported to have slightly decreased (13.2%) in the last four years (2009-2012) (J.-F. Rail; personal communication), which is consistent with the 2010 oil spill contamination episode. The objective of the present study was to investigate whether northern gannets that overwintered in the Gulf of Mexico in 2010-2011 (potentially oil-exposed) had altered hormonal status (prolactin and corticosterone) compared to birds that migrated along the Atlantic Coast. We hypothesized that due to exposure to residual oil *i*) PAHs would be found at higher levels

in blood of northern gannet that overwintered in the Gulf of Mexico, and based on most studies *ii*) levels of corticosterone would be elevated and prolactin diminished in northern gannets that overwintered in the Gulf of Mexico compared to gannets overwintering on the Atlantic Coast (reference site).

2.3 Materials and methods

2.3.1 Study area and sample collection

The fieldwork was conducted in September (10th to 15th) 2010 and from May 30th to July 6th, 2011 on Bonaventure Island (48° 30' 08" N, 64° 10' 07" W) located in the Rocher-Percé-et-de-l'île-Bonaventure National Park (Quebec, Canada). In September 2010, adult male and female gannets ($n = 58$) were captured randomly using a noose-pole in the peripheral section of the colony prior to the annual migration to the wintering sites. These birds have been monitored since 2008 (M. Guillemette; unpublished data), and thus were all marked with a US Fish & Wildlife Service steel ring. Each bird was equipped with a color-coded plastic band and a light-level geolocator (MK15, British Antarctic Survey, Cambridge, United Kingdom) attached (ty-raps) to the steel ring for wintering site determination (latitude ± 200 km and longitude ± 87 km) (Montevecchi *et al.*, 2011). The weight of the light-level geolocator (2.5 g) represented approximately 0.1% of the bird's body mass (Fig. 1). Two geolocators were left on Bonaventure Island for reference during the entire study period (Fox, 2010) (section 2.3.2). The following year, the birds were recaptured using methods described above, and the data loggers were recovered (see below).

Blood samples of gannets were collected twice (repeated measures) during the incubation period, that is, in early (May 30th to June 14th, 2011) and late incubation (June 28th to July 6th, 2011), from approximately 10AM to 4PM in order to minimize changes of hormone levels related to the circadian cycle. A volume of 10-15 mL of blood was obtained within a few minutes after capture (mean \pm S.D.: 2.44 \pm 0.96 min) from the brachial vein, which corresponds to less than 1% of the Northern gannet's body mass, using butterfly needles, 5 mL syringes and heparinized vacutainer tubes. A drop of whole blood was smeared on

a carton and kept in an envelope for subsequent sexing via DNA analysis. One morphometric measurement (wing length) and body mass were recorded, and the birds were released near their nesting site. Blood samples were kept on ice in a cooler while in the field and were processed in the laboratory within 8 h of collection. In the laboratory, blood samples were centrifuged (7 min; 2500 x g), and the resulting plasma was stored in liquid nitrogen for the remainder of the fieldwork season. The plasma was then transferred into a -80°C freezer until hormone analysis (sections 2.3.4 and 2.3.5). Red blood cells were kept at -20°C for subsequent chemical analysis (section 2.3.3). Bird capture and handling methods were approved by the Institutional Animal Care Committee (ACC) of the Université du Québec à Rimouski, and complied with the guidelines of the Canadian Council on Animal Care (CCAC).

2.3.2 Telemetry data analysis

Data retrieved from the light-level geolocators included light levels recorded every min and maximal values registered every 10 min (Fox, 2010). In addition, immersion in water was verified every 3 sec and integrated over 10 min intervals (wet/dry sensor), thereby providing the proportion of time birds spent in water (i.e., foraging). Light level data were analyzed at the Université du Québec à Rimouski by using *TransEdit2* in the BASTrack software (version 18) developed by British Antarctic Survey. Sunset and sunrise times were estimated from thresholds in the light curves, as determined using two reference units left on Bonaventure Island during the study period (nine months); latitude was derived from day length, and longitude from the time of local midday (Phillips *et al.*, 2004). The difference between the elevation angle obtained in the post-calibration (nine days after retrieval) and pre-calibration (seven days before deployment) of the units was applied to the nine months of data recorded during deployment to determine the elevation angle of the sun for each month.

Preliminary data selection was done according to criteria suggested by Garthe *et al.* (2007). Briefly, geographical locations were removed for time periods close to the equinox due to the high variation of latitude values during this period (Hill, 1994). Data was further selected by eliminating continental positions because non-breeding gannets

are exclusively pelagic. Hence, based on the precision associated with the lowest latitude, positions located farther than 200 km from the North American coast were eliminated (using ArcInfo). Furthermore, considering the maximum distance that a gannet can travel in a 24 h period (see below), locations associated with a travelling distance higher than this value were eliminated. This was done by calculating the time of flight, which corresponded to the time when the unit was not submerged (via wet/dry sensor), and the maximum distance covered in 24 h for each individual, using the average flight speed (58.4 km/h) estimated for long distance migratory birds (Garthe *et al.*, 2007).

The wintering sites were determined using the Kernel density estimation method (Bächler *et al.*, 2010) with the Geospatial Modelling Environment software (Version 0.6.0.0) sufficient for the number of positions available per bird (96-175 positions). The smoothed cross-validation (SCV) was used to correct the estimation of the density according to its distribution (Beyer, 2001). A cell of 200 km was used with a density perimeter of 60%; this allowed taking into account the distance travelled while fledging in the wintering site (Garthe *et al.*, 2006). Wintering areas were separated into two sites based on the Kernel method and Montevicchi *et al.* (2012): 1) area encompassing the entire Gulf of Mexico, west of the tip of Florida, and 2) the Atlantic Coast, encompassing the south-eastern tip to the north-eastern tip of Florida (ArcGIS 10 Esri, France). Migration starting dates were determined based on wet/dry data. The arrival dates at the wintering grounds were considered the earliest locations included in the wintering polygon derived from the Kernel method. The time elapsed between these two dates was therefore considered as the total fall migration duration of the birds. Departure dates from the wintering site could not be determined by light records since the spring migration coincided with the spring equinox. Therefore, the duration of the spring migration was assumed to be equal to the fall migration. The departure dates were then estimated by subtracting the spring migration duration from the date of return to the Bonaventure Island colony. Residence time on the wintering grounds was calculated as the difference between the date of departure and the arrival to the wintering grounds. In addition, distances between wintering areas and the Deepwater Horizon platform (N 28°12', W 088°48') were determined for each bird for which the wintering site was determined to be the Gulf of Mexico.

2.3.3 Chemical analysis

Chemical analyses were performed at the Institut des Sciences de la Mer de Rimouski at the Université du Québec à Rimouski. Red blood cell samples were screened for 11 PAH compounds: 2-methylnaphthalene, acenaphthene, dimethylnaphthalene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, perylene, pyrene, chrysene, benzo[a]anthracene, and benzo[a]pyrene (Wellington Laboratories, Guelph, ON, Canada) following a method adapted from Yeudakiamau *et al.* (2010).

Briefly, red blood cells (1.0 g) were spiked with 50 μ L of the internal standard acenaphthylene and left to equilibrate for 1-2 min. The red blood cells were then lysed using a 0.1 M sodium chloride solution. The extraction was performed using 2 mL of *n*-hexane (High Performance Liquid Chromatography (HPLC) grade), and the samples were vortexed for 30 sec. The solution was then centrifuged (6 min; 2500 \times *g*) and the supernatant transferred into a glass culture tube. This procedure was repeated three times. The combined extract was then concentrated to 2 mL under a nitrogen flow. Extract clean-up was achieved using solid-phase extraction (SPE) columns (Certified Sep-Pak Alumina N 6 cc Vac, Waters, ON, Canada), conditioned with 2 mL of *n*-hexane, and eluted with 5 mL of dichloromethane. The final clean-up fraction was then solvent-exchanged to acetonitrile.

Identification and quantification of PAHs was performed using an Accela HPLC (ThermoScientific, Massachusetts, USA) coupled to a fluorescence detector (Finnigan Surveyor FL plus, ThermoScientific, Massachusetts, USA). The compounds were separated on a Supelcosil LC-PAH column (25cm \times 3mm \times 5 μ m) (Supelco Analytical, Pennsylvania, USA).

