

Université du Québec  
Institut National de la Recherche Scientifique  
Centre Eau Terre Environnement

**IMPACTS DES CONTAMINANTS INORGANIQUES SUR LES  
CAPACITÉS MÉTABOLIQUES DES ANGUILLES JAUNES  
D'AMÉRIQUE ET D'EUROPE**

Par  
Antoine Caron

Mémoire présenté pour l'obtention du grade de  
Maître ès sciences (M.Sc.)  
en sciences de l'eau

**Jury d'évaluation**

Examineur externe	Mery L. Martinez-Garcia Université Laurentienne
Examineur interne	Paul Drevnik INRS-ETE
Directeur de recherche	Patrice Couture INRS-ETE



## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord le personnel de l'INRS, et en particulier le personnel de laboratoire qui m'a été souvent d'un grand secours, alors qu'un appareil ne fonctionnait plus, fonctionnait mal, ou tout simplement parce que j'étais incapable d'utiliser un appareil tout à fait fonctionnel. De plus, j'aimerais remercier l'équipe du laboratoire de Patrice Couture, soit les perchaudes (Julie, Bérénice, Ophélie et Michel), l'épinoche (Mariem) et tout particulièrement les anguilles (Géraldine et Audrey), incluant les leptocéphales qui s'y sont greffés le temps d'une campagne de terrain (Jérémy), ou le temps d'un stage (Pauline, Élodie). Un merci spécial aussi à Bouchra qui m'a conseillé judicieusement pour les analyses statistiques.

Par ailleurs, j'aimerais saluer mes camarades de maîtrise, avec qui j'ai passé de trop bons moments aux stages d'automne et d'hiver, et qui ont été parfois les remparts contre le pétage de la dernière coche acceptable socialement, par le biais de pintes salvatrices entre autres. Aussi, je salue chaleureusement Gab Hould pour les soirées de musique, Roger et Séb pour trop de choses à énumérer ici, puis Karine G., Guillaume T. et Claudie R.-F. pour avoir été de super collègues de bureau et... pour avoir gentiment pris les messages téléphoniques quand je n'y étais pas.

Autrement, j'aimerais aussi remercier en rafale *Taylor guitars*, le jeu d'échecs sur mon Mac, le café colombien de la machine du 3e, les chambres à air de mon vélo (aucune crevaison en deux ans de voyages matin et soir, de avril à décembre, faut le faire!), mon foie, le parc Cartier-Brébeuf, Air Transat, la ville de Bordeaux, et le Cercle. Je pourrais longtemps étirer la liste de remerciements hétéroclites, mais je me limiterai à celle-ci.

Aussi, plus sérieusement, j'aimerais remercier particulièrement mon père, ma mère et Muriel, qui m'ont supporté durant ces deux années de travail intense. Tout aussi particulièrement, j'aimerais mentionner deux sources d'inspiration essentielles pour la réalisation de ce projet, soit mes filles, Aude et Fanny. Enfin, un remerciement singulier pour celle qui partage ma vie, et qui a su écouter mes tergiversations scientifiques ou existentielles, ma Lucie adorée.

Enfin, évidemment, un grand, grand merci à Patrice pour sa confiance et ses conseils afin de mener à bien le projet de recherche. De même, un grand merci pour les opportunités uniques qui m'ont été offertes, que ce soit simplement celle d'avoir pu participer à un projet aussi intéressant, comme celle d'avoir pu aller à deux reprises à Bordeaux...



*À la mémoire de mon frère, et à la mémoire de Denis L. aussi*



## RÉSUMÉ

Les anguilles d'Amérique (*Anguilla rostrata*) et d'Europe (*Anguilla anguilla*) ont vu leurs populations décliner de façon très importante depuis les années 1980. Comme pour d'autres facteurs (surpêche, obstacles à la migration, changements du climat et des courants marins), la contamination semble jouer un rôle dans les déclinés observés. En particulier, des effets sur l'activité d'enzymes liées aux différentes capacités métaboliques peuvent ainsi se traduire par une influence sur la croissance, la capacité de nage, les capacités respiratoires, et l'accumulation de réserves énergétiques, et possiblement contribuer à compromettre leur migration et/ou leur reproduction dans la mer des Sargasses. Dans le cadre du projet IMMORTEEL, la présente étude avait pour but de déterminer si les contaminants inorganiques accumulés dans le foie et le muscle (Cd, Cu, Zn, Ag, As, Pb, Cr, Ni, Se et Hg) pouvaient affecter les capacités métaboliques des deux espèces d'anguilles au stade jaune. Les mesures d'activités d'enzymes du foie et du muscle associées aux capacités aérobies (citratesynthase, CS; cytochrome C oxydase, CCO), aux capacités anaérobies (lactate déshydrogénase, LDH), aux capacités glycolytiques (pyruvate kinase, PK) et au métabolisme des lipides (glucose-6-phosphate déshydrogénase, G6PDH) ont alors été faites. Dans le foie d'*A. rostrata*, les plus fortes corrélations obtenues indiquent que la PK et la CS sont liées positivement au Zn et au Pb respectivement, tandis que la G6PDH et la LDH sont principalement affectées négativement par l'Ag et le Ni respectivement. Au niveau du muscle, la PK, la CS et la CCO sont toutes affectées particulièrement par le Hg, même si seule la PK montre une corrélation positive. Du côté d'*A. anguilla*, la PK et la CS du foie sont toutes deux affectées par le Pb, mais de manière positive et négative respectivement, puis la LDH est liée négativement au Zn. Dans le muscle, la PK et la LDH montrent des corrélations négatives avec l'As et le Se respectivement, puis la CS et la CCO sont toutes deux principalement liées positivement à la contamination en Zn. Par ailleurs, les résultats indiquent aussi que la concentration en protéines semble être liée aux variations d'activités enzymatiques observées dans le foie et le muscle des deux espèces d'anguilles, mais jamais de façon systématique pour une enzyme ou une espèce donnée. Enfin, la masse est aussi fortement liée de façon positive aux capacités aérobies du muscle (CS et CCO), et ce pour les deux espèces d'anguilles. Les résultats indiquent donc que la plupart des contaminants inorganiques dosés ont des effets sur les capacités métaboliques des deux espèces.





## ***ABSTRACT***

American (*Anguilla rostrata*) and European (*Anguilla anguilla*) eels have experienced severe population declines since the 1980s. Along with other factors (overfishing, turbines, dams and migration obstacles, climate and ocean sea currents changes), chemical contaminants may play a key role in the observed declines. Effects of contaminants on the activity of enzymes associated with specific metabolic capacities may influence growth, swimming capacity, respiratory capacities and energetic reserves accumulation of the eels, and ultimately compromise their migration and/or reproduction in the Sargasso Sea. As a part of the IMMORTEEL project, the present study aimed to determine whether inorganic contaminants (Cd, Cu, Zn, Ag, As, Pb, Cr, Ni, Se and Hg) accumulated in liver and muscle could have an effect on the metabolic capacities of both species in their yellow stage. Enzyme activity measurements were performed for aerobic capacities (citrate synthase, CS; cytochrome C oxidase, CCO), anaerobic capacities (lactate dehydrogenase, LDH), glycolytic capacities (pyruvate kinase, PK), and lipid metabolism (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PDH). In liver of *A. rostrata*, the strongest correlations obtained indicate that PK and CS are positively related to Zn and Pb, respectively, while G6PDH and LDH are principally negatively related to Ag and Ni, respectively. In muscle, PK is positively correlated to Hg, while CS and CCO are negatively correlated to Hg. For *A. anguilla*, liver PK and CS are positively and negatively related to Pb, respectively, and LDH is negatively related to Zn. In the muscle, PK and LDH show negative correlations with As and Se, respectively, while CS and CCO are both positively correlated to Zn concentrations. Otherwise, results indicate that protein concentration seems to be linked to the enzyme activity variations observed in liver and muscle of both eel species, but not in a systematic way for a given enzyme or species. Finally, weight is also strongly associated to the aerobic capacities (CS and CCO) of both species. All these results allow us to believe that most of the inorganic contaminants studied have effects on the metabolic capacities of both eel species.



# TABLE DES MATIÈRES

<b>1</b>	<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
1.1	REPARTITION ET CYCLE DE VIE DES ANGUILLES .....	1
1.2	DECLIN DE L'ANGUILLE D'AMERIQUE ET DE L'ANGUILLE D'EUROPE .....	4
1.3	LE PROJET IMMORTEEL .....	8
1.4	ENZYMES ET CAPACITES METABOLIQUES .....	9
1.5	OBJECTIFS DE RECHERCHE .....	12
<b>2</b>	<b>MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>13</b>
2.1	CHOIX DES SITES D'ECHANTILLONNAGE .....	13
2.2	CAMPAGNE DE TERRAIN DU PRINTEMPS 2012.....	14
2.3	DOSAGE DES CONTAMINANTS INORGANIQUES DANS LE FOIE ET LE MUSCLE DES ANGUILLES JAUNES.....	15
2.4	ESSAIS ENZYMATIQUES ET DOSAGE DES PROTEINES .....	16
2.4.1	<i>Préparation des échantillons</i> .....	16
2.4.2	<i>Mesure de l'activité enzymatique</i> .....	17
2.4.3	<i>Enzymes testées</i> .....	18
2.4.4	<i>Échantillons contrôles et facteur de correction</i> .....	20
2.4.5	<i>Dosage des protéines</i> .....	22
2.4.6	<i>Calcul de l'indice de condition relative Kn et de l'indice de Fulton</i> .....	22
2.4.7	<i>Régressions multiples</i> .....	23
2.5	ANALYSE DES RESULTATS ET TESTS STATISTIQUES UTILISES.....	25
<b>3</b>	<b>RESULTATS .....</b>	<b>27</b>
3.1	QUANTIFICATION DE PROTEINES ET ACTIVITES ENZYMATIQUES.....	27
3.1.1	<i>Foie et muscle de l'Anguille d'Amérique</i> .....	27
3.1.2	<i>Foie et muscle de l'anguille d'Europe</i> .....	28
3.2	RÉGRESSIONS MULTIPLES.....	33
3.2.1	<i>Foie et muscle de l'Anguille d'Amérique</i> .....	33
3.2.2	<i>Foie et muscle de l'Anguille d'Europe</i> .....	34
<b>4</b>	<b>DISCUSSION.....</b>	<b>41</b>
4.1	CONCENTRATIONS DES CONTAMINANTS INORGANIQUES RETROUVEES CHEZ LES ANGUILLES .....	41
4.1.1	<i>Comparaisons avec les données disponibles</i> .....	41
4.2	IMPACTS DES CONTAMINANTS INORGANIQUES .....	44
4.2.1	<i>Comparaison avec la perchaude</i> .....	44
4.2.2	<i>Enzymes et protéines du foie</i> .....	45

4.2.3	<i>Enzymes et protéines du muscle</i> .....	48
4.2.4	<i>Effets de la masse, de l'âge et du Kn sur les activités enzymatiques</i> .....	52
4.2.5	<i>Principales différences interspécifiques</i> .....	55
4.2.6	<i>Développement de la puce à ADN</i> .....	56
<b>5</b>	<b>CONCLUSION</b> .....	<b>57</b>
5.1	PRINCIPAUX RESULTATS.....	57
5.1.1	<i>Impacts des contaminants inorganiques sur les capacités métaboliques d'A. rostrata</i> .....	58
5.1.2	<i>Impacts des contaminants inorganiques sur les capacités métaboliques d'A. anguilla</i> .....	59
5.2	IMPLICATIONS POUR LES ANGUILLES D'AMERIQUE ET D'EUROPE .....	60
5.3	PERSPECTIVES DE RECHERCHE .....	60
<b>6</b>	<b>RÉFÉRENCES</b> .....	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>ANNEXES</b> .....	<b>73</b>

# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.1</b> Enzymes à l'étude, fonctions métaboliques et effets de contaminants inorganiques observés dans la littérature chez la perchaude ( <i>Perca flavescens</i> ) .....	11
<b>Tableau 2.1</b> Informations diverses pour les sites d'échantillonnage au Québec. ....	14
<b>Tableau 3.1 :</b> Concentrations moyennes de protéines ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1} \pm \text{écart-type}$ ) et activités enzymatiques ( $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1} \pm \text{écart-type}$ ) pour <i>A. rostrata</i> selon le site de capture et l'année d'échantillonnage. Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'échantillons par site. Les lettres (A ou B) indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer) entre les moyennes d'une même année. Une moyenne de 2011 soulignée indique une différence significative ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer) avec la moyenne de 2012 pour le même site. ....	31
<b>Tableau 3.2 :</b> Concentrations moyennes de protéines ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1} \pm \text{écart-type}$ ) et activités enzymatiques ( $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1} \pm \text{écart-type}$ ) pour <i>A. anguilla</i> selon le site de capture et l'année d'échantillonnage. Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'échantillons par site. Les lettres (A ou B) indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer) entre les moyennes d'une même année. Une moyenne de 2011 soulignée indique une différence significative ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer) avec la moyenne de 2012 pour le même site. ....	32
<b>Tableau 3.3 :</b> Régressions multiples incluant les activités enzymatiques et les contaminants du foie chez <i>A. rostrata</i> . Seules les variables explicatives ayant été retenues pour l'explication de l'une ou l'autre des variables dépendantes testées ont été incluses dans la liste du tableau. Toutes les données utilisées ont été transformées en $\log_{10}$ . Le symbole / indique que la variable explicative concernée n'a pas été retenue dans le modèle. Les coefficients de corrélation sont accompagnés des $p$ valeurs correspondantes (entre parenthèses).....	36
<b>Tableau 3.4 :</b> Régressions multiples incluant les activités enzymatiques et les contaminants du muscle chez <i>A. rostrata</i> . Seules les variables explicatives ayant été retenues pour l'explication de l'une ou l'autre des variables dépendantes testées ont été incluses dans la liste du tableau. Toutes les données utilisées ont été transformées en $\log_{10}$ . Le symbole / indique que la variable explicative concernée n'a pas été retenue dans le modèle. Les coefficients de corrélation sont accompagnés des $p$ valeurs correspondantes (entre parenthèses).....	37

**Tableau 3.5 :** Régressions multiples incluant les activités enzymatiques et les contaminants du foie chez *A. anguilla*. Seules les variables explicatives ayant été retenues pour l'explication de l'une ou l'autre des variables dépendantes testées ont été incluses dans la liste du tableau. Toutes les données utilisées ont été transformées en  $\log_{10}$ . Le symbole / indique que la variable explicative concernée n'a pas été retenue dans le modèle. Les coefficients de corrélation sont accompagnés des *p* valeurs correspondantes (entre parenthèses)..... **38**

**Tableau 3.6 :** Régressions multiples incluant les activités enzymatiques et les contaminants du muscle chez *A. anguilla*. Seules les variables explicatives ayant été retenues pour l'explication de l'une ou l'autre des variables dépendantes testées ont été incluses dans la liste du tableau. Toutes les données utilisées ont été transformées en  $\log_{10}$ . Le symbole / indique que la variable explicative concernée n'a pas été retenue dans le modèle. Les coefficients de corrélation sont accompagnés des *p* valeurs correspondantes (entre parenthèses)..... **39**

**Tableau 4.1** Comparaison temporelle des niveaux de contamination du Cd, Cu, Cr, Zn et Hg mesurés dans le foie (ou viscères), le muscle ou le rein des deux espèces d'anguilles. Les (+), (-) et (=) signifient que les niveaux de 1990 ou 2005 semblent plus élevé, moins élevé ou sans changement comparé à 2012. Voir Hodson *et al.* 1992 et Durrieu *et al.* 2005. Pour notre étude, les poissons de tous les sites de chaque espèce sont inclus, avec  $n = 60$ , sauf foie *A. anguilla* 2012 en Cd, Cu, Cr, Zn (59), et Hg (35), foie *A. rostrata* 2012 en Hg (51), muscle *A. rostrata* 2012 en Hg (59), puis rein *A. anguilla* 2012 en Cd (59) et en Hg (57). Dans l'étude de Hodson *et al.* 1992, les poissons ont été capturés à Kamouraska, avec  $n = 8$  pour chaque tissu. Dans l'étude de Durrieu *et al.* 2005, les anguilles ont été capturées dans la zone marine de l'estuaire de la Gironde, avec  $n = 81$  pour le foie et le rein, et  $n = 10$  pour le muscle. .... **42**

## LISTE DES FIGURES

- Figure 1.1 :** Aires de répartition des anguilles d'Amérique (Amérique du Nord, Groenland et Islande) et d'Europe (Europe, Afrique et Islande). Image tirée et modifiée de Avise (2003)..... **1**
- Figure 1.2 :** Cycle de vie des anguilles d'Amérique et d'Europe. Image tirée et modifiée du site internet du Ministère des richesses naturelles de l'Ontario (2010) ..... **3**
- Figure 2.1 :** Cartes des sites d'échantillonnage au Québec et en France. Les sites considérés « propres » sont encadrés en blanc, et les sites considérés « contaminés » sont encadrés en noir. .... **13**





## LISTE DES ABRÉVIATIONS

BPC	Biphényle polychloré
CCO	Cytochrome C oxydase
CIEM	Conseil International pour l'Exploration de la Mer
COSEPAC	Comité sur la situation des espèces en péril au Canada
CS	Citrate synthase
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
EDTA	acide éthylène diamine tétraacétique
G6PDH	Glucose-6-phosphate déshydrogénase
HAP	Hydrocarbure aromatique polycyclique
HEPES	acide 4-(2-hydroxyéthyl) -1- pipérazine éthane sulfonique
LDH	Lactate déshydrogénase
LSF	Lac Saint-François
LSP	Lac Saint-Pierre
MRN	Ministère des Ressources naturelles du Québec
MRNO	Ministère des Richesses naturelles de l'Ontario
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamide adénine dinucléotide - forme oxydée
β-NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide - forme réduite
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
PBDE	Polybromodiphényléther
PK	Pyruvate kinase
RSJ	Rivière Saint-Jean
RSO	Rivière du Sud-Ouest
UICN	Union internationale pour la conservation de la Nature



# 1 INTRODUCTION

## 1.1 Répartition et cycle de vie des anguilles

L'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*, LeSueur 1821) et l'anguille d'Europe (*Anguilla anguilla*, Linnæus 1758) occupent de larges aires de répartition (figure 1.1). Du côté de l'anguille d'Amérique, l'espèce est distribuée sur toute la côte est de l'Amérique du Nord, et se retrouve même au nord jusqu'au Groenland et au sud jusqu'au Vénézuéla (Scott *et al.*, 1974; Boetius, 1985; Tesch, 2003; COSEPAC, 2012). Au Canada, elle se retrouve dans toutes les eaux douces qui lui sont possibles d'atteindre (incluant rivières, marais et lacs), les estuaires, de même que les eaux côtières en lien avec l'océan Atlantique (COSEPAC, 2012). De plus, toujours au Canada, on y compte plus de 95 % de femelles, et dans le Lac Ontario et le haut Saint-Laurent, on y trouve exclusivement des femelles (Fournier *et al.*, 2005; Byer *et al.*, 2013b). Les mâles quant à eux se retrouveraient principalement en Nouvelle-Écosse, et dans la région de Scotia-Fundy tout particulièrement (COSEPAC, 2012). De leur côté, les anguilles d'Europe se retrouvent tout le long de la côte ouest du continent européen, tout autour de la mer Méditerranée, de même qu'en Islande et dans le Nord-Ouest de l'Afrique (Bertin, 1951; Avise, 2003).

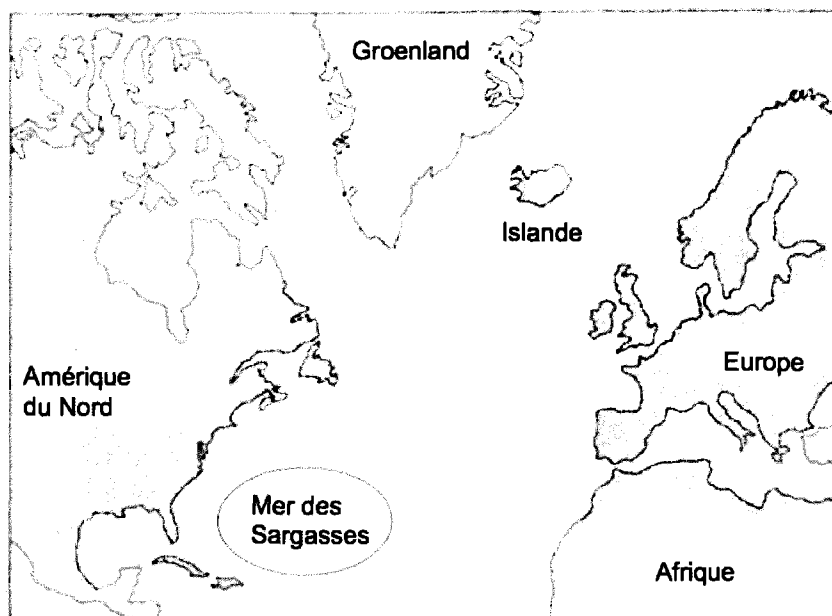


Figure 1.1 : Aires de répartition des anguilles d'Amérique (Amérique du Nord, Groenland et Islande) et d'Europe (Europe, Afrique et Islande). Image tirée et modifiée de Avise (2003).

Les anguilles d'Amérique et d'Europe sont des poissons catadromes qui ont des cycles de vie pratiquement identiques. En effet, à partir de l'œuf, toutes deux passent par cinq stades (larve leptocéphale, civelle ou pibale, civelle pigmentée ou anguillette, anguille jaune et anguille argentée), et deux métamorphoses (figure 1.2). On estime qu'une génération d'anguilles d'Amérique peut durer selon le milieu d'environ 9 ans (milieu marin) à 22 ans (milieu dulcicole) en moyenne (COSEPAC, 2006; COSEPAC, 2012). Des différences interspécifiques dans les taux de croissance à chaque stade existent malgré tout, de même qu'entre les anguilles jaunes de chaque espèce selon le milieu colonisé, par le biais de facteurs naturels tels la salinité et la température de l'eau (Tesch, 2003; van Ginneken *et al.*, 2005; G. Verreault, MRNF, comm. pers., 2013). De plus, il y a un dimorphisme et des différences intersexes assez importants : par exemple, lorsque les anguilles d'Europe passent du stade jaune au stade argenté, les mâles ont entre 2 et 15 ans (6 ans en moyenne) et atteignent 35-46 cm en moyenne, tandis que les femelles ont entre 4 et 20 ans (8,7 ans en moyenne) et atteignent entre 50-61 cm en moyenne (Tesch, 2003). Aussi, les mâles entameraient la migration environ un mois avant les femelles (Usui, 1991, dans Tesch, 2003; van Ginneken *et al.*, 2005). D'autre part, des anguilles se retrouvant bien au-delà de ces moyennes ont été retrouvées. Dans la présente étude, deux anguilles d'Amérique de plus de 40 ans ont été pêchées, et du côté européen, Tesch (2003) rapportait que des anguilles de plus de 50 ans et de plus de 130 cm ont déjà été observées.

Le stade jaune est celui dans lequel l'anguille passe la majeure partie de sa vie : les anguilles y sont en phase de croissance et elles y accumulent les réserves énergétiques nécessaires à leur migration. Durant ce stade, elles peuvent passer au moins 74 % de leur temps au fond du cours d'eau où elles habitent, soit enfouies dans les sédiments ou cachées dans le substrat qui s'y trouve (Tomie 2011, dans COSEPAC 2012). Suite à cette période de croissance, les anguilles subissent la deuxième métamorphose qui les amène à devenir anguilles argentées. À ce moment, de nombreux changements ont lieu au niveau de leur morphologie et de leur physiologie pour permettre la migration vers la mer des Sargasses. En particulier, elles cessent toute alimentation et le système digestif dégénère (Pankhurst *et al.*, 1984; Durif, 2003). Conséquemment, elles doivent utiliser les réserves de lipides et de glucides accumulées durant le stade jaune pour accomplir leur migration, qui dure quelques mois (entre août et janvier), et qui fait parcourir environ 2000 km pour *A. rostrata* (5000 km pour les plus éloignées) et 5000 km pour *A. anguilla* (8000 km pour les plus éloignées) en moyenne (Durif, 2003; Tesch, 2003; COSEPAC, 2012). De

plus, les gonades se développent progressivement jusqu'au moment de la reproduction (Vidal *et al.*, 2004).

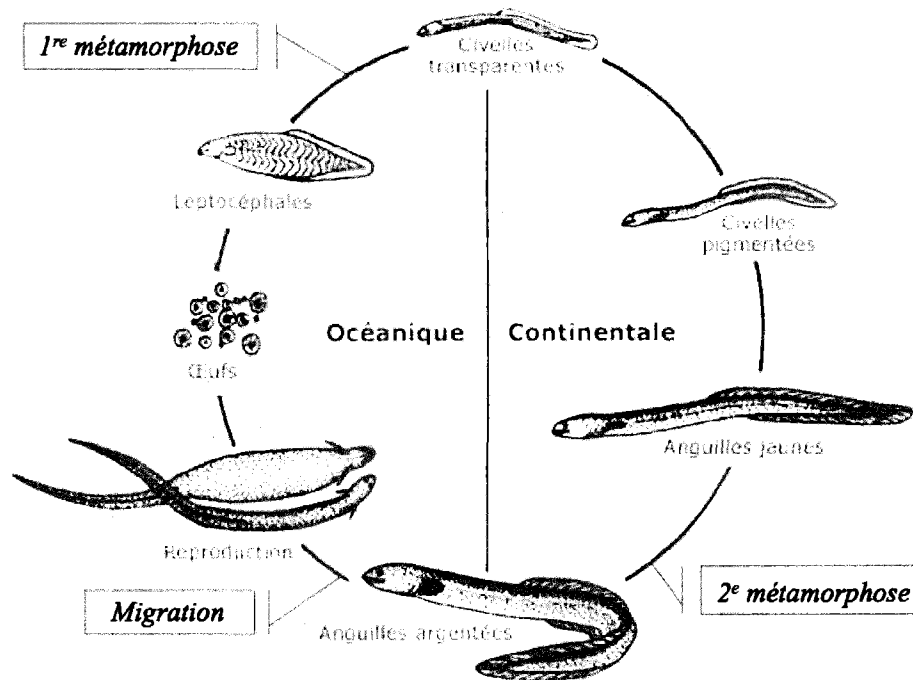


Figure 1.2 : Cycle de vie des anguilles d'Amérique et d'Europe. Image tirée et modifiée du site internet du Ministère des richesses naturelles de l'Ontario (2010)

Selon certains travaux antérieurs, il était suggéré que l'anguille d'Europe manifesterait une diversité génétique notable, indiquant des lieux de reproduction distincts pour certaines composantes (Wirth *et al.*, 2003; van Ginneken *et al.*, 2005), mais des études récentes montreraient plutôt que celle-ci serait panmictique comme l'anguille d'Amérique, la reproduction se faisant de façon aléatoire entre tous les individus de l'espèce (Als *et al.*, 2011; Bernatchez *et al.*, 2011). Néanmoins, la reproduction entre les deux espèces est possible. Il est connu que des hybrides existent, principalement en Islande (Albert *et al.*, 2006). Même si une certaine sympatrie existe dans les aires et les périodes de reproduction des deux espèces, celles-ci sont toutefois assez distinctes dans la mer des Sargasses; la reproduction aurait lieu entre février et avril pour l'anguille d'Amérique, avec un pic en février, et de mars à juin pour l'anguille d'Europe, avec un pic en avril (McCleave *et al.*, 1987; van Ginneken *et al.*, 2005; Bernatchez *et*

plus, les gonades se développent progressivement jusqu'au moment de la reproduction (Vidal *et al.*, 2004).

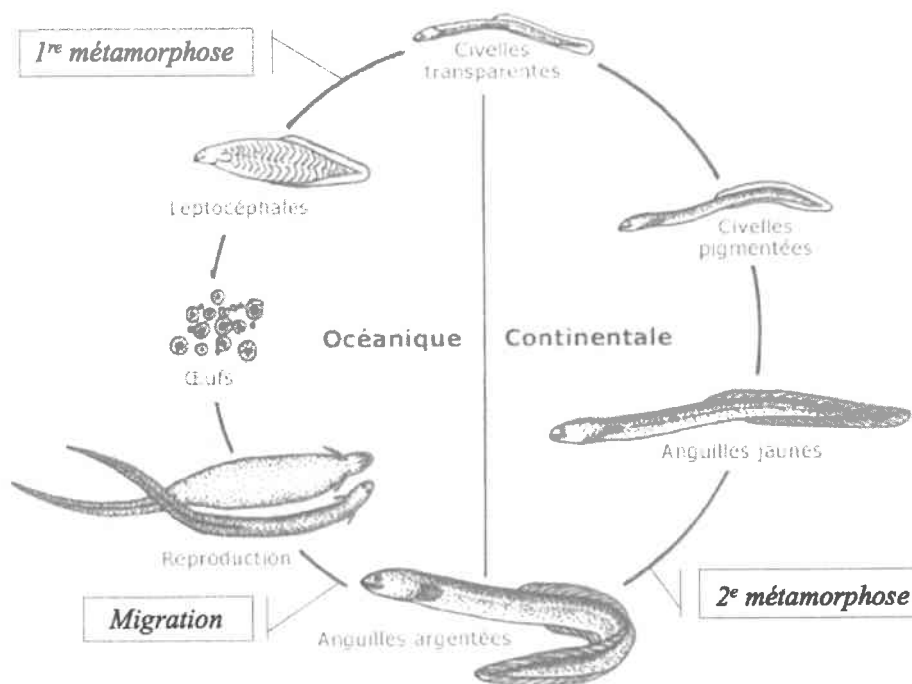


Figure 1.2 : Cycle de vie des anguilles d'Amérique et d'Europe. Image tirée et modifiée du site internet du Ministère des richesses naturelles de l'Ontario (2010)

Selon certains travaux antérieurs, il était suggéré que l'anguille d'Europe manifesterait une diversité génétique notable, indiquant des lieux de reproduction distincts pour certaines composantes (Wirth *et al.*, 2003; van Ginneken *et al.*, 2005), mais des études récentes montreraient plutôt que celle-ci serait panmictique comme l'anguille d'Amérique, la reproduction se faisant de façon aléatoire entre tous les individus de l'espèce (Als *et al.*, 2011; Bernatchez *et al.*, 2011). Néanmoins, la reproduction entre les deux espèces est possible. Il est connu que des hybrides existent, principalement en Islande (Albert *et al.*, 2006). Même si une certaine sympatrie existe dans les aires et les périodes de reproduction des deux espèces, celles-ci sont toutefois assez distinctes dans la mer des Sargasses; la reproduction aurait lieu entre février et avril pour l'anguille d'Amérique, avec un pic en février, et de mars à juin pour l'anguille d'Europe, avec un pic en avril (McCleave *et al.*, 1987; van Ginneken *et al.*, 2005; Bernatchez *et*

*al.*, 2011). De plus, les anguilles meurent suite à la reproduction : elles sont sémelpares (COSEPAC, 2006).

