

Université du Québec

INRS-ETE

**RÉDUCTION BIOLOGIQUE ET PHOTOCHEMIE DU  
MERCURE DANS UN LAC DU BOUCLIER CANADIEN  
CAS DU LAC 658 DE LA RÉGION DES LACS EXPÉRIMENTAUX**

par

Alexandre Poulain

Mémoire

présenté comme exigence partielle de la

Maîtrise ès Sciences de l'eau

M.Sc.

Jury d'évaluation

Examineur externe

Frances R. Pick  
Department of Biology  
University of Ottawa

Examineur interne

Jean-Christian Auclair  
INRS-ETE  
Université du Québec

Directeur de recherche

Marc Amyot  
Département de sciences biologiques  
Université de Montréal.  
INRS-ETE  
Université du Québec

Décembre 2002

*If you can keep your head when all about you  
Are losing theirs and blaming it on you,  
If you can trust yourself when all men doubt you,  
But make allowance for their doubting too;  
If you can wait and not be tired by waiting,  
Or being lied about, don't deal in lies,  
Or being hated, don't give way to hating,  
And yet don't look too good, nor talk too wise:  
(...)*

*Yours is the Earth and everything that's in it,  
And - which is more - you'll be a Man, my son!  
(R. Kipling)*

*À mes parents, à mon frère*

## Remerciements

Je tiens à remercier sincèrement mon directeur de recherche, Marc Amyot, pour m'avoir fait bénéficier de son expérience sur le terrain et au laboratoire, de son support moral et intellectuel lors de nos innombrables discussions, de sa disponibilité et de son aide lors de la rédaction de ce mémoire. Je tiens aussi à le remercier pour la confiance qu'il m'a accordée en me proposant de travailler dans le cadre du projet METAALICUS. J'aimerais également remercier Jean-Christian Auclair pour son aide, lors de la préparation des terrains des deux dernières années. Nos nombreuses rencontres, son expérience et son esprit critique m'ont toujours permis d'orienter les expérimentations dans la bonne direction.

Merci sincèrement à Tamar Barkay, Dave Findlay, Steve Lindberg, George Southworth, Mike Paterson, Drew Bodaly et Cindy Gilmour pour les longues discussions sur le mercure et son avenir (...). Merci pour leur aide, leurs conseils et les réponses à mes nombreuses questions. Avoir pu les rencontrer a été une grande opportunité. Merci à John Rudd, Carol Kelly pour leurs conseils et leur aide sur le terrain. Merci spécialement à l'University of Alberta (Vince, Britt et Jenny) pour l'utilisation de leur matériel dans la salle blanche.

Cette recherche n'aurait pas pu être possible sans le support quotidien des personnes avec qui j'ai eu la chance de travailler à ELA. Leur aide inconditionnelle et leur bonne humeur lors des échantillonnages à n'importe quel moment du jour ou de la nuit ou lorsque les conditions étaient les moins aisées, a été très précieuse. Merci à Ken Sandilands, Justin « I am too tall » Shead, Jenny « cougar » Graydon, Tara Trinko, Mike. « Mr.T, what now » Tate, Liz Joyce, Mariah Mailman, Britt Hall, Todd Kuiken, Tristan F. Hodge, , Kasia, Bryan, Marnie, Rose, Doug, Les and Ian.

Merci à Anne pour son soutien en tout temps et pour son «don» tout particulier à me faire voir la vie du bon côté.

Merci à mes colocs, Séline, Jessica et Claire. Leur support sans borne, leur bonne humeur, leur aide, nos meilleurs moments, comme ceux les plus difficiles, ont contribué à rendre les deux premières années de mon expérience canadienne inoubliable.

Merci tout particulièrement à Janick et José pour leur aide, leurs conseils et leur amitié tout au long de ces deux années.

Merci à Gérald, Patrice, Céline, Catalina, Lisa, Guillaume, Annie, Renaud, Karelle, François, Emmanuelle, Simon et Amiel pour leur amitié et leur rire durant les longues journées de labo et les trop courtes soirées qui s'en suivirent.

Merci à Pauline, Michelle, Sébastien, René et Stéfane pour leur aide au laboratoire à l'INRS.

Merci à mes amis restés en France, à ceux qui manquent chaque jour, Merci, Géraldine, Charles, Sébastien, Seba, Magaly, Marc, Flavie, Fabrice, Hugues, Laure, Xavier, Carine, Élodie, Raphaël, Olivier.

Enfin, je tiens à remercier mes parents, pour leur aide dans chacune des étapes de cette vie. Merci pour tout ce que vous avez donné sans compter, pour votre soutien, vos avis, vos conseils, merci pour tout, merci d'être là.

#### Crédit concernant les résultats présentés

Les résultats de chlorophylle *a*, ainsi qu'une partie des données de lumière proviennent du laboratoire de chimie de l'Experimental Lakes Area. Ils sont présentés dans ce mémoire avec l'aimable autorisation de Stephen J. Page, directeur de ce laboratoire. Toute reproduction de ces résultats ou utilisation de ces données est donc soumise à autorisation. Les données météorologiques ont été obtenues à l'aide d'une station flottante appartenant à l'Oak Ridge National Laboratory, organisme représenté dans le cadre de ce projet par Steve Lindberg et Georges Southworth. Les résultats de mercure total isotopiques ( $^{202}\text{Hg}$ ) de la partie 4.2 sont reproduits ici avec l'aimable autorisation de Holger Hintelmann, Trent University, Peterborough, ON, Canada.

## Résumé

La formation de mercure volatil dissous (MVD), formé majoritairement de mercure élémentaire, permet, grâce au phénomène d'évasion, de réduire le réservoir de mercure disponible pour la méthylation. En milieu naturel, les réactions photochimiques et biologiques permettent d'expliquer cette formation, mais les acteurs de cette production (ligands, types de micro-organismes...) sont méconnus.

Notre étude prend place au sein du vaste projet METAALICUS (Mercury Experiment to Assess Atmospheric Loading in Canada and the United-States), visant au suivi du destin de trois isotopes stables appliqués sur les trois composantes du bassin versant d'un lac, (la zone humide, la zone sèche et le lac lui-même).

Nous avons tenté de mettre en évidence la participation et l'importance relative des phénomènes biologiques et photochimiques conduisant à la formation de mercure volatil dissous à des concentrations naturelles de l'ordre du picomolaire. Pour cela, nous avons suivi la distribution spatio-temporelle des concentrations en MVD au sein de la colonne d'eau du Lac 658 de la Région des Lacs Expérimentaux. Ce suivi s'est traduit par la conduite de profils en profondeur tout au long de notre période d'échantillonnage, entre mai et octobre 2001, en février et mars 2002, puis finalement, entre juin et août 2002. Afin de caractériser au mieux la cinétique des réactions de surface et les types de réactions impliquées plus en profondeur, nous avons conduit des expériences d'incubation *in-situ*.

En surface, les réactions photochimiques dirigent principalement la formation de mercure volatil dissous. Ces réactions permettent à 20% de la charge de mercure isotopique ajoutée au lac sur une période de 20 semaines de retourner vers l'atmosphère grâce aux processus d'évasion.

En profondeur, la production de mercure volatil dissous est fortement associée aux organismes phytoplanctoniques typiquement les Chrysophycées et les Dinoflagellés, populations majoritaires des blooms métalimnétiques de la Région des Lacs Expérimentaux. Cette génération est stoppée lors de l'ajout d'un inhibiteur de la photosynthèse, conduisant à une diminution des concentrations d'environ 45% par

rapport aux concentrations initiales. Cette diminution est attribuée aux réactions d'oxydation.

À la base de l'hypolimnion, les mécanismes responsables de la réduction du Hg restent incertains. Les organismes procaryotes, par une voie différente de celle du *mer*-opéron classiquement rencontré, pourraient être les acteurs de cette réduction. Cependant, les réactions abiotiques impliquant les substances humiques en milieu dépourvu d'oxygène constituent toujours une hypothèse d'intérêt.