Quality control and assurance procedures included method blanks for each batch of ten samples and standard reference material (NIST 2977, mussel tissue) for every two batches of ten samples. Background contamination was present in method blanks; hence blank correction was performed for the following compounds: phenanthrene, fluoranthene, perylene, pyrene, and chrysene. Concentrations of PAHs were determined using an external standard method, and were recovery-corrected. The method limits of

detection (MLODs) and quantification (MLOQs) were determined by using the lowest concentration of the external standards producing a signal for all compounds analysed. MLOQs (defined as a minimum amount of analyte producing a peak with a signal-to-noise ratio (S/N) of 10 and MLODs (defined as $S/N = 3$) can be found in Table 1 of the Annexe 1.

2.3.4 Prolactin analysis

Analysis of prolactin in northern gannet plasma was performed at the CEBC using a heterologous RIA based on the methods described by Cherel *et al.* (1994), and validated for several seabird species (e.g., Verreault *et al.*, 2008; Angelier *et al.*, 2007b; Angelier *et al.*, 2006; Lormée *et al.*, 2000). Pooled plasma samples of northern gannets produced a dose response curve that paralleled a chicken prolactin standard curve indicating that this RIA was appropriate to determine prolactin levels in this species. Only one assay was performed; the intra-assay coefficient of variation was 8.4% ($n = 3$ replicates).

2.3.5 Corticosterone analysis

Plasma samples of northern gannets were analyzed for corticosterone levels at the University du Québec à Montréal using a commercially available double antibody radioimmunoassay (RIA) (Immucocem™ Double Antibody Corticosterone I¹²⁵kit, MP Biomedicals, Orangeburg, NY, USA) designed for mice and rats, but validated for birds (Verboven *et al.*, 2010; Troisi *et al.*, 2006; Wasbrun *et al.*, 2002). The analytical procedure of the kit was followed with a minor modification, that is, a number of plasma samples were diluted (1:4) such that values would fall within the mid-portion of the standard curve. Samples were run in four assays; the coefficient of inter-assay variation was 7.24% ($n = 3$ replicates).

2.3.6 Data treatment

Differences in body mass as well as plasma prolactin and corticosterone levels in northern gannets between wintering sites (Gulf of Mexico and Atlantic Coast) were investigated using analysis of variance (ANOVA), followed by the Student's *t* post-hoc

test, while paired t-tests were used to test differences between early and late incubation (controlled for wintering sites). Residuals of all variables followed the normal distribution with the exception of corticosterone levels, which were log-transformed to achieve the normal distribution. All statistical analyses were carried out using the statistical package JMP 10 (SAS, Cary, NC, USA) and results with $p \leq 0.05$ were considered significant.

2.4 Results

2.4.1 Wintering site determination

Among the 58 light-level geolocators that were deployed on northern gannets in 2010, 40 were recovered the following year. However, data could not be retrieved from six of those geolocators (total $n = 34$). Among the 18 light-level geolocators that were not recovered, four had fallen off the birds while the remaining 14 units were on birds that were either not recaptured or not sighted in the colony.

Analysis of the light-level geocator data indicated that most of the northern gannets overwintered along the Atlantic Coast ($n = 26$), while only about one quarter (exactly 23.5%) overwintered in the Gulf of Mexico ($n = 8$). Northern gannets that overwintered in the Gulf of Mexico concentrated their foraging activities at $298 \text{ km} \pm 167 \text{ km}$ on average from the Deepwater Horizon oil spill site (N $28^{\circ}12'$, W $088^{\circ}48'$). Arrival dates of gannets to the Gulf of Mexico ranged from November 11th to December 23rd, 2010, and the departure dates ranged from January 29th to March 17th, 2011. Arrival dates of birds wintering along the Atlantic Coast ranged from October 25th to November 27th, 2010, while departure dates ranged from March 2nd to April 16th, 2011. The mean residence time of birds wintering in the Gulf of Mexico was significantly shorter ($F = 26.02$; $p = 0.0002$) compared to birds wintering along the Atlantic Coast (83.4 and 138.2 days, respectively). Gannets also arrived later in the Gulf of Mexico ($F = 32.1$; $p < 0.0001$) and left this wintering site before birds on the Atlantic Coast ($F = 21.59$; $p = 0.0001$).

2.4.2 Body mass

No difference in body mass was observed between males and females for birds from the Atlantic Coast for both periods in the incubation (early: $F_{1,13} = 0.05$; $p = 0.82$; late: $F_{1,12} = 0.04$; $p = 0.84$). However, this parameter could not be tested statistically for birds from the Gulf of Mexico due to low sample size (M: $n = 3$; F: $n = 2$). Body mass (M and F combined) was not significantly different between gannets arriving from the Gulf of Mexico and the Atlantic Coast early ($F_{1,15} = 0.48$; $p = 0.50$) or late ($F_{1,15} = 0.54$; $p = 0.47$) in the incubation period. Birds that overwintered along the Atlantic Coast tended to have a lower body mass in early incubation compared to late incubation (paired t-test $t_{1,11} = 1.93$; $p = 0.08$). However, this tendency was not observed in birds from the Gulf of Mexico (paired t-test $t_{1,2} = 0.63$; $p = 0.59$) (Fig. 1).

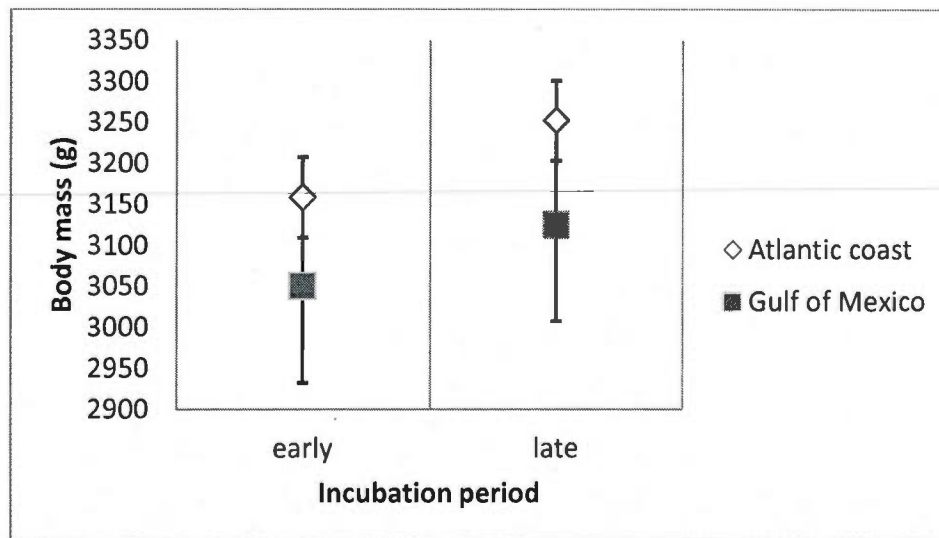


Figure 1: Mean (\pm SD) body mass (g) of northern gannets during early and late incubation categorized by wintering site (Gulf of Mexico [$n=3$] and Atlantic Coast [$n=14$]).

2.4.3 PAH determination

PAHs compounds screened in northern gannet red blood cells were all found to be under the MLODs and MLOQs after blank-correction. MLODs varied between 0.03 and 2.00 ng/mL, while MLOQs varied from 0.09 to 6.67 ng/mL (Table 1, Annex 1).

2.4.4 Prolactin

Prolactin levels in plasma of gannets were not different between males and females early in the incubation period for birds from the Atlantic Coast ($F_{1,18} = 1.14$; $p = 0.30$), although males had lower concentrations than females in late incubation ($F_{1,14} = 5.35$; $p = 0.04$). Sample size for the Gulf of Mexico was too small to test the influence of sex. Birds from the Gulf of Mexico exhibited higher plasma prolactin levels early in incubation compared to birds arriving from the Atlantic Coast ($F_{1,24} = 4.70$; $p = 0.04$) (Fig.2). In contrast, there was no difference in prolactin levels between birds from these two wintering sites late in the incubation ($F_{1,20} = 1.57$; $p = 0.22$). For the Atlantic Coast birds, prolactin concentrations tended to decrease from early to late incubation (paired t-test $t_{1,15} = -1.74$; $p = 0.10$). This tendency was also observed in birds that overwintered in the Gulf of Mexico (paired t-test $t_{1,5} = -2.32$; $p = 0.07$). When considering the sex of the birds, a difference across the incubation period was only found in males, and showed a significant decrease in prolactin concentrations from early to late incubation (male: paired t-test $t_{1,15} = -3.27$; $p = 0.005$; female: paired t-test $t_{1,5} = -0.07$; $p = 0.95$).