Les œufs éclosent dans l'océan environ une semaine après la ponte, et les larves leptocéphales qui en sont issus sont entraînés par les courants marins vers les côtes continentales associées à chaque espèce (COSEPAC, 2012). Néanmoins, il n'est pas impossible qu'une nage active accompagne cette migration, surtout pour les larves qui font plus de 5 mm de longueur, amenant celles-ci à faire des migrations journalières dans la colonne d'eau, possiblement pour éviter la prédation en particulier (Castonguay *et al.*, 1987; van Ginneken *et al.*, 2005). Enfin, le temps nécessaire pour atteindre les côtes atlantiques serait de 7 à 12 mois pour *A. rostrata*, et de 21 mois pour *A. anguilla* (Wang *et al.*, 2000; Bonhommeau *et al.*, 2009; Bonhommeau *et al.*, 2010), même si certains auteurs avancent que le temps de migration des leptocéphales serait somme toute assez identique pour les deux espèces (Lecomte-Finiger, 1994, dans van Ginneken *et al.*, 2005). Arrivées sur le plateau continental, les larves leptocéphales subissent une première métamorphose : elles deviennent civelles transparentes (Tesch, 2003; COSEPAC, 2012). Chez l'anguille d'Amérique, les civelles transparentes atteindraient les différents estuaires côtiers entre la mi-juin et la fin du mois de juillet (COSEPAC 2012). Le changement en civelles pigmentées se fait ensuite progressivement par l'apparition de pigmentation avec l'arrivée dans les différents affluents qui se déversent dans les estuaires ou le long des côtes océaniques (Durif, 2003; COSEPAC, 2012). Durant ce stade qui dure de 3 à 12 mois, les civelles pigmentées (ou anguillettes) deviennent de véritables organismes benthiques continentaux (COSEPAC 2012). Néanmoins, ce n'est enfin que lors du passage au stade anguille jaune qu'elles se différencient sexuellement (COSEPAC 2012).

## **1.2 Déclin de l'anguille d'Amérique et de l'anguille d'Europe**

Depuis quelques décennies, l'anguille d'Amérique et l'anguille d'Europe ont vu de forts déclin prendre place au sein de certaines de leurs populations respectives. En fait, depuis le milieu des années 80 l'anguille d'Amérique a subi une chute de 40 à 80 % de ses stocks de pêche suivant certains sites et années (Haro *et al.*, 2000). Du côté de l'anguille européenne, le déclin est variable selon le lieu considéré, mais il a atteint entre 90 et 99 % des stocks dans les sites les plus touchés (Stone, 2003; van Ginneken *et al.*, 2005; Pierron, 2007). C'est pourquoi l'anguille

d'Amérique est maintenant considérée au Canada comme menacée de disparition depuis 2012 (COSEPAC 2012), et que l'anguille d'Europe est quand à elle inscrite depuis 2010 sur la liste rouge des espèces en danger critique d'extinction de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN, 2013). En France, l'espèce est considérée vulnérable et est donc inscrite dans le livre rouge des espèces menacées depuis plus de 20 ans (Elie 1992b, dans Durif 2003).

Les causes avancées pour expliquer le déclin des deux espèces d'anguilles sont nombreuses : surpêche, prédation, obstacles à la migration (barrages), turbines de centrales électriques, parasitisme et maladies, changements climatiques, changements océaniques, acidification des eaux, perte d'habitat, activité humaine et exposition à divers contaminants retrouvés dans l'environnement (Stone, 2003; COSEPAC, 2012). Selon la région, il semble que l'importance des différents facteurs soit très variable. Par exemple, dans la région des Grands-Lacs et du haut Saint-Laurent, il semble que les obstacles à la migration, incluant les turbines des centrales hydroélectriques, constituent un facteur majeur expliquant le déclin des populations d'anguille d'Amérique qui y résident, soit lors de la montaison des anguillettes ou lors de la dévalaison des anguilles argentées (COSEPAC, 2012). Plus précisément, 40 % des anguilles argentées passant du Lac Ontario vers le fleuve Saint-Laurent seraient tuées par les turbines de barrages hydroélectriques (CIEM, 2011). Par ailleurs, peu importe l'espèce considérée, les anguilles colonisant les milieux dulcicoles seraient plus gravement touchées par les facteurs de nature anthropique (surpêche, obstacles et contamination) que celles qui se retrouvent plutôt en milieu marin (Edeline *et al.*, 2007; Lamson *et al.*, 2009).

Néanmoins, de plus en plus de signes pointent vers la qualité des géniteurs comme facteur pouvant expliquer le déclin des deux espèces, ou du moins pour certaines composantes de leurs populations respectives. En effet, les capacités reproductives des anguilles argentées semblent être affectées par les parasites et les maladies, mais aussi tout particulièrement par la pollution. Comme mentionné précédemment, dû à sa grande longévité et au fait que l'anguille passe presque les trois-quarts de son temps enfouie dans les sédiments au stade jaune (Tomie 2011, dans COSEPAC 2012), celle-ci s'expose de façon très importante aux contaminants qui pourraient s'y trouver. Plusieurs contaminants peuvent donc s'accumuler dans différents tissus (foie, reins, muscles, gonades, branchies), en particulier dans les réserves de lipides, et causer des effets délétères, soit de façon individuelle ou synergique (Geeraerts *et al.*, 2010). Entre autres, selon plusieurs auteurs la contamination avec certains métaux (Cd, Hg, Pb, Cu et Ni), composés



organiques (pesticides, herbicides, hydrocarbures aromatiques polycycliques ou HAP, furanes) et organochlorés (biphényles polychlorés ou BPC, dioxines, DDT, et mirex) constituerait un facteur substantiel à l'origine du déclin des deux espèces (Dutil *et al.*, 1985; Castonguay *et al.*, 1994a; Hodson *et al.*, 1994; van Ginneken *et al.*, 2005; Pierron *et al.*, 2007a; Geeraerts *et al.*, 2010). Les BPC apparentées aux dioxines seraient particulièrement associés à ce déclin (Palstra *et al.*, 2006), notamment en réduisant la quantité de lipides accumulés au stade jaune (Belpaire *et al.*, 2009) et par leurs effets sur la reproduction après remobilisation à partir des réserves lipidiques lors de la migration (Castonguay *et al.*, 1994b). Enfin, même si la concentration de nombreux contaminants a diminué grandement dans l'environnement depuis les 40 dernières années dû au bannissement ou à un contrôle plus serré d'utilisation (Luckey *et al.*, 2007; Maes *et al.*, 2008; Pelletier, 2010), l'apparition de nouveaux contaminants organiques a augmenté durant la même période: nouveaux pesticides, nouveaux médicaments, alkylphénols, nanoparticules diverses, produits ignifuges (dont les polybromodiphényléthers ou PBDE), etc. (Luckey *et al.*, 2007; Bilberg *et al.*, 2010; Geeraerts *et al.*, 2010; COSEPAC, 2012).

On retrouve aussi certains sites qui ont été fortement contaminés par différents contaminants inorganiques et plusieurs études ont montré l'incidence que certains d'entre eux pourraient avoir sur les anguilles : entre autres, des effets immunotoxiques divers (Hg, Pb), de réduction de thyroxine libre et d'accroissement de glucose sanguin (Cr et Cu), d'induction de métallothionéine dans le foie (Cu), puis d'effets délétères multiples au niveau du sang, des branchies et du foie (Cd) sont retrouvés dans la littérature (Geeraerts *et al.*, 2010). Chez les anguilles européennes de l'estuaire de la Gironde, des concentrations élevées de Cu, de Zn, de Hg et de Cd ont été trouvées dans le rein et le foie, ce qui a permis de constater que l'anguille était la deuxième espèce la plus contaminée en métaux après le mulot porc (*Liza ramada*) dans cette zone (Durrieu *et al.*, 2005). Le Cd s'est alors particulièrement révélé comme un contaminant important. En effet, des études géochimiques avaient déjà permis de démontrer que l'activité minière ayant eu cours entre 1837 et 1986 en bordure de la rivière du Lot tout près de Decazeville (Aveyron) avait laissé s'échapper d'énormes quantités de Cd qui se retrouvent maintenant dans les sédiments du Lot et de la Garonne (Pierron, 2007). Il a été ensuite démontré que l'exposition à ce métal pouvait causer une diminution de l'expression de gènes impliqués dans la chaîne de respiration mitochondriale et dans la défense contre le stress oxydant, perturber le système endocrinien, puis induire une consommation accrue de lipides accompagnée d'une réduction de croissance de la masse

corporelle (indice de condition de Fulton plus faible), et ce à des concentrations tissulaires retrouvées chez les anguilles sauvages, ce qui pourrait ainsi avoir un effet sérieux et crédible sur la capacité des anguilles à migrer et à se reproduire (Pierron *et al.*, 2007a; Pierron *et al.*, 2007b). Par ailleurs, des effets conjoints de différents contaminants ont été relevés, entre autres par la présence simultanée de contaminants organiques et inorganiques (Geeraerts *et al.*, 2010). L'importance de ce point réside dans le fait que même à des concentrations faibles, un cocktail de contaminants pourrait amener des effets notables par effet additif ou même multiplicatif.

Dans le système du Saint-Laurent, on retrouve aussi historiquement des sources diverses de contamination en métaux. Par exemple, quelques industries locales (pâtes et papiers et textiles entre autres) situées dans la région de Cornwall ont déversé pendant de nombreuses années des quantités importantes d'Al, Hg, Zn, Pb et Cu dans le fleuve Saint-Laurent, et aujourd'hui encore des concentrations importantes de métaux sont retrouvés dans les sédiments jusqu'en amont du lac Saint-François (Richman, 1997; Pelletier, 2010). Néanmoins, sauf pour le Hg et le dosage de quelques autres métaux (essentiellement pour le Zn, le Cu, le Cd, et le Cr dans Hodson *et al.* 1994), peu de données sont disponibles pour le moment en ce qui concerne l'effet de ces contaminants sur les anguilles d'Amérique : les principales études qui ont été menées jusqu'à maintenant ont porté principalement sur les concentrations et les effets des contaminants organiques (Dutil *et al.*, 1985; Hodson *et al.*, 1994; Couillard *et al.*, 1997; Byer *et al.*, 2013a; Byer *et al.*, 2013b). Certaines études ont toutefois montré que de nombreux contaminants inorganiques (Cd, Cr, Cu, Ni, Zn, Pb et As) peuvent se bioaccumuler chez divers organismes benthiques du système du Saint-Laurent, et causer des effets allant de l'induction de protéines associées à la métallothionéine (MT) ou d'éthoxyrésorufine-o-dééthylase (EROD) à un effet sur la taille des individus (de Lafontaine *et al.*, 2000; Kwan *et al.*, 2003; Desrosiers *et al.*, 2008; Johns, 2012).

De même, la pollution semble être un facteur pouvant aggraver l'incidence ou les effets de certaines maladies et parasites. Par exemple, chez les anguilles d'Europe exposées à de l'eau contaminée au Cu (30-60 µg/L), Rødsæther *et al.* (1977) avaient ainsi observé une mortalité des anguilles causée par la vibriose (induite par le virus *Vibrio anguillarum*) comparativement aux anguilles non exposées au Cu qui sont restées saines. Plus récemment toutefois, une attention particulière a été portée envers un parasite de la vessie natatoire, le nématode *Anguillicola crassus* (ou *Anguillicoloides crassus*). Celui-ci serait parvenu jusqu'aux anguilles Européennes

dans les années 1980 principalement via l'anguille japonaise (*Anguilla japonica*) importée en Europe (Haenen, 1995). Certains auteurs dont Palstra *et al.* (2007) avancent même l'idée que ce parasite ait pu être à la base du déclin observé chez certaines populations d'anguille d'Europe. Jusqu'à présent toutefois, les anguilles d'Amérique retrouvées dans le système Saint-Laurent - Grands-Lacs ont été épargnées, la présence du parasite au Canada se limitant depuis 2005 à moins de 10 % des anguilles des provinces de l'Atlantique (COSEPAC, 2012; Campbell *et al.*, 2013; Denny *et al.*, 2013). Aux États-Unis par contre, la prévalence du parasite est en constante augmentation depuis 1995, avec un taux d'infection très variable, soit de 7 à 76 % selon les régions tout le long de la côte atlantique (Barse *et al.*, 2001; Zimmerman, 2008; COSEPAC, 2012; Campbell *et al.*, 2013). Néanmoins, d'autres pathologies ont été associées à la contamination dans le système du Saint-Laurent. En particulier, Couillard *et al.* 1997 ont trouvé de fortes corrélations entre la concentration de composés organochlorés (principalement le mirex) et la présence de malformations vertébrales et de foyers basophiles au niveau du foie.

### **1.3 Le projet IMMORTEEL**

Pour répondre à diverses questions concernant le rôle des contaminants dans le déclin de l'anguille d'Amérique et de l'anguille d'Europe, un groupe de chercheurs du Québec et de la France a mis sur pied le projet IMMORTEEL (Impact of Metallic and ORganic contamination of the Gironde and St. Lawrence systems on two Threatened species, the European and American EELs). La force de ce projet est de pouvoir compter sur l'expertise de chaque chercheur et de pouvoir utiliser des échantillons provenant des mêmes anguilles pour réaliser une panoplie d'analyses en laboratoire. C'est ainsi qu'ont été réalisées deux campagnes de terrain pour la récolte d'anguilles jaunes (printemps 2011 et 2012 pour les deux espèces), différentes expériences d'exposition d'anguilles jaunes à des contaminants et à des facteurs naturels (anguilles d'Europe seulement), puis deux expériences de maturation artificielle d'anguilles argentées (hiver 2012 pour *A. rostrata*, et hiver 2013 pour *A. anguilla*). À chaque fois, en plus de prises de mesures sur l'individu (masse, taille, etc.) et d'un examen pathologique externe et interne, un maximum d'échantillons ont été prélevés : cerveau, branchies, foie, muscle, rein, rate, gonades, vessie natatoire, nageoire et sang. Ensuite, les échantillons ont été envoyés aux différents laboratoires. Entre autres, en plus de l'évaluation des teneurs en différents

contaminants organiques et inorganiques dans le foie, le rein, le muscle et les gonades, il avait été déterminé que plusieurs analyses différentes seraient effectuées, et rassemblées en trois volets principaux : l'identification de marqueurs moléculaires fonctionnels (SNP) pouvant être liés à l'occupation des différents habitats selon leur niveau de contamination et la construction d'une puce à ADN (*DNA microarray*) à partir de ces résultats et des données de contamination (volet 1), l'évaluation du stress oxydant, des capacités métaboliques, de l'histopathologie, des teneurs en protéines, glucides et lipides (volet 2) et l'évaluation des effets de la remobilisation des contaminants via les expériences de maturation artificielle d'anguilles argentées (volet 3). De plus, les données produites par les différentes équipes de recherche sont ensuite mises à la disposition de tous pour que chaque personne impliquée dans le projet puisse ultimement réaliser des analyses de corrélation spécifiques entre certains effets et les niveaux de contamination mesurés.

#### **1.4 Enzymes et capacités métaboliques**

Il a été de nombreuses fois démontré qu'il peut exister un lien direct entre le changement d'activité d'une enzyme donnée et la perte de capacités métaboliques importantes. Ceci a pu être vérifié notamment par les corrélations obtenues avec certains indicateurs de la santé des individus d'une espèce donnée, et tout particulièrement avec le taux de croissance (Pelletier *et al.*, 1993; Pelletier *et al.*, 1994; Couture *et al.*, 1998; Gauthier *et al.*, 2008). De plus, le lien entre le changement d'activité d'une enzyme et la contamination a aussi été maintes fois examiné chez différentes espèces de poissons (Almeida *et al.*, 2001; Tugiyono *et al.*, 2002; Lapointe *et al.*, 2010; Niedzwiecka *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2012). Toutefois, une espèce de poisson en particulier a été l'objet de nombreuses recherches en lien avec la contamination : la perchaude (*Perca flavescens*) (Levesque *et al.*, 2002; Rajotte *et al.*, 2002; Audet *et al.*, 2003; Couture *et al.*, 2003; Couture *et al.*, 2008; Pierron *et al.*, 2009; Gauthier *et al.*, 2011). En fait, plusieurs paramètres dont les capacités métaboliques de ce poisson ont été largement étudiés depuis les 15 dernières années dans différents lacs du Nord de l'Ontario et du Nord-Ouest du Québec fortement contaminés avec certains métaux issus de l'exploitation minière qui a lieu à proximité de ces lacs. Ces conditions, liées au fait que la perchaude est une espèce résidente se retrouvant aussi dans des lacs non contaminés, en ont fait un modèle de choix pour réaliser de nombreuses études *in*

*situ* des effets de la pollution polymétallique dans le milieu naturel. Le tableau 1.1 présente la liste des enzymes d'intérêt retenues pour le projet de maîtrise, leur fonction métabolique principale et un aperçu d'effets de certains contaminants inorganiques sur ces enzymes rapportés dans la littérature chez la perchaude en milieu naturel. Même si l'anguille a une physiologie différente de ce poisson, ces résultats donnent un bon point de départ, car hormis quelques publications sur l'activité de certaines enzymes (Pelster *et al.*, 1997; Boldsen *et al.*, 2013), très peu de résultats sur les capacités métaboliques des anguilles d'Amérique et d'Europe sont disponibles, et encore moins sur les liens entre l'activité enzymatique et la contamination chez ces espèces.

Pour l'anguille d'Europe, des travaux récents ont toutefois montré l'effet de divers contaminants sur l'activité de certaines enzymes. Pierron *et al.* (2007a) ont ainsi observé que des anguilles jaunes exposées au Cd ( $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  pendant 30 jours) peut amener au niveau du foie une augmentation d'activité d'enzymes impliquées dans la lipogénèse (isocitrate déshydrogénase, IDH; enzyme malique, EM), dont deux enzymes associées à la production du NADPH nécessaire à la liposynthèse, soit la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) et la 6-phosphogluconate déshydrogénase (6PGDH), de même que, comme mentionné précédemment, une baisse de l'indice de condition de Fulton et du contenu en lipides dans le muscle. Par ailleurs, suite à une exposition de jeunes anguilles jaunes européennes au propanil (herbicide), Sancho *et al.* (2009) avaient obtenu des changements d'activités de certaines enzymes (phosphatase alcaline, gamma-glutamyl transpeptidase, alanine aminopeptidase), dont une augmentation d'activité de la lactate déshydrogénase (LDH), couplée à une baisse de la quantité de protéines autant dans le foie que dans le muscle, suggérant une utilisation accrue de la voie anaérobie par un effet apparenté à l'hypoxie, et/ou une utilisation plus grande d'énergie pour pallier à la détoxification. À la lumière de ces résultats, c'est pourquoi la mesure de l'activité d'enzymes impliquées dans différentes fonctions métaboliques a été considérée comme hautement pertinente dans le cadre du projet IMMORTEEL : un changement d'activité avéré pourrait être le signe d'une perturbation importante d'une capacité métabolique, pouvant possiblement contribuer à compromettre la migration et/ou la reproduction des anguilles argentées.

**Tableau 1.1** Enzymes à l'étude, fonctions métaboliques et effets de contaminants inorganiques observés dans la littérature chez la perchaude (*Perca flavescens*).

Enzyme	Fonction métabolique	Contaminant	Effets observés	Référence
PK	1 <sup>re</sup> enzyme de la glycolyse (capacités glycolytiques)	Cd, Zn, Cu	Activité plus forte dans le foie en automne qu'en été dans les lacs contaminés Contenu de glycogène dans le foie plus faible en automne qu'en été pour les lacs de référence mais variation saisonnière différente dans les lacs contaminés	Lévesque <i>et al.</i> 2002
CS	1 <sup>re</sup> enzyme du cycle de Krebbs (capacités aérobies)	Cd, Cu	Activité plus faible dans le muscle associée aux lacs contaminés Vitesse critique de nage ( $U_{crit}$ ) plus faible associée aux lacs contaminés	Rajotte et Couture 2002
		Cu, Cd	Activité plus faible dans le muscle associée aux lacs les plus contaminés Réduction de 25 % du taux de consommation d'oxygène au repos (ROCR) lorsque la concentration en Cu double dans le foie.	Couture et Kumar 2003
CCO	Dernière enzyme de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie (capacités aérobies)	Cd, Cu, Ni	Activité plus forte dans le foie associée à la concentration hépatique en Ni Concentration en protéines totales plus forte dans le foie associée à la concentration hépatique en Ni	Pierron <i>et al.</i> 2009
		Cd, Cu, Ni	Activité plus forte dans le muscle associée à une contamination en Cd dans le foie pour les lacs contaminés des deux régions à l'étude, et associée au Cu et Ni dans le foie pour les lacs contaminés d'une des deux régions. Relation négative entre l'activité de la CCO et la longévité des poissons selon le gradient de contamination croissant global de tous les lacs à l'étude.	Couture et Pyle 2008
LDH	Production d'énergie de façon anaérobie à partir du pyruvate (capacités anaérobies)	Cu, Cd	Activité plus forte dans le foie en été associée au lac contaminé Activité plus faible dans le muscle en été associée au lac contaminé	Audet et Couture 2003
G6PDH	1 <sup>re</sup> étape de la voie des pentoses phosphates (métabolisme des lipides)	Cd, Zn, Cu	Activité dans le foie plus forte en été qu'en automne pour les lacs de référence, mais rien de tel observé dans les lacs contaminés Contenu de triglycérides dans le foie plus faible en automne qu'en été pour les lacs de référence mais aucune variation saisonnière dans les lacs contaminés	Lévesque <i>et al.</i> 2002
		Cd, Cu	Corrélation positive entre l'indice de condition et l'activité enzymatique relevée dans les <i>cæca pyloriques</i> des individus provenant du lac de référence, mais rien de tel observé dans le lac contaminé	Gauthier <i>et al.</i> 2011

## 1.5 Objectifs de recherche

Au vu des impacts avérés de certains contaminants inorganiques (1) sur différentes espèces benthiques du Saint-Laurent et de la Gironde, (2) sur les capacités métaboliques de la perchaude, maintes fois étudiée en milieu naturel, puis (3) sur les changements d'activité de différentes enzymes observées chez l'anguille d'Europe exposées au Cd en laboratoire, mon hypothèse de départ était que l'on pourrait retrouver des effets notables de contaminants inorganiques sur les capacités métaboliques des deux espèces d'anguilles. Néanmoins, vu le peu de données disponibles dans la littérature concernant les niveaux d'activités d'enzymes liées aux différentes capacités métaboliques des anguilles, mon objectif a d'abord été de mesurer les niveaux observés d'un point de vue strictement physiologique. Mon projet a donc été divisé en trois objectifs principaux : (1) déterminer les niveaux d'activité d'enzymes impliquées dans les capacités glycolytiques (PK), les capacités aérobies (CS et CCO), les capacités anaérobies (LDH), et le métabolisme des lipides (G6PDH), et ce, au niveau du foie (PK, CS, LDH et G6PDH) et du muscle (PK, CS, CCO et LDH) de chaque espèce d'anguille, (2) examiner les liens pouvant exister entre les activités enzymatiques mesurées et les niveaux de contamination inorganique retrouvées dans le foie et le muscle, et enfin (3) évaluer les principales différences interspécifiques observables sur le plan physiologique d'une part et sur le plan écotoxicologique d'autre part. Les données communes du projet (masse, longueur, âge, indice de condition relatif Kn et indice de Fulton) ont été ensuite utilisées pour répondre au mieux aux objectifs fixés, soit pour évaluer les différentes corrélations pouvant exister entre les variables mesurées.

## 2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.1 Choix des sites d'échantillonnage

Comme mentionné à la section 1.2 de l'Introduction, le projet IMMORTEEL vise à comparer des anguilles ayant vécu la plupart de leur vie en milieu « propre » ou en milieu « contaminé ». Pour ce faire, quatre sites ont donc été sélectionnés tant au Québec qu'en France (figure 1). Ce choix a été basé sur certaines données historiques de contamination des anguilles d'Amérique (Dutil *et al.*, 1985; Hodson *et al.*, 1992; Hodson *et al.*, 1994; Byer *et al.*, 2013b) et d'Europe (Durrieu *et al.*, 2005; Pierron, 2007) de même que sur l'intensité de l'activité humaine actuelle ou passée à proximité des sites. Ainsi, au Québec la rivière Saint-Jean (RSJ) et la rivière du Sud-Ouest (RSO) ont été considérées propres, puis le lac Saint-Pierre (LSP) de même que le lac Saint-François (LSF) ont été considérés contaminés. Du côté français, les anguilles propres ont été capturées dans la rivière Dordogne et dans le Domaine de Certes, tandis que les anguilles contaminées ont été pêchées dans le fleuve Garonne et dans l'estuaire de la Gironde. Néanmoins, la rivière Dordogne n'ayant pas été épargnée par la pollution non plus, il est plus juste de parler d'un gradient de contamination global Certes < Dordogne < Garonne < Gironde.



Figure 2.1 : Cartes des sites d'échantillonnage au Québec et en France. Les sites considérés « propres » sont encadrés en blanc, et les sites considérés « contaminés » sont encadrés en noir.



## 2.2 Campagne de terrain du printemps 2012

La campagne de terrain 2012 s'est effectuée du 31 mai au 15 juin 2012 (tableau 2.1). Celle-ci s'est subdivisée en quatre périodes d'échantillonnage, soit une période pour chaque site de capture : du 31 mai au 1er juin pour le site RSJ, du 4 au 5 juin pour le site RSO, du 11 au 12 juin pour le site LSP et du 14 au 15 juin pour le site LSF. Pour chaque site, un total de 15 anguilles jaunes a été prélevé, en suivant le protocole CIPA #1011-01 pour la manipulation de celles-ci.

**Tableau 2.1 Informations diverses pour les sites d'échantillonnage au Québec.**

<i>Sites</i>	<i>Coordonnées géographiques</i>	<i>Périodes 2012 d'échantillonnage</i>	<i>Méthodes de capture</i>	<i>Pêcheurs</i>
Rivière Saint-Jean (RSJ)	48° 51' 40" N 64° 28' 47" O	31 mai – 1 <sup>er</sup> juin	Verveux	Ministère des Ressources naturelles et de la Faune
Rivière du Sud-Ouest (RSO)	48 °22' 27" N 68° 43' 02" O	4 – 5 juin	Pêche électrique	Ministère des Ressources naturelles et de la Faune
Lac Saint-Pierre (LSP)	45° 09' 18" N 74° 23' 04" O	11 – 12 juin	Verveux	André Lenneville, Pêcheries Ste-Angèle Enr.
Lac Saint-François (LSF)	46 ° 19' 50" N 72° 32' 06" O	14 –15 juin	Verveux	Ontario Power Generation

Suite à leur capture, les poissons étaient conservés dans de grands bacs de plastique à l'abri de la chaleur et de la lumière. Des bulleurs électriques assuraient un apport continu en oxygène aux animaux. Après avoir noté la longueur totale et la masse du poisson, le sacrifice a été fait par décapitation, et ce, sans anesthésie, comme pour les poissons récoltés en France. En effet, entre autres objectifs le projet IMMORTEEL vise à évaluer les effets de la contamination organique et inorganique sur le niveau d'expression d'environ mille gènes. Conséquemment, l'utilisation d'un anesthésiant amènerait fort probablement une réponse au niveau génique, ce qui pourrait fausser significativement les résultats. Par exemple, l'utilisation d'anesthésiants comme le MS-222 ou l'eugénol induisent chez l'anguille européenne une surexpression, notamment au niveau hépatique, des gènes impliqués dans la lutte contre le stress oxydant et qui seront étudiés dans le

projet (communication personnelle avec Magalie Baudrimont, Université de Bordeaux 1, France, et collaboratrice sur le projet).

Comme indiqué à la section 1.2 de l'Introduction, plusieurs prélèvements ont été effectués pour les différentes analyses prévues dans le projet IMMORTEEL. Pour ce qui est des échantillons de foie et de muscle prélevés pour mon projet de maîtrise, ceux-ci étaient rapidement récupérés après sacrifice de l'animal, placés dans des cryo-vials de 2 mL et congelés instantanément dans l'azote liquide. Les échantillons de muscle furent prélevés sans peau dans une zone standardisée située à 2 cm derrière l'anus, et au-dessus de la ligne latérale du poisson. La standardisation de la zone de prélèvement a pour objectif d'éviter les variations de capacité métabolique observables selon le lieu de prélèvement. De plus, cette section est sans arêtes et épaisse, ce qui permet donc de prélever facilement un échantillon suffisant de muscle blanc.

