

UFR SCIENCES & TECHNIQUES COTE BASQUE

Université de Pau et des Pays de l'Adour

Licence Biologie des Organismes

Etude comparative de l'imprégnation mercurielle du brochet dans les lacs aquitains



Laclau Mickael

Stage effectué du 07/03/16 au 06/05/16

Université de Bordeaux/UMR EPOC 5805

Equipe d'Ecotoxicologie Aquatique

Station Marine d'Arcachon Place Dr Peyneau 33120 ARCACHON

Sous la direction de Maury-Brachet Régine et Gentès Sophie



Table des matières

Avant- propos

1. Introduction	1
2. Matériels et méthodes.....	4
2.1. Echantillonnage	4
2.2. Dissection	5
2.3. Lyophilisation.....	5
2.4. Broyage	6
2.5. Analyse du mercure total avec l'AMA 254.....	6
2.6. Analyses statistiques.....	7
3. Résultats et Discussion	8
3.1. Test de répartition du mercure dans 3 organes de 2 espèces	8
3.2. Répartition des concentrations en mercure dans les organes des brochets.....	9
3.3. Répartition des concentrations moyennes en mercure dans les différents organes de brochets en fonction des lacs Aquitains	11
Conclusion.....	14
Bibliographie.....	15
Résumé	1
Annexes	2

Remerciements

Je tenais tout d'abord à remercier Laurent Lanceleur, écotoxicologue et géochimiste, et Mathilde Montperrus, maître de conférences, de m'avoir aidé à trouver ce stage et ainsi de participer à ce projet à la station marine d'Arcachon.

Je voulais ensuite remercier chaleureusement Régine Maury Brachet, Ingénieur de Recherche 2ème classe et Sophie Gentès, post doctorante, ainsi que toute l'équipe d'écotoxicologie aquatique de la station pour leur accueil. J'ai appris beaucoup de choses durant ces 2 mois tant sur le côté professionnel qu'humain et je suis sincèrement ravi d'avoir pris part à ce projet.

Enfin, je voudrais également remercier Alyssa Azaroff, étudiante en master 2 DYNEA, qui a été une excellente collègue de stage avec qui j'ai partagé de bons moments.

A ma mère..

Avant- Propos

L'UMR EPOC, Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux, est une Unité Mixte de Recherche (UMR 5805) commune à plusieurs organismes :

- Université de Bordeaux
- Centre National de Recherche Scientifique (CNRS)
- Ecole Pratique des Hautes Etudes

Ses principaux domaines d'activités sont :

- **La Recherche scientifique** dans l'ensemble des domaines relatifs à l'étude des environnements et paléo-environnements aquatiques océaniques et continentaux
- **La Formation** au sein de l'Université Bordeaux, les personnels enseignants-chercheurs d'EPOC sont notamment impliqués dans : (1) la Mention de Master Sciences de la Terre, Environnement, Ecologie dont les deux spécialités Ecotoxicologie - Chimie de l'Environnement, et Océanographie ont été conçues en miroir aux trois thématiques de recherche de l'UMR et (2) un Master international en Environnement et Ressources Marines (Master MER)
- **L'Observation** qui comprend à la fois des composantes à long terme et à haute fréquence. Ces activités sont conduites en étroite association avec l'OASU et souvent dans le cadre de réseaux nationaux (e.g., le Service d'Observation du Milieu Littoral, et le Réseau National RESOMAR dont certaines des animations scientifiques sont assurées par des personnels d'EPOC).

Au 30 juin 2014, l'UMR EPOC regroupait **218 personnes** dont :

- **75** chercheurs et enseignants-chercheurs
- **52** personnels techniques : Bibliothécaires, Ingénieurs, Administratifs, Techniciens, Ouvriers et personnels de Service
- **21** personnels non permanents
- **70** doctorants

L'UMR EPOC est structurée en **sept équipes scientifiques** dont les responsables ont en charge l'animation et la gestion des moyens humains (personnels techniques, chercheurs et enseignants-chercheurs) et matériels (équipements, soutien financier de base) qui leur sont dédiés.

L'UMR EPOC est localisée sur **trois sites géographiques principaux** répartis sur les campus de Talence et d'Arcachon. Chacun de ces sites possède un responsable spécifique qui a en charge sa gestion opérationnelle.

1. Introduction

Le mercure est un métal présent naturellement dans l'environnement essentiellement dans les roches du sous-sol. Les sources d'émission du mercure sont les volcans et particulièrement les activités anthropiques (industries, extraction minière...). C'est l'un des métaux les plus toxiques et il est très volatil dans l'environnement à température ambiante. A l'aide des différents mécanismes physico- chimiques, le mercure est capable de se transformer sous différentes formes. Ainsi, cela lui permettra de s'intégrer plus facilement dans les matières organiques. Il existe trois différentes formes de mercure. La première est le mercure élémentaire Hg^0 , liquide et volatile. La seconde forme est le mercure inorganique divalent $\text{Hg}(\text{II})$, libre ou complexé, qui est toxique mais à de fortes concentrations. Enfin, la forme mercure organique MeHg (monométhylmercure) est la plus dangereuse pour les êtres vivants, c'est en effet un puissant neurotoxique. Il est lipophile et passe donc aisément les barrières lipidiques (Berlin, 1986) ; assimilé au niveau gastro-intestinal puis passe dans le sang, le MeHg atteint des zones cibles telles que le cerveau ou les muscles.

En condition anoxique, le mercure inorganique peut être transformé en MeHg par l'intermédiaire de microorganismes sulfato-réducteurs présents à l'interface eau-sédiment ou bien dans le biofilm (périphyton) (Wiener et al, 2002). Ces bactéries ont la capacité de transformer des formes de mercure assez « inoffensives » (Hg^0 et $\text{Hg}(\text{II})$) en formes dangereuses (MeHg). De plus, les capacités chimiques du mercure lui confèrent une bioaccumulation élevée dans les organismes ingérant des proies contaminées. Ces mêmes capacités chimiques permettent à ce métal de se bioamplifier dans les organismes le long de la chaîne trophique via des relations proies-prédateurs. Ainsi, à partir de très faibles concentrations dans le milieu, proches du nanogramme par litre, on peut retrouver des concentrations extrêmement élevées dans le tissu musculaire des consommateurs terminaux. Nous pouvons observer dans la figure ci-dessous les différentes sources d'émission du mercure ainsi que ses diverses modifications chimiques au sein des différents milieux :

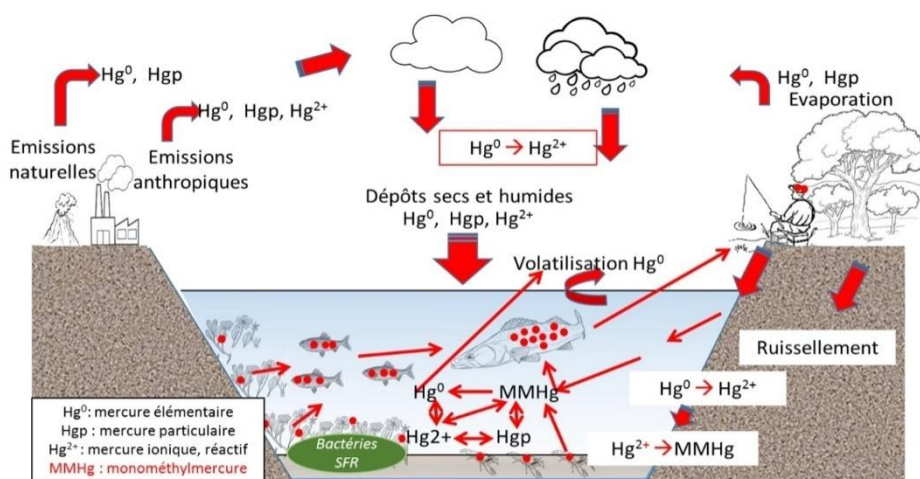


Figure 1 Sources d'émission du mercure et ses diverses modifications chimiques au sein de l'écosystème aquatique (Wiener et al, 2002)

Pour exemple dans le lac de Cazaux-Sanguinet dans les Landes, la concentration en MeHg dans la colonne d'eau est de l'ordre de 0.000 004 mg MeHg.L-1, et celle d'un poisson comme le Brochet (piscivore) est de 0.84 mg Hg.kg-1 poids frais (pf) soit un facteur de bioconcentration de 2,1 millions (Gentès et *al*, 2013).