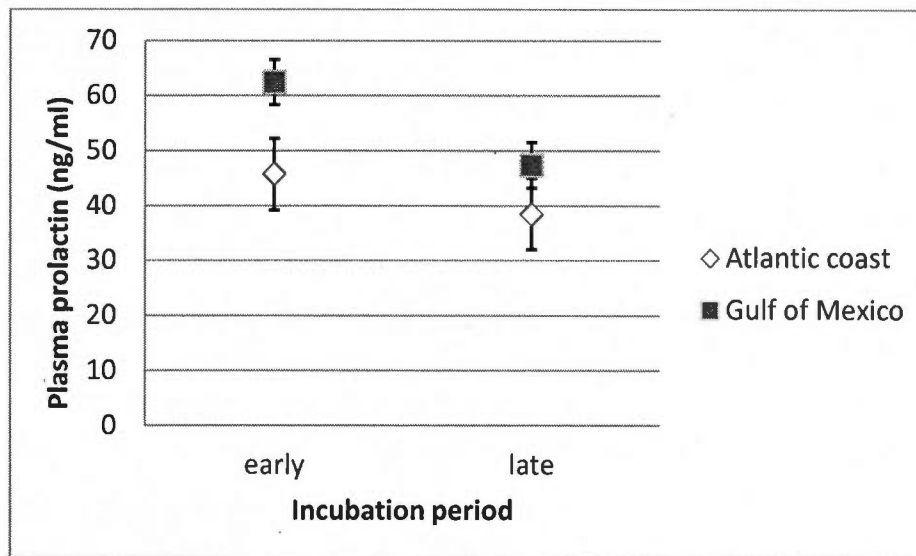


Figure 2: Mean (\pm SD) plasma prolactin levels (ng/mL) in northern gannets during early and late incubation period categorized by wintering site (Gulf of Mexico [n=6] and Atlantic Coast [n=20]).

2.4.5 Corticosterone

Plasma corticosterone levels in gannets were not different between early and late incubation between males (paired t-test $_{1,17} = 0.59$; $p = 0.56$) and females (paired t-test $_{1,6} = -0.59$; $p = 0.58$). Concentrations of this corticosteroid in birds from the Atlantic Coast were also not significantly different between males and females early ($F_{1,18} = 0.86$; $p = 0.37$) and late in the incubation period ($F_{1,18} = 0.36$; $p = 0.56$). In comparing the two overwintering groups (fig. 3) no differences were detected either at the early incubation period ($F_{1,23} = 2.02$; $p = 0.17$) or during late incubation ($F_{1,23} = 0.28$; $p = 0.60$) in the incubation between birds from the Gulf of Mexico ($n = 5$) and the Atlantic Coast ($n = 20$) (fig. 3). Moreover, corticosterone concentrations did not vary significantly between early and late incubation in birds from both the Atlantic Coast (paired t-test $_{1,19} = -0.55$; $p = 0.59$) and the Gulf of Mexico (paired t-test $_{1,4} = 1.32$; $p = 0.26$).

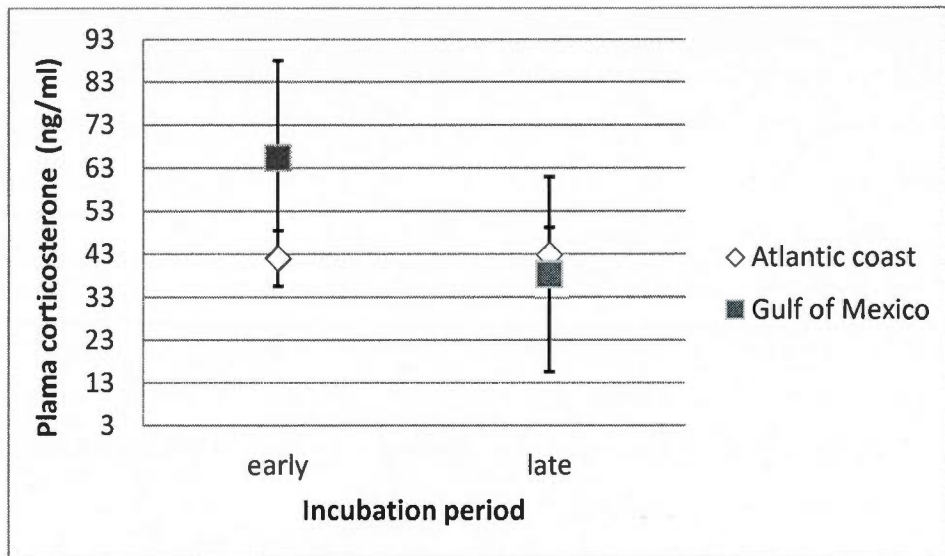


Figure 3: Mean (\pm SD) plasma corticosterone levels (ng/mL) in northern gannets during early and late incubation period categorized by wintering site (Gulf of Mexico [n=5] or Atlantic Coast [n=20]).

2.5 Discussion

2.5.1 Wintering site, population trends, and reproductive success

This study demonstrates that nearly one quarter (23.5%) of the breeding northern gannet forming our sample migrated to the Gulf of Mexico which follows the results recently reported by Montevecchi *et al.* (2011) who estimated that one quarter of northern gannets from North America reached that area. This suggests that approximately 29,000 gannets from Bonaventure Island overwintered in the Gulf of Mexico in 2010-2011 (from mid-November through mid-March). Because 14 light-level geolocators were not recovered in 2011 (i.e., birds not sighted in the colony), this may further suggest that 7000 adult gannets did not return to Bonaventure Island that year, which corresponds to a return rate of 75.9%. In 2012, the return rate estimated from 38 deployed geolocators was 81.6% (M. Guillemette; personal communication), which represents 5.7% more than in 2011. Unfortunately, since the fate of these 14 birds was unknown in 2011, the reasons behind

this lower return rate compared to 2012 are unknown. In fact, a number of ecological and environmental factors have been shown to influence adult survival in seabirds such as climate (Sandvik *et al.*, 2005; Votier *et al.*, 2005), food availability (Votier *et al.*, 2005; Furness and Camphuysen, 1997), and oil exposure (Whitacre, 2008; Castege *et al.*, 2007). Therefore, the *Deepwater Horizon* spill-related petroleum exposure in the Gulf of Mexico could have accounted for an as yet undetermined number of adult bird deaths. On the other hand, the late capture (September) in 2010 in order to deploy the geolocators could also account for a part of the lower return rate in 2011. Indeed, some individuals captured may not have been part of our initial monitoring (nest followed since 2008) and were normally found outside our sample sites.

The population of gannets on Bonaventure Island has decreased from $59,586 \pm 1788$ breeding pairs in 2009 (Chardine *et al.*, accepted) to $51,725 \pm 1552$ in 2012, which represents an overall breeding population decline of 13.2% during those four years (J.-F. Rail; personal communication). Furthermore, a survey undertaken in this breeding population in July 2010, which is considered the pre-oiling scenario since the birds had already departed from the Gulf of Mexico when the oil spill took place (April 20th), reported $52,277 \pm 1568$ breeding pairs. In July 2011, the number of gannets reached the lowest count recorded in this colony during those four years ($47,744 \pm 1432$ breeding pairs), which corresponded to a 8.9% decline relative to 2010 (J.-F. Rail; personal communication).

The reproductive success, which could be impacted by altered hormonal status, of northern gannets from Bonaventure Islands has been monitored since 2008 (Guillemette, M.; unpublished data). For all monitored birds, independently on wintering site, reproductive data in 2011 indicates that breeding started late. Moreover, the number of empty nests was high and there was a very low hatching percentage (Guillemette, M.; unpublished data). This indicates that 2011 was a particular year for northern gannet's reproduction at Bonaventure Island. Some studies have shown that oil contamination of adult seabirds can compromise nestling survival (Giese *et al.*, 2000; Fowler *et al.*, 1995; Rattner *et al.*, 1984).

2.5.2 Body mass variation

Body mass of gannets did not differ between birds arriving to Bonaventure Island from the two overwintering sites. Results of the present study was thus not representative of an oiling scenario as reported, for example, in a study of pigeon guillemots in which breeding adult body mass and body conditions were significantly lower at oiled sites post-spill compared to pre-spill (Golet *et al.*, 2002). Similarly, the body mass of birds arriving from the Gulf of Mexico was constant throughout the incubation period (early vs. late incubation). This could be explained by the fact that body mass generally is maintained throughout the incubation period in seabirds with shared incubation such as the northern gannets (Moreno, 1989). However, for birds that overwintered along the Atlantic Coast, body mass early in the incubation tended to be slightly lower (although not significantly) than late in the incubation period.