### **2.3 Dosage des contaminants inorganiques dans le foie et le muscle des anguilles jaunes**

Le dosage de contaminants inorganiques dans les échantillons de foie et de muscle des anguilles jaunes a été fait principalement par une même personne à l'INRS-ETE; il n'y a que les échantillons de foie des deux espèces d'anguilles provenant de la campagne de terrain de 2012 qui ont été préparés et analysés par une deuxième personne (toujours à l'INRS-ETE). Malgré tout, le protocole pour la préparation des échantillons, certaines étapes de cette préparation et l'analyse des échantillons ont été réalisés sous ma supervision. Tout d'abord, les échantillons ont été lyophilisés à froid dans des vials de Teflon-PFA (Savillex) et conservés dans ces récipients jusqu'à la toute fin de la préparation des échantillons. Suite à la lyophilisation, un sous-échantillon de 50 mg a été prélevé pour faire le dosage du Hg. Ces dosages ont été faits dans un analyseur de Hg (Milestone DMA-80) et le MESS-3 (Conseil National de la Recherche du Canada) a été utilisé comme matériel de référence, avec un taux de récupération moyen de  $102,9 \pm 6,6 \%$ .

Pour le reste de chaque échantillon (toujours dans les vials de Teflon-PFA), une première digestion a été effectuée à la température ambiante dans de l'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$ ) pur de grade « métal trace ». Le jour suivant, la digestion des échantillons a été complétée par autoclave (All American 25X-1) durant deux heures à une pression moyenne de 103,42 kPa. Ensuite, les

échantillons ont été dilués dans de l'eau ultra pure pour obtenir une concentration finale de 10 % d' $\text{HNO}_3$ . Enfin, les concentrations de Zn, As, Cd, Cu, Pb, Cr, Ni, Ag et Se ont été mesurées par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS, Thermo Scientific XSeries 2) et par spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES, Varian Vista AX) ou par les deux méthodes. Les limites de détection de la méthode ont été déterminées, et ont été attribuées aux échantillons dont la concentration pour un métal donné était sous la valeur limite correspondante. Les matériaux de référence biologiques certifiés TORT-2 et le DOLT-4 (Conseil National de Recherche du Canada) ont été soumis au même protocole de digestion que les échantillons de rein afin de contrôler l'efficacité de la digestion. Le DOLT-4 a été utilisé pour contrôler le taux de récupération de l'Ag et du Se. Les taux de récupération (exprimés en termes de % des matériaux de référence  $\pm$  écart-type) ont été les suivants : Zn =  $118,9 \pm 14,0$  %; As =  $104,6 \pm 7,0$  %; Cd =  $107,8 \pm 4,9$  %; Cu =  $113,7 \pm 30,4$  %; Pb =  $80,5 \pm 8,9$  %; Cr =  $91,0 \pm 33,3$  %; Ni =  $100,0 \pm 7,5$  %; Ag =  $94,6 \pm 30,7$  %; Se =  $104,4 \pm 21,8$  %.

## **2.4 Essais enzymatiques et dosage des protéines**

### **2.4.1 Préparation des échantillons**

Les essais enzymatiques ont été réalisés sur les échantillons de foie et de muscle conservés dans un congélateur à  $-80$  °C depuis le retour du terrain. Le jour de l'expérience, 20 échantillons étaient habituellement sélectionnés, soit cinq individus par site de capture pour une espèce donnée. L'objectif était de pouvoir développer un facteur de correction pouvant être appliqué sur les résultats des essais lorsque nécessaire, et ce de façon conjointe avec l'utilisation de deux échantillons contrôles supplémentaires testés lors de chaque jour d'expérience (voir section 2.4.4). Conservés sur glace, des morceaux d'échantillons encore congelés étaient rapidement prélevés des cryo-vials, pesés dans un tube de culture de polypropylène 16,5 x 101 mm à fond arrondi (Sarstedt, cat. #60-541-685), et dilués initialement selon un ratio 1 : 25 (masse : volume) dans un tampon d'homogénéisation (pH 7.5; 20 mM HEPES; 1 mM EDTA; 0.1% Triton® X-100). Ensuite, les échantillons ont été homogénéisés sur glace dans le tampon ainsi ajouté à l'aide d'un homogénéisateur rotor-stator (Janke & Junkel Ultra-Turrax® T25, IKA-Labortechnik), à raison de trois périodes de 10 sec à vitesse maximale (24 000 tours/min), espacées à chaque fois d'une pause de 30 sec. Les échantillons étaient enfin conservés sur glace jusqu'à un maximum de

sept heures suivant leur homogénéisation. Une partie de l'homogénat préparé était prévu pour le dosage des protéines, et était ainsi congelé à -80 °C jusqu'au dosage (voir section 2.4.5).

#### **2.4.2 Mesure de l'activité enzymatique**

L'activité enzymatique a été mesurée sur microplaque de 96 puits à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible (Cary 50, Varian Inc.), selon les protocoles expérimentaux de Lapointe *et al.* (2011) modifiés de Pelletier *et al.* (1994), sauf pour la pyruvate kinase (PK) et la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH), qui ont été mesurées selon les protocoles modifiés de Gauthier *et al.* (2008). Chaque échantillon a été testé en triplicatas. Pour chaque combinaison tissu/enzyme testée, une optimisation des concentrations de réactifs utilisés et de la dilution des échantillons a été réalisée lors d'essais préliminaires. Ceci a été fait afin de s'assurer de toujours mesurer une pente de réaction maximum et linéaire sur au moins trois minutes. Conséquemment, les dilutions optimisées pour chaque enzyme étaient préparées juste avant chaque essai enzymatique, toujours dans le tampon d'homogénéisation, et toujours sur glace. Les essais ont été réalisés à une température moyenne de  $24,1 \pm 0,8$  °C (le maximum atteint a été 26 °C). En effet, même si la température de base de l'appareil est de 23,5 °C, des variations de température à la hausse occasionnelles sont survenues lorsque la température de la pièce montait, car la température ne peut être régulée par l'appareil. Néanmoins, appuyé par les échantillons contrôles, aucune indication sérieuse n'a montré que la température avait influencé les résultats d'une journée sur l'autre.

Juste avant chaque essai enzymatique, les solutions nécessaires pour chaque enzyme (voir section 2.4.3) étaient préparées sur glace. Sauf pour la *Cytochrome c oxydase* (CCO), un volume total de 200 µL était ajouté dans chaque puits, soit 10 µL d'échantillon, 170 µL de la solution contrôle de l'enzyme donnée et 20 µL de la solution de réaction pour cette même enzyme. Suite à l'ajout de l'échantillon, la solution de contrôle était ajoutée pour mesurer la réaction de base de l'enzyme. L'activité était enregistrée sur au moins sept minutes. Enfin, la solution de réaction de l'enzyme donnée était ajoutée et l'activité était enregistrée encore sur au moins sept minutes. S'il advenait qu'une réaction était trop basse ou trop forte pour un échantillon donné, une dilution appropriée était faite pour s'assurer d'avoir toujours trois minutes de réaction linéaire, et avec un taux de réaction net (différence entre les pentes de réaction et de contrôle en termes de densité

optique) variant entre 0,008 et 0,06 (pentes positives, pour CS et G6PDH), ou entre -0,008 et -0,06 (pentes négatives, pour PK, LDH et CCO).

Pour la CCO, 10  $\mu\text{L}$  d'échantillon était ajouté puis 190  $\mu\text{L}$  de solution de réaction. Le contrôle de la réaction était assuré par quatre puits contenant 200  $\mu\text{L}$  de la solution contrôle (voir section 2.4.3) : la pente de la réaction mesurée dans le contrôle était soustraite de celle de la réaction mesurée pour chaque échantillon, comme pour les autres enzymes. Enfin, toujours si nécessaire, la dilution d'un échantillon donné était ajustée lorsque la réaction était trop forte ou trop faible pour cet échantillon.

L'activité enzymatique a été calculée en unités internationales, UI ( $\mu\text{moles}$  de substrat converti en produit  $\cdot \text{g}^{-1}$  de tissu  $\cdot \text{min}^{-1}$ ). De plus, les résultats exprimés en termes de mg de protéines ont aussi été considérés. La comparaison entre la significativité des différences observées selon que les résultats sont exprimés d'une manière ou d'une autre montre que les mêmes différences significatives étaient très souvent relevées (annexes I a-b). Le choix d'exprimer l'activité enzymatique par quantité de tissu plutôt qu'en termes de concentration de protéines a finalement été motivé par la volonté de mieux cerner le lien entre cette teneur en protéines et la contamination inorganique par l'utilisation subséquente de ce paramètre comme variable explicative et comme variable dépendante dans les régressions multiples qui ont été réalisées. L'activité mesurée pour un échantillon était considérée valide si l'écart entre au moins deux réplicats sur trois était de moins de 10 % (donc au pire la moyenne entre ces deux meilleurs réplicats était établie). Toutefois, dans certains cas très rares une moyenne des trois réplicats était conservée.

### 2.4.3 Enzymes testées

*Pyruvate kinase* (PK, E.C. 2.7.1.40) : l'activité de la PK a été mesurée avec le changement d'absorbance détecté à 340 nm par l'oxydation du  $\beta\text{-NADH}$  en  $\text{NAD}^+$ , selon un coefficient d'extinction molaire de 6,22 ( $\text{L}\cdot\text{mmol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ). Dilution de l'homogénat avant mise en puits de 1 : 25 pour le foie (1 : 2000 pour le muscle) dans le tampon d'homogénéisation. Solution contrôle : 0,16 mM de  $\beta\text{-NADH}$ , 10 mM d'adénosine-5'-diphosphate sous la forme de sel disodique (ADP) pour le foie (15 mM pour le muscle), et lactate déshydrogénase (LDH) en excès, dans un tampon imidazole (pH 7,5; 50 mM d'imidazole-HCl, 20 mM de  $\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 70 mM de KCl, dans de

l'eau ultra pure). Solution de réaction : 200 mM de phosphoénolpyruvate sous la forme de sel sodique hydraté (PEP) pour le foie (75 mM pour le muscle) dilué dans un volume de solution contrôle préparé à cette fin. Selon Gauthier *et al.*, 2008.

*Citrate synthase* (CS, E.C. 2.3.3.1) : l'activité de la CS a été mesurée avec le changement d'absorbance détecté à 412 nm par l'accumulation de NTB<sup>2-</sup> apparaissant suite au clivage du DTNB par le groupement thiol de la coenzyme A, selon un coefficient d'extinction molaire de 13,6 (L·mmol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>). Dilution de l'homogénat avant mise en puits de 1 : 100 pour le foie (1 : 25 pour le muscle) dans le tampon d'homogénéisation. Solution contrôle : 100 mM de Tris-HCl, 0,1 mM d'acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque) (DTNB), et 0,2 mM d'acétyl coenzyme A sous forme de sel de sodium (acétyl CoA) pour le foie (0,4 mM pour le muscle), dans un tampon phosphate (pH 8.0; concentration de phosphate finale de 100 mM, obtenu par le mélange de 0,094 % volume/volume de solution 1 M de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et de 0,006 % volume/volume de solution 1 M de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dans de l'eau ultra pure). Solution de réaction : 3 mM d'oxaloacétate pour le foie (4,5 mM pour le muscle) dilué dans un volume de solution contrôle préparé à cette fin. Selon Lapointe *et al.*, 2011.

*Glucose-6-phosphate déshydrogénase* (G6PDH, E.C. 1.1.1.49) : l'activité de la G6PDH a été mesurée avec le changement d'absorbance détecté à 340 nm l'oxydation du β-NADH en NAD<sup>+</sup>, selon un coefficient d'extinction molaire de 6,22 (L·mmol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>). Dilution de l'homogénat de foie avant mise en puits de 1 : 100 dans le tampon d'homogénéisation. Solution contrôle : 5 mM de MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O et 0,25 mM de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP), dans un tampon imidazole (le même que pour la PK). Solution de réaction : 67 mM de glucose-6-phosphate (G6P) dilué dans un volume de solution contrôle préparé à cette fin (Gauthier *et al.*, 2008).

*Lactate déshydrogénase* (LDH, E.C. 1.1.1.27) : l'activité de la LDH a été mesurée avec le changement d'absorbance détecté à 340 nm par l'oxydation du β-NADH en NAD<sup>+</sup>, selon un coefficient d'extinction molaire de 6,22 (L·mmol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>). Dilution de l'homogénat avant mise en puits de 1 : 50 pour le foie (1 : 2000 pour le muscle) dans le tampon d'homogénéisation. Solution contrôle : 0,16 mM de β-NADH dans un tampon phosphate (pH 7.0; concentration de phosphate finale de 100 mM, obtenu par le mélange de 0,0615 % volume/volume de solution 1 M de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et de 0,0385 % volume/volume de solution 1 M de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dans de l'eau ultra pure).

Solution de réaction : 20 mM de pyruvate de sodium dans un volume de solution contrôle préparé à cette fin. Selon Lapointe *et al.*, 2011.

*Cytochrome C oxydase* (CCO, E.C. 1.9.3.1) : l'activité de la CCO a été mesurée avec le changement d'absorbance détecté à 550 nm par l'oxydation du cytochrome C, selon un coefficient d'extinction molaire de 18,5 ( $L \cdot mmol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ). La réduction complète du cytochrome C était assurée par l'ajout de dithionite de sodium à la solution de réaction, puis au bullage de celle-ci pendant au moins cinq minutes pour éviter que cet agent réducteur demeure en excès. Pour vérifier que le cytochrome C était bel et bien totalement réduit dans la solution de réaction, des mesures d'absorbance à 550 nm puis à 565 nm étaient faites dans une cuvette de 1 mL. Le ratio entre ces deux mesures devait être supérieur à 9. La dilution de l'homogénat de muscle avant mise en puits était de 1 : 100 dans le tampon d'homogénéisation. Solution de réaction : 0,07 mM de cytochrome C dans le tampon phosphate (le même que pour la LDH). Solution contrôle : 10  $\mu$ L d'une solution 0,33 % poids / volume de ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN_6)$ ) dans le tampon phosphate à pH 7, ajouté à 990  $\mu$ L de solution de réaction prévu à cette fin. Selon Lapointe *et al.*, 2011.

À noter aussi que l'activité de la nucléoside diphosphate kinase (NDPK) a été mesurée sur certains échantillons de foie et de muscle, et ce, encore selon la méthode de Lapointe *et al.*, 2011. Pour le foie (dilution 1 : 1000), la moyenne d'activité pour dix individus du domaine de Certes de 2012 a été de  $113,33 \pm 5,20$ . Par manque de temps, il a été impossible de faire d'autres mesures pour d'autres sites ou pour l'anguille d'Amérique. Pour ce qui est du muscle des deux espèces d'anguilles, il a été intéressant d'observer que l'activité de l'enzyme était déjà très forte sans l'ajout du réactif (thymidine-5'-diphosphate sous forme de sel disodique, TDP), et ce peu importe les dilutions testées (1 : 100, 1 : 500 et 1 : 1000). Conséquemment, la réaction passait en grande partie avant même l'ajout du réactif : au final, même après plusieurs tentatives, il a donc été impossible d'optimiser l'essai pour pouvoir mesurer l'activité après ajout du réactif. Il serait alors pertinent de voir comment il serait possible de mesurer l'activité de l'enzyme différemment.

#### **2.4.4 Échantillons contrôles et facteur de correction**

Pour contrôler la qualité des essais réalisés, l'activité enzymatique des deux mêmes échantillons (deux échantillons de foie, ou deux échantillons de muscle, selon le tissu testé) a été mesurée

pour presque toutes les journées d'expérience. Ceux-ci avaient été préalablement aliquotés pour éviter les problèmes de décongelations multiples. En résumé, il a donc été possible de compiler des activités enzymatiques moyennes pour ces échantillons. De plus, pratiquement chaque série d'essais enzymatiques contenait des échantillons provenant des quatre sites d'une même espèce d'anguille. Conséquemment, il a été possible de comparer les résultats obtenus un jour pour chacun de ces sites avec ceux obtenus les autres jours pour ces mêmes sites. C'est ce qui a permis d'établir un facteur de correction pouvant être appliqué lorsque les résultats semblaient montrer, pour une raison ou une autre, que les données étaient sous- ou surévaluées. En effet, même si les solutions de réactifs et les dilutions finales des homogénats (différentes pour chaque enzyme) sont faites au mieux, de légères variations de pesée des réactifs (qui se retrouvent parfois en concentrations très faibles) ou de volume de tampon ajouté peuvent possiblement entraîner des différences plus ou moins importantes dans les mesures d'activités enzymatiques. Ainsi, les fluctuations observées d'une journée à l'autre ne traduiraient vraisemblablement pas une dégradation des échantillons ou des différents produits utilisés pour les solutions. Ce constat a été aussi appuyé par le fait que pour toutes les enzymes testées lors d'une même journée d'expérience, les données obtenues n'étaient douteuses que pour une seule d'entre elles, et non pour toutes, ce qui devrait forcément être le cas si l'échantillon était le problème.

Au final, deux facteurs devaient être réunis afin de juger que les résultats obtenus pour une même enzyme étaient valides lors d'une journée d'essais : (1) la moyenne des activités enzymatiques mesurées pour des échantillons provenant d'un même site d'échantillonnage devait être comparable aux moyennes obtenues pour le même site lors des autres journées d'essais, et ce pour au moins deux sites sur quatre d'une même espèce d'anguille, et (2) l'activité enzymatique d'au moins un échantillon contrôle devait montrer un écart maximum de 15 % par rapport à l'activité moyenne compilée pour cet échantillon. Si l'un ou l'autre de ces critères n'était pas respecté, mais que l'autre l'était tout de même, il était défini que l'on ne pouvait pas apporter de facteur de correction : ces variations étaient considérées comme acceptables, c'est-à-dire que les échantillons présentaient vraisemblablement une variabilité moyenne conséquente par rapport à une autre journée d'essais, ou que l'un des deux contrôles avait eu un problème pour une raison ou une autre. Par ailleurs, si les deux critères n'étaient pas respectés, les écarts observés pour les sites et les contrôles devaient tout de même aller dans le même sens : ils devaient être tous sous- ou surévalués.



Sur les 22 journées d'essais enzymatiques réalisées, seules quatre journées différentes ont nécessité des corrections, et ce toujours pour une seule enzyme à chaque fois. Cette faible fréquence était essentielle pour croire raisonnablement que le facteur de correction devenait une manière d'éviter de reprendre des essais enzymatiques, mais sans que ceci ne devienne la norme. Le facteur de correction apporté était une valeur moyenne considérant à la fois les écarts observés pour les activités enzymatiques selon les sites de capture et les écarts observés pour les contrôles. L'annexe II montre un exemple du détail des calculs réalisés pour une des journées d'essais ayant subi une correction.

#### **2.4.5 Dosage des protéines**

La quantification des protéines a été faite selon la méthode mise au point par Marion M. Bradford (Bradford, 1976), et qui implique la mesure de l'absorbance du bleu de Coomassie à 595 nm après sa liaison aux protéines. C'est une méthode simple, rapide et efficace lorsque le but recherché n'est que d'établir un ratio global d'activité enzymatique par quantité de protéines, ou de voir des changements importants quant à la quantité totale de protéines présentes dans un tissu donné. Le protocole qui a été suivi est exactement celui qui a été élaboré pour microplaques par la compagnie Bio-Rad (Bio-Rad Protein Assay). Les échantillons ont été décongelés sur glace le jour de la quantification, et dilués à 1 : 1000 dans du tampon d'homogénéisation. La courbe standard a été préparée à chaque jour à partir de l'albumine de sérum bovin (Bio-Rad), pour obtenir une gamme de concentrations allant de  $0,03 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  à  $0,7 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (10 points de courbe), et ce dans le tampon d'homogénéisation afin de compenser toute réaction potentielle, même faible, entre les réactifs et le tampon. À noter aussi que la concentration de Triton-100X était de 0,1% dans le tampon d'homogénéisation, soit le maximum alloué pour éviter une interférence avec la solution de Bradford, selon le protocole de Bio-Rad. Conséquemment, puisque l'essai a été fait en ajoutant 10  $\mu\text{L}$  d'échantillon (dilué dans le tampon d'homogénéisation) à 200  $\mu\text{L}$  de solution de Bradford, la concentration de Triton-100X se retrouvait en concentration largement inférieure à ce qui est prescrit.

#### **2.4.6 Calcul de l'indice de condition relative $K_n$ et de l'indice de Fulton**

Les indices de condition relative  $K_n$  ont été calculés selon la méthode mise au point par LeCren (1951), soit selon la formule  $K_n = W / W'$ , où  $W$  est le poids (en g) d'un individu donné, et  $W'$  est

le poids corrigé (en g) de ce même individu, c'est à dire le poids attendu en fonction de la longueur, L (en cm), de cet individu. Le calcul s'est aussi fait selon certaines observations répertoriées par Blackwell *et al.* (2000). En particulier, tous les individus de chaque espèce ont été considérés comme faisant partie d'une seule et même population. Conséquemment les poids (W) de tous les individus ont été utilisés pour l'élaboration d'une seule formule de calcul du poids corrigé (W') pour chaque espèce. Après avoir tracé la courbe de tendance en puissance du poids des individus en fonction de leurs longueurs, voici les formules obtenues :

$$\textit{Anguilla rostrata} : W' = 0,0005 \times L^{3,3108}$$

$$\textit{Anguilla anguilla} : W' = 0,0007 \times L^{3,2207}$$

Ensuite, le poids corrigé de chaque anguille a été calculé selon sa longueur respective, pour enfin pouvoir calculer les Kn.

Pour ce qui est des indices de condition de Fulton, ceux-ci ont été calculés comme dans Pierron *et al.*, 2007 ( $[(\text{poids (g)} \times 10^5) / \text{longueur (mm)}]^3$ ), assumant ainsi une croissance isométrique des individus.

#### **2.4.7 Régressions multiples**

À la lumière des différences significatives observées quant à l'âge, la masse, la longueur et les indices de condition (Fulton et Kn) des deux espèces d'anguilles selon le site et l'année d'échantillonnage (annexe III), l'interprétation des résultats par site devient très hasardeuse, car ces variables pourraient influencer l'activité enzymatique, ou du moins être indicatrices d'influences autres que celles des contaminants qui ont été dosés. Ceci est particulièrement vrai pour les anguilles d'Amérique : il appert en effet que les anguilles des sites du Haut Saint-Laurent (LSP et LSF) devraient possiblement être traitées comme une population à part entière tellement les tailles sont différentes de celles retrouvées dans le Bas Saint-Laurent.

Ainsi, vu les différences de tailles importantes entre les sites en 2011, c'est pourquoi un souci particulier a été apporté lors de la campagne de terrain 2012 afin d'avoir des gammes de tailles plus rapprochées, soit des poissons plus longs pour les sites de RSJ et RSO, et des poissons plus petits pour les sites LSP et LSF. Malgré tout, les données montrent clairement que l'on a toujours des gammes de tailles très différentes entre le Haut et le Bas Saint-Laurent. De plus, des

différences importantes de tailles existent aussi à l'intérieur de certains sites. La gamme de tailles va ainsi de 34,5 cm à 65,4 cm pour le site de RSJ, et de 37,8 à 64,5 cm pour Certes, soit presque du simple au double. Conséquemment, on ne peut avoir la certitude nécessaire pour affirmer que les poissons capturés sont représentatifs de ces populations. Pour ce faire, un nombre d'anguilles beaucoup plus élevé aurait probablement dû être prélevé. Comme mentionné à la section 2.4.6, il est à noter aussi que le choix de considérer toutes les anguilles comme une seule population dans calcul du Kn était lié à cette incertitude : certains tests montraient qu'il était tout de même plus risqué de considérer des populations différentes selon le lieu de capture, car le nombre d'individus était trop restreint.

Pour toutes ces raisons, afin d'évaluer l'influence présumée des divers contaminants inorganiques et des autres paramètres (indices de condition, âge, protéines, masse, longueur) sur les activités enzymatiques mesurées, les résultats obtenus ont été analysés de façon intégrale à l'aide de régressions multiples. Même si l'objectif global n'a pas été de trouver une manière de prédire une activité enzymatique donnée en présence d'un ou plusieurs contaminants à des concentrations précises, il a simplement été possible de mieux quantifier l'influence globale de tous ces facteurs, mais aussi l'influence individuelle de chacun. Les outils de type analyse en composantes principales (ACP) ont été écartés car il n'était pas possible d'obtenir une visualisation explicative convaincante: les pourcentages associés aux différentes composantes obtenues demeuraient toujours relativement faibles, et ne permettaient pas de bien quantifier l'influence de chaque paramètre. La longueur des individus et l'indice de condition de Fulton ont toutefois été écartés car ceux-ci corrélaient de façon très forte avec la masse et l'indice de condition relative Kn respectivement. Au final, la masse, l'âge, le Kn, la concentration de protéines et les différents contaminants inorganiques mesurés dans le foie et dans le muscle ont donc été considérés comme des facteurs indépendants pouvant influencer les activités des enzymes de chaque tissu, ou du moins contribuer à expliquer une partie des variations observées. Il est à préciser que les teneurs en protéines et en contaminants du foie n'ont pas été retenues comme variables explicatives potentielles des activités des enzymes du muscle, et vice versa : peu d'évidences montrent qu'il pourrait y avoir des influences inter-tissulaires. Cela permet donc aussi d'éviter les corrélations fortuites qui auraient pu en résulter et, surtout, de ne pas alourdir les modèles finaux.

## 2.5 Analyse des résultats et tests statistiques utilisés

Les analyses de comparaisons intersites et inter-années d'activités enzymatiques et de concentration en protéines ont été effectuées à l'aide du logiciel JMP®, version 9.0.0. Pour toutes ces comparaisons, une analyse de variance a été effectuée (ANOVA) et la significativité des différences a été établie à l'aide du test HSD (*honestly significant difference*) de Tukey-Kramer. Ce test conservateur face à des échantillons de tailles différentes a aussi été privilégié car certains échantillons ne suivaient pas de distribution normale et l'homogénéité des variances n'était pas toujours présente lorsque les comparaisons intersites étaient effectuées. Le seuil d'acceptabilité de l'erreur  $\alpha$  a été posé à 5 % ( $p < 0,05$ ).

Pour ce qui est des analyses concernant l'influence des différents contaminants inorganiques sur les activités enzymatiques, les régressions multiples ont été réalisées avec le logiciel XLSTAT Version 2013.04.05, de Addinsoft™. Toutes les données utilisées pour faire les régressions multiples proviennent de valeurs transformées en  $\log_{10}$ . Le seuil d'acceptabilité de l'erreur a été posé à 5% ( $p < 0,05$ ) pour les modèles élaborés, et à 10% ( $p < 0,10$ ) pour chaque variable explicative retenue dans chaque modèle. La décision de poser le seuil à 10% pour les variables explicatives a été motivée par la crainte raisonnable d'éliminer des variables qui deviendraient significatives par l'ajout de nouvelles variables, ou avec un jeu de données plus conséquent. Ainsi, pour s'assurer que les variables retenues dans le modèle avaient un lien potentiel avec les variations d'activité enzymatique observées, la méthode rétrograde (*backward selection*) de régression « pas à pas » (*stepwise regression*) a été utilisée (Scherrer 2009). Celle-ci consiste à faire la régression avec toutes les variables, puis à enlever une à une les variables qui sont non significatives. Cette méthode a l'avantage de ne pas retenir les variables qui n'auraient aucun effet, même si elle peut parfois écarter certaines variables qui pourraient devenir significatives lorsque groupées différemment. Néanmoins, plusieurs tests réalisés ont montré que nous arrivions toujours au même résultat lorsque le nombre d'observations de départ est le même ou très peu variable, ce qui était le cas pour chaque modèle.

À noter aussi que le Hg n'a pu être utilisé comme variable explicative dans les régressions multiples réalisées pour le foie. En effet, la quantité de foie disponible a été insuffisante pour effectuer les dosages avec l'analyseur de Hg pour un nombre important d'individus des deux espèces (presque la moitié pour chaque espèce, avec un nombre variable selon le site de capture).

Conséquemment, des résultats très différents étaient obtenus selon que l'on incluait ou non le Hg dans les analyses, ce qui semblait traduire une incertitude trop importante quant aux conclusions qui auraient pu en être tirées.

Néanmoins, vu l'importance de ce contaminant dans les systèmes étudiés, les résultats incluant le Hg ont aussi été évalués. Avec les données disponibles, il semble que le Hg pourrait influencer la G6PDH et le Kn chez *A. rostrata*, puis la LDH et à nouveau le Kn chez *A. anguilla*. Toutefois, hormis pour le Kn de l'anguille d'Amérique, les associations de contaminants obtenues dans les modèles sont très différentes de ce qui est obtenu avec toutes les données disponibles. En conséquence, il semble très risqué d'aller plus loin dans l'interprétation qui pourrait être tirée de ces résultats : c'est pourquoi ceux-ci ne seront pas présentés dans cette étude.

## 3 RÉSULTATS

### 3.1 Quantification de protéines et activités enzymatiques

#### 3.1.1 Foie et muscle de l'Anguille d'Amérique

Les résultats obtenus pour la quantification de protéines et la mesure d'activités enzymatiques dans le foie et le muscle montrent des différences importantes (et très souvent significatives) selon le site de capture et l'année d'échantillonnage, et ce tant pour *A. rostrata* que pour *A. anguilla*. Pour ce qui est du dosage des protéines dans le foie des anguilles d'Amérique tout d'abord (tableau 3.1), on voit que si en 2011 on retrouvait la plus forte concentration chez les individus du site LSF, en 2012 c'est plutôt du côté de RSO qu'on retrouve le plus de protéines. Principalement, les différences significatives entre les concentrations de protéines mesurées d'une année sur l'autre pour les individus des sites RSO et LSP semblent expliquer le fait qu'on observe des différences intersites en 2011, et qu'il n'y en ait pas en 2012. Ensuite, pour la PK, la CS et la LDH, on n'observe aucune différence intersites, et ce pour chaque année. Toutefois, les activités enzymatiques de la PK sont systématiquement plus élevées pour tous les sites en 2011 comparativement à 2012.