L'homme étant le dernier maillon de la chaîne alimentaire, il était important de quantifier le taux de mercure présent dans ces poissons pour évaluer une présence ou non d'une contamination. La norme de l'imprégnation mercurielle des cheveux définie par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) étant de 10 mg Hg total.kg-1 et devrait passer à 5 mg Hg.kg-1 prochainement (WHO, 1990). Les risques sur la santé humaine sont conséquents et notamment au niveau du système nerveux (maladie de la Minamata) (Compeau et Bartha, 1985 ; King et *al*, 2001 ; Ranchou- Peyruse et *al*, 2009).

À l'automne 2011, sous l'impulsion de l'association de Pêche de Hourtin, 25 kilos de poissons ont été prélevés dans le lac de Hourtin-Carcans et confiés au bureau Veritas, pour analyses. Les résultats ont montré des concentrations en mercure (Hg) allant de 1 mg Hg total.kg-1 poids frais (pf) pour le brochet à 1,4 mg Hg total.kg-1 pf pour le sandre. Ces concentrations dépassant les recommandations alimentaires préconisées par l'Union Européenne (UE) à savoir de 0,5 pour le sandre et 1 mg Hg total.kg-1 pf pour le brochet, le préfet de Gironde a publié le 19 juillet 2012 un arrêté interdisant la consommation des sandres dans ce lac.

Parallèlement à cela l'Agence Régionale de Santé (ARS) a saisi l'Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail (ANSES) en mars 2012 et cet organisme a commandé une étude complémentaire sur la contamination des poissons par le Hg des principaux lacs aquitains. Elle a montré que des poissons tels que les sandres, poissons carnivores, des lacs d'Hourtin-Carcans et de Lacanau avaient des niveaux de contamination par le mercure supérieurs à la recommandation de consommation en vigueur (0.5 mg Hg.kg-1 poids frais) comme on peut le remarquer dans le tableau suivant :

Tableau 1 Moyenne des concentrations en Hg (mg Hg.kg-1 pf) mesurées dans le muscle des poissons (les conditions surlignées en jaunes sont supérieures à la recommandation de consommation)

Lacs	Brème (benthivore)	Gardon (omnivore)	Sandre (carnassier)	Brochet (carnassier)
Hourtin Carcans	0,12	0,12	0,92	0,91
Lacanau	0,06	0,08	0,5	0,32
Cazaux Sanguinet	0,07	0,16	0,31	0,19
Parentis Biscarosse	0,07	0,07	0,16	0,07
Aureilhan	0,04	0,05	0,12	0,14

Une interdiction de consommation des sandres pêchés dans ces lacs a été instaurée et cela a engendré de vives inquiétudes auprès des acteurs locaux (fédérations de pêche, associations,

populations...) et des instances administratives (Agence de l'Eau Adour Garonne, Agence régionale de santé...). Suite à la suspicion d'une potentielle contamination humaine, l'ARS a consulté en tant qu'expert l'équipe d'écotoxicologie aquatique de la station marine d'Arcachon, qui les a amenée à proposer le projet CLAQH. Il implique 6 équipes de recherches multidisciplinaires (représentants 6 volets différents représentés en annexe) qui nous permettront de comprendre pourquoi la contamination par le mercure n'est pas identique dans tous les lacs, quelle en est son origine et comment ce contaminant se répartit au sein de chaque écosystème. Enfin, une évaluation de l'impact que pourrait avoir cette pollution sur la santé humaine sera réalisée et des perceptions des risques par les consommateurs seront mises en place.

Le travail effectué au cours de mon stage s'inscrit dans le cadre de la première phase du projet CLAQH et notamment dans le premier volet (équipe écotoxicologie aquatique, laboratoire EPOC). Les responsables de cette étude nous ont demandé à ma collègue de stage, Alyssa Azaroff (Master 2 Dynea) et moi-même d'analyser la répartition du taux de mercure total au sein des principaux organes (muscle, foie, gonade) de cinq espèces cibles de poissons de différents régimes alimentaires comme le brochet, la perche, le sandre, le gardon et la brème. Cette première phase du projet est très importante, car à l'issue de mon stage et de celui d'Alyssa les résultats des concentrations en mercure total dans les principaux organes de poissons seront analysés. Les échantillons les plus pertinents par rapport aux objectifs du projet CLAQH, vont permettre de répondre à une partie du questionnement du projet qui pourra alors déboucher sur les autres phases du projet.

Mon stage s'est focalisé sur les résultats concernant une espèce de piscivore : le brochet, qui a été collecté en abondance sur les 4 lacs aquitains pendant la campagne d'échantillonnage de l'automne 2015.

2. Matériels et méthodes

Dans cette partie une description des différentes étapes réalisées durant mon stage sera effectuée, afin de déterminer la répartition des concentrations de mercure dans les différents poissons

2.1. Echantillonnage

Dans le cadre du projet CLAQH, un important effort d'échantillonnage a été mis en place au niveau des quatre grands lacs Aquitains représentés sur la carte ci-dessous (figure 2) :



Figure 2 Cartographie des différents grands lacs aquitains

Une campagne de pêche a été réalisée simultanément sur les 4 lacs en automne 2015. Cette campagne a été effectuée sur une courte période, 2 mois seulement, afin de ne pas inclure dans nos résultats d'analyse mercure le facteur saison. Contrairement à l'ANSES qui avait réalisé une collecte d'échantillonnage en 2013 en prélevant les poissons dans les 4 lacs à différentes saisons. L'échantillonnage a ciblé 5 espèces de poissons avec différents régimes alimentaires, par lac et par taille (grands et petits). Il s'agit du brochet (piscivore), du gardon (omnivores), du sandre (piscivore), de la brème (benthivore) et de la perche (piscivore). Les sources de nourritures des poissons ont également été collectées telles que des écrevisses, des ablettes, des plantes, du biofilm, du sédiment...

Des concours de pêche ainsi qu'une pêche avec un professionnel ont été réalisés afin de récolter un maximum d'individus sur les différents lacs. Au total, près de 600 individus ont été collectés. Nous pouvons d'ailleurs observer en annexe les échantillons recueillis pour chaque lac afin de constater le bel échantillonnage obtenu pour le projet.

2.2. Dissection

Suite à la campagne d'échantillonnage, une dissection, une mesure de la taille standard (sans la queue du poisson), une mesure du poids et des prélèvements d'écaillés des poissons ont été effectués. Les écaillés vont être envoyées à l'INRA de Saint- Pée sur Nivelles afin de déterminer l'âge du poisson. La dissection a permis de prélever les organes suivants : gonades, foie, rate, intestin, estomac, branchies, rein, vésicule biliaire...ainsi que les muscles des espèces.

Les morceaux de gonade, foie et muscle ont été ensuite disposés dans des tubes préalablement pesés. Ainsi, lors de la pesée du tube contenant l'échantillon d'organe ou de muscles, nous avons pu soustraire le résultat de la pesée organe ou muscle frais avec celui du tube seul. Le poids de l'organe ou du muscle seul a pu ainsi être déterminé. Nous avons produit la même chose pour les tubes lyophilisés. Donc, avec l'obtention de ces poids nous pouvons pu calculer le rapport poids frais/poids sec (voir annexe 2). Les résultats d'analyse mercure dépendront de ce rapport puisque nous analysons uniquement des échantillons lyophilisés. La concentration en mercure trouvée dans l'échantillon lyophilisé sera la valeur définitive dans le cadre du rapport.