2.5.3 Oil (PAHs) levels in gannets

The turnover of red blood cells has been estimated to be 4-5 weeks (Clark, 1988). Therefore, the presence of PAHs in this tissue indicates a relatively short-term incorporation during the process of erythropoiesis. However, all screened PAHs in gannet red blood cells were under the MLODs and MLOQs in birds that overwintered in the Gulf of Mexico and the Atlantic Coast. Considering the large reservoir of PAHs present in the Gulf of Mexico in the aftermath of the oil spill in spring and summer 2010, PAHs detection was expected in gannets arriving from this wintering site (Pereira *et al.*, 2008; Pérez *et al.*, 2008; Troisi and Borjesson, 2005). This absence of quantifiable PAH concentrations in gannet red blood cells may not necessarily be the result of a lack of an exposure to these compounds in the Gulf of Mexico, but may be related to the (high) biotransformation and elimination capacity of gannets toward PAH compounds. In fact, hepatic cytochrome P450 (CYP) isoenzymes are involved in the biotransformation of PAHs via epoxide hydroxylation, which leads to the formation of reactive metabolites that are conjugated to readily excretable conjugated hydrophilic molecules (Lauwerys *et al.*, 2007; Gueguen *et al.*, 2006; Hodgson, 2004). The efficient metabolism of PAHs thus accentuates the difficulty related to the detection of PAH contamination in seabirds

sampled weeks post-exposure (in average 7 weeks), which can also explain the scarcity of PAH data (Varanasi *et al.*, 1989; Hall and Coon, 1988). Duffi *et al.* (1993) have further suggested that measuring oil-related contaminants in bird tissues should be combined to other analyses such as metabolite bile burden or the induction of CYP isoenzymes. However, these analyses require bird sacrifice, which could not be considered in the present study design as Bonaventure Island is a migratory bird sanctuary devoted to the protection of seabirds including the northern gannet (Rail, 2009).

2.5.4 Hormonal status and parental behavior

High prolactin levels are generally found in breeding seabirds at the beginning and during most of the incubation period, and decrease slowly after hatching in altricial birds (Lormée *et al.*, 2000; Sharp *et al.*, 1998; Buntin, 1996; Lormée *et al.*, 1999). Despite that male gannets were found to initiate the incubation period with similar plasma prolactin concentrations than females, these levels significantly decreased from early to late incubation in males, but not in females. For altricial birds, prolactin in incubating males usually follows the same pattern as in females to promote parental care (Lormée *et al.*, 1999; Schoech *et al.*, 1996). Nonetheless, in the present study, females exhibited higher levels of plasma prolactin than males, which could be associated to a difference in parental care investment between sexes later in the incubation (Lormée *et al.*, 2000). In gannets arriving from both wintering sites, the levels of prolactin tended to decrease from early to late incubation, but not significantly. Hormonal responses have been shown to be altered by environmental contaminants, including oil components, by decreasing prolactin levels in breeding little penguins (Giese *et al.*, 2000), magellanic penguins (Fowler *et al.*, 1995) and mallard ducks (Cavanaugh *et al.*, 1983). Hence, variations of prolactin levels in birds that overwintered in potentially oil-contaminated Gulf of Mexico could not be related to oil exposure as, oppositely, levels of this hormone were higher in plasma of birds from the Atlantic Coast early in the incubation. Many natural factors can influence prolactin levels in birds including stress and breeding experience of the individual (Angelier *et al.*, 2007; Angelier *et al.*, 2006; Chastel *et al.*, 2005), which may explain this lack of relationship between wintering site and prolactin variation.

Corticosterone levels were found to be similar statistically independently on the bird's wintering site, period in the incubation and sex. However, birds from the Gulf of Mexico showed higher corticosterone levels early in incubation, though not significantly different from those of birds from the Atlantic Coast. A larger sample size for birds from the Gulf of Mexico would have been preferable in this study to allow a more complete analysis. Some studies have shown that corticosterone levels were found to slightly increase during the reproduction period in breeding red-footed Bobbies (Lormée *et al.*, 2005), in European starlings, (Love *et al.*, 2004), northern mockingbirds (Romero and Remage-Healey, 2000), and captive starlings (Logan and Wingfield, 1995). This increase in corticosterone has been associated with modulation of breeding behavior (Wingfield *et al.*, 1992; Siegel, 1980) and an increase in foraging activity due to a greater effort imposed by parental care (Holberton *et al.* 1996; Astheimer *et al.* 1992; Wingfield & Silverin 1986). However, a number of studies have shown that ingestion of crude oil or its aromatic fractions can induce a significant rise in plasma corticosterone levels in magellanic penguins following a spill along the Coast of Patagonia (Fowler *et al.*, 1995), common guillemots exposed to the Exxon Valdez spill (Khan and Ryan, 1991), and herring gulls orally dosed with 0.1 to 1.0 mL of crude oil or its aromatic fractions (Peakall *et al.*, 1981). The consistency in corticosterone levels detected in gannets indicates that no sign of stress potentially induced by oil contaminants was observed in birds during the 2011 incubation period.

2.6 Conclusions

The analysis of hormonal levels (prolactin and corticosterone) and body mass in relation to PAHs presence in blood in birds that overwintered in the Gulf of Mexico did not reveal an impact in Bonaventure Island northern gannets during the 2011 incubation period. However, the recently reported 8.9% decrease in breeding population of gannets from 2010 to 2011 could be tentatively explained by the *Deepwater Horizon* oil spill that took place in the Gulf of Mexico in April 2010. To our knowledge, this is the first study that used geolocation in an oil spill context to identify birds of a colony that overwintered in a potentially contaminated area. The combination of migration route tracking, survival rate and hormonal measurements in the evaluation of impact of an environmental

contamination allows a more general evaluation and understanding of the potential impact of an oil contamination on migratory birds. Nevertheless, this current study design had certain limitations including our ability to detect PAHs in northern gannets and thus confirming their exposure and low sample size for birds from the Gulf of Mexico. Moreover, our reference site (Atlantic Coast) could also be contaminated by PAHs introduced via intentional or accidental oil spills by commercial ships or any other source. This could explain the difficulty to find differences between wintering sites in relation to PAHs contamination and their effects on the endocrine systems.

2.7 Acknowledgements

Funding for this project was provided by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) Discovery Grant (to J.V.) and the Canada Research Chair in Comparative Avian Toxicology (to J.V.) and a discovery grant (to M.G.). We would like to thank Charline Parenteau (CEBC-CNRS) for prolactin analysis and acknowledge Louise Champoux (Environment Canada) for funding support (corticosterone analysis) and the National Wildlife Research Center, Environment Canada (Ottawa, Ontario), for funding the sexing data. We thank Salomé Bonnefoi and David Pelletier for their analysis of the geolocation data. We would also like to thank Mathieu Babin (ISMER-UQAR) for assistance with chemical analyses (PAHs). We extend our appreciation to volunteers and colleagues who participated to the fieldwork on Bonaventure Island (Sylvain Christin, Isabeau Pratte, Lynn Miller, Émilie DeChamplain, and Josée Dumas-Campagna). C.D.F. was partly supported by a NSERC graduate scholarship (Alexander Graham-Bell) and the *Fonds d'accessibilité et réussite des études* (UQAM).

CONCLUSION

De nombreuses études ont démontré les impacts d'un déversement de pétrole sur les oiseaux de mer, illustrant une forte mortalité causée par une exposition aiguë au pétrole, mais également des altérations physiologiques en lien avec la reproduction suite à des expositions sous-létales. Il est connu en effet, qu'une contamination aux HAPs présents dans le pétrole déversé entraîne des effets délétères sur la santé des oiseaux contaminés. Toutefois, très peu d'études se sont concentrées sur les impacts d'une contamination sous-létale aux HAPs sur le statut endocrinien et la reproduction des oiseaux migrateurs. La situation des fous de bassan de l'île Bonaventure, les adultes ayant déjà quitté le Golfe du Mexique lors du déversement de pétrole «Deepwater Horizon» (avril-juillet 2010), a permis de vérifier cette hypothèse. Certes cette catastrophe a eu son lot de conséquences sur la faune locale, mais qu'en est-il des espèces non résidentes comme les oiseaux de mer, dont les fous de bassan, qui séjournent dans le Golfe du Mexique hors de la période de reproduction? L'utilisation combinée du suivi des routes migratoire, du taux de survie ainsi que du taux hormonal permet une compréhension plus complète de l'impact potentiel d'une contamination au pétrole sur la reproduction des oiseaux migrateurs.