Pour ce qui est de la G6PDH, le foie des anguilles du site LSF présente les activités enzymatiques les plus élevées pour chaque année. Néanmoins, si en 2011 le site présentant l'activité la plus faible était le site LSP (trois fois plus faible que le site LSF), en 2012 c'est plutôt le site de RSJ qui a montré les valeurs les plus basses (deux fois et demi plus bas que le site LSF). Malgré tout, même si on n'observe pas de différences significatives entre 2011 et 2012 pour les sites RSJ et RSO, le site LSP montre une activité presque deux fois plus élevée en 2012 comparé à 2011, et donc significativement différente.

Du côté du muscle des anguilles d'Amérique, on n'observe pas de différences significatives entre les concentrations de protéines relevées pour les sites, et ce tant en 2011 qu'en 2012. Ceci semble être dû à la grande variabilité interindividuelle, d'où les écart-types importants peu importe le site considéré. Toutefois, les concentrations sont plus faibles en 2011 pour les sites de RSO, LSP et LSF. Pour ce qui est de la PK, on observe une différence interannuelle significative pour le site RSO. Conséquemment, même si ce site présente la valeur d'activité la plus élevée en 2011, c'est

plutôt le site LSF qui manifeste l'activité la plus forte en 2012. L'activité la plus faible revient au site de RSJ pour les deux années.

Par ailleurs, la CS et la CCO musculaires présentent des patrons d'activités intersites similaires, et ce pour les deux années d'échantillonnage : l'activité est toujours beaucoup plus élevée pour les anguilles du site RSO. On n'observe donc aussi aucune différence interannuelle pour tous les sites. Enfin, la LDH ne montre ni des différences intersites, ni des différences interannuelles significatives, même s'il est à noter que les moyennes sont parfois très dissemblables. Par exemple, l'activité moyenne la plus élevée en 2011 est de  $208,4 \pm 66,4 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  (LSF), comparativement à  $151,8 \pm 52,6 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  (LSP) pour l'activité la plus faible. En effet, les écarts-types sont très grands, et s'expliquent par des différences interindividuelles très importantes au sein de chaque site d'échantillonnage. D'ailleurs, il est intéressant de noter que l'on observe cette variabilité en parallèle de celle relevée pour la concentration en protéines.

### **3.1.2 Foie et muscle de l'anguille d'Europe**

Dans le foie des anguilles d'Europe (tableau 3.2) on n'observe aucune différence intersites en 2011 pour la concentration moyenne de protéines, mais le portrait est différent en 2012 : la Dordogne et la Gironde montrent des concentrations en protéines significativement plus élevées que les deux autres sites. Pour ce qui est de la PK, le site de la Gironde montre l'activité enzymatique la plus élevée pour les deux années d'échantillonnage. Néanmoins, des différences significatives interannuelles pour les trois autres sites font que les anguilles de Gironde sont suivies en 2011 par celles des sites de Certes, de la Garonne, puis de la Dordogne, tandis qu'en 2012 elles sont plutôt suivies par celles de la Dordogne, de la Garonne et enfin de Certes. En ce qui a trait à la CS, on remarque que tous les sites ont des activités plus faibles en 2011 comparé à 2012, dont trois de manière significative : il y a une différence d'activité de 20% pour le site de Certes, de 29% pour la Gironde et de 50% pour la Garonne. Pour le site de la Dordogne, la différence interannuelle plus faible de 14% qui est observée fait en sorte que ce site (de même que celui de Certes) affiche des activités significativement plus élevées que la Garonne en 2011.

La G6PDH est l'enzyme qui montre les activités les plus variables d'un site à l'autre, et d'une année sur l'autre. De façon surprenante, si le foie des anguilles du site de Certes montre l'activité la plus élevée en 2011, il affiche l'activité la plus faible en 2012. À l'inverse, le site de la Gironde

montre l'activité la plus faible en 2011, mais de loin l'activité la plus forte en 2012. Les sites de la Dordogne et de la Garonne montrent quant à eux des activités enzymatiques intermédiaires par rapport aux deux autres sites, quoique plus faibles en 2011. Enfin, pour la LDH on observe des activités enzymatiques assez similaires en 2011, mais des valeurs plus faibles en 2012 pour les sites de Certes, de la Gironde et de la Garonne. Conséquemment, le site de la Dordogne affiche une activité significativement plus élevée que les trois autres sites en 2012.

En parallèle, comme observé pour la concentration en protéines, il est pertinent de noter que les quatre enzymes testées montrent des différences interannuelles pour les sites de Certes et de Garonne, sauf pour la G6PDH chez les anguilles de Garonne. De plus, les variations interannuelles de ces deux sites montrent que comparativement à 2011, les activités enzymatiques de 2012 sont systématiquement plus faibles pour la PK et la LDH, et plus fortes pour la CS. Autrement, pour la G6PDH l'activité est significativement plus forte en 2011 qu'en 2012 pour le site de Certes, mais pour le site de Garonne l'activité est plutôt légèrement plus faible en 2011 qu'en 2012.

La concentration en protéines dans le muscle des anguilles d'Europe ne montre pas de différences significatives entre les sites, mais une grande variabilité intra-site explique ce résultat, comme pour l'anguille d'Amérique. En effet, à titre d'exemple il existe tout de même une différence d'environ  $36 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  entre les moyennes des sites de Certes et de Gironde en 2011. Lorsque l'on regarde la PK, même si on n'observe ni différences significatives intersites en 2011, ni différences significatives interannuelles, de légères variations à la baisse en 2012 pour le site de la Gironde et à la hausse pour la Garonne font en sorte que l'on obtient une différence d'activité enzymatique significative entre ces deux sites.

En ce qui concerne la CS, on observe comme pour le foie des activités enzymatiques plus faibles pour tous les sites en 2011, et aucune différence intersites en 2012. Conséquemment, on obtient un tableau assez similaire, soit que les anguilles des sites contaminés de la Gironde et de la Garonne montrent des activités enzymatiques significativement plus faibles en 2011 qu'en 2012, et que ceux-ci ont des activités significativement plus faibles que les sites propres de Certes et de la Dordogne en 2011. Pour la CCO maintenant, le tableau est très similaire à celui de la CS. En effet, les activités enzymatiques les plus élevées sont généralement associées aux sites propres : en 2011 les sites de Certes et de Dordogne affichent des activités significativement plus fortes



que la Gironde, puis la Garonne démontre une valeur intermédiaire, tandis qu'en 2012 le site de la Dordogne exprime une activité significativement plus élevée que la Gironde, et les sites de Certes et la Garonne affichent des activités intermédiaires. Finalement, comme pour les concentrations de protéines, et comme ce qui est relevé chez l'anguille d'Amérique, on remarque que la LDH ne manifeste pas de différences d'activités significatives intersites et interannuelles, mais que de très grandes variations intra-sites sont observables. Entre autres, on peut voir une différence moyenne de plus de  $38 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  entre les sites de Certes et de Gironde en 2012, sans toutefois obtenir de différence significative entre ces sites. À noter que ces résultats ont été obtenus en présence de contrôles et lors de différentes journées d'essais enzymatiques, comme mentionné dans la section 2.4.4, et qu'il a donc été possible de constater qu'il existait réellement une telle variabilité intra-site.

Tableau 3.1 : Concentrations moyennes de protéines ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1} \pm \text{écart-type}$ ) et activités enzymatiques ( $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1} \pm \text{écart-type}$ ) pour *A. rostrata* selon le site de capture et l'année d'échantillonnage. Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'échantillons par site. Les lettres (A ou B) indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer) entre les moyennes d'une même année. Une moyenne de 2011 soulignée indique une différence significative ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer) avec la moyenne de 2012 pour le même site.

Tissu	Mesure	2011				2012			
		RSJ	RSO	LSP	LSF	RSJ	RSO	LSP	LSF
Foie	Protéines	99,7 ± 14,3 <sup>AB</sup> (14)	<u>94,0 ± 15,3<sup>AB</sup></u> (13)	<u>87,9 ± 16,7<sup>B</sup></u> (15)	106,8 ± 13,3 <sup>A</sup> (15)	108,8 ± 22,5 (15)	115,2 ± 27,6 (15)	108,6 ± 23,5 (15)	105,1 ± 22,8 (15)
	PK	<u>1,3 ± 0,4</u> (14)	<u>1,2 ± 0,2</u> (12)	<u>1,3 ± 0,4</u> (13)	<u>1,4 ± 0,2</u> (15)	1,0 ± 0,3 (14)	1,0 ± 0,2 (15)	1,1 ± 0,3 (15)	1,1 ± 0,4 (15)
	CS	4,6 ± 0,7 (9)	4,5 ± 0,9 (8)	4,0 ± 1,0 (10)	4,7 ± 1,0 (10)	4,6 ± 1,0 (15)	4,6 ± 1,3 (15)	4,2 ± 0,9 (15)	4,0 ± 1,3 (15)
	G6PDH	5,6 ± 3,5 <sup>B</sup> (13)	6,0 ± 4,2 <sup>B</sup> (12)	<u>4,2 ± 2,6<sup>B</sup></u> (11)	12,8 ± 3,6 <sup>A</sup> (15)	4,0 ± 2,6 <sup>B</sup> (14)	8,8 ± 5,6 <sup>A</sup> (15)	7,7 ± 3,2 <sup>AB</sup> (15)	10,8 ± 3,8 <sup>A</sup> (15)
	LDH	2,0 ± 1,2 (14)	1,8 ± 0,2 (12)	2,2 ± 0,7 (15)	2,1 ± 0,3 (15)	1,9 ± 0,5 (15)	2,1 ± 0,4 (15)	2,1 ± 0,5 (15)	2,3 ± 0,5 (15)
Muscle	Protéines	132,1 ± 25,1 (15)	<u>129,5 ± 22,7</u> (15)	<u>112,8 ± 25,4</u> (15)	<u>120,5 ± 24,8</u> (15)	144,8 ± 28,4 (10)	156,4 ± 31,1 (10)	143,8 ± 41,4 (10)	150,7 ± 46,4 (10)
	PK	111,1 ± 20,4 <sup>B</sup> (5)	<u>156,9 ± 17,4<sup>A</sup></u> (5)	119,0 ± 27,8 <sup>AB</sup> (5)	126,7 ± 21,1 <sup>AB</sup> (5)	90,5 ± 20,4 <sup>B</sup> (10)	127,6 ± 22,3 <sup>A</sup> (10)	115,5 ± 22,8 <sup>AB</sup> (10)	130,1 ± 22,1 <sup>A</sup> (10)
	CS	1,1 ± 0,2 <sup>B</sup> (15)	1,8 ± 0,4 <sup>A</sup> (13)	1,0 ± 0,3 <sup>B</sup> (10)	0,9 ± 0,2 <sup>B</sup> (10)	1,3 ± 0,6 <sup>AB</sup> (10)	1,8 ± 0,7 <sup>A</sup> (10)	1,0 ± 0,2 <sup>B</sup> (10)	1,1 ± 0,1 <sup>B</sup> (10)
	CCO	1,8 ± 0,4 <sup>B</sup> (10)	3,6 ± 1,3 <sup>A</sup> (10)	1,3 ± 0,2 <sup>B</sup> (10)	1,2 ± 0,3 <sup>B</sup> (10)	2,0 ± 1,0 <sup>B</sup> (10)	4,0 ± 1,7 <sup>A</sup> (10)	1,5 ± 0,4 <sup>B</sup> (10)	1,4 ± 0,4 <sup>B</sup> (10)
	LDH	198,2 ± 58,4 (10)	196,6 ± 39,6 (10)	151,8 ± 52,6 (9)	208,4 ± 66,4 (10)	161,8 ± 49,0 (10)	165,0 ± 52,0 (10)	189,0 ± 56,5 (10)	195,2 ± 50,5 (10)

**Tableau 3.2 :** Concentrations moyennes de protéines ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1} \pm \text{écart-type}$ ) et activités enzymatiques ( $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1} \pm \text{écart-type}$ ) pour *A. anguilla* selon le site de capture et l'année d'échantillonnage. Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'échantillons par site. Les lettres (A ou B) indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer) entre les moyennes d'une même année. Une moyenne de 2011 soulignée indique une différence significative ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer) avec la moyenne de 2012 pour le même site.

Tissu	Mesure	2011				2012			
		Certes	Dordogne	Gironde	Garonne	Certes	Dordogne	Gironde	Garonne
<i>Foie</i>	Protéines	<u>131,5 ± 19,7</u> (15)	120,7 ± 17,3 (14)	127,7 ± 16,7 (15)	<u>120,5 ± 15,6</u> (15)	99,7 ± 11,3 <sup>B</sup> (10)	121,2 ± 14,9 <sup>A</sup> (10)	120,2 ± 20,2 <sup>A</sup> (10)	91,9 ± 19,0 <sup>B</sup> (10)
	PK	<u>1,3 ± 0,2<sup>AB</sup></u> (14)	<u>1,2 ± 0,2<sup>B</sup></u> (14)	1,4 ± 0,2 <sup>A</sup> (15)	<u>1,3 ± 0,3<sup>AB</sup></u> (14)	0,9 ± 0,2 <sup>B</sup> (10)	1,5 ± 0,2 <sup>A</sup> (10)	1,3 ± 0,2 <sup>A</sup> (10)	1,0 ± 0,2 <sup>B</sup> (10)
	CS	<u>3,8 ± 0,9<sup>A</sup></u> (15)	4,3 ± 1,4 <sup>A</sup> (14)	<u>3,5 ± 0,8<sup>AB</sup></u> (15)	<u>2,8 ± 0,7<sup>B</sup></u> (15)	4,8 ± 0,8 (10)	5,0 ± 0,7 (10)	4,9 ± 1,0 (10)	5,6 ± 0,8 (10)
	G6PDH	<u>8,8 ± 3,5<sup>A</sup></u> (15)	4,9 ± 3,9 <sup>B</sup> (10)	<u>4,4 ± 2,9<sup>B</sup></u> (10)	5,4 ± 3,4 <sup>AB</sup> (9)	4,7 ± 1,5 <sup>B</sup> (10)	5,7 ± 2,8 <sup>B</sup> (7)	13,8 ± 4,7 <sup>A</sup> (10)	6,5 ± 2,6 <sup>B</sup> (9)
	LDH	<u>2,8 ± 0,6</u> (14)	2,3 ± 0,6 (14)	2,3 ± 0,6 (15)	<u>2,4 ± 0,4</u> (14)	1,7 ± 0,4 <sup>B</sup> (10)	2,7 ± 0,4 <sup>A</sup> (10)	1,9 ± 0,3 <sup>B</sup> (10)	1,8 ± 0,5 <sup>B</sup> (10)
<i>Muscle</i>	Protéines	149,9 ± 30,3 (10)	144,9 ± 31,1 (10)	113,2 ± 33,7 (10)	139,7 ± 37,0 (10)	156,4 ± 31,3 (10)	134,4 ± 32,4 (10)	142,9 ± 44,1 (10)	162,4 ± 35,8 (10)
	PK	74,7 ± 12,7 (8)	86,8 ± 21,2 (9)	77,4 ± 23,4 (6)	87,0 ± 28,6 (8)	82,5 ± 11,9 <sup>AB</sup> (10)	86,0 ± 15,6 <sup>AB</sup> (10)	70,0 ± 11,7 <sup>B</sup> (10)	94,2 ± 17,5 <sup>A</sup> (10)
	CS	1,2 ± 0,3 <sup>A</sup> (10)	1,1 ± 0,3 <sup>A</sup> (10)	<u>0,8 ± 0,1<sup>B</sup></u> (10)	<u>0,8 ± 0,1<sup>B</sup></u> (10)	1,3 ± 0,3 (10)	1,4 ± 0,4 (10)	1,1 ± 0,3 (10)	1,2 ± 0,4 (10)
	CCO	1,6 ± 0,4 <sup>A</sup> (10)	1,8 ± 0,4 <sup>A</sup> (10)	<u>1,0 ± 0,2<sup>B</sup></u> (9)	1,4 ± 0,4 <sup>AB</sup> (10)	1,8 ± 0,4 <sup>AB</sup> (10)	2,4 ± 0,8 <sup>A</sup> (10)	1,5 ± 0,5 <sup>B</sup> (10)	1,9 ± 0,6 <sup>AB</sup> (10)
	LDH	171,1 ± 47,5 (10)	140,9 ± 48,0 (10)	157,0 ± 28,1 (10)	185,4 ± 60,6 (10)	191,4 ± 57,9 (10)	172,6 ± 55,5 (10)	154,1 ± 53,3 (10)	157,9 ± 32,2 (10)

## 3.2 Régressions multiples

Les résultats présentés dans cette section sont principalement les  $R^2$  de chaque modèle et les corrélations obtenues entre les différentes variables explicatives retenues et les variables dépendantes à la base de chaque modèle (activités enzymatiques, masse, âge, Kn, protéines). Néanmoins, l'annexe IV présente les équations complètes obtenues pour tous les modèles.

### 3.2.1 Foie et muscle de l'Anguille d'Amérique

Pour le foie d'anguille d'Amérique tout d'abord (tableau 3.3), les résultats montrent qu'il y a des différences assez importantes entre le nombre et les associations de contaminants qui semblent influencer les activités enzymatiques, la quantité de protéines et le Kn des poissons, de même que pour le degré de cette influence. En effet, on peut voir que si le modèle obtenu pour la G6PDH montre un  $R^2$  ajusté de 0,359, avec les protéines, l'Ag, le Pb et le Ni comme variables explicatives, on observe plutôt un  $R^2$  ajusté aussi faible que 0,084 dans le modèle obtenu pour les protéines, avec l'âge comme seule variable explicative. D'autre part, même si les activités de la CS et de la LDH montrent une forte similitude pour leurs liens avec la teneur en protéines, on voit ensuite que des variables différentes semblent jouer sur ces deux enzymes : pour la CS on note une corrélation positive avec le Pb, tandis que pour la LDH on retrouve plutôt l'âge et le Ni, avec des corrélations du même ordre mais inverses. De la même manière, les variations de la PK et du Kn sont toutes deux être liées à l'Ag, mais aussi à des contaminants qui n'ont pas été retenus dans les autres modèles : pour l'activité de la PK on note une forte corrélation positive avec le Zn, et du côté du Kn on retrouve plutôt des corrélations significatives avec le Cd, l'As et le Se.

Au niveau du muscle d'*A. rostrata* (tableau 3.4), la première chose qui frappe est le nombre restreint de contaminants semblant influencer les enzymes, la teneur en protéines et le Kn (cinq : Cd, Cu, Ag, Ni et Hg). De plus, les protéines semblent associées à la variation d'activité de toutes les enzymes (puis la seule variable explicative pour la LDH), et le Hg quant à lui en influencerait trois, soit la CCO, la CS et la PK, cette dernière y étant fortement corrélée positivement. Par ailleurs, la CS et la CCO étant des enzymes très fortement corrélées entre elles ( $R^2$  ajusté = 0,70,  $p < 0,0001$ , données non incluses ici) et associées à des différences d'activité intersites très

similaires (tableau 3.1), il est intéressant de noter ici aussi que les modèles obtenus pour ces deux enzymes montrent les mêmes variables, soit la masse, les protéines et le Hg. De plus, il est à souligner que si ces variables expliquent une grande part de la variabilité observable pour la CS et la CCO, une large part de celle-ci est associée négativement à la masse puis dans une moindre mesure de façon positive à la quantité de protéines. Autre observation intéressante, la variation du Kn est associée à six des huit facteurs qui semblent influencer une ou l'autre des variables dépendantes (les protéines et le Cd étant les seules variables explicatives non retenues dans le modèle). Finalement, il est peut-être à souligner que le Cd est seulement retrouvé dans le modèle expliquant la variation de la teneur en protéines.

### **3.2.2 Foie et muscle de l'Anguille d'Europe**

Du côté du foie de l'anguille d'Europe (tableau 3.5), on retrouve un contraste frappant pour le nombre de variables explicatives retenues dans certains modèles de même que pour le degré d'explication de la variabilité observée, et ce, de façon encore plus marquante que pour l'anguille d'Amérique. En effet, si le modèle obtenu pour la LDH montre un  $R^2$  ajusté aussi élevé que 0,557, et inclue toutes les variables explicatives étudiées sauf le Kn, le Pb, l'As et le Cr, on observe plutôt des  $R^2$  ajustés aussi faibles que 0,090 et 0,102 dans les modèles obtenus pour la G6PDH et le Kn respectivement, avec le Kn comme unique variable explicative de l'activité de la G6PDH, puis le Cd et le Se comme seules variables explicatives des différences de Kn relevées pour les anguilles d'Europe. Par ailleurs, si on peut toutefois déjà noter que la teneur en protéines montre une corrélation positive très forte avec la LDH, des similitudes étonnantes apparaissent entre le modèle obtenu pour cette enzyme et celui obtenu pour les protéines : le Cd, le Cu, le Zn, l'Ag et le Se sont présents, avec des niveaux de corrélation très semblables pour plusieurs contaminants des deux modèles, même si le Ni semble aussi influencer fortement l'activité de la LDH, comme le Pb semble le faire d'ailleurs sur la concentration en protéines. Enfin, il est intéressant de noter que pour les modèles de la PK et de la CS on obtient des  $R^2$  ajustés très semblables, mais que ceux-ci ont retenu entre autres deux mêmes variables explicatives qui donnent des corrélations inverses : la teneur en protéines et le Pb montrent de fortes corrélations positives avec la PK, mais pour la CS on observe plutôt une faible corrélation négative avec les protéines d'une part puis une forte corrélation négative avec le Pb d'autre part. Par ailleurs, il est

bon de mentionner aussi la présence d'une corrélation positive non négligeable entre la PK et le Se, et une corrélation positive du même ordre entre la CS et l'Ag.

Pour ce qui est enfin du muscle d'*A. anguilla* (tableau 3.6), on observe un scénario tout de même assez différent : hormis l'âge, toutes les variables explicatives (donc tous les contaminants) ont été retenues pour expliquer la variation d'une ou l'autre des variables dépendantes étudiées. De plus, hormis pour le modèle de la LDH où deux seules variables ont été retenues, les autres modèles incluent plus de trois variables explicatives, et jusqu'à six variables pour la CCO, avec un  $R^2$  ajusté de 0,285 (masse, protéines, Zn, Pb, Ni et Se). Autre phénomène intéressant, même si l'on retrouve à la fois un (des) contaminant(s) puis soit les protéines ou le Kn pour expliquer la variation d'une enzyme, ce(s) même(s) contaminant(s) ne se retrouve(nt) pas nécessairement dans le modèle obtenu ensuite pour expliquer la variation de la teneur en protéines ou du Kn. À titre d'exemple, même si les variations d'activité de la PK semblent associées au Kn en même temps que les protéines, le Cu, l'As et le Cr, on retrouve plutôt la masse, le Cd, le Pb, et le Hg dans le modèle obtenu pour le Kn. Autre exemple, même si la concentration en protéines est retenue avec la masse, le Zn, le Pb, le Ni et le Se dans le modèle de la CCO, on retrouve plutôt le Cu, l'As et le Hg comme variables explicatives dans le modèle illustrant la variation en protéines. Ces résultats montrent bien la pertinence d'avoir mesuré l'influence potentielle des contaminants sur le Kn et la teneur en protéines, et non seulement sur les activités des enzymes. Enfin, dernière chose observable, même si l'activité de la CS est fortement corrélée à la CCO ( $R^2$  ajusté = 0,51,  $p < 0,0001$ , données non incluses ici) comme pour les anguilles d'Amérique, le modèle obtenu montre que celle-ci est moins bien expliquée par les variables étudiées, même si le Zn et le Se sont aussi retenus, et même si le Se affiche une influence contraire (quoique faible) à celle observée avec la CCO.

**Tableau 3.3 :** Régressions multiples incluant les activités enzymatiques et les contaminants du foie chez *A. rostrata*. Seules les variables explicatives ayant été retenues pour l'explication de l'une ou l'autre des variables dépendantes testées ont été incluses dans la liste du tableau. Toutes les données utilisées ont été transformées en  $\log_{10}$ . Le symbole / indique que la variable explicative concernée n'a pas été retenue dans le modèle. Les coefficients de corrélation sont accompagnés des *p* valeurs correspondantes (entre parenthèses).

	Variables dépendantes					
	PK	CS	G6PDH	LDH	Protéines	Kn
Nombre d'observations	108	92	105	110	112	112
R <sup>2</sup> ajusté du modèle	0,213	0,194	0,359	0,364	0,084	0,295
<i>p</i> valeur du modèle	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,001	< 0,0001
Variables explicatives et coefficients de corrélation :						
<i>Masse</i>	/	/	/	+ 0,201 (0,002)	/	/
<i>Âge</i>	/	/	/	/	- 0,303 (0,001)	/
<i>Protéines</i>	/	+ 0,432 (< 0,0001)	+ 0,237 (0,0002)	+ 0,484 (< 0,0001)	/	/
<i>Cd</i>	/	/	/	/	/	- 0,351 (0,0001)
<i>Zn</i>	+ 0,392 (< 0,0001)	/	/	/	/	/
<i>Ag</i>	- 0,213 (0,002)	/	- 0,482 (< 0,0001)	/	/	- 0,163 (0,042)
<i>As</i>	/	/	/	/	/	+ 0,303 (< 0,0001)
<i>Pb</i>	/	+ 0,172 (0,097)	- 0,374 (0,032)	/	/	/
<i>Ni</i>	/	/	- 0,209 (0,074)	- 0,242 (0,009)	/	/
<i>Se</i>	/	/	/	/	/	+ 0,156 (0,0008)

**Tableau 3.4 :** Régressions multiples incluant les activités enzymatiques et les contaminants du muscle chez *A. rostrata*. Seules les variables explicatives ayant été retenues pour l'explication de l'une ou l'autre des variables dépendantes testées ont été incluses dans la liste du tableau. Toutes les données utilisées ont été transformées en  $\log_{10}$ . Le symbole / indique que la variable explicative concernée n'a pas été retenue dans le modèle. Les coefficients de corrélation sont accompagnés des  $p$  valeurs correspondantes (entre parenthèses).

	Variables dépendantes					
	PK	CS	CCO	LDH	Protéines	Kn
Nombre d'observations	59	85	78	79	98	116
R <sup>2</sup> ajusté du modèle	0,461	0,542	0,787	0,162	0,081	0,242
$p$ valeur du modèle	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0001	0,012	< 0,0001
Variables explicatives et coefficients de corrélation :						
<i>Masse</i>	/	- 0,694 (< 0,0001)	- 0,857 (< 0,0001)	/	/	+ 0,277 (< 0,0001)
<i>Âge</i>	/	/	/	/	- 0,212 (0,011)	- 0,048 (0,025)
<i>Protéines</i>	+ 0,385 (< 0,0001)	+ 0,223 (0,109)	+ 0,290 (0,006)	+ 0,416 (0,0001)	/	/
<i>Cd</i>	/	/	/	/	+ 0,186 (0,035)	/
<i>Cu</i>	+ 0,057 (0,013)	/	/	/	+ 0,139 (0,077)	- 0,020 (0,094)
<i>Ag</i>	- 0,126 (0,043)	/	/	/	/	+ 0,134 (0,025)
<i>Ni</i>	/	/	/	/	/	- 0,253 (0,005)
<i>Hg</i>	+ 0,463 (< 0,0001)	- 0,043 (0,01)	- 0,183 (0,0002)	/	/	- 0,119 (0,008)



**Tableau 3.5 :** Régressions multiples incluant les activités enzymatiques et les contaminants du foie chez *A. anguilla*. Seules les variables explicatives ayant été retenues pour l'explication de l'une ou l'autre des variables dépendantes testées ont été incluses dans la liste du tableau. Toutes les données utilisées ont été transformées en  $\log_{10}$ . Le symbole / indique que la variable explicative concernée n'a pas été retenue dans le modèle. Les coefficients de corrélation sont accompagnés des  $p$  valeurs correspondantes (entre parenthèses).

	Variables dépendantes					
	PK	CS	G6PDH	LDH	Protéines	Kn
Nombre d'observations	95	97	79	95	97	115
R <sup>2</sup> ajusté du modèle	0,328	0,323	0,090	0,557	0,327	0,102
$p$ valeur du modèle	< 0,0001	< 0,0001	0,004	< 0,0001	< 0,0001	0,0009
Variables explicatives et coefficients de corrélation :						
<i>Masse</i>	/	/	/	- 0,081 (0,067)	/	/
<i>Âge</i>	+ 0,123 (0,024)	/	/	+ 0,023 (0,002)	/	/
<i>Protéines</i>	+ 0,499 (< 0,0001)	- 0,062 (0,019)	/	+ 0,572 (0,0001)	/	/
<i>Kn</i>	/	/	+ 0,319 (0,004)	/	/	/
<i>Cd</i>	/	- 0,084 (0,025)	/	+ 0,020 (0,005)	+ 0,101 (0,010)	- 0,241 (0,0002)
<i>Cu</i>	/	/	/	+ 0,277 (0,007)	+ 0,249 (0,020)	/
<i>Zn</i>	/	/	/	+ 0,381 (0,028)	+ 0,359 (0,031)	/
<i>Ag</i>	/	+ 0,126 (0,014)	/	- 0,103 (0,002)	- 0,110 (< 0,0001)	/
<i>Pb</i>	+ 0,415 (0,004)	- 0,470 (< 0,0001)	/	/	+ 0,376 (0,037)	/
<i>Ni</i>	/	/	/	+ 0,367 (0,0003)	/	/
<i>Se</i>	+ 0,115 (0,052)	/	/	- 0,021 (0,0001)	+ 0,098 (0,002)	+ 0,035 (0,007)

**Tableau 3.6 :** Régressions multiples incluant les activités enzymatiques et les contaminants du muscle chez *A. anguilla*. Seules les variables explicatives ayant été retenues pour l'explication de l'une ou l'autre des variables dépendantes testées ont été incluses dans la liste du tableau. Toutes les données utilisées ont été transformées en  $\log_{10}$ . Le symbole / indique que la variable explicative concernée n'a pas été retenue dans le modèle. Les coefficients de corrélation sont accompagnés des  $p$  valeurs correspondantes (entre parenthèses).