# Table des matières

<b>REMERCIEMENTS</b>	<b>V</b>
<b>RÉSUMÉ</b>	<b>VII</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	<b>XII</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b>	<b>XIII</b>
<b>1. INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
1.1. Contexte	1
1.2. Omniprésence du Hg dans les écosystèmes	2
1.3. Le projet METAALICUS	5
1.4. La réduction du Hg	6
1.4.1. La réduction abiotique du mercure	7
1.4.1.1. <i>Les réactions photochimiques</i>	7
1.4.1.2. <i>Les réactions à l'obscurité</i>	8
1.4.2. La réduction biologique du mercure	8
1.4.2.1. <i>Réduction du Hg par les algues et les organismes photosynthétiques</i> **	9
1.4.2.2. <i>Réduction du Hg par les bactéries.</i>	13
1.5. Synthèse des connaissances sur la réduction biologique du Hg	14
<b>2. OBJECTIFS</b>	<b>15</b>
<b>3. MATÉRIEL ET MÉTHODES</b>	<b>17</b>
3.1. Les lacs d'intérêt	17
3.2. Ajout des isotopes au lac 658	20
3.3. Suivi des concentrations en Mercure Volatil Dissous à la surface du lac 658	21

<b>3.4. Suivi de la distribution spatiale des concentrations en MVD</b>	<b>21</b>
<b>3.5. Expérience d'incubation</b>	<b>23</b>
<b>3.6. Analyse du Mercure Volatil Dissous</b>	<b>24</b>
<b>3.7. Analyse et identification du phytoplancton</b>	<b>25</b>
<b>3.8. Analyse du <i>mer-A</i></b>	<b>26</b>
<b>4. DISTRIBUTION SPATIALE DES CONCENTRATIONS EN MERCURE VOLATIL DISSOUS (MVD)</b>	<b>27</b>
<b>4.1. Phénomène régissant la production de MVD en surface</b>	<b>27</b>
4.1.1. Photoproduction de MVD à la surface du lac 658, et dans la zone humide	27
4.1.2. Atténuation du phénomène de photoproduction avec la profondeur.	32
<b>4.2. Production de Mercure Volatil Dissous à l'interface métalimnion / hypolimnion</b>	<b>36</b>
4.2.1. Saison d'échantillonnage 2001	36
4.2.2. Saison d'échantillonnage 2002	42
<b>4.3. Production de mercure volatil dissous sous un couvert de glace</b>	<b>48</b>
<b>4.4. Production de Mercure Volatil Dissous au-dessus des sédiments</b>	<b>50</b>
<b>4.5. Conclusion</b>	<b>52</b>
<b>5. ESTIMATION DU FLUX DE MERCURE VOLATIL DISSOUS À L'INTERFACE AIR/EAU</b>	<b>54</b>
<b>5.1. Introduction</b>	<b>54</b>
<b>5.2. Évolution saisonnière des concentrations en MVD</b>	<b>55</b>
5.2.1. Tendances générales durant la saison d'échantillonnage.	55
5.2.2. Autres facteurs influençant les concentrations post-ajout.	57
<b>5.3. Calcul des coefficients de transfert de masse.</b>	<b>61</b>
5.3.1. Utilisation de la vitesse du vent.	61
5.3.2. Utilisation des SF <sub>6</sub>	64
<b>5.4. Calcul des flux</b>	<b>65</b>

5.4.1. Utilisation du modèle de la double couche	65
5.4.2. Utilisation des chambres à flux	68
5.5. Calcul de l'évasion globale	70
5.6. Comportement du Hg natif vs $^{202}\text{Hg}$	71
6. CONCLUSION	73
RÉFÉRENCES	78

## Liste des Tableaux

Tableau 1 : Synthèse des exoenzymes connues en milieu naturel. (D'après (Price and Morel 1990)) .....	12
Tableau 2 : Synthèse des connaissances sur les phénomènes de réduction biologique.....	14
Tableau 3 : Tableau représentant les caractéristiques du Lac 658.....	17
Tableau 4 : Tableau représentant les caractéristiques du Lac 240.....	18
Tableau 5 : Caractéristique de l'ajout (pour la méthode, voir le texte ci-après).....	20
Tableau 6 : Synthèse des taux de production de MVD dans l'eau de surface et dans la zone humide du lac 658 ainsi que quelques données trouvées dans la littérature. Les incubations ont été réalisées entre 10 :00 et 14 :00 h. La valeur de PAR représente une moyenne des données obtenues toutes les 10 minutes. ....	30
Tableau 7 : Taux de photoproduction de MVD dans des échantillons incubés, soit en surface (20 cm) soit à 1 mètre de profondeur.....	32
Tableau 8: Comparaison quantitative de la baisse de l'intensité lumineuse (irradiance) vs la diminution de photoproduction. ....	33
Tableau 9 : Synthèse de l'expérience d'incubation et expression des résultats en terme de pourcentage d'augmentation (+) ou de diminution (-) des concentrations en MVD.....	47
Tableau 10 : Évolution des concentrations en MVD-total avant et après un ajout.....	56

## Liste des Figures

- Figure 1 : Représentation schématique du cycle du Hg dans l' environnement..... 4
- Figure 2 : Modèle décrivant la réduction des métaux à la surface de la membrane d'une cellule de phytoplancton. Adapté du modèle proposé par (Jones et Morel 1988)..... 10
- Figure 3 : Exemples de réactions initiées par les micro-organismes aquatiques. Reproduit d'après Price et Morel (1990). Voir le texte ci-après pour commentaires. .... 11
- Figure 4 : Représentation schématique et photo aérienne du bassin versant du lac 658..... 19
- Figure 5 : Photos représentant les supports en plexiglas..... 23
- Figure 6 : Photos représentant les bouteilles en Téflon noires et claires..... 23
- Figure 7 : Photos des bulleurs ambrés.      Figure 8 : Photo d'une trappe en fil d'or..... 24
- Figure 9: Représentation schématique des termes utilisés lors du calcul des taux de réduction ... 28
- Figure 10: Séries temporelles des concentrations en MVD dans l'eau de surface du lac 658 (A, le 08/08/01 incubation mixte mélange eau du 658/eau du winnange 50/50 et B, le 28/09/01, eau du lac 658 seule). Séries temporelles des concentrations en MVD dans l'eau de surface de la zone humide (C, zone ouverte, et D zone couverte, végétation très dense, le 07/08/01). E, incubation réalisée dans le lac 658, le 25 mai 2001. Dans tous les cas, les points blancs représentent les incubations réalisées dans les bouteilles en Téflon claires et les points noirs représentent les bouteilles noires. Le point gris correspond à un blanc de terrain. Ce point représente la valeur donnée par une bouteille de Téflon remplie d'eau milliQ, apportée sur le terrain, ouverte et manipulée comme les échantillons puis analysée. Elle représente la contamination potentielle apportée par le transport, la manipulation et le stockage des échantillons. La ligne droite continue représente une régression non linéaire de la forme  $[y = y_0 + a \ln(x-x_0)]$  appliquée sur les données. .... 30
- Figure 11: Incubation d'eau prélevée à 1 mètre de profondeur et incubée en surface ou à 1 mètre de profondeur..... 32
- Figure 12: Évolution de l'irradiance entre la surface et 1 mètre de profondeur, L.658, Juin 2001.. 33

Figure 13 : Profils au sein de la colonne d'eau du Lac 658 pour les mois de juin (A), août (B), septembre (C) et octobre (D). Ce dernier profil représente les données isotopiques ( <sup>202</sup> MVD) et non isotopiques (MVD-tot). .....	37
Figure 14 : Évolution de la concentration en chlorophylle a en fonction de la profondeur entre Août (A) et septembre (B). Distribution du phytoplancton métalimnétique (échantillon intégré) de mai à août (C) et Distribution du carbone, de l'azote et du phosphore particulaire au sein de la colonne d'eau du lac 658, août 2001 (D).....	39
Figure 15 : Distribution des concentrations en MVD total (août) et Hg total (juillet) dans le lac 658 (A), en MVD total (septembre et octobre) et en Hg total (octobre) dans le lac 658 (B) et Distribution des concentrations en <sup>202</sup> MVD et <sup>202</sup> Hg au sein de la colonne d'eau du lac 658, octobre (C). Dans tous les cas pour l'année 2001. ....	41
Figure 16 : Profils réalisés au sein du Lac 658. 1 <sup>er</sup> juillet 2002. Le point enregistré à 8 mètre de profondeur peut constituer un artefact ou une erreur analytique et n'est pas pris en considération dans la discussion. ....	42
Figure 17: Profil réalisé au sein de la colonne d'eau du lac 658. 17 juillet 2002. ....	43
Figure 18 : Évolution des biomasses phytoplanctoniques épilimnétiques et métalimnétiques entre le 1 <sup>er</sup> juillet et le 15 juillet 2002. L. 658. ....	44
Figure 19: Incubation réalisée <i>in-situ</i> , à 3.5 mètres de profondeur dans le lac 658, entre le 5 et le 8 août 2002. Les traitements sont repérés à l'aide des lettres sur l'axe des abscisses. UF = non filtré, F = filtré à 1µm, UFDCMU = non filtré et ajout de DCMU (25µM), FDCMU = filtré à 1µm et ajout de DCMU (25µM). ....	46
Figure 20 : Distribution des concentrations en MVD sous un couvert de glace, hiver 2002. ....	48
Figure 21: Distribution des concentrations en DGM et de la biomasse Chrysophytique sous un couvert de glace (hiver 2002). ....	49
Figure 22 : Distribution des concentrations en MVD au sein de la colonne d'eau du lac 658. Août 2001.....	50