L'objectif principal de cette étude consistait à évaluer les effets potentiels de l'exposition sous-létale aux HAPs, provenant du pétrole déversé dans le Golfe du Mexique, sur le statut endocrinien des fous de bassan de l'île Bonaventure lors de la période d'incubation 2011 par un suivi individuel des oiseaux fréquentant cette aire d'hivernage (comparativement aux oiseaux allant sur la côte Atlantique), le dosage des HAPs et des niveaux d'hormones (prolactine et corticostérone) dans le sang. L'hypothèse postulée était que les oiseaux ayant fréquenté le Golfe du Mexique auraient des concentrations d'HAPs supérieures aux oiseaux de la côte Atlantique, que leurs concentrations en corticostérone seraient plus élevées, mais qu'inversement celles en prolactine seraient plus faibles que chez les oiseaux de référence. Pour ce faire, la géolocalisation, le dosage des HAPs dans le sang ainsi que le dosage des hormones (prolactine et corticostérone) plasmatiques ont été réalisés. Les données de géolocalisation ont permis de déterminer les aires d'hivernage de chacun des individus à l'étude, soit le Golfe du Mexique ou la côte

Atlantique, ainsi que le temps de résidence et la distance des oiseaux du site de déversement dans le Golfe du Mexique. Les concentrations sanguines en HAPs se sont révélées être sous les limites de détection ou de quantification de la méthode utilisée (HPLC-FLD). Les concentrations en corticostérone et en prolactine plasmatiques ne semblaient pas différer selon le lieu de migration des oiseaux. Il ne semblait donc pas y avoir eu d'impact d'une contamination au pétrole sur ces hormones chez les fous de bassan de l'île Bonaventure lors de la période d'incubation 2011. En effet, le succès de reproduction de ces oiseaux ne semble pas avoir été affecté pour cette période.

L'utilisation de la télémétrie dans les études écotoxicologiques afin de cibler les individus ayant fréquenté des zones contaminées n'est que très récente. À notre connaissance, cette étude sur les fous de bassan de l'île Bonaventure est la première à utiliser la géolocalisation dans un contexte de déversement de pétrole pour suivre individuellement les oiseaux d'une colonie et cibler lesquels ont fréquenté le Golfe du Mexique. L'étude publiée par Montevecchi *et al.* en 2011 a justement démontré les aires d'hivernage des fous de bassan soulignant de ce fait que certains oiseaux étaient à risque d'une contamination au pétrole déversé. Toutefois, cette étude n'a pas évalué de paramètres physiologiques ni dosé la contamination des individus pour confirmer si les oiseaux suivis étaient bel et bien contaminés et souffraient de cette contamination, puisqu'elle se voulait une étude sur l'écologie de l'espèce, soulevant des risques potentiels. Le présent travail a donc pallié à cette lacune en réalisant une étude d'impact plus complète. De ce fait, nous avons tout d'abord confirmé les résultats obtenus par Montevecchi *et al.* (2011) soit que près de 25% des fous de bassan de l'île Bonaventure ont fréquenté le Golfe du Mexique de 2010 à 2011 et qu'ils couraient ainsi un risque de contamination au pétrole, séjournant en moyenne à 300 km du site du déversement.

Au niveau de la contamination aux HAPs, notre étude présentait certaines limites concernant entre autres notre capacité à détecter ceux-ci dans le sang des fous de bassan étudiés. Ce qui nous a en somme empêché de confirmer une exposition au pétrole dans le Golfe du Mexique. Toutefois, cette absence d'HAPs quantifiables dans le sang des fous de bassan n'implique pas forcément une absence de ces composés dans le Golfe du Mexique et donc que les oiseaux n'ont pas été exposés, mais pourrait être due à leur forte

capacité à métaboliser ces composés. Ceci pourrait également expliquer la rareté d'études relatant des concentrations d'HAPs dans le sang d'oiseaux de mer. L'échantillonnage ayant eu lieu plusieurs semaines suivant l'exposition potentielle de ces oiseaux peut également contribuer à expliquer les très faibles concentrations retrouvées dans le sang des oiseaux indépendamment de leur lieu d'hivernage. Pour remédier à cette lacune, il serait nécessaire, dans les études futures, de jumeler ces analyses à la mesure de l'induction des isoenzymes du cytochrome P450 par exemple.

Au niveau des hormones et de la reproduction, les oiseaux suivis ne semblaient pas avoir été affectés par une contamination aux HAPs présents dans le pétrole déversé dans le Golfe du Mexique. Cependant, la faible taille d'échantillonnage au niveau des oiseaux provenant du Golfe du Mexique a peut-être contribué à limiter notre capacité de traiter les résultats avec fiabilité en lien avec leur site d'hivernage. En effet, plusieurs études ont démontré qu'une exposition au pétrole (HAPs) pouvait induire des variations importantes au niveau de la prolactine et de la corticostérone et pouvant ainsi modifier le comportement des oiseaux en reproduction et diminuer leur succès de reproduction. Notre étude n'a pas démontré ce possible effet.

Lors d'un déversement pétrolier, il est facile de pointer du doigt la société exploitante et elle a certes, son lot de responsabilité. Mais nous devons toutefois admettre que notre mode de vie actuel requiert une telle exploitation pour subvenir à nos besoins en termes d'énergie, mais également de produits de consommation, comme le plastique. L'amélioration des lois et règlements peuvent en effet aider à prévenir les déversements, mais tant qu'il y aura une dépendance au pétrole pour l'énergie et ces sous-produits, des accidents continueront de se produire ce qui conduit à l'introduction d'hydrocarbures dans l'environnement marin et à nuire à la faune et la flore dépendante de ces milieux.

ANNEXE 1

Limites de détection et de quantification des HAPs

Table A.1 List of PAH compounds screened in northern gannet red blood cells and method limit of detection (MLODs) and method limits of quantification (MLOQs)

(ng/mL).

PAHs compounds	MLODs	MLOQs
Acenaphtalene	0.03	0.09
Phenanthrene	1.28	4.27
Anthracene	0.30	1.00
Fluoranthene	1.95	6.50
Pyrene	1.24	4.13
Benzo[a]anthracene	0.60	2.00
Chrysene	2.00	6.67
Benzo[e]pyrene	1.80	6.00
Perylene	1.58	5.26
Benzo[a]pyrene	1.42	4.74

BIBLIOGRAPHIE

Ainley, D.G.; Grau, C.R.; Roudybush, T.E.; Morrell, S.H. and J.M. Utts. 1981. *Petroleum ingestion reduces reproduction in Cassin's Auklets*. Marine Pollution Bulletin 12: 314-317.

Alonso-Alvarez, C.; Munilla, I.; Lopèz-Alonzo and A. Velando. 2007. *Sub lethal toxicity of the Prestige oil spill on yellow-legged gulls*. Environment International 33: 773-781.

Alsop III, F.J. 2004. *Les oiseaux du Québec et de l'est du Canada*. Édition ERPI. Canada. 480 pages.

Angelier, F.; Shaffer, S.A.; Weimerskirch, H. and O. Chastel. 2006. *Effect of age, breeding experience and senescence on corticosterone and prolactin levels in a long-lived seabird: the wandering albatross*. General and Comparative Endocrinology. 149:1-9.

Angelier, F.; Shaffer, S.A.; Weimerskirch, H.; Trouve, C. and O. Chastel. 2007a. *Corticosterone and foraging behavior in a pelagic seabird*. Physiological and Biochemical Zoology. 80: 283-292.

Angelier, F.; Weimerskirch, H.; Dano, S. and O. Chastel. 2007b. *Age, experience and reproductive performance in a long-lived bird: a hormonal perspective*. Behavioral Ecology and Sociobiology. 61: 611-621.

Astheimer, L.B.; Buttemer, W.A. and J.C. Wingfield. 1995. *Seasonal and Acute Changes in the Adrenocortical Responsiveness in an Arctic-Breeding Bird*. Hormones and Behavior. 29 (4): 442-457.

Atlas, R. M. 2011. *Oil Biodegradation and Bioremediation : A Tale of the Two Worst Spills in U.S. History*. Environmental Sciences and Technology. 45 : 6709-6767.