	Variables dépendantes					
	PK	CS	CCO	LDH	Protéines	Kn
Nombre d'observations	71	80	79	80	80	120
R <sup>2</sup> ajusté du modèle	0,224	0,135	0,285	0,121	0,180	0,135
$p$ valeur du modèle	0,001	0,003	< 0,0001	0,003	0,0004	0,0004
Variables explicatives et coefficients de corrélation :						
<i>Masse</i>	/	- 0,315 (0,006)	- 0,384 (0,001)	/	/	+ 0,159 (0,014)
<i>Protéines</i>	+ 0,340 (0,005)	/	+ 0,248 (0,008)	/	/	/
<i>Kn</i>	+ 0,133 (0,107)	/	/	/	/	/
<i>Cd</i>	/	/	/	/	/	+ 0,038 (0,056)
<i>Cu</i>	+ 0,189 (0,046)	/	/	/	+ 0,222 (0,005)	/
<i>Zn</i>	/	+ 0,240 (0,036)	+ 0,305 (0,005)	/	/	/
<i>Ag</i>	/	/	/	- 0,101 (0,084)	/	/
<i>As</i>	- 0,236 (0,007)	/	/	/	+ 0,028 (0,040)	/
<i>Pb</i>	/	/	+ 0,130 (0,035)	/	/	- 0,156 (0,059)
<i>Cr</i>	- 0,136 (0,032)	/	/	/	/	/
<i>Ni</i>	/	/	- 0,066 (0,009)	/	/	/
<i>Se</i>	/	- 0,054 (0,060)	+ 0,029 (0,088)	- 0,330 (0,001)	/	/
<i>Hg</i>	/	/	/	/	- 0,317 (0,0002)	- 0,268 (0,0001)



## 4 DISCUSSION

Les prochaines sections discuteront des résultats obtenus dans la présente étude. Toutefois, une première partie (section 4.1) portera sur les concentrations de contaminants inorganiques retrouvées chez les anguilles avec une vue historique de la problématique, puis à la toute fin (sous-section 4.2.6), un survol des résultats de la puce à ADN développées en France sera effectué, ceci afin de bien situer les résultats de cette étude dans le contexte plus large du projet IMMORTEEL.

### 4.1 Concentrations des contaminants inorganiques retrouvées chez les anguilles

#### 4.1.1 Comparaisons avec les données disponibles

Les concentrations de plusieurs contaminants inorganiques observés dans l'eau et les sédiments des systèmes du Saint-Laurent et de Gironde-Garonne-Dordogne ont diminué considérablement depuis les dernières années (Durrieu *et al.*, 2005; Pelletier, 2008; Pelletier, 2010; Strady *et al.*, 2011; EC, 2013). Néanmoins, certains contaminants restent à un niveau particulièrement préoccupant, comme le Cd, le Hg, le Cu et l'Ag dans l'estuaire de la Gironde (Robert *et al.*, 2004; Larrose *et al.*, 2010; Lanceleur *et al.*, 2013), ou même en légère hausse, comme le Pb dans la région de Québec (Nolasco Araujo, 2013) et le Cr dans le lac Saint-François (Pelletier, 2010). C'est pourquoi on peut constater que les concentrations de certains contaminants chez différentes espèces demeurent toujours élevées, comme le Cd et le Cu chez les huîtres de la Gironde par exemple (IFREMER, 2012).

Lorsque l'on observe les données recueillies pour le foie, le muscle et le rein des deux espèces d'anguilles, on voit donc aussi une diminution plus ou moins grande de la concentration de certains contaminants lorsque l'on compare à ce qui a été observé par Hodson *et al.* (1992) il y a vingt ans pour l'anguille d'Amérique, et par Durrieu *et al.* (2005) il y a à peine sept ans pour l'Anguille d'Europe (tableau 4.1). Néanmoins, certains niveaux de contamination relevés dans les tissus étudiés restent aujourd'hui presque aussi élevés (*A. rostrata* : Cu et Hg dans le muscle; *A. anguilla* : Hg dans le muscle, et Cu, Zn et Hg dans le rein), ou même plus élevés (*A. rostrata* : Cr

et Hg dans le foie, et Cr dans le muscle; *A. anguilla* : Cd, Cu et Zn dans le muscle, puis Cd dans le rein).

**Tableau 4.1** Comparaison temporelle des niveaux de contamination du Cd, Cu, Cr, Zn et Hg mesurés dans le foie (ou viscères), le muscle ou le rein des deux espèces d'anguilles. Les (+), (-) et (=) signifient que les niveaux de 1990 ou 2005 semblent plus élevé, moins élevé ou sans changement comparé à 2012. Voir Hodson *et al.* 1992 et Durrieu *et al.* 2005. Pour notre étude, les poissons de tous les sites de chaque espèce sont inclus, avec n = 60, sauf foie *A. anguilla* 2012 en Cd, Cu, Cr, Zn (59), et Hg (35), foie *A. rostrata* 2012 en Hg (51), muscle *A. rostrata* 2012 en Hg (59), puis rein *A. anguilla* 2012 en Cd (59) et en Hg (57). Dans l'étude de Hodson *et al.* 1992, les poissons ont été capturés à Kamouraska, avec n = 8 pour chaque tissu. Dans l'étude de Durrieu *et al.* 2005, les anguilles ont été capturées dans la zone marine de l'estuaire de la Gironde, avec n = 81 pour le foie et le rein, et n = 10 pour le muscle.

Tissu	Année	Cd	Cu	Cr	Zn	Hg
<i>A. rostrata</i>	Viscères 1990	0,53	27	0,02	86	0,13
	Foie 2012	~ 0,15 (-)	~ 14 (-)	~ 0,28 (+)	~ 31 (-)	~ 0,19 (+)
	Muscle 1990	0,03	0,25	< 0,01	39	0,22
	Muscle 2012	~ 0,002 (-)	~ 0,17 (-)	~ 0,08 (+)	~ 15 (-)	~ 0,2 (=)
<i>A. anguilla</i>	Foie 2005	1,5	27	/	65	0,36
	Foie 2012	~ 0,43 (-)	~ 11 (-)	~ 0,33	~ 29 (-)	~ 0,09 (-)
	Muscle 2005	< 0,02	0,15	/	10,2	0,17
	Muscle 2012	~ 0,04 (+)	~ 0,19 (+)	~ 0,2	~ 16 (+)	~ 0,1 (-)
	Rein 2005	~ 9	~ 2,5	/	~ 62	~ 0,3
	Rein 2012	~ 13 (+)	~ 2,2 (=)	~ 0,23	~ 61 (=)	~ 0,3 (=)

Malgré des normes plus strictes et une diminution des rejets de certains contaminants dans les systèmes étudiés, il demeure donc assez clair que leur présence ne semble pas diminuer dans la même proportion, du moins selon les sites considérés. Plusieurs raisons peuvent expliquer cette situation. Comme mentionné précédemment, plusieurs contaminants ont été rejetés en quantités telles par le passé dans certains secteurs qu'ils demeurent toujours en concentrations conséquentes dans les sédiments. Le mode de vie benthique, la place dans la chaîne trophique, de même que la longévité des anguilles ne favoriseraient donc pas une limitation de l'exposition de

nombre d'entre elles à ces contaminants. D'autre part un phénomène pouvant expliquer en partie ce constat pourrait être la remobilisation continue des contaminants dans la colonne d'eau à partir de la couche de sédiments mous (*soft mud layer*) dans les zones de turbidité maximum (*maximum turbidity zone*, MTZ), tel qu'observé dans l'estuaire de la Gironde par Robert *et al.* (2004). Ce phénomène saisonnier, vraisemblablement plus fort lors des fortes marées du printemps, semble en effet redistribuer les contaminants dans des zones où ils seront ensuite stabilisés. Il est donc possible que certaines zones reçoivent des quantités plus importantes de contaminants, ce qui pourrait ensuite se refléter sur le niveau de contamination des anguilles qui y résident. Ceci ne serait pas en contradiction avec les données de contamination des sédiments disponibles pour certains tronçons de l'estuaire du Saint-Laurent (EC, 2013), dont le site LSF en particulier, et qui indiquent que des zones précises restent fortement contaminées en Hg et Zn, malgré une amélioration substantielle partout ailleurs dans cette partie du Saint-Laurent.

Malgré tout, une origine naturelle de certains contaminants n'est pas à exclure. Par exemple, toujours selon les données d'Environnement Canada (EC, 2013), les fortes concentrations de Cr, Cu et Ni observées le long de la rive sud du lac Saint-Pierre pourraient être dues à l'érosion d'argile postglaciaire constituant les berges de cette zone. De la même manière, les plus fortes concentrations de Zn observées dans le rein des anguilles provenant des sites RSJ et RSO, ou en Se chez celles retrouvées dans les sites de LSP et LSF, pourraient n'être alors que le reflet de la géologie locale. Enfin, les plus fortes concentrations en As observées chez les anguilles des sites propres de Certes, RSO et RSJ pourraient être liées à une plus forte exposition à l'eau salée que celles des autres sites (M. Baudrimont, Univ. Bordeaux I et CNRS France, comm. pers.). Néanmoins, seule une étude plus poussée sur l'origine des contaminants permettrait de donner des réponses plus précises.

Aussi, que les contaminants soient d'origine naturelle ou non, il est important de mentionner que les deux espèces d'anguilles ne font pas face aux mêmes enjeux quant à la nature et au nombre de contaminants présentant des niveaux problématiques : même si cela est un peu moins clair pour le muscle, on peut tout de même voir pour les trois tissus pour lesquels des contaminants ont été dosés dans notre étude que l'anguille d'Europe (provenant des sites considérés contaminés surtout) semble globalement exposée à des concentrations plus élevées pour un plus grand nombre de contaminants que l'anguille d'Amérique (annexes V a-e). Ceci est particulièrement frappant pour le Cd (foie et rein), mais on peut aussi le constater dans le rein selon le(s) site(s)

observé(s) pour le Cu (Dordogne), l'Ag (Gironde), le Pb (Gironde et Garonne) et le Se (Dordogne et Gironde).

Du même souffle, il serait aussi important de noter que le site de Dordogne s'est révélé plus contaminé que prévu surtout en 2011. Ceci serait vraisemblablement dû au site de pêche, soit en aval de la ville de Libourne. Des données de contamination d'invertébrés récoltés près du même endroit avaient permis de corroborer entre autres le fait qu'une pollution en Cd était aussi observable chez ces organismes (M. Baudrimont, Univ. Bordeaux I et CNRS France, comm. pers., 2011). Il était admis que ce site devait être considéré comme « intermédiaire » en termes de contamination entre le site de Certes et de Garonne, mais les teneurs en contaminants relevés dans les reins des anguilles ont indiqué que parfois la contamination pouvait être même supérieure à celle observée en Garonne (Cd), en Gironde (Zn), ou même pour les deux sites (Cu, As, Cr et Se). Néanmoins, il est toujours important de garder en tête qu'il est fort possible que les anguilles pêchées en Dordogne aient pu vivre un long moment dans l'estuaire de la Gironde, et refléter une partie importante de la contamination qui s'y trouve.

## **4.2 Impacts des contaminants inorganiques**

### **4.2.1 Comparaison avec la perchaude**

Au vu des résultats obtenus pour les deux espèces d'anguilles, peu de similitudes sont observables avec ce qui a été répertorié chez la perchaude et présenté au tableau 1.1. Ceci est peu surprenant déjà par le fait qu'il s'agit d'espèces présentant des caractéristiques très différentes (longévité, niveau trophique, mode de vie), mais aussi parce que les niveaux de contamination sont très différents. Ainsi, selon la littérature consultée, aucun contaminant ayant déjà été lié chez la perchaude à un changement d'activité de l'une ou l'autre des enzymes musculaires testées dans la présente étude n'a pu être identifié pour aucune des deux espèces d'anguilles. Néanmoins, dans le foie Lévesque *et al.* (2002) avaient obtenu certains résultats qui vont dans le sens de ce qui a été observé ici. Tout d'abord, la PK hépatique montrait une activité plus forte en été dans les lacs contaminés en Cd et en Zn que dans les lacs de référence, et les réserves en glycogène étaient aussi plus élevées dans les perchaudes des lacs de référence en été comparativement aux lacs contaminés. Ceci amenait à la conclusion d'une demande énergétique plus importante pour les perchaudes issues des lacs contaminés. Dans la présente étude, la PK du foie des anguilles

d'Amérique montre aussi une corrélation positive avec la teneur en Zn ( $r = 0,392$ ), ce qui pourrait laisser croire en une demande énergétique plus élevée aussi (tableau 3.3). D'autre part, Audet *et al.* (2003) avaient observé que la LDH hépatique manifestait une activité plus élevée chez les perchaudes provenant du lac contaminé en Cu et en Cd que celles issues du lac propre. Il semble que ce résultat rejoigne ce qui est observé ici dans le foie des anguilles d'Europe, car le modèle obtenu pour la LDH du foie a aussi retenu le Cd et le Cu ( $r = 0,020$  et  $0,277$  respectivement).

Malgré tout, il appert globalement qu'il est très hasardeux de tenter de faire ce type de comparaison, car les concentrations mesurées sont très différentes : dans les reins, les perchaudes montraient des concentrations en Zn d'environ  $700 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu sec dans les lacs de référence, et d'environ  $1700 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu sec dans les lacs contaminés, alors que dans la présente étude les niveaux de Zn relevés dans les reins des deux espèces varient plutôt entre  $100$  et  $350 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu sec. Une autre raison d'être prudent face à ce type de comparaison est que nous n'avons pas un portrait complet de la contamination en présence. Il est en effet hautement probable que l'influence des contaminants organiques soit plus importante chez les anguilles, car celles-ci sont vraisemblablement exposées à une variété beaucoup plus grande de composés que les perchaudes, de même qu'à des concentrations beaucoup plus fortes.

#### **4.2.2 Enzymes et protéines du foie**

Peu de données sont disponibles dans la littérature quant à la concentration de protéines du foie et du muscle des deux espèces d'anguilles. Ainsi, surtout pour l'anguille d'Amérique où aucune donnée ne semble disponible, il est donc difficile de savoir si les teneurs observées sont comparables à ce qui a été retrouvé dans le passé, ou si les différences observées entre les sites peuvent être expliquées à nouveau par un facteur ou un autre. Malgré tout, du côté de l'anguille d'Europe, Boldsen *et al.* (2013) avaient obtenu une concentration moyenne de  $129 \pm 6 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , ce qui est très similaire à ce qui a été observé pour les quatre sites en 2011, et pour les sites de Dordogne et Gironde en 2012. Les teneurs en protéines plus faibles pour les sites de Certes et de Garonne en 2012 ne seraient alors possiblement pas « normales » selon les données disponibles : comme mentionné à la section 3.2.2, (1) les différences interannuelles de concentration pour ces deux sites sont significatives, (2) ces différences sont aussi significatives lorsque l'on compare chacun de ces sites à l'un ou l'autre des deux autres sites en 2012 (Dordogne et Gironde), et de plus, (3) ces différences semblent associées en même temps à des activités enzymatiques



interannuelles et intersites différentes pour la PK, la CS, la LDH et dans une moindre mesure pour la G6PDH.

Néanmoins, on pourrait croire que ces variations dans la concentration en protéines sont dues à la seule physiologie du poisson, c'est-à-dire par exemple à une variation saisonnière ou à une phase de croissance nécessitant une demande protéique différente. Toutefois, une variation saisonnière est à exclure, car tous les poissons ont été capturés à la même période. Par ailleurs, si une phase de croissance était impliquée, il serait plausible d'observer des corrélations conjointes avec l'âge et/ou la masse, mais peu d'évidences indiquent une telle tendance : pour l'anguille d'Amérique, il n'y a aucune corrélation entre l'âge et l'une ou l'autre des enzymes testées, même si l'âge est le seul facteur semblant être lié à la concentration en protéines, et ce assez fortement ( $r = -0,303$ ). Autrement, seule l'activité de la LDH montre une corrélation avec la masse, mais beaucoup moins fortement qu'avec la concentration en protéines ( $r = 0,201$  et  $0,484$  respectivement). Du côté de l'anguille d'Europe, la tendance n'est pas plus évidente : seul le modèle de la LDH affiche des corrélations significatives avec les protéines et la masse à la fois, mais au contraire de ce qui est observé chez l'anguille d'Amérique, la corrélation avec la masse est négative ( $r = -0,081$ ). Malgré tout, on peut noter que les modèles de la PK et de la LDH ont retenu de faibles corrélations avec l'âge ( $r = 0,123$  et  $0,023$  respectivement) et de plus fortes corrélations avec la concentration en protéines ( $r = 0,499$  et  $0,572$  respectivement), ce qui pourrait être une piste d'un lien entre ces variables pour les deux enzymes. À noter toutefois que les formes d'expression de résultats (en g de tissu sec ou en mg de protéines) sont comparables quant aux différences significatives observées entre les sites, sauf pour la Garonne en 2012 (voir annexe I - b). En définitive, il faudrait possiblement aussi chercher du côté de la température de l'eau et d'autres facteurs naturels pour expliquer ces résultats.

Lorsque l'on regarde chez la perchaude des lacs contaminés de la région de Rouyn-Noranda, il avait déjà été observé qu'il pouvait exister un lien entre la contamination métallique (Cu, Cd, ou Ni) et la teneur en protéines (Audet *et al.*, 2003; Couture *et al.*, 2003; Pierron *et al.*, 2009). Dans une autre étude sur la perchaude incluant des sites propres et contaminés, mais du fleuve Saint-Laurent cette fois-ci, Dautremepuits *et al.* (2009) avaient aussi trouvé que la concentration en protéines était plus élevée dans les reins des individus contaminés avec différents métaux (Cd, Pb, Cr, Cu, Zn et Hg) et qui étaient retrouvés dans un site fortement exposé aux effluents municipaux. Au vu de ces résultats, il est donc plausible que la contamination ait aussi un rôle à

jouer dans les différences d'activités enzymatiques et de niveaux de protéines observées chez l'anguille d'Europe. Une indication en ce sens pourrait se trouver au niveau des fortes corrélations retrouvées dans les régressions multiples entre le Pb et respectivement la PK ( $r = 0,415$ ), la CS ( $r = -0,470$ ) et les protéines ( $r = 0,376$ ). En effet, la teneur en protéines se retrouve aussi comme variable explicative des différences d'activités observées pour la PK ( $r = 0,499$ ) et la CS ( $r = -0,062$ ) : ceci semble donc pointer vers un lien de cause à effet possible entre ces variations concomitantes. Pour l'anguille d'Amérique, on retrouve aussi des corrélations conjointes du Pb et de la concentration en protéines avec deux enzymes, soit la CS ( $r = 0,172$  et  $0,432$  respectivement) et la G6PDH ( $r = -0,374$  et  $0,237$  respectivement), mais le Pb ne se retrouve pas ensuite comme variable explicative de la teneur en protéines. Dans la littérature, on ne semble pas trouver d'évidence d'un lien entre protéines et Pb. Néanmoins, suite à une exposition au nitrate de plomb Osman *et al.* (2007) avaient aussi observé des variations à la hausse ou à la baisse des activités de la LDH et de la G6PDH (sur des homogénats d'individus entiers) pour deux stades de développement du poisson-chat africain (*Clarias gariepinus*), soit pour l'embryon juste avant éclosion, et pour la larve suite à l'éclosion. L'influence du Pb sur l'activité de certaines enzymes semble donc à tout le moins réelle.

Boldsen *et al.* (2013) avaient aussi mesuré l'activité de la CS dans le foie des anguilles d'Europe. Les valeurs oscillaient de  $21,5$  à  $51,6 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g de protéines}^{-1}$ , avec une moyenne de  $35,0 \pm 2,0 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g de protéines}^{-1}$ . Ces valeurs sont tout de même assez proches de celles obtenues dans notre étude, soit de  $14,1$  à  $79,4 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g de protéines}^{-1}$ , avec une moyenne de  $36,7 \pm 14,1 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g de protéines}^{-1}$ . Néanmoins, les anguilles utilisées pour leur étude provenaient de la ferme d'élevage d'anguilles de Lyksvad au Danemark. Il était donc improbable que celles-ci aient été exposées à la contamination, ou du moins à des concentrations aussi importantes que celles capturées sur le terrain. C'est possiblement pourquoi la gamme d'activités est plus large dans notre étude, avec une variabilité moyenne beaucoup plus grande, même si à nouveau des facteurs naturels peuvent expliquer une bonne part des variations observées (conditions contrôlées dans la ferme d'élevage comparativement au terrain, puis âge et gamme de tailles plus uniformes aussi).

Par ailleurs, il est étonnant de constater que le Cd n'apparaît pas dans les modèles obtenus pour les enzymes et la concentration en protéines du foie de l'anguille d'Amérique, et que ce contaminant n'est associé que faiblement à la concentration en protéines, à la CS et à la LDH

chez l'anguille d'Europe ( $r = 0,101, -0,084$  et  $0,020$  respectivement). Ceci est d'autant plus surprenant qu'il existe effectivement des différences intersites très importantes en ce qui a trait aux concentrations hépatiques de ce contaminant. De plus, au vu des énormes différences d'activité de la G6PDH observées entre les sites, il aurait été presque logique d'obtenir ce type de lien : Pierron *et al.* (2007a) avaient bel et bien obtenu plus du double d'activité de la G6PDH hépatique suite à une exposition au Cd. Néanmoins, il semble donc que les variations d'activité de la G6PDH observées sur le terrain dans notre étude n'y soient pas liées, ou du moins que cette influence soit brouillée par au moins un autre facteur. Une indication en ce sens pourrait se trouver dans le fait que le site qui présente la plus forte activité en 2011 est le domaine de Certes (site propre), alors qu'en 2012 l'activité la plus élevée se trouve chez les anguilles de Gironde (site contaminé, dont par le Cd). À titre d'exemple, l'individu présentant la plus forte activité de G6PDH dans le site de Certes est très peu contaminé en Cd (FPC203 : G6PDH =  $14,70 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ , Cd =  $0,050 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) et l'individu présentant la plus forte activité de G6PDH dans le site de Gironde est très contaminé en Cd (FPC326 : G6PDH =  $22,41 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ , Cd =  $3,65 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Des facteurs naturels (événements météorologiques ayant précédé la saison d'échantillonnage, température de l'eau, quantité de nourriture disponible, etc.) pourraient alors peut-être expliquer pourquoi il est si difficile de cerner l'effet réel du Cd sur les capacités métaboliques des anguilles en milieu naturel.

#### 4.2.3 Enzymes et protéines du muscle

Pour ce qui est du muscle, la grande variabilité des concentrations en protéines explique pourquoi si peu de différences intersites et interannuelles significatives sont observées pour les deux espèces. Toutefois, comme mentionné à la section 3.2.2, il est intéressant de noter qu'une telle variabilité a été aussi observée quant à l'activité de la LDH, et ce à nouveau pour les deux espèces d'anguilles. Cette enzyme étant plutôt liée aux capacités anaérobies, et non pas à la biosynthèse comme la nucléoside diphosphate kinase (NDPK), il existe peu d'évidences dans la littérature d'un lien pouvant exister entre un changement d'activité de la LDH et la concentration en protéines dans le muscle, contrairement à la NDPK (Audet *et al.*, 2003; Couture *et al.*, 2003). Néanmoins, les travaux de Couture *et al.* (1998) ont montré au niveau du muscle des morues que des augmentations de la concentration en protéines et de l'activité de la LDH (et aussi de la NDPK) étaient associées à une augmentation de l'indice de condition des poissons. Par ailleurs,

chez la perchaude encore, Audet *et al.* (2003) avaient observé que l'activité de la LDH et la concentration en protéines du muscle étaient toutes deux plus élevées dans le lac qui n'était pas contaminé en Cu et en Cd. Conséquemment, même s'il est fort possible que les capacités de biosynthèse aient été affectées en parallèle des capacités anaérobies, des études plus approfondies sur le sujet mériteraient une attention particulière, quoiqu'une autre enzyme que la NDPK devrait possiblement être sélectionnée vu la difficulté de mesurer l'activité de celle-ci dans le muscle (voir section 2.4.3). Ceci est d'autant plus vrai que dans le modèle obtenu pour la LDH d'*A. rostrata*, la teneur en protéines est le seul facteur qui ait été retenu. Il semble donc qu'aucun des contaminants en présence ne puisse expliquer la variation d'activité de la LDH. Néanmoins, la concentration en protéines n'expliquerait qu'une faible part de la variabilité observée ( $R^2$  ajusté = 0,162). Une piste serait alors possiblement du côté des contaminants organiques, ou encore de facteurs naturels.

Autre constatation, si d'un côté le Hg semble agir de façon négative sur la CS ( $r = -0,043$ ) et la CCO ( $r = -0,183$ ), celui-ci semble plutôt être lié à une augmentation de l'activité de la PK ( $r = 0,463$ ), donc des capacités glycolytiques. Cette observation n'est pas anodine : les capacités aérobies semblant réduites en présence de Hg, une augmentation de la glycolyse pourrait suggérer une demande énergétique amplifiée pour y pallier possiblement via les capacités anaérobies. Toutefois, la LDH ne semble pas être affectée par le Hg. Ceci pourrait être dû à l'influence d'un autre contaminant agissant cette fois-ci de façon contraire, mais aucune évidence en ce sens ne peut supporter cette idée. Néanmoins, De Coen *et al.* (2001) avaient obtenu chez des daphnies (*Daphnia magna*) exposées pendant 96 heures à des concentrations sous-létales de Hg une augmentation d'activité de la LDH (homogénats des individus entiers).

Du côté de l'anguille d'Europe toutefois, le portrait est différent : on ne retrouve pas la concentration en protéines dans le modèle de la LDH, mais deux contaminants y ont été retenus, soit l'Ag ( $r = -0,101$ ) et le Se ( $r = -0,330$ ). Même si on peut mettre des bémols sur la similarité des effets du nano-Ag comparativement aux formes d'Ag « naturelles », deux études récentes réalisées par une même équipe de recherche montrent des effets de ce contaminant sur l'activité de la LDH même si les effets rapportés ne concernent pas directement le muscle. Dans la première étude, Wu *et al.* (2012) avaient observé chez des embryons de médaka (*Oryzias latipes*) une augmentation de l'activité de la LDH (avec l'homogénat de l'embryon entier) dépendante de la dose de nano-Ag (de 62,5 à 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) à laquelle les embryons étaient exposés. Dans la

deuxième étude, chez des médaka adultes cette fois-ci, Wu *et al.* (2013) ont observé un effet inverse: suite à une exposition sous-chronique de 14 jours de nano-Ag, les auteurs ont noté une diminution de l'activité de la LDH du foie dépendante de la dose (entre 0,05 et 0,5 mg·L<sup>-1</sup>), ce qui va dans le sens de la relation qui a été observée dans notre étude, même si la comparaison avec le muscle appelle à la prudence.

La PK du muscle d'*A. anguilla* est la seule enzyme sur toutes celles qui ont été testées (foie et muscle) qui semble être influencée par la contamination en Cr ( $r = -0,136$ ). Ceci est un peu étonnant, car il existe effectivement des différences interindividuelles assez importantes quant à la contamination en Cr relevée chez les anguilles (voir annexes V a-d). Néanmoins, peu d'études peuvent nous renseigner sur les effets du Cr sur les capacités glycolytiques des organismes aquatiques. Une étude de Ciacci *et al.* (2012) montre par contre qu'une exposition du bivalve *Mytilus galloprovincialis* au Cr(VI) à une concentration de 1 µg·L<sup>-1</sup> pendant 96 heures était suffisante pour induire une augmentation de l'activité de la PK au niveau de la glande digestive de l'animal. Malgré tout, dans notre étude la teneur en protéines, le Cu et l'As semblent être plus fortement liées à la variation de la PK ( $r = 0,340, 0,189$  et  $-0,236$  respectivement). Encore une fois malheureusement, peu d'informations sont disponibles dans la littérature en ce qui concerne les liens entre la contamination en Cu ou en As avec une variation d'activité de la PK. Seule une étude de Lauer *et al.* (2012) montre un lien entre une exposition au Cu (1 et 5 mg·L<sup>-1</sup>) et une baisse d'activité de la PK au niveau des branchies avant et arrière du crabe *Neohelice granulata*, mais ces effets sont aussi liés à des conditions de salinité différentes (2 et 30 ‰).