Ces tubes ont été ensuite classés par organe ou par muscle, puis par espèces et enfin par lac. Ainsi, pour la suite de nos travaux, il était plus facile de nous y retrouver parmi le nombre conséquent d'échantillons à notre disposition.

2.3. Lyophilisation

Nous avons lyophilisé (figure 3) les échantillons de muscle, de foie et de gonades des différents poissons. Un échantillon lyophilisé est un échantillon « sec » ayant perdu toute l'eau qu'il contenait par sublimation à l'aide d'un lyophilisateur (voir photo). Ainsi l'échantillon peut être mieux conservé. Nous avons disposé des tubes ou des sachets contenant les échantillons (ouvert à moitié afin que toute l'eau puisse s'échapper) dans cet appareil et nous avons attendu pendant un minimum de 72h pour que la lyophilisation soit optimale. Les échantillons lyophilisés ont été pesés comme nous l'avons fait précédemment avec les organes frais.



Figure 3 Lyophilisateur – EDWARDS- contenant les échantillons

2.4. Broyage

Les échantillons de muscle, de foie et de gonades de toutes les espèces de poissons ont été broyés (figure 4). L'étape de broyage consiste à réduire en poudre un échantillon précédemment lyophilisé. Pour ce faire, on disposera les organes ou les muscles lyophilisés dans des tubes en Teflon comprenant une bille à l'intérieur et l'échantillon. Nous insérons ces tubes dans le broyeur automatique réglé sur une fréquence de 15Hz pendant 20 secondes. Les tubes sont secoués et le résultat acquis est une poudre fine de l'échantillon. Ceci étant, il nous arrivait de modifier et d'adapter le temps ou la fréquence du broyeur afin d'avoir une poudre de meilleure qualité. En effet, certains organes sont plus difficiles à broyer que d'autres. Le foie par exemple contient beaucoup de lipides et le résultat parfois obtenu du broyage est une « pâte » et non une poudre fine. Ces échantillons sont par la suite disposés dans des tubes en verre ambrés afin de protéger le mercure contenu dans l'échantillon de la lumière UV (le mercure étant sensible aux rayonnements UV). Ces étapes de séchage et d'homogénéisation des échantillons sont primordiales, car à l'issue de mon stage et de celui d'Alyssa les résultats des concentrations en mercure total dans les principaux organes de poissons, seront analysés. Les échantillons les plus pertinents par rapport aux objectifs du projet CLAQH, seront sélectionnés et envoyés dans d'autres laboratoires pour des compléments d'analyses (isotopes stables du Hg, C et N, autres métaux traces...).



Figure 4 Broyeur automatique – Retsch MM400

2.5. Analyse du mercure total avec l'AMA 254

Dans cette dernière étape, nous analysons le mercure total des différents échantillons de muscle, de foie et de gonades des différents individus à l'aide de l'AMA 254 (figure 5), un spectrophotomètre d'absorption atomique. L'échantillon pesé est placé dans une nacelle introduite automatiquement dans un four de combustion où il est séché et décomposé sous oxygène à 850°C. Les produits de combustion passent à travers un four catalytique, à 700°C, pour parfaire l'oxydation des molécules, retenir les oxydes de l'azote, les halogènes et le soufre. Le Mercure est ensuite piégé sur un amalgameur en or. Celui-ci est ensuite chauffé pendant un temps très court, pour libérer les vapeurs de mercure qui sont dirigées vers les deux cellules de mesure de l'appareil. Les atomes à mercure absorbent alors la radiation émise par la lampe à vapeurs de mercure du système photométrique. Connaissant le poids de l'échantillon et l'absorption, la machine nous révèle la concentration en mercure total dans l'échantillon.



Figure 5 AMA 254 - SYMALAB

Lorsqu'on parle de mercure total, on parle de toutes les formes présentes chez le mercure. L'AMA ne fait pas la distinction entre le mercure élémentaire, l'inorganique ou le mercure

méthylé. Des analyses plus fines dans d'autres laboratoires pourront nous renseigner sur la teneur en méthylmercure d'un échantillon de muscle ou de foie par exemple.

2.6. Analyses statistiques

Les résultats présentés dans ce rapport sont exprimés sous la forme de valeurs moyennes $\pm$ écarts-types. Afin de vérifier la significativité des résultats obtenus concernant les analyses mercurielles du brochet au sein des différents lacs, des tests statistiques ont été effectués avec le logiciel R. Dans le cas où la normalité des données (Shapiro-Wilk) et l'homogénéité des variances (Batlett) sont vérifiées, un test paramétrique (ANOVA factorielle) a été appliqué. Dans le cas contraire, un test non- paramétrique a été réalisé (Kruskal-Wallis).

Dans la suite du rapport, nous analyserons et discuterons les résultats concernant uniquement le brochet (*Esox lucius*) des quatre différents lacs aquitains. Nous avons sélectionné cette espèce car c'est un consommateur terminal de la chaîne alimentaire et donc, le plus contaminé par le mercure par rapport aux autres espèces de plus bas niveau trophique. De plus, il se trouve que la répartition du nombre de poisson collecté au sein des 4 lacs est la meilleure, contrairement au sandre par exemple où seulement 1 ou 2 individus ont été pêchés pour certains lacs..Ainsi, nous comparerons la répartition du mercure au sein d'un même organisme, entre individus de la même espèce (brochet) et entre lacs. Comme nous pouvons le voir dans le tableau en annexe4, les individus ont été classés par ordre de taille décroissante. Les brochets compris entre 50 et 70 centimètres ont été sélectionnés afin de comparer des individus de même taille entre eux (sous-entendu de même âge).

Pour la petite histoire...

Le brochet est le plus grand carnassier indigène des eaux douces de l'Europe occidentale et peut mesurer jusqu'à 1,50 m et pèse de 15 à 20 Kg. Les femelles sont d'ailleurs plus grandes que les mâles. Le Brochet vit dans tous les lacs exceptés ceux très acides ou pauvres en oxygène et il privilégie les eaux stagnantes, claires et mésotrophes.

Ce carnivore se camoufle parfaitement dans son habitat (lit d'eau ou lisières des roseaux) et se sert de ces herbiers de plantes aquatiques pour se cacher et attaquer ses proies. Elles sont constituées principalement de gardon commun, d'ablette, de canetons et de brème. Le brochet se situe ainsi au plus haut de la chaîne trophique. C'est un bon régulateur biologique car il capture préférentiellement les poissons les plus faibles et les malades (Muus, Dahlstrom, 2003 ;Bruslé, Quignard, 2001).

3. Résultats et Discussion

Dans cette partie, nous discuterons uniquement des résultats concernant le brochet.

3.1. Test de répartition du mercure dans 3 organes de 2 espèces

Au tout début de mon stage, nous avons réalisé la dissection d'un Brochet (C577) (figure 7) et d'un Sandre (C578). Ceci dans le but d'étudier la répartition du mercure dans le muscle, le foie et les gonades de ces deux individus.

Pour le muscle, nous avons pris soin de sélectionner des parties du muscle de façon aléatoire (voir figure 6). En effet un numéro a été attribué à chaque zone du muscle, comme nous pouvons le voir dans le tableau en annexe3. Ensuite, sur Excel, à chacun de ces numéros ont été attribués des valeurs aléatoires comprises entre 0 et 1. Enfin, nous avons classé ces valeurs dans l'ordre décroissant et nous avons sélectionnés les numéros correspondants aux valeurs les plus élevées. Cette sélection aléatoire n'a été réalisée que dans le muscle



Figure 7 Brochet mâle C577



Figure 6 Muscle de Brochet C578

puisque celui-ci présente une surface beaucoup plus importante que le foie et les gonades. Les 2 autres organes ont été analysés en totalité. Nous rappelons que cette sélection aléatoire n'était pas obligatoire mais dans le cadre de l'étude de détermination de la répartition du mercure total au sein de l'espèce, il était préférable de le réaliser afin de ne pas attribuer le facteur humain dans le choix des morceaux de muscle.