Bächler, E.; Hahn, S.; Schaub, M.; Arlettaz, R.; Jenni, L.; Fox, J.W.; Afanasyev, V. and F. Liechti. 2010. *Year-Round Tracking of Small Trans-Saharan Migrants Using Light-Level Geolocators*. PLOS ONE 5(3): 9566.

Balseiro, A.; Espi, A.; Marquez, I.; Ferreras, M.C.; Garcia Marin, J.F. and J.M. Prieto. 2005. *Pathological Features in Marine Birds Affected by the Prestige's Oil Spill in the North of Spain*. Journal of Wildlife Diseases. 41(2): 371-378.

Barrett, R.T. 1979. *Small oil spill kills 10-20 000 seabirds in north Norway*. Marine Pollution Bulletin. 10: 253-255.

Bélaïr-Cirino, M. 2010. *Objets de l'année 2010-Une marée noire à éponger*. Le Devoir, 31 décembre.

<http://www.ledevoir.com/environnement/actualites-sur-l-environnement/313939/objets-de-l-annee-2010-une-maree-noire-a-eponger>

BP. 2010a. *Deepwater Horizon Accident Investigation Report*. British Petroleum. 192 pages.

BP. 2010b. *Deepwater Horizon Accident*. British Petroleum.
<http://www.bp.com/sectiongenericarticle800.do?categoryId=9036575&contentId=7067541>

Buntin, J.D. 1996. *Neural and hormonal regulation of parental behaviours in birds*. Advances in the Study of Behavior. 25: 161-213.

Burger, A.E. and S.A. Shaffer. 2008. *Perspectives in Ornithology Application of Tracking and Data-Logging Technology in Research and Conservation of Seabirds*. The Auk, 125(2):253-264.

Burger, A.F. and D.M. Fry. 1993. *Effects of oil pollution on seabirds in the northeast Pacific*. In: Vermeer, K.; Briggs, K.T.; Morgan, K.H. and D. Siegel-Causey. Editors, 1993. *The Status, Ecology and Conservation of Marine Birds of the North Pacific*. Canadian Wildlife Service. Ottawa. 254-263.

Deepwater Horizon Oil Spill of 2010: Plumes in Gulf Definitely Attributed to Spill. *Encyclopædia Britannica. Encyclopædia Britannica Online Academic Edition*. Encyclopædia Britannica Inc., 2013. Web: 02 August. 2010. Accessed June 28th, 2013. www.britannica.com.proxy.bibliotheques.uqam.ca:2048/blogs/2010/08/deepwater-horizon-oil-spill-of-2010-plumes-in-gulf-definitively-attributed-to-spill/

Campbell, P.G.C.; Pelletier, É. et F. Denizeau. 2004. *Écotoxicologie moléculaire : principes fondamentaux et perspectives de développement*. Presses de l'Université du Québec. 462 pages

Camilli, R.; Reddy, C.M.; Yoerger, D.R.; Van Mooy, B.A.S.; Jakuba, M.V.; Kinsey, J.C.; McIntyre, C.P.; Sylva, S.P. and J.V. Maloney. *Tracking Hydrocarbon Plume Transport and Biodegradation at Deepwater Horizon*. *Science*. 330 (6001): 201-204

Castege, I.; Lalanne, Y.; Gouriou, V.; Hemery, G.; Girin, M.; D'Amico, F.; Mouches, C.; D'Elbee, J.; Soulier, L.; Pensu, J.; Lafitte, D. and F. Pautrizel. 2007. *Estimating actual seabirds mortality at sea and relationship with oil spills: lesson from the Prestige oil spill in Aquitaine (France)*. *Ardeola* 54 (2): 289-307.

Cavanaugh, K.P.; Goldsitt, A.R.; Holmes, W.N. and B.K. Follett. 1983. *Effects of Ingested Petroleum on the Plasma Prolactin Levels during Incubation and the Breeding Success of Paired Marllard Ducks*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 12: 335-341.

Cavanaugh, K.P. and W.N. Holmes. 1983. *Effects of Ingested Petroleum on the development of ovarian endocrine function in photostimulated Mallard Ducks (Anas platyrhynchos)*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 16: 247-253.

Chardine, J.W.; J.-F. Rail and S. Wilhelm. Accepted 2013. *Population dynamics of Northern Gannets in North America, 1984-2009*. Journal of Field Ornithology. 84: 187–192.

Chastel, O.; Lacroix, A.; Weimerskirch, H. and G. H. Gabrielsen. 2005. *Modulation of prolactin but not corticosterone responses to stress in relation to parental effort in a long-lived bird*. Hormones and Behavior 47 (4): 459-466.

Cherel, Y.; Mauget, R.; Lacroix, A. and J. Gilles. 1994. *Seasonal and Fasting-Related Changes in Circulating Gonadal Steroids and Prolactin in King Penguins, Aptenodytes patagonicus*. Physiological Zoology. 67(5): 1054-1173.

Clapp, R.B.; Banks, R.C.; Morgan-Jacobs, D. and W.A. Hoffman. 1982. *Marine birds of the southeastern United States and Gulf of Mexico. Part 1. Gaviiformes through Pelecaniformes*. Technical Report. FWS/OBS-82/01, United States Fish and Wildlife Service, Office of Biological Services, Washington, D.C., USA.

Clark, M. R. 1988. *Senescence of red blood cells: progress and problems*. Physiology Review. 68: 503–554.

De Roos, R. 1961. *The corticoids of the avian adrenal gland*. General and Comparative Endocrinology. 13: 455-459.

Doornaert, B. et A. Pichard. 2005. *Analyse et proposition de méthodes d'évaluation de la relation dose-réponse des effets cancérigènes induits par un mélange d'hydrocarbures aromatiques polycycliques*. Environnement, Risque Santé. 4(3) : 1-16.

Eastin Jr.; W. E. and B. A. Rattner. 1982. *Effects of Dispersant and Crude Oil Ingestion on Mallard Ducklings (Anas platyrhynchos)*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 29: 273-278.

Eilperin, J. May 5th, 2010. *U.S. exempted BP's Gulf of Mexico drilling from environmental impact study*. The Washington Post.

El Halawani, M.E. and I. Rozenboim. 1993. *The ontogeny and control of incubation behavior in turkeys*. Poultry Science. 72: 906-911.

Fowler, G.S.; Wingfield, J.C. and P. Dee Boersma. 1995. *Hormonal and reproductive effects of low levels of petroleum fouling in Magellanic Penguins (Spheniscus magellanicus)*. The Auk. 112 (2): 382-389.

Fox, J.M. 2010. *Geocator manual v8*. British Antarctic Survey. Natural Environment Research Council.

Furness R.W. and K. (C.J.) Camphuysen. 1997. *Seabirds as monitors of the marine environment*. ICES Journal of Marine Science. 54 (4): 726-737

Garthe, S.; Montevecchi, W.A. and G.K. Davoren. 2007. *Flight destinations and foraging behavior of gannets preying on small forage fishes*. Deep Sea Research. 54: 311-320.

Giese, M.; Goldsworthy, S.D.; Gales, R.; Brothers, N. and J. Hamill. 2000. *Effects of the Iron Baron oil spill on little penguins (Eudyptula minor). III. Breeding success of the rehabilitated oiled birds*. Wildlife Research. 27(6): 585-591.

Godfrey, W.E. 1990. *Encyclopédie des oiseaux du Québec*. Musée canadien de la nature : Les Éditions de l'Homme. 621 pages.

Golet, H.G.; Seiser, P.E.; MacGuire, A.D.; Roby, D.D.; Fischer, J.B.; Kuletz, K.J.; Irons, D.B.; Dean, T.A.; Jewett, S.C. and S.H. Newman. 2002. *Long-term direct and indirect effects of the Exxon Valdez oil spill on pigeon guillemots in the Prince William Sound, Alaska*. Marine Ecology Progress Series. 241: 287-304.

Gorsline, J. and W.H. Holmes. 1981. *Effects of Petroleum on Adrenocortical Activity and on Hepatic Naphthalene-Metabolizing Activity in Mallard Ducks*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 10: 765-777.

Guéguen, Y.; Mouzat, K.; Ferrari, L.; Tissandie, E.; Lobaccaro, J.M.A.; Batt, A.-M.; Paquet, F.; Voisin, P.; Aigueperse, J.; Gourmelon, P. et M. Souidi. 2006. *Revue générale: Les cytochromes P450 : métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique*. Annales de Biologie Clinique. 64 (6): 535-548.