Pour ce qui est de la CS et de la CCO, comme mentionné à la section 3.3.1 il n'est pas étonnant de voir que les mêmes variables explicatives aient été retenues dans les modèles pour l'anguille d'Amérique, dû à la forte corrélation entre ces deux enzymes. Lorsque l'on compare avec ce que Pelletier *et al.* (1993) avaient obtenu avec la morue franche (*Gadus morhua*), on voit que ces deux enzymes covarient évidemment très bien ensemble, mais qu'en plus cette variation est fortement liée de façon négative à la masse, comme pour l'anguille. Ceci explique donc en grande partie les fortes activités obtenues pour ces deux enzymes chez les individus plus petits retrouvés dans les sites RSJ et RSO. D'ailleurs, on le voit très bien par le fait que les corrélations négatives très fortes observées entre chaque enzyme et la masse se traduisent par des R<sup>2</sup> ajustés très élevés pour les deux modèles (CS : R<sup>2</sup> ajusté = 0,542, CCO : R<sup>2</sup> ajusté = 0,787). En lien avec cette observation, à noter que Couture *et al.* (1998) avaient déjà obtenu de bonnes corrélations

entre la croissance en masse de la morue franche et l'activité de la CS musculaire ( $R^2 = 0,209$ ) ou celle de la CS intestinale ( $R^2 = 0,262$ ). Toutefois, il est peu probable que les différences d'activité observées dans notre étude soient liées au taux de croissance : il semble en effet que les anguilles des sites RSO et RSJ aient des taux de croissance plus faibles que celles des sites de LSP et LSF (G. Verreault, MRNF, comm. pers. 2013). Cette différence d'activité serait alors liée simplement à des tailles plus petites, mais aussi fort probablement à la température de l'eau, à nouveau comme dans l'étude de Pelletier *et al.* (1993) avec la morue, car les sites de RSJ et RSO sont associés à des eaux plus froides que pour les sites de LSF et LSP. Néanmoins, en jetant un coup d'œil du côté de l'anguille d'Europe, on peut rappeler que la CS et la CCO ne corrèlent pas aussi bien ensemble que chez l'anguille d'Amérique. En comparant les résultats des tableaux 3.4 et 3.6, ceci pourrait déjà être expliqué partiellement à travers deux observations : (1) possiblement dû à des gammes de tailles plus restreintes, les corrélations observées entre la CS ou la CCO avec la masse sont beaucoup plus faibles chez l'anguille d'Europe ( $r = -0,315$  et  $-0,384$  pour chaque enzyme) que chez l'anguille d'Amérique ( $r = -0,694$  et  $-0,857$  pour chaque enzyme), et (2) le nombre de variables explicatives retrouvé dans les modèles est différent, même si les corrélations absentes chez la CS, mais présentes pour la CCO, ne sont pas très fortes non plus (Pb :  $r = 0,130$ , Ni :  $r = -0,066$ ), hormis pour les protéines ( $r = 0,248$ ). De plus, les effets potentiels de la contamination organique retrouvée dans le muscle pourraient à nouveau expliquer en partie pourquoi les deux enzymes ne corrèlent pas aussi bien ensemble que chez *A. rostrata*.

Il est pertinent encore de souligner que le Cd ne se retrouve dans aucun des modèles obtenus pour expliquer les variations d'activités des enzymes musculaires des deux espèces d'anguilles, même si ce contaminant se retrouve néanmoins comme variable explicative de la teneur en protéines chez *A. rostrata*. Les concentrations de ce contaminant sont certes beaucoup moins élevées dans le muscle que dans le foie, mais cette observation pose encore la question de l'influence réelle de ce contaminant sur les anguilles en milieu naturel, du moins sur les capacités métaboliques de celles-ci, malgré ce qui avait été obtenu en laboratoire dans différentes études (Pierron, 2007; Pierron *et al.*, 2007a; Pierron *et al.*, 2007b; Pierron *et al.*, 2009). À l'inverse, le Se se révèle comme un contaminant impliqué dans les variations d'activités enzymatiques observées pour la CS, la CCO, et la LDH chez l'anguille d'Europe, ce qui concorde avec le fort gradient de concentration qui existe entre les reins, les foies et les muscles des individus les moins contaminés versus ceux qui sont fortement contaminés. D'ailleurs, les résultats de Thomas

*et al.* (2013) ont montré une influence négative d'un apport en sélénométhionine (SeMet) dans la diète de poissons zèbres (*Danio rerio*) sur la capacité de nage et la consommation d'oxygène des individus ainsi exposés. Néanmoins, les corrélations avec la CS ( $r = -0,054$ ) et la CCO ( $r = 0,029$ ) étant très faibles et en sens inverse, c'est plutôt du côté des capacités anaérobies que l'effet semble le plus probant : le Se corrèle de façon négative et assez fortement avec la LDH ( $r = -0,330$ ), ce qui concorde avec la corrélation négative observée aussi avec la LDH du foie ( $r = -0,021$ ), et ce qui indique une réduction des capacités anaérobies des anguilles.

#### 4.2.4 Effets de la masse, de l'âge et du Kn sur les activités enzymatiques

Comme brièvement mentionné déjà, la masse des individus est liée à l'activité de différentes enzymes, et ce autant pour les deux espèces d'anguilles que pour les deux tissus considérés. Ce lien semblerait toutefois se limiter aux capacités aérobies et anaérobies, car aucun des modèles pour la PK et la G6PDH des deux espèces n'ont retenu ce paramètre, tandis que la CS et la CCO dans le muscle et la LDH dans le foie sont toutes liées à la masse des anguilles, et ce pour les deux espèces. Toutefois, ce phénomène est nettement moins prononcé pour le foie que pour le muscle : par exemple, les corrélations entre la masse et la CS sont toutes deux beaucoup plus fortes dans le muscle des deux espèces (*A. rostrata* :  $r = -0,694$ ; *A. anguilla* :  $r = -0,315$ ), que les corrélations obtenues dans les modèles de la LDH du foie des anguilles d'Amérique et d'Europe ( $r = 0,201$  et  $-0,081$  respectivement). De plus, les corrélations de la CS (et de la CCO) sont toutes négatives, ce qui n'est pas le cas de la LDH (positive pour *A. rostrata* et négative pour *A. anguilla*). Une explication pourrait encore se trouver au niveau des gammes de tailles plus restreintes chez *A. anguilla*, d'où un effet plus marginal de la masse, et mettrait encore plus en lumière l'influence d'autres facteurs non considérés ici, comme la température de l'eau, la disponibilité de la nourriture et la contamination organique entre autres. Par ailleurs, s'il était hautement probable d'avoir des corrélations négatives entre la masse et les enzymes musculaires impliquées dans les capacités aérobies (les petits poissons ont habituellement de meilleures capacités aérobies), on s'attend à l'inverse à avoir de meilleures capacités anaérobies musculaires chez les gros poissons. Par contre, il est difficile de savoir ce qui devrait en être au niveau du foie. Dans les travaux sur la morue et la perchaude qui ont pu être consultés (Pelletier *et al.*, 1993; Couture *et al.*, 1998; Gauthier *et al.*, 2008), aucun ne traitait des liens entre la masse et l'activité de la LDH dans le foie.

Il ne semble pas y avoir d'indication pour un lien entre l'âge et la quantité de protéines dans la littérature, hormis lors de pathologies humaines étudiées (sarcopénie). Il est donc étonnant de voir chez l'anguille d'Amérique que ce facteur est lié négativement à la teneur en protéines (modèles de la teneur en protéines du foie et muscle) de même qu'au Kn (modèle du Kn incluant les contaminants du muscle). Chez l'anguille d'Europe par contre, l'âge ne serait associé qu'à l'activité enzymatique de la PK et de la LDH du foie seulement, et de manière positive de surcroît. Néanmoins, les relations obtenues entre l'âge et les activités de la PK et de la LDH ne sont pas très fortes dans le foie de l'anguille d'Europe ( $r = 0,123$  et  $0,023$  respectivement) comparativement par exemple aux corrélations affichées entre l'âge et les protéines dans le foie et le muscle de l'anguille d'Amérique ( $r = -0,292$  et  $-0,212$  respectivement). Le lien avec les protéines pourrait encore être expliqué en partie par le fait que la gamme d'âges de l'anguille d'Amérique est beaucoup plus large que celle de l'anguille d'Europe, avec une moyenne d'âge de près du double (*A. rostrata* : de 5 à 44 ans, moyenne = 11,7 ans; *A. anguilla* : de 2 à 18 ans, moyenne = 6,5 ans). En effet, comme certaines observations sur le terrain le suggéraient (surtout en 2011), il serait peut-être possible que les anguilles d'Amérique les plus vieilles aient déjà atteint le stade argenté : ainsi, certaines auraient déjà réduit leur alimentation, ce qui se refléterait sur la teneur en protéines dans la masse musculaire (utilisation des réserves énergétiques par le début du jeûne avant la migration à venir). En appui avec cette hypothèse, on peut voir avec les données disponibles (non incluses ici) que la corrélation existant entre l'âge et la concentration en protéines dans le muscle des anguilles de moins de 9 ans (donc très peu probable d'être en argenture) est très faible ( $r = -0,056$ ). De plus, la corrélation existant entre l'âge et la concentration en protéines dans le muscle des anguilles de moins de 19 ans (donc comparable à ce qui est disponible pour *A. anguilla* et toujours moins probable d'être en argenture) est encore plus faible, et même positive ( $r = 0,045$ ). À l'opposé, lorsque l'on fait la même démarche pour les anguilles de plus de 9 ans (concentrant les anguilles potentiellement devenues argentées), la corrélation est maintenant encore plus forte que dans le modèle ( $r = -0,314$ , comparé à  $r = -0,212$  pour le modèle). Quoi qu'il en soit, une comparaison directe entre anguilles argentées et jaunes serait possiblement à faire pour mieux voir le phénomène.

Enfin, le Kn n'a été retenu comme variable explicative des activités enzymatiques que chez *A. anguilla*, même si la corrélation avec la PK du muscle n'est pas significative ( $r = 0,133$ ,  $p = 0,107$ ), contrairement à celle obtenue avec la G6PDH ( $r = 0,319$ ,  $p = 0,0004$ ). Le lien avec cette



dernière enzyme est intéressant du fait que celle-ci est impliquée dans la synthèse de lipides et que son activité montre de fortes variations chez l'anguille d'Europe. Ce résultat peut donc potentiellement suggérer un effet au niveau des réserves lipidiques. En ce sens, même si dans le modèle de la G6PDH on ne retrouve aucun des contaminants du foie retenus dans le modèle obtenu pour le Kn de l'anguille d'Europe (Cd et Se), on peut tout de même mentionner que la présence du Cd mérite attention, surtout que celui-ci se retrouve aussi dans le modèle obtenu pour le Kn avec les contaminants du foie chez *A. rostrata*, et que cette influence négative est assez forte pour les deux espèces (*A. anguilla* :  $r = -0,241$ ; *A. rostrata* :  $r = -0,351$ ). Conséquemment, même si le Cd ne semble pas être directement lié aux variations d'activité de la G6PDH, cette observation suggère tout de même que celui-ci puisse jouer un rôle négatif sur les réserves lipidiques et la condition des anguilles d'Europe, comme les travaux de Pierron *et al.* (2007a) l'ont démontré. Déjà, comme mentionné précédemment, la présence de ce contaminant dans les modèles de la concentration en protéines du foie d'*A. anguilla* ( $r = 0,101$ ) et du muscle d'*A. rostrata* ( $r = 0,186$ ) amène un élément de plus pour croire que le Cd n'est pas sans effet sur les deux espèces d'anguilles. Par ailleurs, du côté de l'anguille d'Amérique on peut mentionner que le Ni mesuré dans le muscle est le contaminant lié le plus fortement au Kn ( $r = -0,253$ ). Dans le même sens, Javedl (2013) avait obtenu une réduction du gain en poids pour les trois espèces de poissons à l'étude (*Catla catla*, *Labeo rohita*, *Cirrhina mrigala*) lors d'une exposition à de l'eau contaminée en Ni, et une réduction de l'indice de condition de Fulton pour deux des trois espèces (*Labeo rohita*, *Cirrhina mrigala*) lors d'une exposition à une nourriture contaminée en Ni.

Néanmoins, il est bon de souligner que dans les modèles obtenus pour le Kn, la masse n'est pas corrélée de façon identique avec cette variable selon qu'on inclue les contaminants du muscle ou du foie, et ce, chez chaque espèce (voir tableaux 3.3 à 3.6). De la même manière, l'âge n'est présent que dans le modèle obtenu avec les contaminants du muscle chez l'anguille d'Amérique, même si le lien est faible ( $r = -0,048$ ). En effet, la masse est absente dans les modèles du Kn incluant les contaminants du foie chez les anguilles d'Amérique et d'Europe, alors qu'elle est présente dans les deux modèles qui incluent les contaminants du muscle ( $r = 0,277$  et  $0,159$  respectivement pour chaque espèce). En guise d'explication, il faut savoir que chaque modèle a été réalisé avec les données de contamination du foie ou du muscle, mais aussi avec les données de protéines du foie ou du muscle disponibles selon les individus dont les activités enzymatiques

ont été faites. Chacun a donc été établi à partir de données provenant en partie d'individus différents, c'est à dire des masses, des âges et des Kn d'individus différents. Conséquemment, il semble que ce seul détail contribue à modifier les niveaux de corrélation observés entre le Kn et la masse comparativement à ce qui est observé entre le Kn et l'âge. Ceci pourrait indiquer l'influence d'au moins un autre paramètre qui n'a pas été mesuré ici. Le  $R^2$  ajusté très faible du modèle obtenu pour le Kn avec les contaminants du foie de l'anguille d'Europe (0,102) semble aussi appuyer cette idée.

#### 4.2.5 Principales différences interspécifiques

À la lumière des résultats discutés jusqu'à présent, il est très facile de voir qu'il existe des différences somme toute assez importantes sur le plan écotoxicologique. Ce qui retient surtout l'attention à ce sujet est le nombre de contaminants ayant une influence sur les activités enzymatiques mesurées : que ce soit pour le foie ou le muscle, il y a en moyenne un nombre plus élevé de contaminants qui ont été retenus dans les modèles de l'anguille d'Europe comparé à l'anguille d'Amérique. De la même façon, un nombre plus important de contaminants semblent avoir une influence sur une ou l'autre des enzymes testées, malgré le fait que cela est surtout évident au niveau du muscle (5 contaminants pour *A. rostrata*, versus tous les contaminants pour *A. anguilla*).

Néanmoins, si l'on regarde les résultats d'un point de vue strictement physiologique, même si l'amplitude des variations est parfois surprenante (surtout pour la G6PDH), il semble que les activités enzymatiques soient relativement du même ordre pour les deux espèces, sauf pour la PK musculaire (tableaux 3.1 et 3.2). En effet, cette enzyme montre une activité systématiquement plus forte chez l'anguille d'Amérique, nonobstant les variations observées : pour l'anguille d'Amérique, peu importe le site de capture et l'année d'échantillonnage considérés, seul le site RSJ en 2012 montre une activité moyenne plus faible que l'activité moyenne la plus élevée chez l'anguille d'Europe, soit le site de Garonne en 2012 ( $90,5 \pm 20,4 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  et  $94,2 \pm 17,5 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  respectivement). À l'inverse, l'activité moyenne de la PK pour le site de Gironde en 2012 est de  $70,0 \pm 11,7 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , comparé à  $156,9 \pm 17,4 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  pour l'activité la plus forte chez l'anguille d'Amérique, soit pour le site de RSO en 2011. Ces résultats suggèrent une possible différence physiologique entre les espèces, car même les comparaisons entre sites propres ou entre gammes de taille ne semblent pas expliquer les différences observées, au

contraire de ce qui est observé pour la CS et la CCO par exemple. Malgré tout, comme mentionné à maintes reprises, d'autres facteurs qui n'ont pas été considérés ici pourraient jouer fortement.

#### **4.2.6 Développement de la puce à ADN**

À titre d'information complémentaire, les premiers résultats du développement de la puce à ADN réalisé en France à partir des données de contamination dans le rein des anguilles d'Europe de 2011 démontrent que cinq contaminants inorganiques semblent avoir une influence sur l'expression de certains gènes, soit le Cd, l'As, l'Ag, le Hg et le Cu (L. Baillon, Univ. Bordeaux 1, comm. pers.). En effet, 164 corrélations significatives ont été obtenues entre l'expression de certains gènes avec la contamination en Cd, 140 pour l'As, 69 pour l'Ag, 65 pour le Hg, et 25 pour le Cu ( $p < 0,009$  pour toutes les corrélations). L'analyse plus fine des gènes effectivement influencés n'est pas encore complétée, mais il semble que des voies métaboliques soient impliquées. Par exemple, une corrélation a été trouvée entre la contamination en Ag et l'expression génique de la triglycéride lipase, ce qui pourrait indiquer une conséquence potentielle sur les réserves lipidiques. Il sera alors intéressant de voir si ces résultats pourront concorder avec ce qui est observé ici pour la G6PDH dans le foie des anguilles d'Europe, de même qu'avec les réserves en lipides qui seront évaluées.

## 5 CONCLUSION

Les concentrations de nombreux contaminants inorganiques relevés dans le rein, le foie et le muscle des anguilles d'Amérique et d'Europe restent à des niveaux préoccupants. Ceci est corroboré par le fait que malgré des normes plus strictes, et une amélioration substantielle de la qualité des eaux des systèmes du Saint-Laurent et de Gironde-Garonne-Dordogne, les concentrations des divers contaminants retrouvées dans les tissus n'ont pas diminué dans la même proportion : certains sont en concentration aussi élevées (*A. rostrata* : Cu et Hg dans le muscle; *A. anguilla* : Hg dans le muscle, et Cu, Zn et Hg dans le rein), ou même plus élevés (*A. rostrata* : Cr et Hg dans le foie, et Cr dans le muscle; *A. anguilla* : Cd, Cu et Zn dans le muscle, puis Cd dans le rein) que ce qui a été observé il y a plusieurs années. Conséquemment, ces niveaux de contamination entraînent des effets sur les capacités métaboliques des deux espèces d'anguilles étudiées.

### 5.1 Principaux résultats

Les résultats obtenus dans la présente étude montrent assez clairement que les trois objectifs fixés ont été atteints en grande partie. Tout d'abord, en ce concerne la détermination des niveaux d'activité d'enzymes impliquées dans les capacités métaboliques étudiées (objectif 1), les données étant vraisemblablement les premières produites à ce jour pour la majorité des enzymes du foie et du muscle testées, celles-ci constitueront une base de référence pour les études futures. Il sera particulièrement intéressant de voir si celles-ci contribueront à définir effectivement pour chaque espèce des populations d'anguilles présentant une physiologie différente.

En ce qui a trait aux liens pouvant exister entre les activités enzymatiques mesurées et les niveaux de contamination inorganique retrouvées dans le foie et le muscle (objectif 2), les corrélations établies avec les régressions multiples amènent une bonne assise pour déterminer quels sont les contaminants qui ont le plus d'effets sur les capacités métaboliques étudiées. Évidemment, des études complémentaires seront nécessaires pour mieux prouver les liens de cause à effet, mais les pistes révélées seront de toute évidence d'une grande utilité.

Enfin, du côté des principales différences interspécifiques observables sur les plans physiologique et écotoxicologique (objectif 3), il semble encore assez évident que les résultats

obtenus mettent en lumière des niveaux d'activités enzymatiques parfois assez différents. Toutefois, il est très difficile de voir si les différences observées sont dues à la seule physiologie ou à la contamination inorganique en présence. En particulier, d'autres facteurs non étudiés (contaminants organiques, température, salinité, taux d'oxygène, pH de l'eau, etc.) pourraient jouer fortement sur les activités enzymatiques mesurées. Conséquemment, cet objectif aurait pu être un peu mieux atteint, mais les résultats offrent à nouveau une base de comparaison très solide pour de prochaines études.

### **5.1.1 Impacts des contaminants inorganiques sur les capacités métaboliques d'*A. rostrata***

Les capacités glycolytiques (PK) et les capacités aérobies (CS) du foie de l'anguille d'Amérique ne semblent pas être très influencées par les contaminants inorganiques en présence. Ceci se reflète entre autres par le fait que peu de différences intersites sont observables. Néanmoins, le Zn demeure un contaminant influençant de façon non négligeable les capacités glycolytiques hépatiques de cette espèce. À l'inverse, les capacités glycolytiques du muscle sont toutefois affectées plus fortement par certains contaminants, dont potentiellement via une augmentation d'activité de la PK en présence de Hg. Néanmoins, la concentration en protéines musculaires est aussi liée de manière substantielle à cette variation d'activité à la hausse, même si les résultats suggèrent que le Hg n'influencerait pas directement la teneur en protéines. Pour ce qui est des capacités aérobies du muscle (CS et CCO), la concentration de protéines est aussi liée aux variations d'activités enzymatiques (corrélations positives), mais la masse l'est encore plus fortement (corrélations négatives). C'est fort probablement ce dernier facteur qui expliquerait le mieux les différences d'activités enzymatiques significatives observées entre le site RSO et les autres sites, tant pour les deux enzymes testées que pour les deux années d'échantillonnage, car les anguilles de ce site sont considérablement plus petites.

Les capacités anaérobies du foie et du muscle (LDH) ne sont pas très affectées par la contamination inorganique dont il est question dans cette étude : le Ni est le seul contaminant impliqué dans la variation à la baisse de l'activité de la LDH du foie, puis aucun contaminant ne semble influencer la LDH dans le muscle, les protéines demeurant le seul facteur retenu. Ainsi, la concentration en protéines est donc être le facteur qui explique le mieux les variations d'activité observées. Ce résultat concorde très bien avec le fait qu'aucune différence intersites (et

même interannuelles) n'est observable pour les deux tissus, ce qui supporte encore l'idée d'une influence faible des contaminants.

Malgré tout, lorsque l'on s'attarde aussi au métabolisme des lipides du foie (G6PDH), on voit que le Ni affecte cette voie métabolique, comme observé pour les capacités anaérobies. De plus, au niveau musculaire ce contaminant est lié à l'indice de condition relative (Kn) des individus. Par ailleurs, même si la concentration en protéines est aussi liée à l'activité de la G6PDH, l'Ag et le Pb semblent avoir une influence plus forte, et surtout dans le sens d'une baisse de l'activité enzymatique contrairement aux protéines.

Enfin, l'âge se révèle comme un facteur lié à la teneur en protéines, et ce autant dans le foie que dans le muscle, même si les modèles ne peuvent expliquer qu'une faible proportion de la variabilité observable. Ce lien pourrait toutefois être dû à un début d'argenteure chez les individus les plus âgés : les individus cessant de se nourrir avant la migration, ceux-ci commenceraient déjà à utiliser une partie de leurs réserves énergétiques, dont les protéines.

### **5.1.2 Impacts des contaminants inorganiques sur les capacités métaboliques d'*A. anguilla***

À l'inverse des anguilles d'Amérique, les capacités glycolytiques (PK) du foie des anguilles européennes paraissent un peu plus influencées par les contaminants inorganiques que ces mêmes capacités au niveau du muscle, et ce malgré le fait qu'un nombre plus important de contaminants influencent cette voie au niveau musculaire, et même si la concentration en protéines explique encore une bonne part de la variabilité. Le Pb est en effet le seul contaminant vraisemblablement lié à une augmentation d'activité de la PK dans le foie, tandis que la PK musculaire est influencée par différents contaminants, soit liés à une baisse d'activité (As et Cr) ou à une augmentation d'activité (Cu).

Pour ce qui est du lien entre les contaminants inorganiques et la teneur en protéines, le Cu est lié à une augmentation de cette concentration protéique pour le foie et le muscle, même si l'influence la plus forte provient principalement du Pb et du Zn (augmentation) dans le foie, puis du Hg (baisse) dans le muscle. Enfin, du côté de l'indice de condition relative Kn, les concentrations en Cd du foie et du muscle sont associées à la variabilité observée, même si la corrélation négative assez forte avec ce contaminant dans le foie est plus probante; le Hg et le Cr du muscle sont aussi des contaminants jouant négativement sur le Kn.

## **5.2 Implications pour les anguilles d'Amérique et d'Europe**

À la lumière des résultats obtenus dans la présente recherche, il est fort probable que la contamination inorganique a des effets sur les capacités métaboliques des anguilles d'Amérique et d'Europe. Malgré tout, si le lien de cause à effet pouvait être apporté plus solidement, les répercussions réelles des contaminants inorganiques seront vraisemblablement plutôt limitées au vu des corrélations observées et des modèles explicatifs obtenus. En effet, les  $R^2$  des modèles étant souvent faibles, il demeure donc une grande proportion des différences d'activités enzymatiques interindividuelles relevées qui n'est pas expliquée dans la majorité des modèles, ce qui est le cas aussi pour les concentrations en protéines et les Kn. D'autres facteurs déjà mentionnés, comme les contaminants organiques ou des facteurs naturels (température, salinité et taux d'oxygénation de l'eau entre autres) pourraient ainsi avoir une influence plus forte sur les activités enzymatiques que les contaminants inorganiques étudiés ici.

Toutefois, il apparaît raisonnable d'imaginer que tout effet négatif sur les capacités métaboliques des anguilles, mis en conjonction avec tous les autres facteurs affectant aussi les anguilles (activité humaine, pêche, barrages et turbines, changements climatiques et océaniques, parasites et maladies), n'est pas anodin : globalement, de faibles pressions, mais multiples, pourraient contribuer à expliquer les déclinés observés. Le projet IMMORTEEL pourrait même en fournir la démonstration par l'observation de conséquences faibles mais multiples des contaminants inorganiques sur différents aspects du comportement, de la physiologie et de la génétique des anguilles. Ces conclusions pourront peut-être aider à déterminer si ces impacts induisent plus une inaptitude à effectuer la migration ou une incapacité à se reproduire.

## **5.3 Perspectives de recherche**

Le lien pouvant exister entre les contaminants organiques et les changements d'activité enzymatique observés sera examiné par l'équipe du projet IMMORTEEL. En particulier, comme mentionné dans l'introduction, la présence importante du mirex et des BPC a été observée depuis très longtemps déjà dans les populations du Haut Saint-Laurent, de même que de nombreux autres composés organiques du côté européen. Aussi, le fait que ces contaminants ont tendance à s'accumuler dans les tissus avec l'âge constitue un enjeu majeur pour les anguilles qui vivent

longtemps et qui doivent ensuite effectuer leur migration. Les chances sont donc fortes pour que les effets de certains d'entre eux soient encore plus marqués que pour les contaminants inorganiques.

De la même manière, les corrélations entre la teneur en Hg et l'activité des enzymes du foie seraient importantes à déterminer pour les deux espèces. Il est malheureux que pour la présente étude le faible nombre de données disponibles ait eu raison de l'inclusion de ce contaminant dans les modèles, car les données de contamination en Hg répertoriées au tableau 4.1 montrent bien que ce contaminant est toujours préoccupant. Il serait alors intéressant de considérer aussi d'autres métaux (Al, Co, V, et Tl par exemple), ce qui pourrait montrer des enjeux insoupçonnés au départ.

Par ailleurs, il est peut-être parfois difficile de cerner l'effet sur une enzyme car deux contaminants pourraient agir en sens inverse : un agit directement en inhibant l'enzyme et un deuxième pourrait agir indirectement en favorisant plutôt l'activation de cette même enzyme. À l'inverse, certains contaminants pourraient avoir des effets additifs; leur somme serait peut-être alors à considérer dans les corrélations. Conséquemment, si le temps et le budget le permettent avant la fin du projet IMMORTEEL, des essais enzymatiques sur les échantillons de foie et de muscle provenant des anguilles jaunes qui ont été utilisées en France pour des expériences d'exposition à des contaminants (ou à des facteurs naturels) permettraient de corroborer certains résultats observés, ou à tout le moins amener une perspective différente sur ceux-ci. Les études en laboratoire ont évidemment cet avantage de pouvoir mieux discriminer l'effet d'un seul facteur, ce qui s'avère essentiel pour juger des effets réels d'un facteur donné.

De plus, comme mentionné brièvement dans la discussion, les résultats de la puce à ADN construite en France ont permis de mettre en lumière un certain nombre d'enzymes dont l'expression génique liée à la contamination organique ou inorganique est soit amplifiée ou inhibée. C'est pourquoi, comme prévu initialement dans le projet, la mesure de l'activité de ces enzymes serait souhaitable : ces changements d'expression génique sont possiblement une indication d'un changement de l'intensité de l'activité enzymatique.

D'autre part, pour avoir une idée plus globale des effets de la contamination inorganique (et organique) sur les anguilles, il serait avisé de mesurer différentes activités enzymatiques chez les anguilles argentées ayant servi pour les expériences de maturation artificielle au Québec et en



France. Il serait alors intéressant de voir si l'activité de certaines enzymes est modifiée lorsque vient le temps de la migration : en particulier, l'effet de la remobilisation de contaminants pourrait alors être véritablement perceptible.

Dans le même sens, des expériences ciblées de capacité de nage en lien avec la contamination pourraient être réalisées en laboratoire ultérieurement. Cependant, étant donné que les anguilles argentées ne s'alimentent plus, seule une contamination par voie aqueuse est possible en laboratoire. L'utilisation d'anguilles argentées échantillonnées en milieu naturel et représentant un très large gradient de contamination est donc probablement la meilleure approche pour observer les effets de cette contamination sur leurs capacités métaboliques. Les expériences de maturation artificielle d'anguilles argentées réalisées par d'autres étudiants dans le cadre du projet IMMORTEEL, au cours desquelles les anguilles devaient nager constamment, pourront fournir des réponses sur l'influence de la contamination de manière générale sur la capacité de l'anguille à accomplir sa migration.

Évidemment, la mesure de l'activité d'un plus grand nombre d'enzymes permettrait de tirer des conclusions plus solides. Ainsi, d'autres enzymes impliquées dans la glycolyse (phosphofructokinase, PFK), le métabolisme des lipides (enzyme malique, EM; triglycérile lipase, TGL), et les capacités aérobies (CCO dans le foie) permettraient de mieux valider ce qui a été observé. De même, des enzymes indicatrices d'autres voies métaboliques, comme la nucléoside diphosphate kinase (NDPK) pour la biosynthèse, permettraient de mieux comprendre par exemple les différences observées au niveau des concentrations protéiques tissulaires. Aussi, des essais enzymatiques sur d'autres tissus seraient à considérer. Par exemple, tester des enzymes au niveau des branchies pourrait permettre d'examiner mieux l'influence des contaminants sur les capacités respiratoires.