Figure 23 : Distribution des concentrations en MVD dans la partie inférieure de l'hypolimnion du lac 658, septembre 2001. Les points entre 12.6 et 13 m ont été échantillonné à l'aide de la ligne et pompage et du CIS « <i>Close Interval Sampling</i> » .....	50
Figure 24 : A, suivi des concentrations en MVD total (natif + isotopique). B, suivi des concentrations en MVD isotopique (issu du <sup>202</sup> Hg ajouté). La ligne continue noire représente le cumul de la quantité de mercure isotopique ajouté. 9 ajouts ont été effectués au cours de la saison entre le 19/06/01 et le 09/10/01. ....	55
Figure 25 Évolution des concentrations en MVD-total au cours de la saison 2001. Les données représentent une moyenne mensuelle des points pris pendant le jour et la nuit. (Voir le texte pour détails) .....	56
Figure 26: Distribution temporelle des concentrations en MVD lors des deux derniers ajouts. Les ajouts sont représentés par des lignes pointillées verticales. ....	58
Figure 27 : A, profil dans le premier mètre sous la surface des concentrations en MVD. Jour 1 après le premier ajout (20/06/01). B, 7 jours après le premier ajout, (05/07/01) et C, 2 jours après le second ajout. Dans les trois cas l'échantillonnage s'est déroulé à 5:00 am, avant le lever du soleil.....	59
Figure 28 : Concentrations en Mercure Volatil Dissous Total avant (5:00 am) et après (6:45am) le lever du soleil, bassin ouest, L.658, le 26 juin 2001. ....	60
Figure 29: Distribution du coefficient de transfert de masse ( $K_w$ ) et de la vitesse du vent au cours de la saison d'échantillonnage. Chaque point représente une journée pendant laquelle des échantillons de MVD ont été collectés afin de conduire les analyses isotopiques .....	63
Figure 30 Corrélation entre le coefficient de transfert de masse et la vitesse du vent.....	63
Figure 31 : Distribution des flux de MVD isotopique au cours de la saison d'échantillonnage .....	66
Figure 32: Corrélation entre les flux de MVD isotopique et total. ....	66
Figure 33: Synthèse mensuelle des calculs de flux de MVD isotopique, natif et total par l'ORNL en utilisant des chambres à flux (Données de S. Lindberg et G. Southworth). ....	68

Figure 34 : Comparaison des flux obtenus avec les chambres à flux et ceux obtenus en utilisant le modèle de la double couche à partir des concentrations en MVD.....69

Figure 35 : Évolution du ratio  $^{202}\text{MVD}/\text{MVD}$  ambiant en fonction de la quantité de mercure ajoutée. Les points blancs représentent des données ne suivant pas l'augmentation du ratio en fonction des ajouts.....71

Figure 36 : Représentation schématique synthétisant les zones de production de MVD au sein de la colonne d'eau d'un lac ainsi que les principaux paramètres gouvernant cette production. les numéros encadrés en rouge, font référence aux numéros entre parenthèses dans le texte.....74

Figure 37: Schéma permettant d'expliquer le possible rôle de la membrane du phytoplancton dans les processus dirigeant la réduction du Hg.....76

# 1. Introduction

## 1.1. Contexte

Le méthylmercure ( $\text{CH}_3\text{-Hg}$ ), forme organique du Hg, a la propriété de traverser les membranes cellulaires, d'être retenu par les organismes - très peu de mécanismes d'excrétion ont en effet été observés - et d'être ainsi bioamplifié le long de la chaîne alimentaire. Les concentrations de cette substance neurotoxique peuvent ainsi augmenter d'un facteur  $10^6$  entre les acteurs situés à la base de la chaîne alimentaire - les producteurs primaires - et ceux situés au sommet, les prédateurs ; le prédateur ultime étant l'homme.

L'une des sources majeures de Hg anthropique dans l'environnement est le Hg émis par les centrales thermiques utilisant le charbon et des normes visant à contrôler ces émissions ont récemment été proposées en Amérique du Nord. L'agence américaine pour la protection de l'environnement (U.S. EPA.) a estimé le coût de ces contrôles à plusieurs milliards de dollars par an. L'objectif principal vise à diminuer la concentration de Hg dans les poissons. Au Canada et aux États-Unis, les gouvernements ont déjà émis des avis à la population en vue de restreindre la consommation de poissons en provenance de nombreux lacs en raison de niveaux de méthylmercure trop élevés. Durant les deux dernières années, Santé Canada a réduit le niveau acceptable d'exposition au Hg par la consommation de poissons pour les femmes enceintes et les enfants de  $0.47$  à  $0.2 \mu\text{g Hg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{jour}^{-1}$ . La mise en place de contrôles des émissions de Hg permettrait logiquement de réduire les niveaux de mercure dans les poissons, mais le lien entre les dépôts atmosphériques de Hg et les teneurs en Hg dans les poissons reste encore mal connu.

Même dans les zones très éloignées des sources de mercure, les concentrations dans les poissons peuvent atteindre des niveaux inquiétants. Quelles sont les raisons d'une telle omniprésence du mercure ?

## 1.2. Omniprésence du Hg dans les écosystèmes

Une des démonstrations les plus dramatique de l'impact du mercure sur les humains est la catastrophe de Minamata dans les années 50. Des centaines d'individus ont souffert de troubles neurologiques suite à une consommation de poissons issus de la baie de Minamata contaminée par une forme organique de Hg émis par une industrie chimique. Généralement, les sources de mercure sont soit anthropiques soit naturelles (Swain, *et al* 1992, Schroeder et Munthe 1998, Schuster, *et al.* 2002). Les sources naturelles de mercure incluent les feux de forêt, les émissions volcaniques et les émissions des dépôts géologiques mercurifères. Les émissions anthropiques de mercure sont majoritairement dues aux processus de combustion. Mentionnons l'impact des incinérateurs municipaux, des centrales thermiques utilisant des combustibles fossiles, des décharges industrielles, des industries minières de l'or et de l'argent et plus généralement des industries chimiques utilisant des processus d'oxydoréduction de synthèse.

Les deux principaux états d'oxydation du mercure sont le Hg(II), forme ionique divalente et le mercure sous sa forme élémentaire, le Hg(0). Il est important de noter l'existence de la forme ionique monovalente, le Hg(I). Cependant, en raison de son instabilité, cet état d'oxydation est difficile à étudier et son implication dans les processus régissant le cycle du Hg est encore mal connue. Le Hg(II) est fortement associé aux aérosols, telles les particules de suies, et ne voyage pas sur de très longues distances mais à tendance à se déposer à proximité des zones d'émission. En revanche, le mercure élémentaire, forme volatil, peut voyager pendant 6 à 12 mois dans l'atmosphère (Swain, *et al.* 1992, Schroeder *et* Munthe, 1998) en couvrant de très grandes distances. Le Hg(0) représente plus de 95% du Hg présent dans l'atmosphère et est lentement ré-oxydé en Hg(II) lors de son transport. La plus grande part de cette oxydation se produit soit aux interfaces solide/liquide dans les gouttelettes d'eau constitutives des nuages ou aux interfaces gaz/liquide (Iverfeldt et Lindqvist 1986). L'agent principal de ces réactions est l'ozone, mais l'intervention de radicaux tels OH•, ou de composés tels HClO, HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> ou Cl<sub>2</sub> peut être significative (Seigneur, *et al.* 1994) Dans les régions arctiques ou subarctiques, les radicaux issus de brome (Br• et BrO) prennent une place importante dans ces processus d'oxydoréduction. (Lindberg, *et al.* 2002).

Une fois oxydé, le Hg(II) possédant une forte affinité pour les surfaces, se retrouve associé aux particules présentes dans l'atmosphère, tels les aérosols. Les deux voies majeures s'offrant alors au mercure pour rejoindre la surface de la terre sont soit les dépositions sèches ou les dépositions humides. On entend par dépositions humides, tous les phénomènes de précipitations telles les averses de pluie ou de neige qui peuvent entraîner le Hg<sup>0</sup> dissous ou le Hg(II) nouvellement oxydé vers la surface de la terre. Les dépositions sèches font référence à la déposition des aérosols.

Une fois le mercure entré dans la colonne d'eau, trois grandes réactions peuvent contrôler son devenir :

- L'association aux particules et leur subséquente sédimentation.
- La **réduction** du Hg(II).
- Les processus de **méthylation** du Hg(II).

Les deux premières réactions permettent au mercure de quitter la colonne d'eau soit par sédimentation ou par évaporation. Les processus de sédimentation devraient permettre au Hg de réintégrer la croûte terrestre le rendant ainsi beaucoup moins disponible, mais certains des processus diagénétiques pourraient entraîner une remobilisation du mercure vers la colonne d'eau.