Lors de l'étude de répartition du Hg, nous avons comparé les résultats trouvés avec le muscle, le foie et les gonades du brochet C577. Comme nous pouvons le voir dans le tableau ci-dessous (tableau 2) une répartition homogène est présente au sein des muscles et des gonades. Le foie quant à lui présente un coefficient de variation plus élevé que les autres organes (11.22%). Cela semblerait affirmer que nous ayons une répartition plus hétérogène dans le foie. En effet, bien que l'écart type du muscle et du foie soient assez similaires, le coefficient de variation a permis de trancher quant à l'homogénéité de la répartition du mercure au sein du muscle et des gonades. De plus, la comparaison entre l'écart type broyé et non broyé du muscle, du foie et des gonades nous montre que le broyage nous permet d'avoir des valeurs plus homogènes.

Tableau 2 comparaison de la répartition du mercure total entre le muscle, le foie et les gonades broyées et non broyées du brochet (C577). Le coefficient de variation est exprimé en pourcentage. ppm= mg de Hg.Kg-1

Identifiant	Espèce	LS (cm)	Etat du tissu	n	moy[Hg] (ppm) sec	ecart-type	coef variation
MUSCLE	C577	58	Non broyé	10	0,9411	0,0605	6,43
			Broyé	5	0,9194	0,0414	4,50
FOIE			Non broyé	10	0,3004	0,0337	11,22
			Broyé	5	0,2998	0,004	1,33
GONADE			Non broyé	10	0,0702	0,0035	4,99
			Broyé	5	0,0731	0,0022	3,01

Nous pouvons ainsi conclure que le broyage n'est pas forcément nécessaire pour le muscle et les gonades. En revanche, le foie paraît plus hétérogène et nécessite ainsi d'être broyé. Ceci étant, comme nous l'avons dit précédemment, ces échantillons devront être envoyés à d'autres laboratoires pour des compléments d'analyses (isotopes stables du Hg, C et N, autres métaux traces...), aussi nous avons choisi de broyer tous les échantillons.

En parallèle au test de répartition du mercure total au sein des 3 organes des deux individus, nous avons testé l'homogénéité et la valeur des échantillons certifiés utilisés pour valider les analyses mercure. Pendant le dosage, on place un certifié tous les 10 échantillons et toujours, un certifié en début et un en fin d'analyses. Les résultats seront exprimés en mg Hg/kg (poids sec). Le certifié utilisé jusqu'alors était le TORT3, de l'hépatopancréas de homard, pour l'analyse des métaux-trace (valeur théorique du certifié : 0.292 ± 0.022 mg/Kg). Lors du dosage du TORT3, nous nous sommes rendu compte que les valeurs trouvées par l'AMA 254 étaient de l'ordre de 0.25 mg de Hg/Kg (voir tableau du test de certifié en annexe7). Cette valeur était faible par rapport à la valeur théorique, nous avons utilisé un autre certifié et ainsi un test de certifié a dû être effectué afin de choisir le meilleur certifié possible. Dans la suite du stage, le certifié IEAE 436 était utilisé avec près de 100 % de rendement.

3.2. Répartition des concentrations en mercure dans les organes des brochets

Une analyse du graphique montrant le rapport taille/poids est effectuée (voir annexe6) avant analyse des graphiques qui vont suivre. Elle nous permet de vérifier si les données mercures obtenues sont cohérentes ou non. En principe, plus le brochet est grand et plus il pèse lourd. Dans le cas où nous observons des valeurs aberrantes (exemple : un petit brochet lourd), les données mercure de l'individu concerné devront être revues. L'origine de ces valeurs aberrantes peuvent être due à une erreur de saisie.

. La figure 8 présente la répartition du Hg dans le muscle des brochets dans les 4 lacs. Il est important de préciser que pour effectuer une comparaison stricte entre les 4 lacs, nous avons pris des brochets compris entre 50 et 70 centimètres. Dans cette gamme de taille, nous avons

trouvé un nombre conséquent d'individus pour chaque lacs. Aussi, pour les analyses statistiques que nous avons réalisées, il était important de sélectionner des données comparables entre elles.

.Lors de cette analyse à l'aide de l'AMA 254, un réplicat de deux valeurs a été réalisé et une valeur moyenne a été calculée pour chaque échantillon. Ainsi, pour chaque brochet nous avons une valeur de concentration en mercure pour un échantillon de muscle, de foie et de gonade.

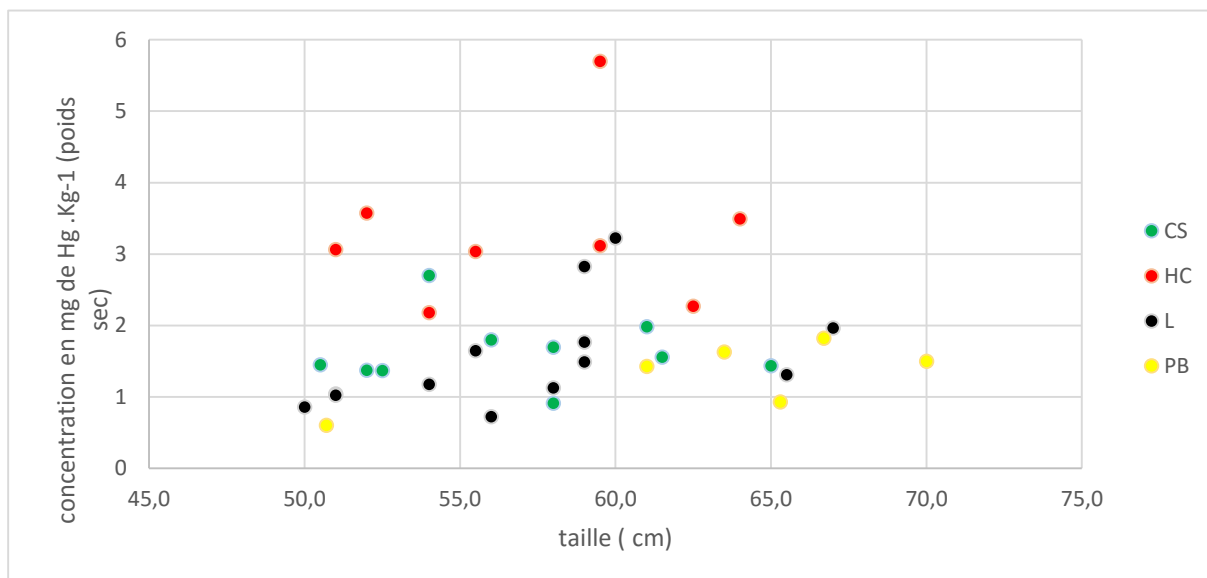


Figure 8 Répartition de la concentration en mercure total du muscle entre Brochets (n=36). CS= Cazaux Sanguinet ; HC= Hourtin Carcans ; L= Lacanau et PB= Parentis Biscarrosse.

Aussi, nous pouvons voir si certains poissons se trouvent au-dessus de la recommandation de consommation en vigueur (défini par l'ANSES) soit 1 mg Hg.kg-1 poids frais pour le brochet. Le rapport poids frais/poids sec, calculé à partir de nombreuses valeurs issues de la mesure de poids de muscle avant et après la lyophilisation est de 5, donc en poids sec la norme est de 5 mg Hg.kg-1 (ps).

Dans ce graphique, on constate qu'un individu (en l'occurrence le brochet C7) se démarque des autres, c'est en effet le seul au-dessus de la recommandation de consommation en vigueur énoncé par l'OMS (5 mg Hg/Kg poids sec). Le lac d'Hourtin Carcan est très largement représenté dans les valeurs les plus élevées du graphique. En annexe 8 nous pouvons observer la même tendance pour le foie et les gonades.