Comme mentionné à quelques reprises, lorsque les teneurs en lipides et en glucides seront disponibles, celles-ci amèneront de toute évidence des éléments clés pour mieux comprendre les impacts réels des contaminants, autant inorganiques qu'organiques, sur l'activité des enzymes particulièrement liées à la glycolyse (PK) et au métabolisme des lipides (G6PDH). Puisque la variabilité observée pour le Kn est probablement liée à des changements dans le niveau de réserves énergétiques, tout contaminant affectant le Kn ou les activités d'enzymes impliquées

dans ces réserves énergétiques affectera du même coup la capacité des anguilles à accomplir leur migration reproductrice.

Une façon de mieux comprendre les mécanismes de détoxification et la manière dont les contaminants inorganiques sont « gérés » chez les deux espèces d'anguilles consiste à examiner la répartition subcellulaire de ces contaminants. Ces données seront produites dans le cadre du projet IMMORTEEL pour le foie. Celles-ci pourraient alors permettre de faire des rapprochements avec les effets potentiels répertoriés dans la présente étude, en plus de montrer si des différences sont notables entre les deux espèces (tolérance différente) ou avec d'autres espèces sur lesquelles des études ont été produites.

La température des eaux où résident les poissons peut certainement avoir une influence sur leur métabolisme, et donc expliquer une part de la variabilité interindividuelle, intersites, mais aussi interannuelle (année chaude ou froide, etc.) qui a été observée. Même si les anguilles sont des poissons qui se déplacent beaucoup, il aurait peut-être été tout de même possible d'inclure des températures moyennes par « zones », et ainsi au moins évaluer l'importance ce facteur. De même, la salinité, le taux d'oxygène (surtout dans les lacs du Haut Saint-Laurent) et le pH sont des facteurs qui pourraient affecter le métabolisme des anguilles. Il sera avisé de voir l'influence de certains facteurs dans les expériences d'exposition qui ont été faites en France : en effet, la salinité et la température ont été considérés comme des conditions d'exposition au même titre que les contaminants.

Toujours en ce qui a trait aux facteurs naturels, il serait très pertinent de mieux étudier les liens existant entre les taux de croissance, l'activité enzymatique et la contamination en présence. Pour la présente étude, il aurait été assez fastidieux de compléter ce travail, mais les données étant maintenant disponibles, les prochaines analyses pourraient certainement en prendre compte.

Autrement, l'ajout de contrôles lors des essais enzymatiques a montré ses avantages. Néanmoins, le facteur de correction apporté aux résultats d'activité enzymatique mériterait d'être peaufiné. Cet outil est évidemment d'une utilité certaine, car obtenir de bons résultats étant déjà très difficile (les échantillons se retrouvant parfois limités et le temps de recherche étant souvent précieux), le rejet d'une journée ou plus d'expérimentation n'est pas nécessairement souhaitable : il n'est jamais garanti d'avoir ensuite de meilleurs résultats. Ainsi, même si la formule établie semble déjà assez robuste, des essais enzymatiques contrôlés (par exemple, avec des dilutions

légèrement différentes) ou du moins des tests mathématiques supplémentaires seraient souhaitables afin d'avoir un calcul qui apporte une correction la plus proche possible de ce que l'on devrait observer en réalité dans les conditions définies.

Finalement, même si cela s'avère difficile sur le terrain, il aurait été sûrement très pertinent de pouvoir mieux juger du stade de développement réel des anguilles récoltées, surtout pour les sites LSP et LSF. En effet, certaines d'entre elles semblaient en voie d'argenture, ou même carrément argentées. Avant d'aller sur le terrain, une meilleure préparation à l'aide d'outils d'identification des signes morphologiques entre le début d'argenture et l'argenture complète aurait été souhaitable afin de mieux choisir les individus. Enfin, la gamme d'âge a fait en sorte qu'il est beaucoup plus difficile d'avoir des nombres d'individus suffisants pour comparer les sites convenablement, même si cela procure un certain intérêt écotoxicologique (anguilles vieilles versus jeunes).

## 6 RÉFÉRENCES

- Albert V, Jonsson B & Bernatchez L (2006) Natural hybrids in Atlantic eels (*Anguilla anguilla*, *A-rostrata*): evidence for successful reproduction and fluctuating abundance in space and time. *Molecular Ecology* 15(7):1903-1916.
- Almeida JA, Novelli ELB, Silva MD & Alves R (2001) Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Environ. Pollut.* 114(2):169-175.
- Als TD, Hansen MM, Maes GE, Castonguay M, Riemann L, Aarestrup K, Munk P, Sparholt H, Hanel R & Bernatchez L (2011) All roads lead to home: panmixia of European eel in the Sargasso Sea. *Molecular Ecology* 20(7):1333-1346.
- Audet D & Couture P (2003) Seasonal variations in tissue metabolic capacities of yellow perch (*Perca flavescens*) from clean and metal-contaminated environments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 60(3):269-278.
- Avise JC (2003) *Catadromous eels of the North Atlantic: A review of molecular genetic findings relevant to natural history, population structure, speciation, and phylogeny* Dans Eel biology. Springer-Verlag Tokyo., Tokyo. p. 31 à 48. 497 p
- Barse AM, McGuire SA, Vinos MA, Eierman LE & Weeder JA (2001) The swimbladder nematode *Anguillicola crassus* in American eels (*Anguilla rostrata*) from middle and upper regions of Chesapeake Bay. *Journal of Parasitology* 87(6):1366-1370.
- Belpaire CGJ, Goemans G, Geeraerts C, Quataert P, Parmentier K, Hagel P & De Boer J (2009) Decreasing eel stocks: survival of the fattest? *Ecology of Freshwater Fish* 18(2):197-214.
- Bernatchez L, St-Cyr J, Normandeau E, Maes GE, Als TD, Kalujnaia S, Cramb G, Castonguay M & Hansen MM (2011) Differential timing of gene expression regulation between leptocephali of the two *Anguilla* eel species in the Sargasso Sea. *Ecology and Evolution* 1(4).
- Bertin L (1951) *Les anguilles. Variation, croissance, euryhalinité, toxicité, hermaphrodisme juvénile et sexualité, migrations, métamorphoses*. Paris Payot. 188 p
- Bilberg K, Malte H, Wang T & Baatrup E (2010) Silver nanoparticles and silver nitrate cause respiratory stress in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquat. Toxicol.* 96(2):159-165.
- Blackwell BG, Brown ML & Willis DW (2000) Relative weight ( $W_r$ ) status and current use in fisheries assessment and management. *Reviews in fisheries science* 8(1):1-44.
- Boetius J (1985) Greenland eels, *Anguilla rostrata* Lesueur. *Dana-a Journal of Fisheries and Marine Research* 4:41-48.
- Boldsen MM, Norin T & Malte H (2013) Temporal repeatability of metabolic rate and the effect of organ mass and enzyme activity on metabolism in European eel (*Anguilla anguilla*). *Comp. Biochem. Physiol. A-Mol. Integr. Physiol.* 165(1):22-29.
- Bonhommeau S, Castonguay M, Rivot E, Sabatie R & Le Pape O (2010) The duration of migration of Atlantic *Anguilla* larvae. *Fish. Fish.* 11(3):289-306.

- Bonhommeau S, Le Pape O, Gascuel D, Blanke B, Treguier AM, Grima N, Vermard Y, Castonguay M & Rivot E (2009) Estimates of the mortality and the duration of the trans-Atlantic migration of European eel *Anguilla anguilla* leptocephali using a particle tracking model. *J. Fish Biol.* 74(9):1891-1914.
- Bradford MM (1976) Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72(1-2):248-254.
- Byer JD, Alae M, Brown RS, Lebeuf M, Backus S, Keir M, Pacepavicius G, Casselman J, Belpaire C, Oliveira K, Verreault G & Hodson PV (2013a) Spatial trends of dioxin-like compounds in Atlantic anguillid eels. *Chemosphere* 91(10):1439-1446.
- Byer JD, Lebeuf M, Alae M, Stephen BR, Trotter S, Backus S, Keir M, Couillard CM, Casselman J & Hodson PV (2013b) Spatial trends of organochlorinated pesticides, polychlorinated biphenyls, and polybrominated diphenyl ethers in Atlantic Anguillid eels. *Chemosphere* 90(5):1719-1728.
- Campbell DM, Bradford RG & Jones KMM (2013) *Occurrences of Anguillicoloides crassus, an invasive parasitic nematode, infecting American eel (Anguilla rostrata) collected from New Brunswick and Nova Scotia Rivers: 2008-2009*. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2012/2082. IV + 2019 p
- Castonguay M, Hodson PV, Couillard CM, Eckersley MJ, Dutil JD & Verreault G (1994a) Why is recruitment of the American eel, *Anguilla rostrata*, declining in the St. Lawrence River and Gulf? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51(2):479-488.
- Castonguay M, Hodson PV, Moriarty C, Drinkwater KF & Jessop BM (1994b) Is there a role of ocean environment in American and European eel decline? *Fish. Ocean.* 3(3):197-203.
- Castonguay M & McCleave JD (1987) Vertical distributions, diel and ontogenic vertical migrations and net avoidance of leptocephali of *Anguilla* and other common species in the Sargasso Sea. *J. Plankton Res.* 9(1):195-214.
- Ciacci C, Barmo C, Gallo G, Maisano M, Cappello T, D'Agata A, Leonzio C, Mauceri A, Fasulo S & Canesi L (2012) Effects of sublethal, environmentally relevant concentrations of hexavalent chromium in the gills of *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat. Toxicol.* 120:109-118.
- CIEM (2011) Report on the eel stock and fishery in Canada 2010/2011. *EIFAAC/ICES Report 2011*. p 283 à 309.
- COSEPAC (2006) *Évaluation et rapport de situation du COSEPAC sur l'anguille d'Amérique (Anguilla rostrata) au Canada*. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada, Ottawa, Canada. x + 80 p p
- COSEPAC (2012) *Évaluation et rapport de situation du COSEPAC sur l'Anguille d'Amérique (Anguilla rostrata) au Canada*. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada, Ottawa, Canada. xiii + 127 p. [http://www.registrelep.gc.ca/Status/Status\\_f.cfm](http://www.registrelep.gc.ca/Status/Status_f.cfm)
- Couillard CM, Hodson PV & Castonguay M (1997) Correlations between pathological changes and chemical contamination in American eels, *Anguilla rostrata*, from the St. Lawrence River. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54(8):1916-1927.

- Couture P, Dutil JD & Guderley H (1998) Biochemical correlates of growth and condition in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) from Newfoundland. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 55(7):1591-1598.
- Couture P & Kumar PR (2003) Impairment of metabolic capacities in copper and cadmium contaminated wild yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquat. Toxicol.* 64(1):107-120.
- Couture P & Pyle G (2008) Live fast and die young: Metal effects on condition and physiology of wild yellow perch from along two metal contamination gradients. *Human and Ecological Risk Assessment* 14(1):73-96.
- Dautremepuits C, Marcogliese DJ, Gendron AD & Fournier M (2009) Gill and head kidney antioxidant processes and innate immune system responses of yellow perch (*Perca flavescens*) exposed to different contaminants in the St. Lawrence River, Canada. *Sci. Total Environ.* 407(3):1055-1064.
- De Coen WM, Janssen CR & Segner H (2001) The use of biomarkers in *Daphnia magna* toxicity testing v. in vivo alterations in the carbohydrate metabolism of *Daphnia magna* exposed to sublethal concentrations of mercury and lindane. *Ecotox. Environ. Safe.* 48(3):223-234.
- de Lafontaine Y, Gagne F, Blaise C, Costan G, Gagnon P & Chan HM (2000) Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St Lawrence River (Canada). *Aquat. Toxicol.* 50(1-2):51-71.
- Denny SK, Denny A & Paul T (2013) Distribution, prevalence and intensity of *Anguillicoloides crassus* in the American eel, *Anguilla rostrata*, in the Bras d'Or Lakes, Nova Scotia. *Bioinvasions Records* 2(1):19-26.
- Desrosiers M, Gagnon C, Masson S, Martel L & Babut MP (2008) Relationships among total recoverable and reactive metals and metalloids in St. Lawrence River sediment: Bioaccumulation by chironomids and implications for ecological risk assessment. *Sci. Total Environ.* 389(1):101-114.
- Durif C (2003) *La migration d'avalaison de l'anguille européenne Anguilla anguilla: caractérisation des fractions dévalantes phénomène de migration et franchissement d'obstacles*. Thèse de doctorat (Université Paul Sabatier, Toulouse). 348 p
- Durrieu G, Maury-Brachet R, Girardin M, Rochard E & Boudou A (2005) Contamination by heavy metals (Cd, Zn, Cu and Hg) of eight fish species in the Gironde Estuary (France). *Estuaries* 28(4):581-591.
- Dutil JD, Légaré B & Desjardins C (1985) Discrimination d'un stock de poisson, l'anguille (*Anguilla rostrata*), basée sur la présence d'un produit chimique de synthèse, le mirex. *Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques* 42(3):455-458.
- EC (2013) *La qualité des sédiments du Saint-Laurent - Lacs Saint-François, Saint-Louis et Saint-Pierre*. <http://ec.gc.ca/stl/default.asp?lang=Fr&n=9BBD091A-1> - archived (Consulté le 1er septembre 2013)
- Edeline E, Beaulaton L, Le Barh R & Elie P (2007) Dispersal in metamorphosing juvenile eel *Anguilla anguilla*. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.* 344:213-218.

- Fournier D & Caron F (2005) *Travaux de recherche sur l'anguille d'Amérique (Anguilla rostrata) de la Petite rivière de la Trinité en 2001 et synthèse des travaux de 1999 à 2001*. Ministère des ressources naturelles et de la Faune, Direction de la recherche sur le faune. 81 p
- Gauthier C, Campbell PGC & Couture P (2008) Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Comp. Biochem. Physiol. A-Mol. Integr. Physiol.* 151(4):526-532.
- Gauthier C, Campbell PGC & Couture P (2011) Enzymatic correlates of energy status in wild yellow perch inhabiting clean and contaminated environments. *Environ. Toxicol. Chem.* 30(9):2148-2156.
- Geeraerts C & Belpaire C (2010) The effects of contaminants in European eel: a review. *Ecotoxicology* 19(2):239-266.
- Haenen OLM (1995) *Anguillicola crassus (Nematoda, Dracunculoidea) infections of European eel (Anguilla anguilla) in the Netherlands: epidemiology, pathogenesis and pathobiology*. Thèse de doctorat (Université de l'agriculture de Wageningen - Landbouwniversiteit Wageningen). 127 p
- Haro A, Richkus W, Whalen K, Hoar A, Busch WD, Lary S, Brush T & Dixon D (2000) Population decline of the American eel: Implications for research and management. *Fisheries* 25(9):7-16.
- Hodson PV, Castonguay M, Couillard CM, Desjardins C, Pelletier E & McLeod R (1994) Spatial and temporal variations in chemical contamination of American eels, *Anguilla rostrata*, captured in the Estuary of the St. Lawrence River. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51(2):464-478.
- Hodson PV, Desjardins C, Pelletier E, Castonguay M, McLeod R & Couillard CM (1992) Baisse de la pollution chimique des anguilles d'Amérique (*Anguilla rostrata*) capturées dans l'estuaire du St-Laurent. *Rapp. tech. can. sci. halieut. aquat.* 1876: 60 p.
- IFREMER (2012) *Qualité du milieu marin littoral, Bulletin de surveillance 2012 - Départements: Gironde, Landes, Pyrénées Atlantiques*. Océanographie et Dynamique des Écosystèmes, Laboratoire Environnement Ressources d'Arcachon. 127 p
- Javedl M (2013) Chronic Effects of Nickel and Cobalt on Fish Growth. *Int. J. Agric. Biol.* 15(3):575-579.
- Johns C (2012) Trends of total cadmium, copper, and zinc in the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) along the upper reach of the St. Lawrence River: 1994-2005. *Environ. Monit. Assess.* 184(9):5371-5385.
- Kwan KHM, Chan HM & de Lafontaine Y (2003) Metal contamination in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) along the St. Lawrence River. *Environ. Monit. Assess.* 88(1-3):193-219.
- Lamson HM, Cairns DK, Shiao JC, Iizuka Y & Tzeng WN (2009) American eel, *Anguilla rostrata*, growth in fresh and salt water: implications for conservation and aquaculture. *Fisheries Manag. Ecol.* 16(4):306-314.

- Lanceleur L, Schafer J, Blanc G, Coynel A, Bossy C, Baudrimont M, Gle C, Larrose A, Renault S & Strady E (2013) Silver behaviour along the salinity gradient of the Gironde Estuary. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20(3):1352-1366.
- Lapointe D & Couture P (2010) Accumulation and effects of nickel and thallium in early-life stages of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Ecotox. Environ. Safe.* 73(4):572-578.
- Lapointe D, Pierron F & Couture P (2011) Individual and combined effects of heat stress and aqueous or dietary copper exposure in fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Aquat. Toxicol.* 104(1-2):80-85.
- Larrose A, Coynel A, Schafer J, Blanc G, Masse L & Maneux E (2010) Assessing the current state of the Gironde Estuary by mapping priority contaminant distribution and risk potential in surface sediment. *Appl. Geochem.* 25(12):1912-1923.
- Lauer MM, de Oliveira CB, Yano NLI & Bianchini A (2012) Copper effects on key metabolic enzymes and mitochondrial membrane potential in gills of the estuarine crab *Neohelice granulata* at different salinities. *Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol.* 156(3-4):140-147.
- LeCren ED (1951) The Length-Weight Relationship and Seasonal Cycle in Gonad Weight and Condition in the Perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology* 20(2):201-219.
- Levesque HM, Moon TW, Campbell PGC & Hontela A (2002) Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the field. *Aquat. Toxicol.* 60(3-4):257-267.
- Luckey FJ, Skinner LC, Whittle M, Williams DJ & Hayton A (2007) Anthropogenic chemical contaminants in fish. *The State of Lake Ontario in 2003*, Great Lakes Fishery Commission. Special publication 07-01, Ann Arbor, Michigan. p 23-34.
- Maes J, Belpaire C & Goemans G (2008) Spatial variations and temporal trends between 1994 and 2005 in polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides and heavy metals in European eel (*Anguilla anguilla* L.) in Flanders, Belgium. *Environ. Pollut.* 153(1):223-237.
- McCleave JD & Kleckner RC (1987) Distribution of leptocephali of the catadromous *Anguilla* species in the Western Sargasso Sea in relation to water circulation and migration. *Bull. Mar. Sci.* 41(3):789-806.
- Niedzwiecka N, Mika A, Bialk-Bielinska A, Stepnowski P & Skorkowski EF (2011) Effect of cadmium and glutathione on malic enzyme activity in brown shrimps (*Crangon crangon*) from the Gulf of Gdansk. *Oceanologia* 53(3):793-805.
- Nolasco Araujo R (2013) *Évaluation de la contamination actuelle de métaux lourds et certains composés organiques persistants chez des poissons d'intérêt sportif du fleuve Saint-Laurent à Québec*. Essai de maîtrise. Maîtrise en environnement, Université de Sherbrooke. 83 p
- Oliveira M, Gravato C & Guilhermino L (2012) Acute toxic effects of pyrene on *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae): Mortality, biomarkers and swimming performance. *Ecological Indicators* 19:206-214.



- Osman AGM, McKkawy IA, Verreth J & Kirschbaum F (2007) Effects of lead nitrate on the activity of metabolic enzymes during early developmental stages of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Fish Physiol. Biochem.* 33(1):1-13.
- Palstra AP, Heppener DFM, van Ginneken VJT, Szekely C & van den Thillart G (2007) Swimming performance of silver eels is severely impaired by the swim-bladder parasite *Anguillicola crassus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 352(1):244-256.
- Palstra AP, van Ginneken VJT, Murk AJ & van der Thillart GEEJM (2006) Are dioxin-like contaminants responsible for the eel (*Anguilla anguilla*) drama? *Naturwissenschaften* 93(3):145-148.
- Pankhurst NW & Sorensen PW (1984) Degeneration of the alimentary tract in sexually maturing european *Anguilla anguilla* (L.) and American eels *Anguilla rostrata* (Lesueur). *Can. J. Zool.-Rev. Can. Zool.* 62(6):1143-1149.
- Pelletier D, Dutil JD, Blier P & Guderley H (1994) Relation between growth rate and metabolic organization of white muscle, liver and digestive tract in cod, *Gadus morhua*. *J. Comp. Physiol. B-Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 164(3):179-190.
- Pelletier D, Guderley H & Dutil JD (1993) Does the aerobic capacity of fish muscle change with growth rates? *Fish Physiol. Biochem.* 12(2):83-93.
- Pelletier M (2008) *Évolution spatiale et temporelle de la dynamique et de la géochimie des sédiments du lac Saint-Pierre*. Environnement Canada - Direction générale des sciences et de la technologie, Monitoring et surveillance de la qualité de l'eau au Québec. Rapport scientifique et technique ST-240. 94 p. + annexes p
- Pelletier M (2010) *Suivi de la qualité des sédiments au lac Saint-François*. Environnement Canada - Direction générale des sciences et de la technologie, Monitoring et surveillance de la qualité de l'eau au Québec. Rapport scientifique et technique, 67 pages.
- Pelster B, Bailey JR & Driedzic WR (1997) The fate of C-14 infused into the swim bladder of the American eel, *Anguilla rostrata*. *Can. J. Zool.-Rev. Can. Zool.* 75(1):116-121.
- Pierron F (2007) *Études des mécanismes de bioaccumulation du cadmium et des effets toxiques associés à différents stades de vie de l'anguille européenne (Anguilla anguilla L.)*. (Université Bordeaux 1, Bordeaux, France). 294 p
- Pierron F, Baudrimont M, Bossy A, Bourdineaud JP, Brethes D, Elie P & Massabuau JC (2007a) Impairment of lipid storage by cadmium in the European eel (*Anguilla anguilla*). *Aquat. Toxicol.* 81(3):304-311.
- Pierron F, Baudrimont M, Gonzalez P, Bourdineaud JP, Elie P & Massabuau JC (2007b) Common pattern of gene expression in response to hypoxia or cadmium in the gills of the European glass eel (*Anguilla anguilla*). *Environ. Sci. Technol.* 41(8):3005-3011.
- Pierron F, Bourret V, St-Cyr J, Campbell PGC, Bernatchez L & Couture P (2009) Transcriptional responses to environmental metal exposure in wild yellow perch (*Perca flavescens*) collected in lakes with differing environmental metal concentrations (Cd, Cu, Ni). *Ecotoxicology* 18(5):620-631.

- Rajotte JW & Couture P (2002) Effects of environmental metal contamination on the condition, swimming performance, and tissue metabolic capacities of wild yellow perch (*Perca flavescens*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59(8):1296-1304.
- Richman LA (1997) *St. Lawrence River Sediment chemical assesment 1997, Cornwall, Ontario*. Water Monitoring Section. Environmental Monitoring and Reporting Branch. Ontario Ministry of Environment. 66 p
- Robert S, Blanc G, Schafer J, Lavaux G & Abril GL (2004) Metal mobilization in the Gironde Estuary (France): the role of the soft mud layer in the maximum turbidity zone. *Mar. Chem.* 87(1-2):1-13.
- Rodsaether MC, Olafsen J, Raa J, Myhre K & Steen JB (1977) Copper as an initiating factor of vibriosis (*Vibrio anguillarum*) in eel (*Anguilla anguilla*). *J. Fish Biol.* 10(1):17-21.
- Sancho E, Fernandez-Vega C, Andreu E & Ferrando MD (2009) Effects of propanil on the European eel *Anguilla anguilla* and post-exposure recovery using selected biomarkers as effect criteria. *Ecotox. Environ. Safe.* 72(3):704-713.
- Scott WB & Crossman EJ (1974) *Les poissons d'eau douce du Canada*. Office des recherches sur les pêcheries du Canada. Bulletin No. 184. 966 p
- Stone R (2003) Ecology - Freshwater eels are slip-sliding away. *Science* 302(5643):221-222.
- Strady E, Kervella S, Blanc G, Robert S, Stanisiere JY, Coynel A & Schafer J (2011) Spatial and temporal variations in trace metal concentrations in surface sediments of the Marennes Oleron Bay. Relation to hydrodynamic forcing. *Cont. Shelf Res.* 31(9):997-1007.
- Tesch FW (2003) *The Eel*. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, 3e édition (édition anglaise). 408 p
- Thomas JK, Wiseman S, Giesy JP & Janz DM (2013) Effects of chronic dietary selenomethionine exposure on repeat swimming performance, aerobic metabolism and methionine catabolism in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Aquat. Toxicol.* 130:112-122.
- Tugiyono & Gagnon MM (2002) Metabolic disturbances in fish exposed to sodium pentachlorophenate (NaPCP) and 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126), individually or combined. *Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol.* 132(4):425-435.
- UICN (2013). <http://www.iucnredlist.org/details/60344/0> (Consulté le 6 août 2013)
- van Ginneken VJT & Maes GE (2005) The european eel (*Anguilla anguilla*, Linnaeus), its lifecycle, evolution and reproduction: a literature review. *Rev. Fish. Biol. Fish.* 15(4):367-398.
- Vidal B, Pasqualini C, Le Belle N, Holland MCH, Sbahi M, Vernier P, Zohar Y & Dufour S (2004) Dopamine inhibits luteinizing hormone synthesis and release in the juvenile European eel: A neuroendocrine lock for the onset of puberty. *Biol. Reprod.* 71(5):1491-1500.
- Wang CH & Tzeng WN (2000) The timing of metamorphosis and growth rates of American and European eel leptocephali: A mechanism of larval segregative migration. *Fish Res.* 46(1-3):191-205.

- Wirth T & Bernatchez L (2003) Decline of North Atlantic eels: a fatal synergy? *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.* 270(1516):681-688.
- Wu Y & Zhou QF (2012) Dose- and time-related changes in aerobic metabolism, chorionic disruption, and oxidative stress in embryonic medaka (*Oryzias latipes*): Underlying mechanisms for silver nanoparticle developmental toxicity. *Aquat. Toxicol.* 124:238-246.
- Wu Y & Zhou QF (2013) Silver nanoparticles cause oxidative damage and histological changes in medaka (*Oryzias latipes*) after 14 days of exposure. *Environ. Toxicol. Chem.* 32(1):165-173.
- Zimmerman JL (2008) *Rates of Swim Bladder Parasite Infection and PIT Tag Retention in Upstream Migrant American Eels of the Upper Potomac River Drainage*. Mémoire de Maîtrise (Davis College of Agriculture, Forestry and Consumer Sciences, Division of Forestry and Natural Resources, Morgantown, WV). 74 p

## 7 ANNEXES



ANNEXE I-a : Comparaison de la significativité des différences entre les moyennes d'activités enzymatiques du foie et du muscle d'*A. rostrata* pour chaque site de capture d'une même année d'échantillonnage, exprimées soit en  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu frais ou en  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  de protéines. Des lettres différentes (A ou B) indiquent une différence significative entre deux sites d'une même année d'échantillonnage ( $p < 0,05$ ). Un \ indique qu'il n'y a aucune différence significative entre les sites ( $p > 0,05$ ). Un \* indique que les deux formes d'expression des résultats n'affichent pas la même interprétation des différences intersites observées.

Tissu	Mesure	2011				2012			
		RSJ	RSO	LSP	LSF	RSJ	RSO	LSP	LSF
Foie	PK	\	\	\	\	\	\	\	\
	PK / protéines	\	\	\	\	\	\	\	\
	CS	\	\	\	\	\	\	\	\
	CS / protéines	\	\	\	\	\	\	\	\
	G6PDH	B	B	B	A	B	A	AB	A
	G6PDH / protéines	B	B	B	A	B	A	AB	A
	LDH	\	\	\	\	\	\	\	\
	LDH / protéines	B *	B *	A *	B *	B *	AB *	AB *	A *
Muscle	PK	B	A	AB	AB	B	A	AB	A
	PK / protéines	B	A	A *	A *	B	AB *	AB	A
	CS	B	A	B	B	AB	A	B	B
	CS / protéines	B	A	B	B	\*	\*	\*	\*
	CCO	B	A	B	B	B	A	B	B
	CCO / protéines	B	A	B	B	B	A	B	B
	LDH	\	\	\	\	\	\	\	\
	LDH / protéines	\	\	\	\	\	\	\	\



ANNEXE I-b : Comparaison de la significativité des différences entre les moyennes d'activités enzymatiques du foie et du muscle d'*A. anguilla* pour chaque site de capture d'une même année d'échantillonnage, exprimées soit en  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu frais ou en  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  de protéines. Des lettres différentes (A ou B) indique une différence significative entre deux sites d'une même année d'échantillonnage ( $p < 0,05$ ). Un \ indique qu'il n'y a aucune différence significative entre les sites ( $p > 0,05$ ). Un \* indique que les deux formes d'expression des résultats n'affichent pas la même interprétation des différences intersites observées.