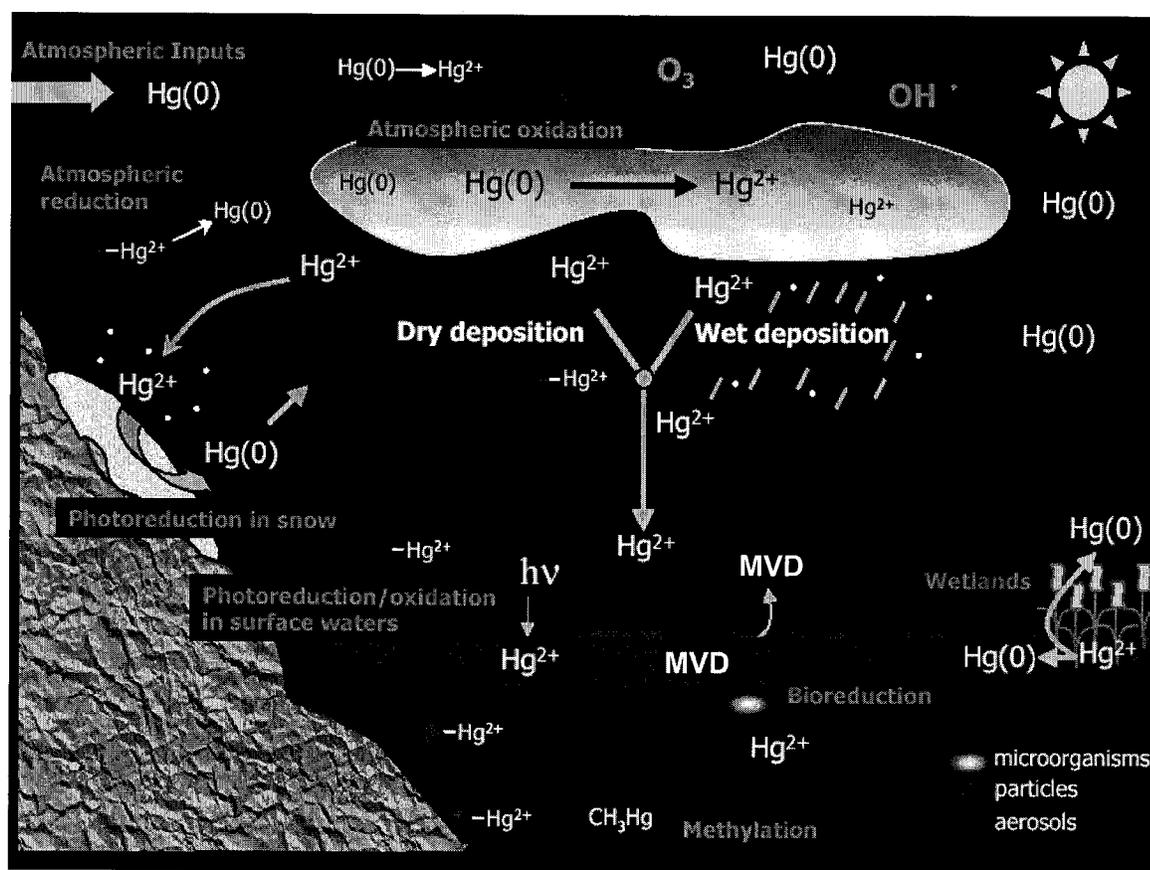
Les processus de méthylation du Hg(II) conduisent à la formation de CH<sub>3</sub>-Hg, forme neurotoxique et ayant la propriété de traverser la barrière naturelle imposée par les membranes biologiques.

**Les processus de méthylation** supposent le transfert d'un groupement méthyl (-CH<sub>3</sub>) d'un composé organique vers le Hg. De grandes quantités d'énergie doivent entrer en jeu, la réaction n'étant pas aisée en milieu aqueux. Les réactions photochimiques ou la catalyse par les microorganismes peuvent être invoquées pour franchir ces barrières énergétiques.

La production photochimique, seulement observée en laboratoire, impliquerait la participation de composés organiques simples, tel l'acétate ou plus complexes telles les substances humiques. Il faut cependant garder à l'esprit qu'une des voies de dégradation du méthylmercure est photochimique telle que montrée sur le terrain (Sellers, *et al.* 1996) Les acteurs biologiques éventuellement impliqués dans la formation de méthylmercure seraient les bactéries sulfato-réductrices (Gilmour *et al.* 1997). En laboratoire des taux

nets de méthylation ont été corrélés avec l'activité sulfato-réductrice des micro-organismes. Cependant, malgré de grands avancements dans la connaissance des processus conduisant à la formation du méthylmercure, la nature des agents biochimiques et les conditions dans lesquelles cette méthylation intervient reste à être étudiée de manière plus précise dans les conditions naturelles.

Le cycle du mercure implique, comme nous venons de le développer, de nombreuses réactions dans les différents compartiments constitutifs d'un écosystème (hydrosphère, lithosphère et atmosphère). Ses propriétés très réactives lui confèrent donc les caractéristiques d'un polluant global, omniprésent (**Figure 1**).



**Figure 1** : Représentation schématique du cycle du Hg dans l'environnement.

### 1.3. Le projet METAALICUS

En raison de cette omniprésence dans l'environnement, il est difficile de déterminer d'une manière précise l'origine du Hg conduisant à la contamination des poissons de nos lacs. En fait, la quantité de mercure stockée dans les écosystèmes est un million de fois plus élevée que les dépositions annuelles. L'effet des mesures correctrices visant la baisse des dépositions atmosphériques est donc incertain. Sur cette base, si le mercure provenant de l'atmosphère est plus susceptible d'être bioamplifié dans les chaînes alimentaires que le mercure déjà présent dans l'environnement, la réponse des poissons aux normes imposées devrait être proportionnelle à la baisse des émissions et ce, sur une échelle de temps très courte (1 à 2 ans). Cependant, si l'origine du mercure ne fait pas de différence, le temps de réponse sera plus long et la diminution des niveaux de mercure dans les poissons ne sera que minime. Il importe donc de pouvoir quantifier le temps de réponse et l'amplitude de cette réponse afin de pouvoir évaluer l'efficacité des programmes contrôlant les émissions.

Des études antérieures ont permis de préciser l'impact des dépositions atmosphériques de Hg sur les écosystèmes (Watras, *et al.* 2000), mais n'ont pas permis de vraiment appréhender l'origine du Hg présent dans les poissons et la vitesse à laquelle des normes imposées aux industries pourraient amenuiser la quantité de Hg présent dans ces poissons.

En vue de répondre à cette question, le projet METAALICUS (Mercury Experiment to Assess Atmospheric Loading in Canada and in the United States), regroupant des équipes de recherche canadienne et américaine, a été mis en place. Ce projet propose de conduire une expérience au niveau d'un écosystème entier dans lequel les concentrations en mercure dans les trois composantes de son bassin versant, le lac, sa zone humide et la zone sèche attenante au lac, seront accrues expérimentalement grâce à l'ajout de trois différents isotopes stables à des concentrations nanomolaires. Cette addition et la subséquente détection des isotopes sont maintenant possibles en raison des avancées technologiques réalisées en matière analytique et plus particulièrement en spectrométrie de masse.

Le projet peut se résumer en trois grandes questions :

1. Déterminer la relation entre le taux de déposition atmosphérique de Hg et le taux d'accumulation du mercure dans les poissons.
2. Déterminer le temps de réponse du mercure dans les poissons à des changements dans la charge de mercure présente dans les dépositions atmosphériques.
3. Déterminer l'importance relative des différentes sources de mercure dans les poissons – le lac lui même, sa zone humide ou sa zone sèche - grâce à l'addition de ces trois isotopes stables.

Ces données permettront ultimement de calibrer et de paramétrer des modèles permettant de prédire et de quantifier la réduction des niveaux de mercure dans les poissons en réponse à des changements dans les émissions.

Dans le cadre de cette vaste étude, l'objectif de notre travail est de quantifier et d'étudier les mécanismes conduisant à la formation de Mercure Volatil Dissous (MVD), majoritairement formé de mercure élémentaire (Hg(0))

, résultant de la réduction chimique du mercure ionique divalent. Cet état de spéciation permet au mercure de quitter l'écosystème et donc de ne pas entrer dans les processus de méthylation.

#### **1.4. La réduction du Hg**

Les processus de réduction permettent donc au Hg de quitter la colonne d'eau et d'être ainsi moins disponible pour la méthylation. Généralement, les processus de réduction impliquent l'acceptation d'un ou plusieurs électrons par le composé d'intérêt, qui se voit réduit au détriment du composé donneur, qui est alors oxydé. On parle alors de réactions couplées d'oxydo-réduction. Le mercure possédant un potentiel d'oxydoréduction relativement élevé, il est difficile pour lui d'être réduit naturellement en milieu aqueux. Comme pour la méthylation, des réactions mettant en jeu des quantités d'énergie suffisantes, doivent intervenir.