Hagerty, C. L. 2010. *Deepwater Horizon Oil Spill: Selected Issues for Congress*. DIANE Publishing. 33 pages.

Hall, R.J. and N.C. Coon. 1989. *Interpreting residues of petroleum hydrocarbons in wildlife tissues*. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report. 88 (15).

Harmens, H.; Foan, L.; Simon, V. and G. Mills. 2013. *Terrestrial mosses as biomonitors of atmospheric POPs pollution: A review*. Environmental Pollution. 173 : 245-254

Harvey, S.; Philips, J.G.; Rees, A. and T.R. Hall. 1984. *Stress and adrenal function*. Journal of Experimental Zoology. 232 (3): 633-645.

Heubeck, M.; Camphuysen, K.C.J.; Bao, R.; Humple, D.; Rey, A.S.; Cadiou, B.; Bräger, S. and T. Thomas. 2003. *Assessing the impact of major oil spills on seabird populations*. Marine Pollution Bulletin 46: 900-902.

Hill, R.D. 1994. *Theory of geolocation by light levels. In Elephant seals: population ecology, behavior, and physiology.* B.J. LeBoeuf & R.M. Laws, Berkeley, University California Press: 227-236.

Hodgson, E. 2004. *A Textbook of Modern Toxicology.* Edition Wiley-Interscience. 3rd Edition. New Jersey. 582 pages.

Holmes, W.N.; Cronshaw, J. and J. Gorsline. 1978. *Some effects of ingested petroleum on seawater-adapted ducks (Anas platyrhynchos).* Environmental Research. 17 (2): 177-190.

Horak, P.; Jenni-Eiermann, S. and I. Ots. 1999. *Do great tits (Parus major) starve to reproduce?* Oecologia .119: 293-299.

Hyne, N.J. 2001. *Nontechnical guide to petroleum geology, exploration, drilling and production.* PennWell Books. 598 pages.

INERIS. 2005. *Hydrocarbures Aromatique Polycycliques: Guide méthodologique.* Rapport d'études N°66244-DESP-R01.

Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS). 2009. *Biotox – substance: Benzo[a]pyrène.* http://www.inrs.fr/htm/3-hydroxybenzo_a_pyrene_urinaire_1.html

Joseph, M.M. and J.H. Meier. 1973. *Daily rhythms of plasma corticosterone in the common pigeons, Columba livia.* General and Comparative Endocrinology. 20 (2): 326-330.

Khan, R.A. and P. Ryan. 1991. *Long term Effects of Crude Oil on Commun Murre (Uria aalge) Following Rehabilitation.* Environmental Contamination and Toxicology. 46: 216-222.

Kitaysky, A.S.; Wingfield J.C. and J. F. Piatt. 1999. *Dynamics of Food Availability, Body Condition and Physiological Stress Response in Breeding Black-Legged Kittiwakes*. *Functional Ecology*. 13 (5): 577-584

Lauwerys, R.R.; Haufroid, V.; Hoet, P. et D. Lison. 2007. *Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles*. Édition Elsevier Masson. 1252 pages.

Lea, R.W.; Dods, A.S.M.; Sharp, P.J. and A. Chadwick. 1981. *The possible role of prolactin in the regulation of nesting behaviour and the secretion of luteinizing hormone in broody bantams*. *Journal of Endocrinology*. 91: 89-97.

Leaute, F. 2008. *Biogéochimie des contaminants organiques HAP, PBC et pesticides organochlores dans les sédiments de l'étang de Thau*. Thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie. Ifremer.

Legault, A. 2007. *Pétrole, gaz et les autres énergies : le petit traité*. Éditions Ophrys. 308 pages.

Logan, C.A. and J.C. Wingfield. 1995. *Hormonal Correlates of Breeding Status, Nest Construction, and Parental Care in Multiple-Brooded Northern Mockingbirds, *Mimus polyglottos**. *Hormones and Behavior*. 29 (1): 12-30.

Lormée, H.; Jouventin, P.; Chastel, O. and R. Mauget. 1999. *Endocrine correlates of parental care in an Antarctic winter breeding seabird, the emperor penguin, *Aptenodytes forsteri**. *Hormones and Behavior*. 35: 9-17.

Lormée, H.; Jouventin, P.; Lacroix, A.; Lallemand, J. and O. Chastel. 2000. *Reproductive endocrinology of tropical seabirds: sex-specific patterns in LH, steroids, and prolactin secretion in relation to parental care*. *General and Comparative Endocrinology*. 117: 413-426.

Love, O.P.; Breuner, C.W.; Vézina, F. and T.D. Williams. 2004. *Mediation of a corticosterone-induced reproductive conflict*. *Hormones and Behavior*. 46: 59-65.

Marzluff, J.M. and R. Sallabanks. 1998. *Avian Conservation: research and management*. Island Press. 563 pages.

McFarland, D. 2001. *Le comportement animal : psychologie, éthologie et évolution*. DeBoeck Supérieur. 616 pages.

Micol, T. and P. Jouventin. 2001. *Long-Term population trends in seven Antarctic seabirds at Pointe Geologie (Terre Adélie) Human impact compared with environmental changes*. *Polar Biology*. 24 (3): 175-185.

Mikami, S.-I. and S. Yamada. 1984. *Immunohistochemistry of the hypothalamic neuropeptides and anterior pituitary cells in the Japanese quail*. *Journal of Experimental Zoology*. 232 (2): 405-417.

Minerals Management Service (MMS), Interior. 2004. *Oil and Gas and Sulphur Operations in the Outer Continental Shelf—Relief or Reduction in Royalty Rates—Deep Gas Provisions*. *Federal Register, Rules and Regulations* 69 (16) : 3492-3513.

Moisan, G. et B. Scherrer. 1973. *Déplacements saisonniers des Fous de Bassan de l'Ile Bonaventure (Canada) (Sula bassana)*. *Terre Vie*. 27:414-434.

Montevecchi, W.; Fifield, D.; Burke, C.; Garthe, S.; Hedd, A.; Rail, J.-F. and G. Robertson. 2011. *Tracking long-distance migration to assess marine pollution impact*. *Biology letters*. 10.

Moreno, J. 1989. *Strategies of mass change in breeding birds*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 37: 297-310

Neilson, A.H. and O. Hutzinger. 1997. *PAHs and related compounds: biology*. Springer. 386 pages.

Neilson, J.B. 1963. *Factors influencing clutch-size and chick growth in the North Atlantic Gannet (Sula bassana)*. Ibis. 106(1): 63-77.

Nelson, B. 2001. *The Atlantic Gannet*. Neil Shuttlewood (Wax Fenix Books). 396 pages.

Nelson, J.B. 1966. *Population Dynamics of the Gannet (Sula bassana) at the Bass Rock, with Comparative Information from Other Sulidae*. Journal of Animal Ecology. 35 (3): 443-470

Nettleship, D.N. and G. Chapdelaine. 1988. *Population Size and Status of the Northern Gannet (Sula bassanus) in North America, 1984*. Journal of Field Ornithology. 59 (2): 120-127.

Peakall, D.B.; Tremblay, J.; Kinter, W.B. and D.S. Miller. 1981. *Endocrine dysfunction in seabirds caused by ingested oil*. Environmental Research. 24 (1): 6-14.

Phillips, R.A.; Silk, J.R.D.; Croxall, J.P.; Afanasyev, V. and D.R. Briggs. 2004. *Accuracy of geolocation estimates for flying seabirds*. Marine Ecology Progress Series. 266: 265–272.

Pêche et Océans Canada. 2004. *Développement technologique : Un nouvel outil pour évaluer les rejets de boues de forage dans la zone extracôtière*. Le point sur le CRPGEE: Centre de recherche sur le pétrole, le gaz et autres sources d'énergie extracôtières. 1 (2).

Pereira, M.G.; Walker, L.A.; Wright, J.; Best, J. and R.F. Shore. 2008. *Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in eggs from gannets, golden eagles and merlins*. Organohalogen Compounds. 70: 166-169

Pérez, C.; Velando, A.; Munnilla, I.; Lopez-Alonzo, M. et D. Oro. 2008. *Monitoring Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Pollution in the Marine Environment after the Prestige Oil Spill by Means of Seabird Blood Analysis*. Environmental Science and Technology. 42: 707-713.

Rail, J.-F. 2009. *Fous de Bassan du parc national de l'Île-Bonaventure-et-du-Rocher-Percé : situation actuelle et opportunités de recherche*. Le naturaliste Canadien. SEPAQ. 133 (3) Numéro special: 33-38.