Tissu	Mesure	2011				2012			
		Certes	Dordogne	Gironde	Garonne	Certes	Dordogne	Gironde	Garonne
Foie	PK	AB	B	A	AB	B	A	A	B
	PK / protéines	\ *	\ *	\ *	\ *	B	A	AB *	A *
	CS	A	A	AB	B	\	\	\	\
	CS / protéines	B *	A	B *	B	B *	B *	A *	B *
	G6PDH	A	B	B	AB	B	B	A	B
	G6PDH / protéines	A	AB *	B	AB	B	B	A	AB *
	LDH	\	\	\	\	B	A	B	B
	LDH / protéines	\	\	\	\	B	A	B	AB *
Muscle	PK	\	\	\	\	AB	AB	B	A
	PK / protéines	\	\	\	\	\ *	\ *	\ *	\ *
	CS	A	A	B	B	\	\	\	\
	CS / protéines	\ *	\ *	\ *	\ *	\	\	\	\
	CCO	A	A	B	AB	AB	A	B	AB
	CCO / protéines	\ *	\ *	\ *	\ *	B *	A	B	B *
	LDH	\	\	\	\	\	\	\	\
	LDH / protéines	\	\	\	\	\	\	\	\





**ANNEXE II : Exemple de facteur de correction apporté aux activités enzymatiques. Les valeurs moyennes d'activités enzymatiques sont exprimées en  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ .**

	<i>Moyenne 1er essai</i>	<i>Moyenne 2e essai</i>	<i>Moyenne 3e essai</i>	<i>Moyenne 2e et 3e essais</i>	<i>Écart 1er essai à la moyenne des 2 autres (%)</i>	<i>Moyenne du 1er essai ajustée</i>	<i>Écart 1er essai ajusté à la moyenne (%)</i>
Certes	<b>0,84</b>	1,43	1,28	1,35	- 37,60	<b>1,22</b>	<b>- 10,85</b>
Dordogne	<b>0,77</b>	1,30	1,01	1,16	- 33,37	<b>1,10</b>	<b>- 4,82</b>
Garonne	<b>0,96</b>	1,44	1,38	1,41	- 31,75	<b>1,38</b>	<b>- 2,50</b>
Gironde	<b>0,77</b>	1,62	1,27	1,44	- 46,59	<b>1,10</b>	<b>- 23,7</b>
FPC139	<b>0,86</b>	0,99	1,17	1,08	- 25,88	<b>1,23</b>	<b>+ 14,95</b>
Moyenne des écarts des 4 sites (%)					- 37,33		
Moyenne des 4 sites avec FPC139 (%)					- 31,16		
<b>Facteur de correction (%)</b>					<b>+ 31</b>		

Étapes:

1. Calculer la moyenne des activités enzymatiques pour chaque site et pour le contrôle (dans l'exemple, FPC139), et ce pour chacune des trois journées d'essais (les trois premières colonnes).
2. Calculer pour chaque site la moyenne des deux essais qui semblent normaux (quatrième colonne), puis calculer l'écart entre cette moyenne et l'essai problématique (dans l'exemple, le 1<sup>er</sup> essai). Calculer aussi l'écart à la moyenne pour le contrôle (FPC139).
3. Calculer la moyenne des écarts pour les 4 sites.
4. Calculer la moyenne globale des quatre sites et du contrôle (dans l'exemple, moyenne de 37,33 et 31,16). Ce résultat arrondi à l'unité près est le facteur de correction.
5. Appliquer le facteur de correction sur les moyennes de chaque site et du contrôle de l'essai qui pose problème.

*Exemple:* Moyenne ajustée de Certes =  $0,84 * 100 / 69 = 1,22$

6. Calculer enfin l'écart de la moyenne de l'essai problématique ajusté à la moyenne des deux autres essais. L'essai est validé car le contrôle revient sous les 15% d'erreur.



ANNEXE III - Taille (mm), masse (g), âge (ans) et indices de condition moyens ( $\pm$  écart-type) des anguille d'Amérique et d'Europe, selon le site de capture et l'année d'échantillonnage. Des lettres différentes (A, B, C ou D) désignent des différences significatives ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer). Une valeur soulignée indique une différence significative d'une année sur l'autre pour un même site ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer). Le nombre d'échantillons par site pour une même année est de 15, sauf lorsqu'indiqué différemment entre parenthèses. Le Kn a été calculé selon les recommandations de Blackwell *et al.* 2000 et LeCren *et al.* 1951.

Mesure	Année	Anguille d'Amérique				Anguille d'Europe			
		RSJ	RSO	LSP	LSF	Certes	Dordogne	Gironde	Garonne
Taille	2011	530 $\pm$ 87 <sup>B</sup>	348 $\pm$ 72 <sup>C</sup>	<u>891 <math>\pm</math> 41<sup>A</sup></u>	828 $\pm$ 55 <sup>A</sup>	434 $\pm$ 74 <sup>B</sup>	<u>338 <math>\pm</math> 50<sup>C</sup></u>	<u>579 <math>\pm</math> 58<sup>A</sup></u>	<u>443 <math>\pm</math> 69<sup>B</sup></u>
	2012	501 $\pm$ 109 <sup>C</sup>	386 $\pm$ 96 <sup>D</sup>	686 $\pm$ 96 <sup>B</sup>	815 $\pm$ 80 <sup>A</sup>	455 $\pm$ 71 <sup>AB</sup>	397 $\pm$ 57 <sup>B</sup>	443 $\pm$ 51 <sup>AB</sup>	522 $\pm$ 133 <sup>A</sup>
Masse	2011	290 $\pm$ 146 <sup>C</sup>	78 $\pm$ 72 <sup>D</sup>	<u>1435 <math>\pm</math> 209<sup>A</sup></u>	<u>1222 <math>\pm</math> 125<sup>B</sup></u>	157 $\pm$ 121 <sup>B</sup>	63 $\pm$ 41 <sup>B</sup> (14)	<u>350 <math>\pm</math> 124<sup>A</sup></u>	<u>156 <math>\pm</math> 87<sup>B</sup></u>
	2012	278 $\pm$ 197 <sup>C</sup>	93 $\pm$ 71 <sup>C</sup>	623 $\pm$ 243 <sup>B</sup>	1013 $\pm$ 221 <sup>A</sup>	180 $\pm$ 95 <sup>AB</sup>	91 $\pm$ 42 <sup>B</sup>	145 $\pm$ 45 <sup>B</sup>	281 $\pm$ 201 <sup>A</sup>
18 Âge	2011	9,3 $\pm$ 2,6 <sup>B</sup>	7,7 $\pm$ 2,0 <sup>B</sup>	<u>22,4 <math>\pm</math> 10,2<sup>B</sup></u>	10,8 $\pm$ 2,0 <sup>A</sup>	4,1 $\pm$ 1,6 <sup>C</sup> (14)	<u>4,3 <math>\pm</math> 0,8<sup>BC</sup></u>	<u>9,3 <math>\pm</math> 2,6<sup>A</sup></u>	<u>6,0 <math>\pm</math> 2,2<sup>B</sup></u>
	2012	9,9 $\pm$ 3,0 <sup>AB</sup>	8,9 $\pm$ 2,5 <sup>B</sup>	10,0 $\pm$ 5,9 <sup>AB</sup>	14,6 $\pm$ 7,1 <sup>A</sup>	4,1 $\pm$ 1,0 <sup>B</sup>	6,5 $\pm$ 3,6 <sup>B</sup> (14)	6,9 $\pm$ 3,3 <sup>B</sup>	11,0 $\pm$ 3,5 <sup>A</sup> (14)
Fulton	2011	0,18 $\pm$ 0,03 <sup>BC</sup>	0,15 $\pm$ 0,03 <sup>C</sup>	0,20 $\pm$ 0,03 <sup>AB</sup>	<u>0,22 <math>\pm</math> 0,03<sup>A</sup></u>	0,17 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>	0,15 $\pm$ 0,02 <sup>B</sup>	0,17 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>	0,16 $\pm$ 0,02 <sup>AB</sup>
	2012	0,18 $\pm$ 0,04 <sup>A</sup>	0,14 $\pm$ 0,02 <sup>B</sup>	0,19 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>	0,19 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>	0,18 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>	0,14 $\pm$ 0,02 <sup>B</sup>	0,17 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>	0,17 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>
Kn	2011	1,03 $\pm$ 0,12	0,99 $\pm$ 0,16	1,01 $\pm$ 0,15	<u>1,11 <math>\pm</math> 0,18</u>	1,07 $\pm$ 0,13	<u>0,98 <math>\pm</math> 0,13</u>	1,02 $\pm$ 0,08	1,02 $\pm$ 0,10
	2012	1,06 $\pm$ 0,17 <sup>A</sup>	0,92 $\pm$ 0,14 <sup>B</sup>	0,99 $\pm$ 0,11 <sup>AB</sup>	0,95 $\pm$ 0,12 <sup>AB</sup>	1,07 $\pm$ 0,12 <sup>A</sup>	0,90 $\pm$ 0,11 <sup>B</sup>	1,02 $\pm$ 0,15 <sup>AB</sup>	1,03 $\pm$ 0,14 <sup>A</sup>



ANNEXE IV - Équations obtenues à partir des régressions multiples pour le foie et le muscle des deux espèces d'anguilles. Toutes les variables dépendantes et explicatives expriment des valeurs transformées en  $\log_{10}$ .

Tissu	Variable	Espèce	
		<i>A. rostrata</i>	<i>A. anguilla</i>
Foie	PK	$= -0,518 + 0,247 * Zn - 0,096 * Ag$	$= -0,939 + 0,101 * \hat{A}ge + 0,533 * Protéines - 0,093 * Se + 0,080 * Pb$
	CS	$= -0,330 + 0,492 * Protéines + 0,038 * Pb$	$= -0,209 + 0,364 * Protéines + 0,071 * Ag + 0,036 * Cd - 0,230 * Pb$
	G6PDH	$= -1,666 + 1,061 * Protéines - 0,138 * Ni - 0,436 * Ag - 0,137 * Pb$	$= 0,726 + 1,899 * Kn$
	LDH	$= -1,123 + 0,056 * Masse + 0,663 * Protéines - 0,069 * Ni$	$= -1,271 - 0,081 * Masse + 0,189 * \hat{A}ge + 0,529 * Protéines + 0,089 * Ni + 0,201 + 0,247 * Zn - 0,248 * Se - 0,106 * Ag + 0,052 * Cd$
	Protéines	$= 2,151 - 0,142 * \hat{A}ge$	$= 1,582 + 0,134 * Cu + 0,194 * Zn - 0,150 * Se - 0,097 * Ag + 0,036 * Cd + 0,050 * Pb$
	Kn	$= -0,147 + 0,085 * As + 0,076 * Se - 0,037 * Ag - 0,058 * Cd$	$= -0,074 + 0,059 * Se - 0,025 * Cd$
Muscle	PK	$= 0,941 + 0,532 * Protéines + 0,120 * Cu + 0,190 * Hg - 0,040 * As$	$= 1,331 + 0,302 * Kn + 0,270 * Protéines + 0,076 * Cu - 0,049 * As - 0,063 * Cr$
	CS	$= 0,314 - 0,217 * Masse + 0,166 * Protéines + 0,150 * Hg$	$= 0,116 - 0,141 * Masse + 0,145 * Zn - 0,099 * Se$
	CCO	$= 0,664 - 0,394 * Masse + 0,314 * Protéines + 0,184 * Hg$	$= -0,411 - 0,179 * Masse + 0,337 * Protéines + 0,209 * Zn - 0,092 * Se - 0,0885 * Ni + 0,073 * Pb$
	LDH	$= 1,239 + 0,475 * Protéines$	$= 2,232 - 0,181 * Se - 0,046 * Ag$
	Protéines	$= 2,380 - 0,154 * \hat{A}ge - 0,077 * Cu + 0,055 * Cd$	$= 2,044 + 0,121 * Cu - 0,054 * As - 0,239 * Hg$
	Kn	$= -0,103 + 0,066 * Masse - 0,082 * \hat{A}ge - 0,037 * Ni + 0,036 * Cu - 0,062 * Hg + 0,025 * Ag$	$= -0,119 + 0,039 * Masse + 0,018 * Cd - 0,078 * Hg - 0,020 * Pb$



**ANNEXE V-a :** Concentrations moyennes ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu sec  $\pm$  écart-type) en contaminants inorganiques dans les échantillons de foie d'*Anguilla rostrata* selon le site d'échantillonnage (terrains 2011 et 2012). Le nombre d'échantillons par site est indiqué entre parenthèses (celui pour le Hg est indiqué au niveau de chaque moyenne). Données fournies par Pauline Pannetier (INRS-ETE), sauf celles pour le foie des anguilles de 2012 fournies par Maïkel Rosabal (INRS-ETE).

	2011				2012			
	RSJ (14)	RSO (10)	LSP (15)	LSF (14)	RSJ (15)	RSO (15)	LSP (15)	LSF (15)
Cd	0,372 $\pm$ 0,242	1,08 $\pm$ 0,91	2,07 $\pm$ 2,81	0,364 $\pm$ 0,166	0,233 $\pm$ 0,092	1,404 $\pm$ 0,794	0,842 $\pm$ 0,981	0,454 $\pm$ 0,359
Cu	70,0 $\pm$ 29,3	34,4 $\pm$ 18,0	200,0 $\pm$ 181,5	132,9 $\pm$ 39,6	58,6 $\pm$ 30,0	29,8 $\pm$ 10,2	93,9 $\pm$ 34,5	95,1 $\pm$ 37,9
Zn	246 $\pm$ 165	133 $\pm$ 58	267 $\pm$ 121	284 $\pm$ 98	156 $\pm$ 41	109 $\pm$ 22	192 $\pm$ 75	156 $\pm$ 56
Ag	0,728 $\pm$ 0,327	0,397 $\pm$ 0,182	1,403 $\pm$ 1,538	0,231 $\pm$ 0,101	1,199 $\pm$ 0,505	0,693 $\pm$ 0,289	0,956 $\pm$ 0,777	0,478 $\pm$ 0,189
As	3,89 $\pm$ 1,00	2,55 $\pm$ 1,59	2,41 $\pm$ 1,93	1,91 $\pm$ 0,53	3,33 $\pm$ 1,05	2,83 $\pm$ 1,56	1,84 $\pm$ 1,44	0,77 $\pm$ 0,68
Pb	0,314 $\pm$ 0,198	0,152 $\pm$ 0,066	0,457 $\pm$ 0,483	0,063 $\pm$ 0,025	0,270 $\pm$ 0,114	1,573 $\pm$ 5,201	0,143 $\pm$ 0,114	0,096 $\pm$ 0,118
Cr	1,757 $\pm$ 0,871	0,952 $\pm$ 0,517	2,343 $\pm$ 6,042	1,331 $\pm$ 1,176	2,874 $\pm$ 6,650	0,805 $\pm$ 0,666	1,117 $\pm$ 0,361	2,332 $\pm$ 2,043
Ni	0,363 $\pm$ 0,304	0,177 $\pm$ 0,112	0,110 $\pm$ 0,065	0,211 $\pm$ 0,170	0,490 $\pm$ 0,521	0,183 $\pm$ 0,050	0,186 $\pm$ 0,115	0,109 $\pm$ 0,049
Hg	0,053 (1)	0,283 $\pm$ 0,213 (3)	0,295 $\pm$ 0,015 (2)	1,597 $\pm$ 0,629 (8)	0,166 $\pm$ 0,092 (11)	0,583 $\pm$ 0,516 (10)	0,799 $\pm$ 0,465	1,853 $\pm$ 1,048
Se	14,6 $\pm$ 3,8	11,9 $\pm$ 4,2	34,3 $\pm$ 12,4	37,8 $\pm$ 8,0	12,0 $\pm$ 5,7	13,2 $\pm$ 5,7	22,2 $\pm$ 9,4	27,1 $\pm$ 5,7





**ANNEXE V-b : Concentrations moyennes ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu sec  $\pm$  écart-type) en contaminants inorganiques dans les échantillons de muscle d'*Anguilla rostrata* selon le site d'échantillonnage (terrains 2011 et 2012). Le nombre d'échantillons par site est indiqué entre parenthèses. Données fournies par Pauline Pannetier (INRS-ETE).**

	2011				2012			
	RSJ (14)	RSO (15)	LSP (15)	LSF (14)	RSJ (15)	RSO (15)	LSP (15)	LSF (15)
Cd	0,010 $\pm$ 0,012	0,013 $\pm$ 0,011	0,010 $\pm$ 0,011	0,006 $\pm$ 0,006	0,040 $\pm$ 0,087	0,013 $\pm$ 0,010	0,010 $\pm$ 0,010	0,014 $\pm$ 0,015
Cu	1,336 $\pm$ 0,256	1,925 $\pm$ 1,039	1,074 $\pm$ 1,140	0,742 $\pm$ 0,675	1,007 $\pm$ 0,617	1,224 $\pm$ 1,283	1,600 $\pm$ 1,993	0,847 $\pm$ 0,595
Zn	113 $\pm$ 61	80 $\pm$ 23	103 $\pm$ 22	61 $\pm$ 17	85 $\pm$ 22	101 $\pm$ 60	75 $\pm$ 16	72 $\pm$ 33
Ag	0,129 $\pm$ 0,171	0,102 $\pm$ 0,172	0,080 $\pm$ 0,066	0,116 $\pm$ 0,226	0,142 $\pm$ 0,170	0,190 $\pm$ 0,417	0,045 $\pm$ 0,046	0,089 $\pm$ 0,130
As	3,637 $\pm$ 1,325	1,783 $\pm$ 0,898	0,869 $\pm$ 1,031	0,287 $\pm$ 0,094	3,204 $\pm$ 0,929	1,408 $\pm$ 0,640	0,315 $\pm$ 0,142	1,265 $\pm$ 2,645
Pb	0,031 $\pm$ 0,030	0,050 $\pm$ 0,051	0,040 $\pm$ 0,075	0,012 $\pm$ 0,016	0,034 $\pm$ 0,080	0,068 $\pm$ 0,201	0,031 $\pm$ 0,067	0,024 $\pm$ 0,020
Cr	0,681 $\pm$ 0,371	1,178 $\pm$ 0,917	0,464 $\pm$ 0,200	0,846 $\pm$ 0,989	0,700 $\pm$ 0,583	0,962 $\pm$ 1,072	0,713 $\pm$ 0,741	0,390 $\pm$ 0,153
Ni	0,360 $\pm$ 0,334	0,232 $\pm$ 0,114	0,180 $\pm$ 0,114	0,076 $\pm$ 0,087	0,132 $\pm$ 0,089	0,249 $\pm$ 0,304	0,381 $\pm$ 0,677	0,646 $\pm$ 1,355
Hg	0,263 $\pm$ 0,079	0,633 $\pm$ 0,453 (14)	0,823 $\pm$ 0,359	0,870 $\pm$ 0,189	0,244 $\pm$ 0,069	0,611 $\pm$ 0,228	0,578 $\pm$ 0,175	0,998 $\pm$ 0,402 (14)
Se	2,47 $\pm$ 1,78	3,09 $\pm$ 2,22	2,77 $\pm$ 1,76	3,58 $\pm$ 1,05	3,85 $\pm$ 1,95	3,38 $\pm$ 2,31	3,66 $\pm$ 1,97	3,13 $\pm$ 1,44



ANNEXE V-c : Concentrations moyennes ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu sec  $\pm$  écart-type) en contaminants inorganiques dans les échantillons de foie d'*Anguilla anguilla* selon le site d'échantillonnage (terrains 2011 et 2012). Le nombre d'échantillons par site est indiqué entre parenthèses (celui pour le Hg est indiqué au niveau de chaque moyenne). Données fournies par Pauline Pannetier (INRS-ETE), sauf celles pour le foie des anguilles de 2012 fournies par Maïkel Rosabal (INRS-ETE).

	2011				2012			
	Certes (15)	Dordogne (14)	Gironde (15)	Garonne (15)	Certes (15)	Dordogne (14)	Gironde (15)	Garonne (15)
Cd	0,055 $\pm$ 0,039	4,696 $\pm$ 1,855	11,408 $\pm$ 5,719	2,199 $\pm$ 2,775	0,480 $\pm$ 1,750	2,395 $\pm$ 0,922	3,304 $\pm$ 1,697	2,382 $\pm$ 1,275
Cu	64,6 $\pm$ 16,2	44,2 $\pm$ 20,2	114,3 $\pm$ 30,7	53,4 $\pm$ 30,4	61,7 $\pm$ 25,1	59,5 $\pm$ 25,8	60,1 $\pm$ 29,8	32,4 $\pm$ 21,8
Zn	207 $\pm$ 44	146 $\pm$ 24	234 $\pm$ 58	186 $\pm$ 74	165 $\pm$ 33	158 $\pm$ 39	156 $\pm$ 40	106 $\pm$ 45
Ag	0,155 $\pm$ 0,064	0,149 $\pm$ 0,068	1,377 $\pm$ 0,657	0,508 $\pm$ 0,560	0,571 $\pm$ 0,140	0,899 $\pm$ 0,345	1,238 $\pm$ 0,882	0,433 $\pm$ 0,167
As	5,98 $\pm$ 1,65	1,99 $\pm$ 0,77	8,01 $\pm$ 2,75	1,88 $\pm$ 1,35	7,42 $\pm$ 3,40	1,78 $\pm$ 1,06	2,61 $\pm$ 0,97	1,58 $\pm$ 2,87
Pb	0,337 $\pm$ 0,224	0,616 $\pm$ 0,330	1,536 $\pm$ 0,567	0,984 $\pm$ 0,604	0,129 $\pm$ 0,055	0,449 $\pm$ 0,206	0,691 $\pm$ 0,435	0,122 $\pm$ 0,070
Cr	2,633 $\pm$ 6,141	1,967 $\pm$ 2,742	0,656 $\pm$ 0,630	0,983 $\pm$ 0,690	2,767 $\pm$ 1,960	1,972 $\pm$ 1,245	0,918 $\pm$ 0,264	0,934 $\pm$ 0,673
Ni	0,885 $\pm$ 1,011	0,280 $\pm$ 0,381	0,186 $\pm$ 0,227	0,224 $\pm$ 0,329	0,286 $\pm$ 0,136	0,361 $\pm$ 0,343	0,129 $\pm$ 0,062	0,325 $\pm$ 0,378
Hg	0,208 $\pm$ 0,098 (13)	0,571 $\pm$ 0,129 (2)	1,289 $\pm$ 0,546	0,637 $\pm$ 0,615 (12)	0,101 $\pm$ 0,084 (5)	0,802 $\pm$ 0,438 (6)	0,505 $\pm$ 0,236 (13)	0,353 $\pm$ 0,149 (11)
Se	15,0 $\pm$ 7,9	31,7 $\pm$ 8,8	50,6 $\pm$ 13,8	23,1 $\pm$ 11,0	14,0 $\pm$ 5,1	17,6 $\pm$ 4,3	24,3 $\pm$ 7,5	22,1 $\pm$ 12,0



ANNEXE V-d : Concentrations moyennes ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu sec  $\pm$  écart-type) en contaminants inorganiques dans les échantillons de muscle d'*Anguilla anguilla* selon le site d'échantillonnage (terrains 2011 et 2012). Le nombre d'échantillons par site est indiqué entre parenthèses. Données fournies par Pauline Pannetier (INRS-ETE).

	2011				2012			
	Certes (15)	Dordogne (15)	Gironde (15)	Garonne (15)	Certes (15)	Dordogne (15)	Gironde (15)	Garonne (15)
Cd	0,023 $\pm$ 0,051	0,029 $\pm$ 0,043	0,025 $\pm$ 0,015	0,011 $\pm$ 0,004	0,010 $\pm$ 0,08	0,016 $\pm$ 0,005	0,017 $\pm$ 0,009	0,908 $\pm$ 1,732
Cu	0,981 $\pm$ 1,076	1,070 $\pm$ 0,439	0,990 $\pm$ 0,719	0,915 $\pm$ 0,534	0,924 $\pm$ 0,640	0,856 $\pm$ 0,443	0,749 $\pm$ 0,555	2,846 $\pm$ 5,869
Zn	72 $\pm$ 28	90 $\pm$ 49	51 $\pm$ 19	56 $\pm$ 27	72 $\pm$ 72	67 $\pm$ 37	65 $\pm$ 29	95 $\pm$ 38
Ag	0,284 $\pm$ 0,739	0,092 $\pm$ 0,166	0,334 $\pm$ 1,004	0,076 $\pm$ 0,099	0,381 $\pm$ 0,546	0,045 $\pm$ 0,043	0,199 $\pm$ 0,323	0,180 $\pm$ 0,296
As	9,35 $\pm$ 5,54	1,36 $\pm$ 0,74	4,73 $\pm$ 1,93	1,64 $\pm$ 0,91	20,83 $\pm$ 12,3	1,33 $\pm$ 0,74	2,49 $\pm$ 1,22	2,36 $\pm$ 4,58
Pb	0,092 $\pm$ 0,250	0,053 $\pm$ 0,043	0,044 $\pm$ 0,041	0,114 $\pm$ 0,255	0,055 $\pm$ 0,097	0,065 $\pm$ 0,057	0,038 $\pm$ 0,052	0,080 $\pm$ 0,111
Cr	1,186 $\pm$ 1,704	3,024 $\pm$ 5,626	0,607 $\pm$ 0,870	0,358 $\pm$ 0,074	0,585 $\pm$ 0,428	0,374 $\pm$ 0,014	0,833 $\pm$ 1,040	1,280 $\pm$ 1,768
Ni	0,682 $\pm$ 0,576	0,530 $\pm$ 0,823	0,533 $\pm$ 0,746	0,125 $\pm$ 0,093	0,292 $\pm$ 0,208	0,171 $\pm$ 0,070	0,451 $\pm$ 0,962	0,569 $\pm$ 0,912
Hg	0,173 $\pm$ 0,044	0,369 $\pm$ 0,055	0,594 $\pm$ 0,188	0,279 $\pm$ 0,046	0,116 $\pm$ 0,038	0,429 $\pm$ 0,139	0,422 $\pm$ 0,166	0,421 $\pm$ 0,109
Se	2,20 $\pm$ 1,86	6,82 $\pm$ 2,35	4,38 $\pm$ 1,48	3,37 $\pm$ 1,88	2,52 $\pm$ 2,06	4,34 $\pm$ 1,70	4,30 $\pm$ 2,00	4,56 $\pm$ 2,55



**ANNEXE V-e : Concentrations moyennes ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu sec  $\pm$  écart-type) en contaminants inorganiques dans les échantillons de rein des anguilles selon le site d'échantillonnage (terrain 2011). Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'échantillons par site. Les lettres (A, B ou C) indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ , test HSD de Tukey-Kramer) entre les moyennes pour une espèce donnée.**

	<i>A. rostrata</i>				<i>A. anguilla</i>			
	RSJ (6)	RSO (5)	LSP (6)	LSF (6)	Certes (6)	Dordogne (6)	Gironde (6)	Garonne (6)
Cd	2,35 $\pm$ 1,84	2,23 $\pm$ 0,36	4,76 $\pm$ 3,17	1,75 $\pm$ 0,46	0,47 $\pm$ 0,42 <sup>C</sup>	27,29 $\pm$ 12,89 <sup>AB</sup>	52,30 $\pm$ 27,82 <sup>A</sup>	9,10 $\pm$ 6,16 <sup>BC</sup>
Cu	6,01 $\pm$ 1,64	9,30 $\pm$ 2,55	8,78 $\pm$ 2,85	5,94 $\pm$ 0,95	7,18 $\pm$ 1,97	28,45 $\pm$ 53,67	8,70 $\pm$ 1,59	6,07 $\pm$ 2,40
Zn	253,2 $\pm$ 80,3	250,5 $\pm$ 55,5	205,1 $\pm$ 43,1	182,7 $\pm$ 100,3	227,0 $\pm$ 42,5	255,7 $\pm$ 19,4	246,7 $\pm$ 78,1	198,6 $\pm$ 41,3
Ag	0,083 $\pm$ 0,038	0,397 $\pm$ 0,342	0,630 $\pm$ 1,011	0,094 $\pm$ 0,053	0,012 $\pm$ 0,003 <sup>B</sup>	0,095 $\pm$ 0,092 <sup>B</sup>	3,382 $\pm$ 3,647 <sup>A</sup>	0,130 $\pm$ 0,138 <sup>B</sup>
As	2,58 $\pm$ 0,88	1,60 $\pm$ 0,60	2,36 $\pm$ 2,80	0,97 $\pm$ 0,26	4,25 $\pm$ 2,05 <sup>AB</sup>	2,99 $\pm$ 1,86 <sup>AB</sup>	6,34 $\pm$ 3,62 <sup>A</sup>	1,08 $\pm$ 0,39 <sup>B</sup>
Pb	0,195 $\pm$ 0,153	0,122 $\pm$ 0,065	0,363 $\pm$ 0,408	0,095 $\pm$ 0,068	0,251 $\pm$ 0,076	0,739 $\pm$ 0,394	2,677 $\pm$ 1,531	2,708 $\pm$ 3,786
Cr	0,62 $\pm$ 0,16	0,66 $\pm$ 0,09	0,69 $\pm$ 0,12	0,86 $\pm$ 0,17	0,93 $\pm$ 0,32	1,40 $\pm$ 1,11	0,91 $\pm$ 0,63	0,71 $\pm$ 0,23
Ni	0,67 $\pm$ 0,21 <sup>A</sup>	0,55 $\pm$ 0,18 <sup>AB</sup>	0,47 $\pm$ 0,37 <sup>AB</sup>	0,26 $\pm$ 0,06 <sup>B</sup>	0,97 $\pm$ 0,80	0,56 $\pm$ 0,42	0,88 $\pm$ 0,42	0,46 $\pm$ 0,19
Hg	0,086 $\pm$ 0,030 <sup>C</sup>	0,301 $\pm$ 0,163 <sup>BC</sup>	1,066 $\pm$ 0,533 <sup>A</sup>	0,662 $\pm$ 0,146 <sup>AB</sup>	0,138 $\pm$ 0,129 <sup>B</sup>	0,275 $\pm$ 0,120 <sup>B</sup>	1,188 $\pm$ 0,529 <sup>A</sup>	0,090 $\pm$ 0,032 <sup>B</sup>
Se	9,28 $\pm$ 5,15	9,52 $\pm$ 0,70	15,14 $\pm$ 9,47	17,22 $\pm$ 2,90	8,77 $\pm$ 1,46 <sup>C</sup>	25,88 $\pm$ 5,14 <sup>B</sup>	38,56 $\pm$ 8,34 <sup>A</sup>	15,65 $\pm$ 4,61 <sup>C</sup>