### 1.4.1. La réduction abiotique du mercure

On parle de réaction abiotique lorsque les organismes vivants n'interviennent pas. On trouve deux grandes classes de réactions abiotiques qui permettent de produire la forme réduite et volatil du mercure, Hg(0).

Les réactions photochimiques

Les réactions au noir, non dépendante de la lumière.

#### 1.4.1.1. Les réactions photochimiques

On peut distinguer les réactions entraînant la photoréduction directe et indirecte du mercure. Les réactions indirectes nécessitent un intermédiaire excité sous l'action de la lumière. Cette dernière étape requiert un composé pouvant supporter une délocalisation de ses électrons afin de pouvoir ultimement le(s) transmettre au mercure. De tels composés existent en milieu naturel et constituent la plus grande part de la matière organique naturelle (MON).

La photoréduction (Brosset *et al.*, 1987 ; Munthe and McElroy, 1992 ; Xiao *et al.*, 1994). Plusieurs espèces inorganiques et organiques du mercure peuvent absorber les radiations solaires dans la gamme du rayonnement UV (270-400 nm). Il est intéressant de noter que les formes solides, telles les oxydes, hydroxydes, et sulfures de méthylmercure peuvent aussi absorber les radiations UV et être subséquentement réduits (Fujita, *et al.* 1973). Le rôle des particules semble être significatif dans le phénomène de photoréduction. Nombreuses sont les particules qui contiennent une phase minérale avec des propriétés semi-conductrices. Lorsque des radiations sont d'une longueur d'onde suffisamment énergétique, des minéraux tels HgO et HgS peuvent voir délocaliser certains des électrons de leurs couches externes (Lindqvist *et al.* 1991) pouvant ainsi réduire le mercure. Sur le terrain et en milieu naturel, la photoréduction du Hg(II) a été clairement mise en évidence dans les eaux de surface (Amyot, *et al.* 1994) conduisant à la génération de mercure dissous gazeux, composé majoritairement de mercure élémentaire.

D'une manière générale, la matière organique naturelle présente dans les lacs possède la capacité de céder des électrons à la solution dans laquelle elle est excitée. Cette excitation de la couche électronique externe se fait grâce au rayonnement solaire. Il a été montré qu'une part du rayonnement UV-B, hautement énergétique, semblait être responsable de la réduction du mercure (Amyot, *et al.* 1997). Le fer(III), pouvant lui aussi

être photochimiquement réduit en fer(II) semble être impliqué dans le processus de réduction du Hg, comme mis en évidence par les travaux de Zhang et Lindberg (2001). La composition du milieu, en terme de concentrations en carbone organique dissous, et en fer(III), et la qualité du rayonnement solaire semblent fortement influencer les réactions photochimiques responsables de la réduction du Hg. Il faut cependant garder en mémoire le rôle ambigu du COD. En effet, ce dernier, à des concentrations trop élevées, peut agir comme un «écran» en atténuant l'énergie solaire pénétrant dans les couches supérieures de la colonne d'eau.

#### 1.4.1.2. Les réactions à l'obscurité

La matière organique naturelle est composée de nombreux acides organiques de complexité variable. La thermodynamique nous permet de savoir que les substances humiques ont la capacité de réduire le mercure (Allard et Arsenie, 1991). En tenant compte des séries de Irving-Williams, parmi tous les métaux, le mercure forme les complexes les plus stables avec les substances humiques. Ceci peut être aisément expliqué par la présence de groupements soufrés dans les molécules humiques, groupements pour lesquels le mercure possède une très forte affinité. Les travaux de Allard et Arsenie, (1991) ont montré que la production de mercure élémentaire, Hg(0), était augmentée dans un milieu riche en substances humiques, dépourvu d'oxygène et de chlorure et à un pH autour de 4.5. Il est intéressant de noter que les ions chlorure semblent entrer en compétition avec les substances humiques en vue de complexer le mercure. De plus, cette réduction semble accrue en présence de lumière. Alberts, *et al.* (1974), ont montré que le mercure élémentaire est formé par réduction, dépendante du pH, des ions mercuriques (Hg<sup>2+</sup>), et en présence d'acides humiques. La réaction impliquerait donc l'interaction entre la forme ionique du mercure et les électrons libres des acides humiques.

#### 1.4.2. La réduction biologique du mercure

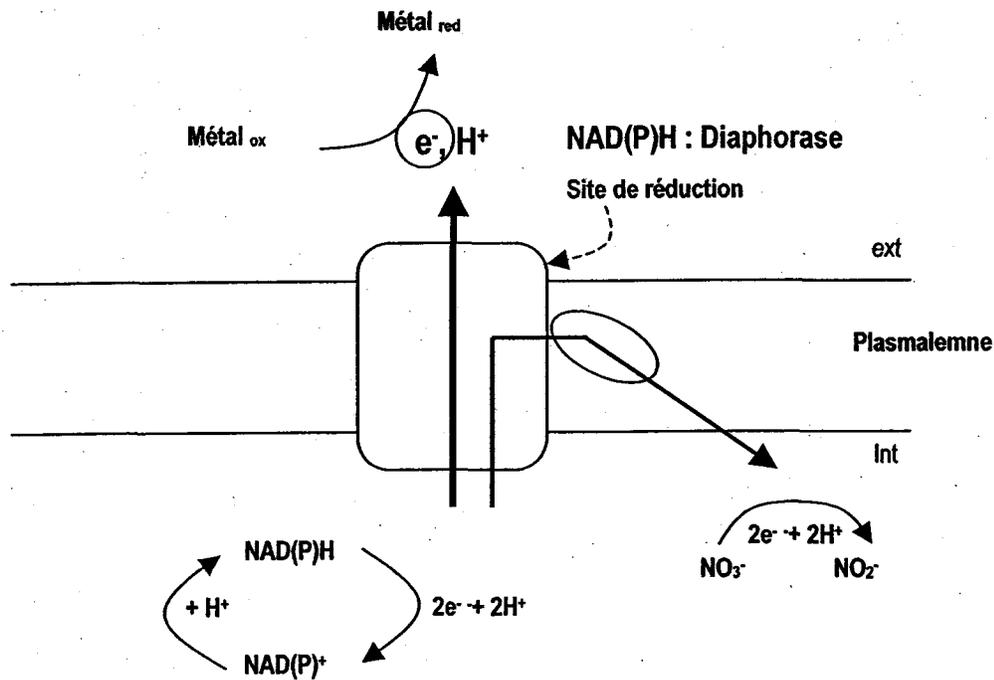
Les acteurs les plus probables impliqués dans la réduction biologique du mercure sont les bactéries et les algues. Une des voies leur permettant de diminuer les effets du mercure est de le réduire en sa forme élémentaire, le Hg<sup>0</sup>, moins toxique.

#### 1.4.2.1. Réduction du Hg par les algues et les organismes photosynthétiques

Certaines algues et cyanobactéries semblent avoir la capacité de réduire le mercure. Ben-Bassat et Mayer (1978) ont conclu que la production de Hg(0) était accélérée lorsque des cellules de *Chlorella* étaient exposées à la lumière. Cette production semble diminuer lorsque des inhibiteurs de la photosynthèse (e.g. DCMU) sont ajoutés au milieu d'exposition. Les auteurs suggèrent que les acteurs de cette réduction soient des métabolites issus de la photosynthèse subséquemment relargués dans le milieu extracellulaire. Cependant, les concentrations observées lors de cette étude ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) ne sont pas représentatives d'environnements naturels ( $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Mason, *et al.* (1995) concluent que la production de Hg(0), dans des conditions naturelles, peut être conduite par les micro-organismes. Leurs résultats suggèrent que ce soient les micro-organismes dont la taille est inférieure à 3  $\mu\text{m}$  qui sont impliqués. Les organismes phytoplanctoniques eucaryotes, telles les algues, ont la capacité de réduire le mercure, mais les taux de réduction associés à ces organismes semblent trop faibles pour expliquer à eux seuls les résultats observés lors des incubations (Mason, *et al.* 1995). En milieu marin les cyanobactéries, telles *Synechococcus*, semblent être impliquées d'une manière significative dans le processus de réduction alors qu'en milieu lentique eutrophe, les micro-organismes procaryotes hétérotrophes seraient les acteurs principaux de cette réaction (Mason, *et al.* 1995). Afin d'appuyer l'hypothèse de l'implication des organismes photosynthétiques en milieu marin, les travaux de Baeyens et Leermakers, (1998) dans la Mer du Nord ont montré que la production de mercure élémentaire pouvait être corrélée avec la concentration en chlorophylle *a*.