Au niveau de l'étude réalisée par l'ANSES (voir tableau1), un gradient de contamination du sud vers le nord est observé, autrement dit plus on se rapproche des lacs situés au nord et plus la concentration en mercure dans le muscle des brochets est élevée. On ne retrouve pas un gradient Sud/Nord au niveau de nos résultats. Seules les concentrations dans le muscle des poissons du lac d'Hourtin Carcans semblent au-dessus des 3 autres lacs et tous les autres brochets de Lacanau, de Parentis Biscarrosse et de Cazaux Sanguinet ont à peu près les mêmes concentrations en mercure.

3.3. Répartition des concentrations moyennes en mercure dans les différents organes de brochets en fonction des lacs Aquitains

Afin de mettre en évidence une comparaison des concentrations mercurielles moyennes entre chaque organe et par la même occasion entre chaque lacs, l'analyse de la figure 6 est nécessaire. Ce graphique nous donne deux informations importantes appuyées par le test de Kruskal Wallis. L'une est que, pour chacun des lacs, la concentration moyenne en mercure dans le muscle des brochets est significativement différente de la concentration dans le foie et elle-même significativement différente dans les gonades. De façon générale, le muscle est plus concentré que le foie et le foie lui-même plus concentré que les gonades. Nous avons tout de même une exception dans le lac d'Hourtin Carcans où la concentration en mercure dans les gonades sont significativement identiques aux deux autres organes.

Ce graphique nous apporte une autre information : pour chacun des organes, la concentration mercurielle moyenne dans le lac d'Hourtin Carcans est significativement différente des autres lacs. Autrement dit, la concentration mercurielle moyenne dans le muscle des brochets d'Hourtin Carcans est significativement différente des autres lacs, de même pour le foie et les gonades. De plus, les concentrations mercurielles moyennes des organes dans les lacs de Lacanau, Cazaux Sanguinet et Parentis Biscarrosse sont significativement identiques.

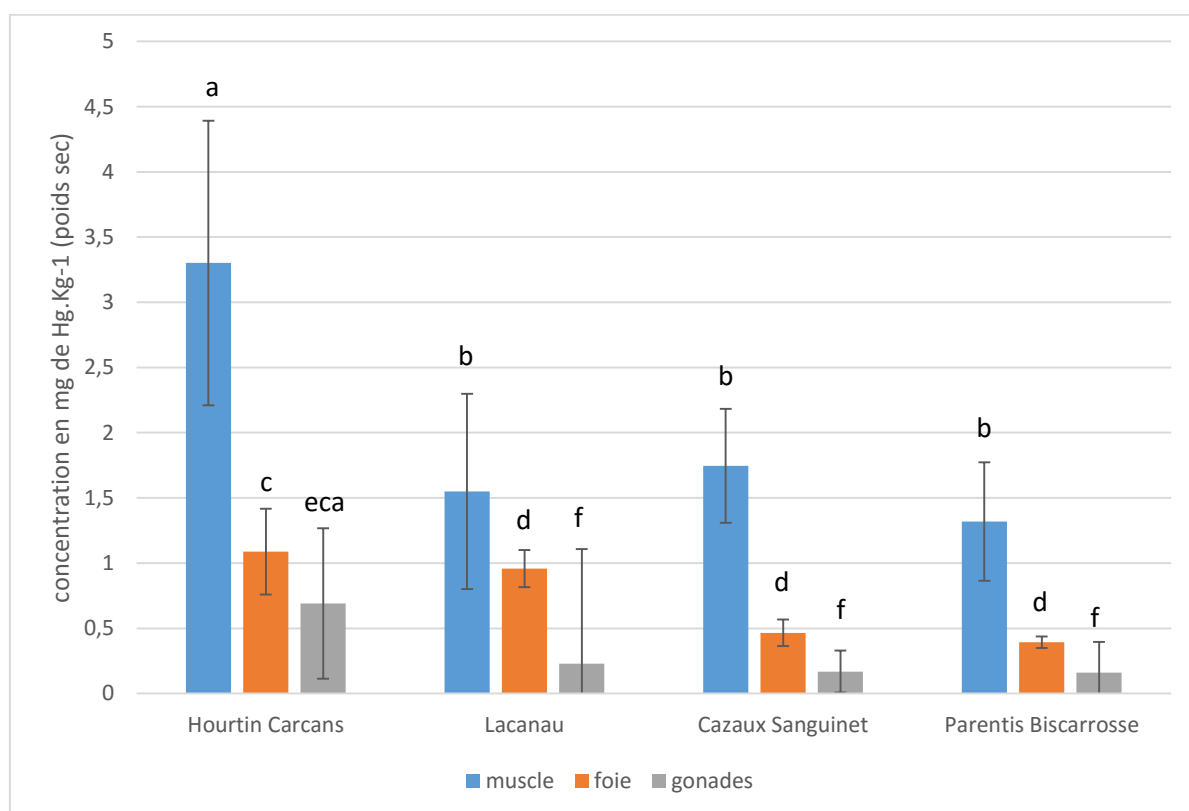


Figure 6 Répartition des concentrations de mercure dans le muscle, foie et gonades des brochets en fonction des différents lacs. Cazaux Sanguinet (n=9) ; Hourtin Carcans (n=8) ; Lacanau (n=13) et Parentis Biscarrosse (n=6)

L'une des explications possibles du fait que le muscle ait une concentration en mercure plus élevée que les autres organes est l'incapacité du foie à détoxifier tout le mercure de l'organisme. Ainsi, le foie rejette le mercure dans le sang qu'il n'a pas pu excréter et il atteint par la suite d'autres organes. De plus, on sait que plus de 90% du mercure présent dans l'organisme est du méthylmercure. Cette forme du mercure est très difficile à excréter par l'organisme, ce qui pourrait expliquer les fortes concentrations dans le muscle des brochets.

Enfin, il serait intéressant de quantifier la concentration en mercure dans d'autres organes des brochets comme le cerveau par exemple car on sait que le cerveau est l'organe où le mercure se bioaccumule le plus dans l'organisme.

Suite à ce graphique, nous avons bien en tête le fait qu'Hourtin-Carcans soit différent significativement des autres lacs. Nous pouvons ainsi nous demander pourquoi ce lac en particulier ? Des hypothèses peuvent être émises : le lac d'Hourtin Carcans présente-t-il des brochets de plus grandes tailles et plus lourds que les autres lacs ? Le sexe du brochet a-t-il une influence sur la concentration en mercure totale représentative des organes pour chaque lacs ? La première hypothèse sous-entendrait que les poissons les plus grands et plus lourds soient d'une part plus vieux et d'autre part plus contaminés que les autres brochets. Ceci étant, une femelle plus lourde qu'une autre signifierait tout simplement qu'elle porte des œufs. Nous avons donc choisi de réaliser un tableau comparatif des poids et tailles moyens entre chaque lacs (tableau 3). On pourrait s'attendre à ce que le lac d'Hourtin Carcans présente un poids et une taille moyen plus élevé que les autres lacs. Comme nous pouvons le constater, ceci n'est pas le cas, le lac de Parentis Biscarrosse se différencie des autres lacs. N'oublions pas que les brochets participants à ces moyennes sont tous compris entre 50 et 70 centimètres. Autrement dit, les poissons exclus de cette moyenne auraient pu certainement tirés la moyenne vers le haut ou vers le bas pour chacun des lacs. Par exemple dans le lac de Lacanau, un brochet de 102 centimètre n'a pas été pris en compte dans ces moyennes.

Tableau 3 comparaison des poids et tailles moyens entre chaque lacs

lac	Poids moyens (g)	Tailles moyennes (cm)
HC	2075	57
L	1977	57
CS	1958	57
PB	2252	63

Afin de vérifier cette hypothèse, il serait primordial de connaître l'âge des brochets des quatre lacs. On pourrait peut-être s'attendre à ce que les brochets de Parentis Biscarrosse soient plus vieux que les brochets des autres lacs.