Rattner, B.A.; Eroschenko, V.P.; Fox, G.A.; Fry, D.M. and J. Gorsline. 1984. *Avian endocrine responses to environmental pollutants*. Journal Experimental Zoology. 232 (3) : 683-689.

Reid, J. B.; Pollock, C. M. and R. Mavor. 2001. *Seabirds of the Atlantic Frontier, North and West of Scotland*. Continental Shelf Research, 21: 1029-1045.

Réseau Sépaq. 2011a. *Parc national de l'île-Bonaventure-et-du-Rocher-Percé : Accueil*. Sépaq. <http://www.sepaq.com/pq/bon/index.dot>

Réseau Sépaq. 2011b. *Parc national de l'île-Bonaventure-et-du-Rocher-Percé : Recherches scientifiques*. Sépaq. <http://www.sepaq.com/pq/bon/conserver/recherche-scientifique.dot>

Ressources naturelles Canada (RNCAN). 2010. (Page consultée le 23 février 2010). *Sources d'énergie : Examen des enjeux qui influencent le prix du pétrole*. <http://www.nrcan-rncan.gc.ca/eneene/////////sources/crubru/pcopdp/impimp-fra.php>

Romero, L.M. and J.M. Reed. 2005. *Collecting baseline corticosterone samples in the field: is 3 minutes good enough?* Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Molecular & Integrative Physiology. 140 (1): 73-79.

Romero, L.M. and L. Ramage-Healey. 2000. *Daily and Seasonal Variations in Response to Stress in Captive Starlings (Sturnus vulgaris): Corticosterone*. General and Comparative Endocrinology. 119 (1): 52-59.

Sandvik, H.; Erikstad, K.E.; Barrett, R.T, and N.G. Yoccoz. 2005. *The effect of climate on adult survival in five species of North Atlantic*. Journal of Animal Ecology. 74 (5): 817-831.

Santé Canada. 2007. (Page consultée le 17 mars 2010). *Santé de l'environnement et du milieu de travail : Hydrocarbure aromatiques polycycliques-LSIP1*. http://www.hcsc.gc.ca/ewhsemt/pubs/contaminants/psl1lsp1/hydrocarb_aromat_polycycl/hydrocarb_aromat_polycycl_2-fra.php

Sharp, P. J., 1996. *Strategies in avian breeding cycles*. Animal Reproduction Science. 42 (1-4): 505-513.

Sharp, P.J.; Dawson, A. and R.W. Lea. 1998. *Review Control of luteinizing hormone and prolactin secretion in birds*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C. 119: 275-282.

Sharp, P.J.; Mac Namee, M.C.; Sterling, R.J. and H.C. Pedersen. 1988. *Relationships between prolactin, LH and broody behaviour in bantam hens*. Journal of Endocrinology. 118: 279-286.

Schoech, S.J.; Mumme, R.L. and J.C. Wingfield. 1996. *Prolactin and helping behaviour in the cooperatively breeding Florida scrub-jay, Aphelocoma c. coerulescens*. Animal Behaviour. 52: 445-456.

Schreiber, E.A. and J. Burger. 2002. *Biology of Marine Birds*. CRC Press. 722 pages

Siegel, H. S. 1980. *Physiological Stress in Birds*. BioScience. 30 (8): 529-534.

Silverin, B. 1986. *Corticosterone-binding proteins and behavioural effects of high plasma levels of corticosterone during the breeding period in the pied flycatcher*. *General and Comparative Endocrinology*. 64 (1): 67-74.

Stellman, J.M. et C. Dufresne. 2000. *Encyclopédie de sécurité et de santé au travail*. International Labour Organization. Volume 4. 107 pages.

Stephenson, R. 1997. *Effects of oil and other surface-active organic pollutants on aquatic birds*. *Environmental Conservation*. 24: 121-129.

Sturkie, P.D. and G.C. Whittow. 2000. *Sturkie's avian physiology*. Academic Press. 685 pages.

Thériault, C. 5 mai 2010. *Marée Noire : les fous de Bassan de l'île Bonaventure menacés*. Le Soleil. <http://www.cyberpresse.ca/le-soleil/actualites/environnement/201005/05/01-4277533-maree-noire-les-fous-de-bassan-de-lile-bonaventure-menaces.php>

Tøttrup, A.P.; Klaassen, R.H.G.; Strandberg, R.; Thorup, K.; Kristensen, M.W.; Søgaard Jørgensen, P.; Fox, J.; Afanasyev, V.; Rahbek, C. and T. Alerstam. 2012. *The annual cycle of a trans-equatorial Eurasian–African passerine migrant: different spatio-temporal strategies for autumn and spring migration*. *Proceeding of the Royal Society, Biological Sciences*. 279 : 1008–101

Tricart, T. 1987. *Un type de catastrophe technologique : les déversements littoraux d'hydrocarbures*. *Annales de géographie*. (96) 534 : 214-220.

Troisi, G.M.; Bexton, S. and I. Robinson. 2006. *Polyaromatic Hydrocarbon and PAH Metabolite Burdens in Oiled Common Guillemots (Uria aalge) Stranded on the East Coast of England (2001-2002)*. *Environmental Science & Technology*. 40 (24): 7938-7943.

Troisi, G.M. and L. Borjesson. 2005. *Development of an Immunoassay for the Detection of Polyaromatic Hydrocarbons in Plasma Samples from Oiled Seabirds*. Environmental Science and Technology. 39(10): 3748-3755.

Varanasi, U.; Stein, J.E. and M. Nishimoto. 1988. *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbon in the aquatic environment*. Varanasi. U. Edition.; CRC Uniscience Series, CRC Press: Boca Raton, Fl. 9: 3-150.

Verboven, N.; Verreault, J.; Letcher, R. J.; Gabrielsen, G. W. and N. P. Evans. 2010. *Adrenocortical function of Arctic-breeding gull in relation to persistent organic pollutants*. General and Comparative Endocrinology. 166 (1): 25-32.

Verreault, J.; Verboven, N.; Gabrielsen, G.W.; Letcher, R. J. and O. Chastel. 2008. *Changes in prolactin in highly organohalogen contaminated Arctic top predator seabird, the glaucous gull*. General and Comparative Endocrinology. 156 (3): 569-576.

Votier, S.C.; Hatchwell, B.J.; Beckerman, A.; Pellatt, J.; Trinder, M. and T.R. Birkhead. 2005. *Oil pollution and climate have wide-scale impacts on seabird demographics*. Ecology Letters. 8 (11): 1157-1164.

Washburn, B.E.; Morris, D.L.; Millspaugh, J.J.; Faaborg, J. and J.H. Schulz. 2002. *Using a commercially available radioimmunoassay to quantify corticosterone in avian plasma*. The Cooper Ornithological Society. The Condor. 104: 558-563.

Weimerskirch, H.; Inchausti, P.; Guinet, C. and C. Barbraud. 2003. *Trends in bird and seal populations as indicators of a system shift in the Southern Ocean*. Antarctic Science 15 (2): 249-256.

Wells, P. G.; Newton Butler, J. and J. S. Hughes. 1995. *Exxon Valdez oil spill: fate and effects in Alaskan waters*. ASTM International. 955 pages.

Whitacre, D.M. 2008. *Reviews of Environmental Contamination and toxicology*. Springer. 206 pages.

Wingfield, J.C.; Maney, D.L.; Breuner, C.W.; Jacobs, J. D.; Lynn, S.; Ramenosky, M. and R. D. Richardson. 1998. *Ecological Bases of Hormone-Behavior Interactions: The "Emergency Life History Stage"*. *American Zoology*. 30: 191-206.

Wingfield, J.C.; Matt, K.S. and D. S. Farner. 1984. *Physiologic properties of steroid hormone-binding proteins in avian blood*. *General and Comparative Endocrinology*. 53: 281-292.

Wingfield, J.C. and R.M. Sapolsky. 2003. *Review Article: Reproduction and Resistance to Stress: When and How?* *Journal of Neuroendocrinology*. 15: 711-724.

Wingfield, J.C.; Vleck, C.M. and M.C. Moore. 1992. *Seasonal changes of the adrenocortical response to stress in birds of the Sonoran desert*. *Journal of Experimental Zoology*. 264 (4): 419-428.

Yeudakiamau, A.; Provasas, A. and C. Perkins. *Standard Operating Procedure for Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbones (PAH) in blood by UHPLC*. SOP # 03-110-01. Center for Environmental Sciences and Engineering, University of Connecticut.