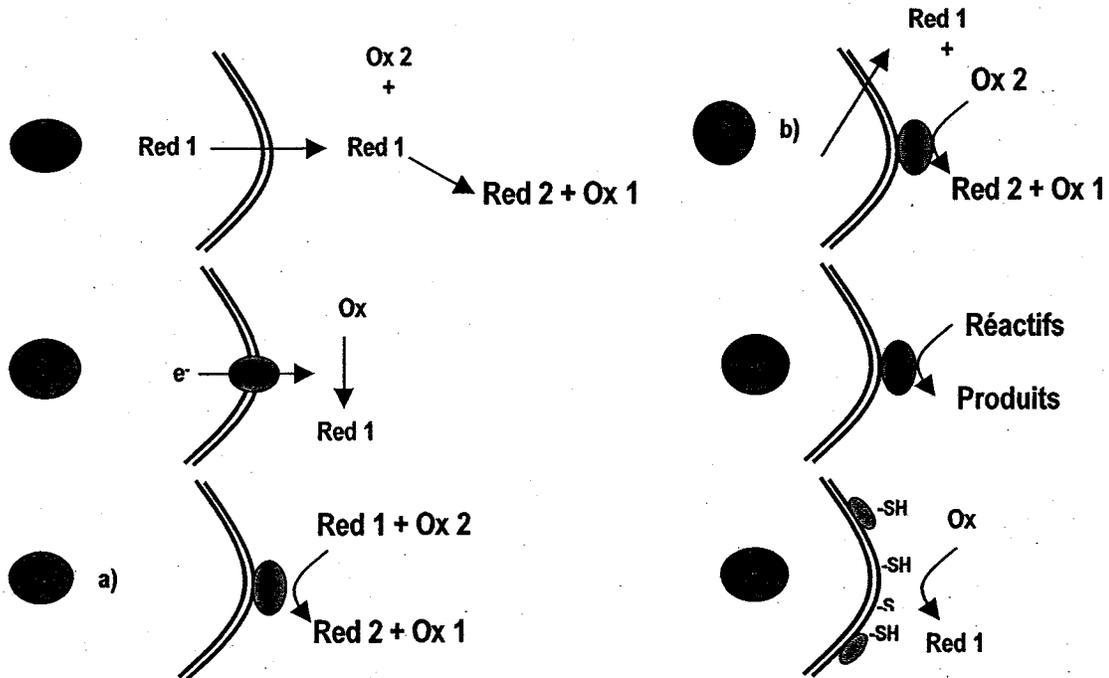
De nombreuses études ont été conduites en vue de connaître la capacité réductrice du phytoplancton. Jones, *et al.* (1987) mettent en évidence que la surface des cellules de *Thalassiosira weissflogii* peut réduire le cuivre(II) et le fer(III). Cette activité impliquerait une ou plusieurs enzymes, possédant une activité oxydoréductrice, situées au niveau du plasmalemne. Les complexes de métaux traces seraient directement réduits par ces enzymes, l'activité du métal libre ne semblant avoir aucun effet sur la régulation de cette réaction. Les complexes métaux-ligands étudiés ne sont cependant pas les accepteurs principaux d'électrons de ces réactions. D'après les auteurs, le complexe enzymatique

impliqué dans ces réactions serait caractéristique des réductases des nitrates, nitrites et sulfates, les métaux acceptant les électrons de manière accidentelle. Jones et Morel (1988) montrent que la nitrate réductase serait effectivement impliquée dans l'activité oxydoréductrice du plasmalemne. Un modèle tenant compte de ces découvertes a été proposé dans lequel la réductase des nitrates liée au plasmalemne, réduit des accepteurs d'électrons extra-cellulaires ainsi que le nitrate intracellulaire tout en jouant le rôle de pompe à protons trans-plasmalemne (Figure 2).



**Figure 2 :** Modèle décrivant la réduction des métaux à la surface de la membrane d'une cellule de phytoplancton. Adapté du modèle proposé par (Jones et Morel 1988)

Price et Morel (1990), proposent 5 grandes classes de réaction enzymatiques et non-enzymatiques localisées au niveau de la membrane des organismes photosynthétiques (Figure 3)



**Figure 3 :** Exemples de réactions initiées par les micro-organismes aquatiques. Reproduit d'après Price et Morel (1990). Voir le texte ci-après pour commentaires.

1. Excrétion de réducteurs issus du métabolisme photosynthétique.
2. Transport enzymatique d'électrons au travers du plasmalemne.
3. Réactions d'oxydoréduction enzymatique impliquant :
  - a. des solutés extra-cellulaires
  - b. les réducteurs excrétés par la cellule.
4. les réactions d'hydrolyse.
5. les réactions d'oxydoréduction non-enzymatique

Les mécanismes d'oxydoréduction nous intéressant dans le cadre de cette étude impliquent : i) le relargage de solutés issus de la photosynthèse, ii) la présence de réducteurs non-enzymatiques associés à la membrane, iii) la présence d'enzymes

réductrices, les réductases, elles aussi associées à la membrane et iv) l'excrétion d'enzymes vers le milieu extracellulaire, les exoenzymes. Ces dernières ne possédant pas toutes une activité oxydoréductrice directe, elles peuvent cependant influencer de manière significative le cycles des métaux traces dans l'environnement.

Le **Tableau 1** ci-après en résume les principales caractéristiques des exoenzymes présent en milieu naturel.

**Tableau 1** : Synthèse des exoenzymes connues en milieu naturel. (D'après (Price and Morel 1990))

<b>Enzyme</b>	<b>Fonction</b>	<b>Remarques</b>
<b>Déaminases</b>	Prise en charge de l'azote	O <sub>2</sub> réduit en H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
<b>Phosphatases</b>	Prise en charge du phosphore. Lyse des phosphates organiques.	Présentes chez les algues et les bactéries après carence en P
<b>enzymes du plasmalemne</b>	réduction des métaux	Rôle physiologique
<b>Réductases</b>	Prise en charge du fer ?	Rôle incertain
<b>Protéases</b>	Dégradation des protéines, prise en charge du carbone et de l'azote	Présentes chez les bactéries
<b>Uréases</b>	Prise en charge de l'azote	Exoenzymes chez certaines bactéries et certaines diatomées.

#### 1.4.2.2. Réduction du Hg par les bactéries.

La réduction du Hg par les bactéries est catalysée par un complexe enzymatique, la réductase du mercure, dépendante du NADPH intracellulaire. Ce complexe enzymatique est codé par les gènes de résistance au mercure, le *mer*-operon (Barkay, *et al.* 1989). La transcription de cet ensemble de gènes est régulée par inhibition sur une partie de cet opéron. Lorsque le mercure pénètre dans la cellule, il peut se fixer sur un groupement cystéine du *mer-R* (portion régulatrice du gène). Dans le cas où la concentration en Hg et en substrat organique est suffisante pour dépasser le seuil d'induction (Nazaret, *et al.* 1994), l'inhibition est alors levée et la transcription peut commencer. La traduction de L'ARNm servira alors à la synthèse du complexe enzymatique, la réductase du mercure

Nazaret, *et al.* (1994) ont établi, in situ en milieu contaminé, l'importance du *mer* dans les processus de volatilisation du mercure. Les niveaux de *mer-A* spécifiques à l'ARNm et la volatilisation du Hg(II) semblent être influencés par l'activité métabolique des bactéries, plus que par la concentration en Hg(II) du milieu. Plus tard, Barkay, *et al.* (1997) ont mis en évidence que la production enzymatique de mercure élémentaire semble dépendre de nombreux facteurs environnementaux tels la concentration en carbone organique dissous (DOC) ou encore la teneur en chlorure dans le milieu. Nazaret *et al.* (1994) ont montré, de plus, que les transcrits *mer-A* détectés dans les échantillons, ne conduisaient pas tous à une production de Hg<sup>0</sup>, suggérant que les taux de volatilisation du mercure dans des échantillons environnementaux puissent ne pas toujours être proportionnels à l'expression du *mer-A*. Il semblerait que la composition de la séquence génétique codant pour le complexe enzymatique varie beaucoup et que d'autres voies métaboliques que celle du *mer* soient impliquées dans les processus de réduction. (Barkay, *et al.* 1989).

En laboratoire, Iwahori, *et al.* (2000) ont montré que la réduction du mercure, chez *Thiobacillus ferrooxidans*, est accrue de 62% lorsque du Fe<sup>2+</sup> est ajouté au milieu d'exposition. Les membranes plasmiques de ces microorganismes réduisent 48% du mercure ajouté au cours des 5 jours de traitement. Cependant, la membrane de *T. ferrooxidans*, ne possède pas la mercure reductase dépendante du NADPH, qui est en revanche présente dans son cytosol. Il existerait alors une activité membranaire

dépendante du  $Fe^{2+}$  et qui permettrait de réduire le Hg(II). Le  $Fe^{2+}$  joue, dans ce cas, le rôle de donneur d'électrons. Les auteurs proposent que la cytochrome *c* oxydase, dépendante du  $Fe^{2+}$ , soit un acteur non négligeable de cette réaction.