L'autre hypothèse soulevée mettrait en cause le sexe des brochets. Peut-on dire qu'il a une influence sur les concentrations en mercure total ? Ainsi, à l'aide du test de kruskal wallis, on

pourrait voir si la concentration en mercure total dans le muscle des brochets mâles et femelles est significativement différente ou non. Or d'après la figure 10, on remarque que le sexe du brochet n'est pas un facteur influençant la concentration en mercure. La concentration en mercure total dans le muscle des femelles est significativement identique à celle des mâles.

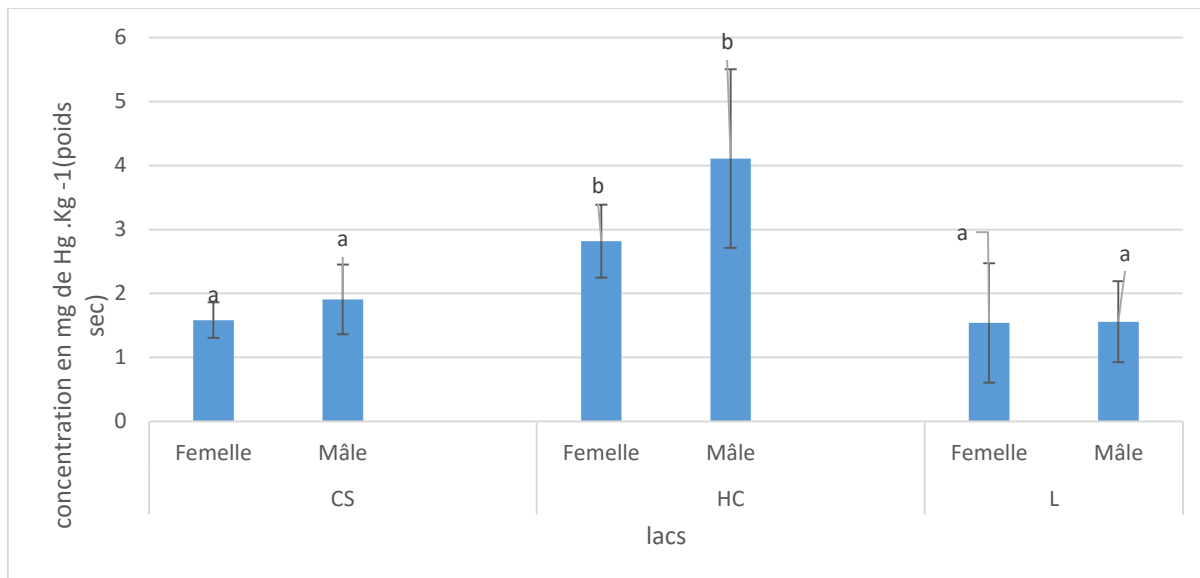


Figure10 comparaison de concentration en mercure dans le muscle des brochets mâles et femelles en fonction des lacs (les barres d'erreurs représentent les écarts-types) Cazaux Sanguinet (n=9) ; Hourtin Carcans (n=8) ; Lacanau (n=13)

Donc d'après nos deux hypothèses, nous ne pouvons pas encore déterminer pourquoi le lac d'Hourtin Carcans est plus contaminé que les autres lacs. Ceci peut paraître normal étant donné que nous sommes encore au tout début du projet et que les analyses de mercure des autres espèces de poissons des lacs n'ont pas encore été effectuées. Comme nous l'avons dit, une étude de l'âge des poissons serait importante afin d'en savoir plus et d'affirmer ou non l'une de nos hypothèses. De plus, les volets suivants qui concerneront le biofilm ou le périphyton ainsi que les sédiments nous permettront d'en savoir plus sur l'état de contamination des lacs. Mis à part ces volets, une connaissance exacte de la superficie des lacs, de la température de l'eau et de la nourriture des poissons nous permettront également de comprendre la différence de contamination entre chaque lacs. En effet, il a été démontré que la température et la profondeur des lacs avaient une influence sur la taille des brochets. Cela pourrait nous amener à compléter nos hypothèses.

Conclusion

L'étude comparative de l'imprégnation mercurielle chez le brochet dans les lacs aquitains nous a démontré qu'il y avait une différence significative entre organes dans chacun des lacs et entre lacs. Le lac d'Hourtin Carcans, se démarque par son niveau de concentration plus élevé que les autres lacs dans chacun des organes du brochet. En revanche, nous ne pouvons pas encore, à ce stade de l'étude, affirmer pourquoi le lac d'Hourtin Carcans paraît plus contaminé que les autres lacs. Pour le brochet, nous n'avons pas constaté de gradient Sud/Nord comme l'avait indiqué l'étude de l'ANSES. Nous ne pouvons en effet, de par les graphiques et les analyses statistiques, admettre qu'il existe un gradient puisque nous n'observons pas de différence significative de concentrations en mercure entre Lacanau, Parentis Biscarrosse et Cazaux Sanguinet. *Via* les différents volets (annexe 1) qui vont suivre, nous pourrions être en mesure de répondre aux questions énoncées dans le projet.

Bibliographie

- Livres :

Biologie des poissons d'eau douce européens (Jacques Bruslé, Jean-Pierre Quignard 2001)

Guide des poissons d'eau douce et de pêche (Bent J. Muus, Preben Dahlstrom 2003)

- Publications :

BERLIN M., 1986. « Mercury ». In FRIBERG L., NORBERG G.F., VOUK V.B. (ed.) : *Handbook on the toxicology of metals*, 2nd ed., vol. II, Amsterdam, Elsevier Science Publishers : 387-445.

Compeau G.C., Bartha R., 1985. Sulfate-reducing bacteria: principal methylators of mercury in anoxic estuarine sediment. *Applied and Environmental Microbiology* 50 : 498-502.

Gentès S., Monperrus M., Legeay A., Maury-Brachet R., Davail S., André JM. And Guyoneaud R. 2013a. Incidence of invasive macrophytes on mercury budgets in temperate lakes: central role of bacterial periphytic communities. *Environmental Pollution*. 172; 116-123.

King JK, Kostka JE, Frischer ME, Saunders FM, Jahnke RA., 2001. A quantitative relationship that demonstrates mercury methylation rates in marine sediments are based on the community composition and activity of sulfate-reducing bacteria. *Environ Sci Technol* 35 (12) : 2491-6.

Mergler D. et Lebel J., 2001. Les effets de l'exposition au méthylmercure chez l'adulte In : Le mercure dans les organismes aquatiques amazoniens. In Carmouze J.P., Lucotte M., Boudou A. (Eds) : *Le Mercure en Amazonie*, IRD: Paris: 203-271.

Ranchou-Peyruse M, Monperrus M, Bridou R, Duran R, Amouroux D, Salvado JC, Guyoneaud R., 2000. Overview of Mercury Methylation Capacities among Anaerobic Bacteria Including Representatives of the Sulphate-Reducers: Implications for Environmental Studies. *Geomicrobiology Journal* 26:1-8.

Wiener J.G., Krabbenhoft D.P., Heinz G.H. et Scheuhammer A.M. 2002. Ecotoxicology of mercury. In Hoffman D.J., Rattner B.A., Burton Jr. G.A. and Cairns Jr. J. (Eds). *Handbook of Ecotoxicology*, Lewis publ., London. 409-463.

WHO (World Health Organization). Environmental Health Criteria. Methylmercury 1990, vol 101. Geneva, Switzerland: WHO/IPCS;1990.