### 1.5. Synthèse des connaissances sur la réduction biologique du Hg

Comme nous l'avons vu précédemment, peu d'études existent sur le rôle des micro-organismes dans les processus de réduction du mercure en milieu naturel. Les différents axes de recherche impliqués dans l'étude de cette bioréduction ont permis jusqu'à maintenant d'émettre plusieurs hypothèses. Le Tableau 2 ci-après nous permet de synthétiser les connaissances acquises.

**Tableau 2 :** Synthèse des connaissances sur les phénomènes de réduction biologique.

Activité d'intérêt	Métal étudié	Voie de réduction	Type d'étude Laboratoire (L). Milieu Naturel (MN)	Gamme des concentrations observées ou utilisées	État des connaissances	Organismes	Références
Phytoréduction	Cu/Fe	Membranes phytoplantonique	L	umol·L <sup>-1</sup>	observé	<i>Thalassiosira weissflogii</i> , et <i>Dunaliella tertiolecta</i>	Jones et al. 1987
Phytoréduction	Cu/Fe	Exoenzymes	L	pmol·L <sup>-1</sup> ·jour <sup>-1</sup>	hypothétique	<i>Thalassiosira weissflogii</i>	Price et al. 1990
Phytoréduction	Hg	phytoplanton	L	umol·L <sup>-1</sup>	observé	<i>Chlorella</i>	Ben-bassat et Mayer, 1978
Phytoréduction	Hg	phytoplanton	MN	pmol·L <sup>-1</sup>	observé	phytoplanton marin	Baeyens et Leermakers, 1998
Réduction Bactérienne	Hg	mer-A	MN	ug·L <sup>-1</sup>	observé	pas de discrimination	Nazaret et al. 1994
Réduction Bactérienne	Hg	mercuric-réductase	MN	pg·L <sup>-1</sup>	observé	pas de discrimination	Siciliano et al. 2002,
Réduction Bactérienne	Hg	cytochrome c	MN	umol·L <sup>-1</sup>	observé	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Iwahori et al. 2000
Réduction Biologique	Hg		MN	pg·L <sup>-1</sup>	observé	pas de discrimination	Mason et al. 1995

Lors des expériences réalisées en laboratoire, les concentrations employées sont très élevées et non représentatives des concentrations retrouvées dans l'environnement, afin vraisemblablement d'induire une réponse interprétable de la part des micro-organismes en terme de production de Hg(0). Certaines études menées soit en milieux lenticques (Siciliano, *et al.* 2002) soit en milieux marins (Baeyens et Leermakers, 1998) apportent cependant des informations importantes sur le rôle des micro-organismes et ceci à des concentrations naturelles. L'étude de Siciliano, *et al.* (2002) corrèle l'activité

enzymatique à la production de MVD dans différents lacs canadiens et ceci selon un cycle journalier. Quant à l'étude de Baeyens et Leermakers (1998), elle corrèle les concentrations en MVD à la concentration en chlorophylle *a* enregistrée dans la Mer du Nord. Cependant, aucune étude publiée à ce jour n'a clairement corrélé, en milieu lentique, les concentrations en MVD à celle du phytoplancton ou à son activité, à des concentrations naturelles de l'ordre du picomolaire.

## 2. Objectifs

Dans le cadre de cette étude nous avons tenté d'établir un lien entre la production de Mercure Volatil Dissous, l'activité des micro-organismes et la photochimie en milieu naturel. Ces travaux ont eut pour site d'étude un lac additionné d'un isotope stable ( $^{202}\text{Hg}$ ), afin de mettre en évidence l'impact de ces micro-organismes sur le mercure nouvellement déposé en provenance de l'atmosphère (caractérisé par le  $^{202}\text{Hg}$ ).

Ces travaux ont été séparés en deux volets. Le premier évalue l'impact des micro-organismes, en milieu lentique, sur les phénomènes régissant la réduction du Hg. Le second traite du suivi des concentrations en Mercure Volatil Dissous (MVD) à la surface du lac. Le MVD est la fraction volatil du réservoir de Hg présent dans un écosystème et est majoritairement composée de mercure élémentaire, Hg(0). Ce suivi des concentrations au cours de la saison d'échantillonnage, de juin à octobre 2001, nous permettra d'estimer le flux de Hg(0) à l'interface air/eau et ainsi de quantifier l'évasion du Hg nouvellement déposé en provenance du lac.

Comme nous l'avons vu précédemment, plusieurs hypothèses peuvent être invoquées dans les processus régissant la réduction du Hg. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux processus biologiques pouvant conduire à cette réduction. Tout d'abord, grâce à des profils en profondeur, nous tenterons de déterminer quelles sont les zones, au sein de la colonne d'eau, où les concentrations en MVD sont les plus importantes. Ceci nous permettra de connaître les zones de production autres que la surface où la photochimie dirige majoritairement les processus de réduction. Afin de caractériser ces zones de production et de savoir laquelle ou lesquelles des hypothèses impliquant i) les organismes photosynthétiques, ii) les organismes procaryotes non

photosynthétiques, ou iii) directement la photochimie est/sont responsable(s) de la réduction du Hg, nous tenterons de déterminer :

1. La présence ou non de la séquence génétique (*mer-A*) permettant aux organismes de réduire le Hg grâce à l'intervention de la réductase du mercure.
2. Les paramètres physiques tels la pénétration de la lumière au sein de la colonne d'eau afin de savoir jusqu'à quel point la lumière peut être responsable de la production de Hg(0) en profondeur.
3. Les organismes impliqués, des expériences d'incubation *in-situ* vont être réalisées afin de pouvoir calculer des taux de production de MVD. L'ajout d'inhibiteurs spécifiques, tels le DCMU, l'ajout de formaldéhyde et la filtration des échantillons avant incubation nous seront utiles afin de discriminer les organismes potentiellement impliqués.

Ceci nous permettra finalement i) de comparer en terme de production de mercure élémentaire, les phénomènes de réduction du Hg en surface et ceux se produisant plus en profondeur ; ii) de mettre en évidence la réduction biologique du mercure à des niveaux naturels ; iii) de discriminer les acteurs de cette réduction biologique, si elle a lieu ; iv) de mettre en évidence les facteurs influençant cette réaction ; et v) de quantifier l'évasion de mercure par volatilisation.

### 3. Matériel et Méthodes

#### 3.1. Les lacs d'intérêt

Le système d'intérêt dans le cadre du projet METAALICUS devait comporter les trois composantes majeures d'un bassin versant : le lac lui-même, une zone sèche et une zone humide. Il devait aussi avoir le potentiel d'être « méthyateur » c'est-à-dire de générer du méthylmercure (zone anoxique, qualité adéquate des sédiments, et présence des organismes responsables de cette réaction). Le lac devait de plus être relativement facile d'accès, être proche d'une station scientifique afin de pouvoir disposer d'un minimum d'équipement. Afin de conduire au mieux ce projet, le Lac 658, de la Région des Lacs Expérimentaux (propriété de Pêche et Océans Canada) a été choisi. Ses caractéristiques sont résumés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 3 :** Tableau représentant les caractéristiques du Lac 658.

Paramètres	Valeurs
Localisation	
Surface du lac	8.3 ha
Surface de la zone humide	1.9 ha
Surface de la zone sèche	42 ha
Type de système	Lac de tête à écoulement de surface
Profondeur maximum	13 m
Temps de résidence	4 ans
pH	6.5
Carbone Organique Dissous	9 mg/L
Poissons prédateurs	Brochet

Le lac est considéré comme mésotrophe et sa concentration en matière organique dissoute se situe autour de 9 mg/L, ce qui lui confère une eau de couleur brune. La pénétration du rayonnement ultraviolet est faible et disparaît presque totalement pour des profondeurs inférieures à 1 mètre. On retrouve 1% du rayonnement lumineux de surface à des profondeurs comprises entre 3.5 et 5 mètres (pour l'année 2001), ce qui constituera la limite inférieure de la zone photique.

Le tableau ci-après représente les caractéristiques du Lac 240, considéré comme contrôle dans le cadre du projet METAALICUS.