Résumé

Le projet CLAQH (Contamination polymétallique des Lacs Aquitains et impacts Humains) est un projet innovant visant à analyser d'une part la répartition du mercure entre espèces et entre lacs, et d'autre part à comprendre les origines de ce mercure. Le mercure est un métal présent naturellement dans l'environnement de sources naturelle mais également anthropique. Présent sous différentes formes dans l'environnement, le méthylmercure reste la forme la plus dangereuse. A l'aide de bactéries sulfato-réductrices présentes à l'interface eau sédiment ou au niveau du biofilm des lacs, le mercure peut se transformer en méthylmercure en condition anoxique. Cette forme dangereuse peut par une relation proies-prédateurs se retrouver au sein du réseau trophique et notamment à des concentrations élevées dans les organismes situés en haut de l'échelle trophique. En automne 2011, 25 Kg de poissons ont été pêché dans le lac d'Hourtin Carcans. Il s'était avéré, après analyses, que les sandres (piscivore), avaient des niveaux de contamination situés au-dessus de la norme de consommation en vigueur (norme OMS). En parallèle, une étude de l'ANSES a permis de confirmer des niveaux de concentration en mercure élevés dans les lacs d'Hourtin Carcans et de Lacanau pour le sandre et les brochets. Suite à la suspicion d'une potentielle contamination humaine, l'ARS a consulté en tant qu'expert l'équipe d'écotoxicologie aquatique d'Arcachon, ce qui a amené le projet CLAQH. Il était ainsi important de quantifier et d'analyser les concentrations en mercure dans les espèces présentes dans les lacs aquitains afin de connaître leur degré de contamination. Mon stage intervient au tout début du volet 1 du projet dont le but est d'étudier l'imprégnation mercurielle des brochets des lacs aquitains.

Mots clés :

- mercure
- Brochets
- Lacs aquitains
- organes

Annexes

Annexe 1 : Présentation des 6 différents volets du projet CLAQH :

- 1^{er} volet : Étudier la répartition des métaux traces dans le biote des lacs

Université de Bordeaux/UMR EPOC 5805 équipe d'Ecotoxicologie Aquatique (EA) : Régine Maury-Brachet ; Agnès Feurtet-Mazel ; Alexia Legeay ; Magalie Baudrimont.

- 2^{ème} volet : Caractériser le lieu de la méthylation du Hg

Université de Pau et des Pays de l'Adour - IPREM - UMR CNRS 5254 équipe EEM : Rémy Guyoneaud, Jérôme Gury

- 3^{ème} volet : Tracer l'origine du Hg dans les poissons des lacs aquitains

Université de Pau et des Pays de l'Adour - IPREM - UMR CNRS 5254 Équipe LCABIE: Mathilde Monperrus. Zoyne Pedrero Zayas

- 4^{ème} volet : Évaluer la couverture de la végétation aquatique pour quantifier la production de MeHg

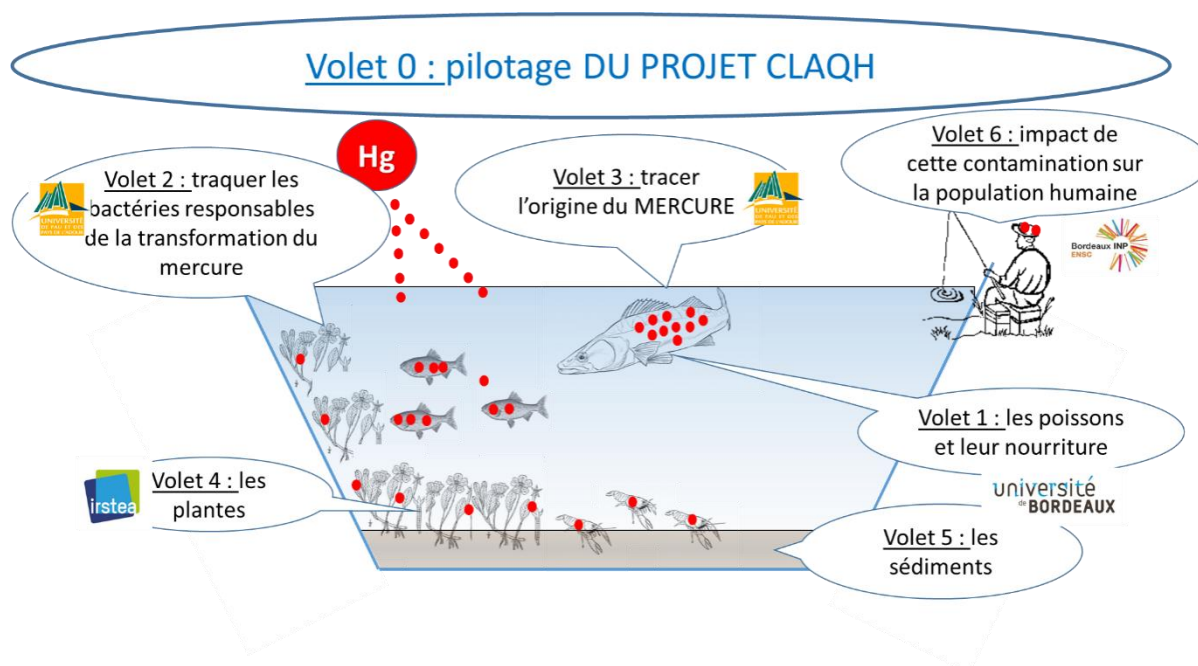
Irstea, EABX, équipe CARMA Cristina Ribaudo et Vincent Bertrin

- 5^{ème} volet : Étudier le sédiment pour quantifier la production de MeHg

Université de Bordeaux/ UMR EPOC 5805 – équipe ECOBIOC : Pierre Anschutz ; Gwénaél Abril ; Dominique Poirier; Stéphane Bujan

- 6^{ème} volet : Appréhender les risques pour la santé humaine des usagers

Ecole Nationale Supérieure de Cognitique (ENSC) et laboratoire IMS UMR 5218, équipe CIH : Jean Marc André, Véronique Lespinet-Najib.



annexe 2 : présentation des valeurs rapport poids frais/poids sec pour chacun des brochets (facteur de lyophilisation) en moyenne égal à 5 pour le muscle (M= muscle)

identification	M poids tube vide (g)	M poids tube plein hum (g)	M poids tube plein lyoph (g)	M poids organe frais (g)	M poids organe lyophilisé (g)	facteur de lyoph (M)
C144	5,1161	117,7445	28,8245	112,6284	23,7084	4,7506
C461	9,5732	45,0103	16,9760	35,4371	7,4028	4,7870
C462	9,6579	33,8341	14,5806	24,1762	4,9227	4,9112
C463	9,6791	33,1208	14,7087	23,4417	5,0296	4,6607
C464	9,6760	43,8445	16,3464	34,1685	6,6704	5,1224
C465	9,6361	36,5553	14,9768	26,9192	5,3407	5,0404
C468	9,6723	40,7992	16,1796	31,1269	6,5073	4,7834
C470	9,6850	41,1418	16,3239	31,4568	6,6389	4,7383
C471	9,6850	48,9018	17,9917	39,2168	8,3067	4,7211
C1	5,1161	98,4512	24,5886	93,3351	19,4725	4,7932
C11	5,1161	51,1734	14,6055	46,0573	9,4894	4,8536
C2	5,1161	113,1808	27,1356	108,0647	22,0195	4,9077
C356	9,6830	56,4465	19,1838	46,7635	9,5008	4,9221
C357	9,7020	52,4761	18,6804	42,7741	8,9784	4,7641
C4	5,1161	95,81	24,5146	90,6939	19,3985	4,6753
C5	5,1161	72,0449	19,5095	66,9288	14,3934	4,6500
C6	13,8891	56,3488	22,5854	42,4597	8,6963	4,8825
C7	13,9911	60,9078	24,2075	46,9167	10,2164	4,5923
C8	5,1161	73,4479	19,8734	68,3318	14,7573	4,6304
C9	5,1161	45,8365	14,069	40,7204	8,9529	4,5483
C175	5,1161	74,7545	19,6068	69,6384	14,4907	4,8057
C346	9,6833	34,1589	14,7078	24,4756	5,0245	4,8713
C348	9,5742	56,6887	19,7194	47,1145	10,1452	4,6440
C349	9,7062	49,3067	18,1047	39,6005	8,3985	4,7152
C351	9,7264	42,5024	16,6945	32,7760	6,9681	4,7037
C352	9,4725	57,4351	19,4278	47,9626	9,9553	4,8178
C353	9,6792	43,1242	16,2581	33,4450	6,5789	5,0837
C354	9,7036	46,2653	17,6074	36,5617	7,9038	4,6258

Annexe 3 : Figure représentant sous forme d'un rectangle le muscle du brochet mâle disséqué. Les cases en jaunes représentent des endroits du muscle prélevés

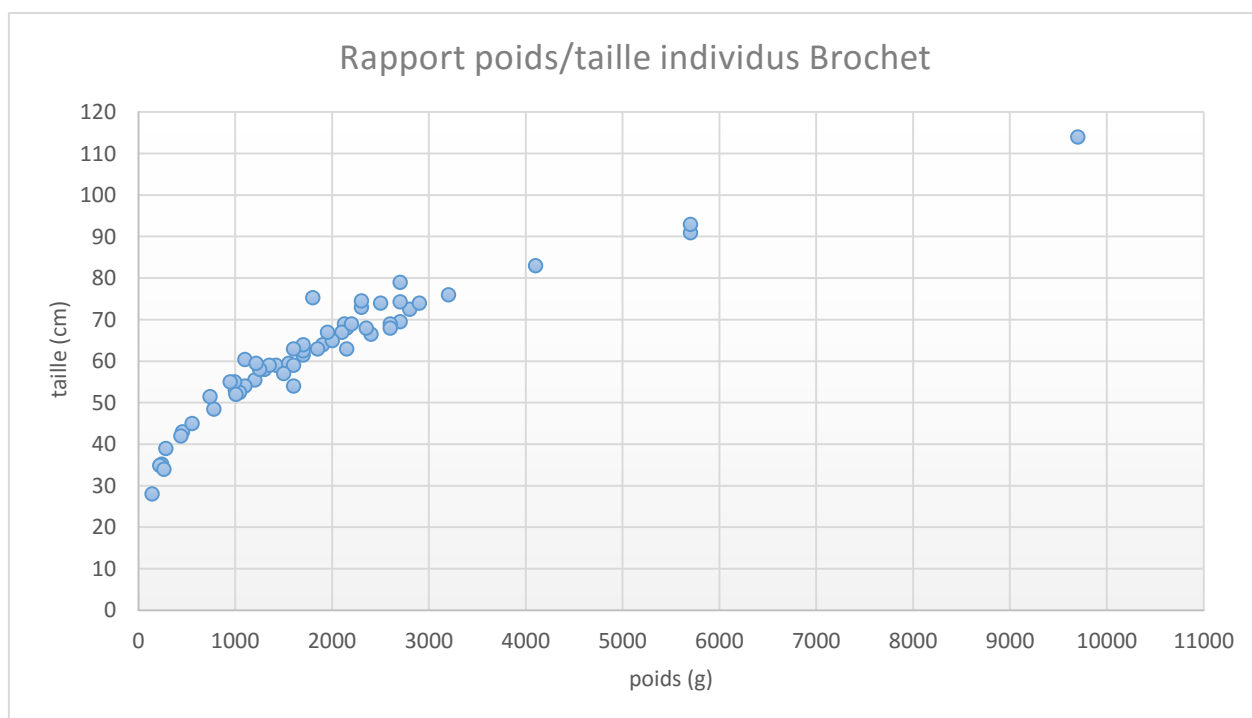
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
44	43	42	41	40	39	38	37	36	35	34	33	32	31	30	29	28	27	26	25	24	23
45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66
88	87	86	85	84	83	82	81	80	79	78	77	76	75	74	73	72	71	70	69	68	67
89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110

0,59851947	49
0,3413705	8
0,39389851	55
0,73791382	60
0,71854958	99
0,41947708	11
0,09491137	33
0,77626588	75
0,13010525	86
0,97404957	30
0,28439067	83
0,67598263	20
0,80291363	90

Annexe 5 : Exemple des données brutes des individus Brochets

identification	lac	poids (g)	LT (cm)	LS (cm)	sexe	M [Hg] (ppm)(sec)	F [Hg] (ppm)(sec)	G [Hg] (ppm) (lu)
C144	CS	1419	59	52,0	M	1,37222	0,307075	0,2186885
C461	CS	2500	74	65,0	F	1,43263	0,72175	0,110933
C462	CS	1900	64	56,0	M	1,79566	0,331795	0,1885515
C463	CS	2400	66,5	58,0	M	1,69475	0,3844085	0,1790435
C464	CS	1100	60,4	52,5	F	1,36801	0,45932	0,075615
C465	CS	1300	58	50,5	M	1,44519	0,34482	0,14791
C468	CS	1700	61,5	54,0	M	2,69605	0,74058	0,4054965
C470	CS	2700	69,5	61,5	F	1,55444	0,42937	0,1041515
C471	CS	2600	69	61,0	F	1,98135	0,46362	0,083109
C1	HC	2300	73	64	F	3,49105	1,62677	
C11	HC	2150	63	54,0	F	2,17601	0,4012455	0,4508255
C2	HC	2800	72,5	62,5	F	2,26758	0,7022955	
C356	HC	1700	62,5	55,5	F	3,03204	1,04322	0,61055
C357	HC	1350	59	51,0	M	3,05926	0,95892	0,5113965
C4	HC	5700	91	80,0	F	4,51730	1,2645015	1,071523

Annexe 6 : Graphique présentant la corrélation entre le poids et la taille des différents individus brochet



Annexe7 :

TEST CERTIFIES AMA 2 et AMA 3 (AMA 2 est l'AMA 254 numéro 2)

Machine	Certifiés	prise d'essai (mg)	[Hg] (ppm) lu	moy/echan [Hg] lu	ecartype	coef var (%)	valeur de ref(ppm)	IC 95% REF	rendement (%)	
AMA2	IAEA407	24,5	0,207324	0,2086	0,0028	1,34	0,222	0,216- 0,228	93,96	
		17,6	0,211544							
		20,6	0,211095							
		20,2	0,208269							
		22,3	0,204756							
AMA3		105,3	0,211129	0,2119	0,0012	0,59			95,47	
		99,3	0,213377							
	99,7	0,211319								
	195,2	0,270818	0,2658	0,0047	1,77	119,74				
	197,8	0,265124								
195,7	0,2615									
AMA2	IEAE86	25,2	0,465628	0,4777	0,0150	3,14	0,573	0,534- 0,612	83,37	
		26,3	0,495132							
		24,6	0,493073							
		22,8	0,469021							
		25,8	0,465803							
AMA3		51,7	0,48117	0,4873	0,0054	1,10			85,05	
		48,1	0,490955							
		50,8	0,4899							
		100	0,534563	0,5297	0,0066	1,24				92,44
		99,4	0,532191							
		99,2	0,522215							
		196,8	0,538261	0,5449	0,0058	1,07				95,09
	202	0,549394								
194,4	0,546905									
AMA2	IEAE436	21	4,298172	4,3483	0,0885	2,03	4,19	4,04-4,34	103,78	
		25,3	4,230882							
		23,7	4,364911							
		20,2	4,464459							
		26,3	4,38332							
AMA3		51,4	4,26299	4,2885	0,0290	0,68			102,35	
	52,2	4,320051								
	53,8	4,28257								
AMA2	IEAE85	17,8	22,24894	22,0399	0,2663	1,21	23,2	22,4-24,0	95,00	
		18,1	22,060146							
		17,4	22,347311							
		19,8	21,794243							
		21,8	21,748764							

Annexe 8 : Graphiques présentant les répartitions du taux de Hg total moyen des foies et gonades des individus