**Tableau 4 :** Tableau représentant les caractéristiques du Lac 240.

Paramètres	Valeurs
Surface du lac	-
Type de système	Lac à recouvrement de surface
Profondeur maximum	13 m
Temps de résidence	5 ans
pH	6.8
Carbone Organique Dissous	9 mg/L
Poissons prédateurs	Brochet et truite

Certaines des expériences d'incubations ont été conduites dans la zone humide, ceci afin de pouvoir caractériser au mieux le bassin versant en terme de production de MVD. Deux sites ont été choisis. Le premier site d'échantillonnage, était au milieu de la zone herbeuse du marais, caractérisée par une végétation basse et dense composée de macrophytes émergents de quelques centimètres au-dessus de la surface. L'eau était de couleur orange. Le second site d'échantillonnage était caractérisé par un ruisseau de très faible débit, et situé sous un couvert d'arbres denses et ne laissant que peu de passage à la lumière. L'eau était de couleur rouge presque brune. La carte ci-jointe (**Figure 4**), nous présente la distribution des différentes stations d'échantillonnage. L'épilimnion étant bien mélangé (R. Harris, commun. pers.), les profils ont été réalisés à la bouée centrale du bassin ouest ainsi que le prélèvement des échantillons d'eau en vue d'effectuer le suivi des concentrations en MVD isotopique.

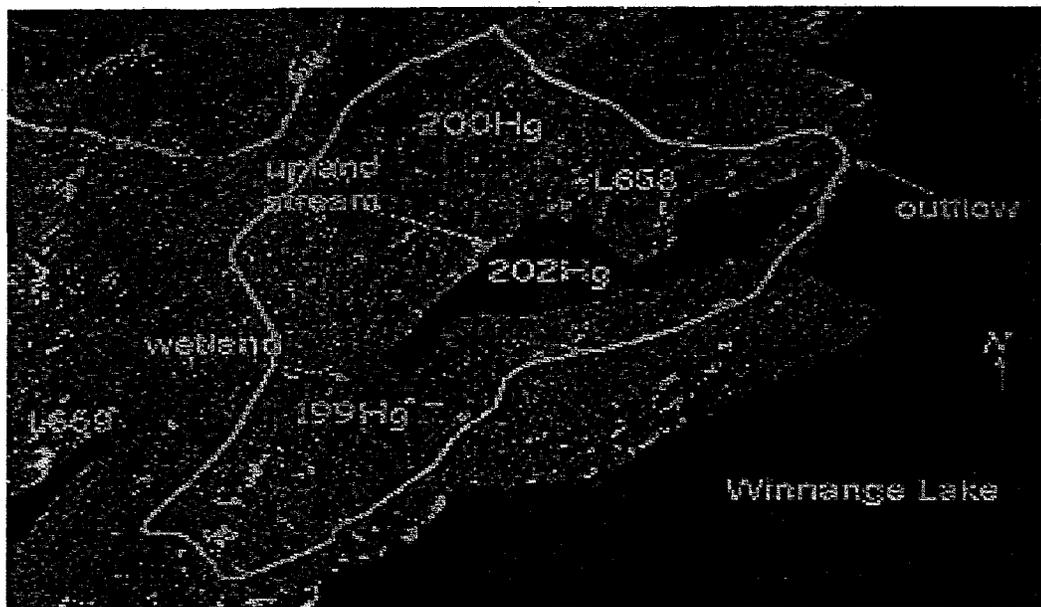
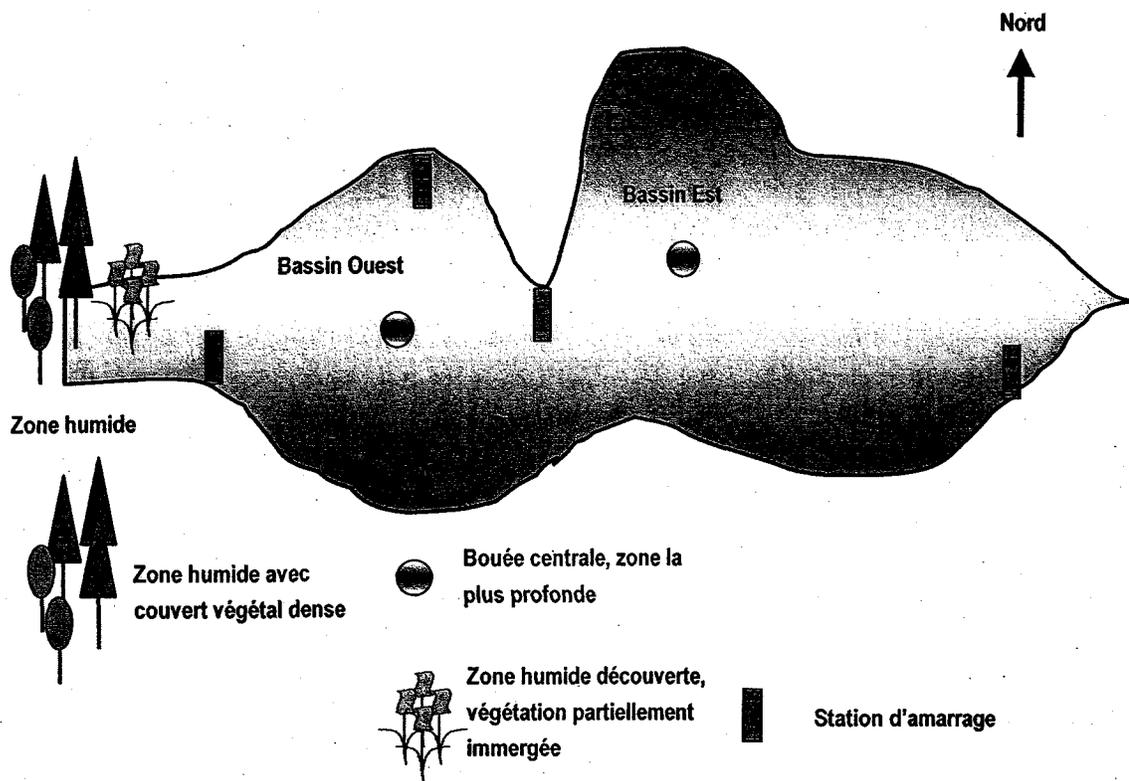


Figure 4 : Représentation schématique et photo aérienne du bassin versant du lac 658.

### 3.2. Ajout des isotopes au lac 658

Afin de conduire au mieux l'ajout de Hg à l'écosystème entier, des expériences en milieux contrôlés et de tailles réduites, qualifiés de mésocosmes, ont été conduites au cours de la saison 2000. Au regard des résultats obtenus (Amyot *et al.* 2002, soumis), et afin d'éviter toute volatilisation excessive du Hg nouvellement ajouté, les ajouts ont été réalisés à la tombée de la nuit et à une profondeur de 70 cm.

Tableau 5 : Caractéristique de l'ajout (pour la méthode, voir le texte ci-après)

Caractéristique de la solution mère	Hg(II) pur à 99,99% dans HNO <sub>3</sub> 5%
Taux d'application	24.1 µg/m <sup>2</sup> /an
Surface du lac	334 ha
Quantité injectée lors de chaque ajout	0.2 g <sup>202</sup> Hg
Ajout total au cours de la saison	1300 mg Hg
Date d'application	19 juin / 3 & 17 juillet / 1, 15 & 28 août / 11 & 25 septembre / 9 octobre

Vingt-quatre heures avant chaque ajout, deux contenants de 20L (FLPE) ont été remplis avec de l'eau du lac 658 et placés au noir. Les isotopes ont été ajoutés le soir de chaque ajout et afin de permettre à la solution d'être bien homogène, laissés à équilibrer pendant une heure. L'hypothèse de la production de CH<sub>3</sub>-Hg dans chacun des contenants a été réfutée après analyse de la solution.

Les ajouts ont débutés à la tombée de la nuit. La solution a été injectée à 70 cm de profondeur, grâce à une pompe péristaltique, au niveau de l'hélice des moteurs électriques utilisés aux fins de propulsion des embarcations. Deux bateaux ont été utilisés pour conduire ces ajouts. L'un était destiné au bassin Est, l'autre au bassin Ouest. La durée de chaque ajout était d'environ une heure et demie.

### **3.3. Suivi des concentrations en Mercure Volatil Dissous à la surface du lac 658**

Dans le but d'étudier la distribution temporelle du MVD, nous avons échantillonné le lac sur une période hebdomadaire (du 17 juin au 13 octobre 2001). Les échantillons ont été ensuite envoyés pour analyse isotopique dans le but de quantifier la quantité de mercure volatil dissous isotopique ( $^{202}\text{MVD}$ ) produit suite à l'addition progressive du  $^{202}\text{Hg}$ . En complément des analyses isotopiques, des échantillons ont été récoltés sur une base régulière afin de conduire les analyses de mercure volatil dissous total (MVD) (natif + isotopique) sur le terrain. L'échantillonnage a été effectué en duplicat voire triplicat dans la majorité des cas. Les prélèvements ont été réalisés à l'aide de bouteille de Teflon (FEP) d'un volume de 1L. L'espace de tête, «*headspace*», dans chacune des bouteilles d'échantillonnage a été soigneusement évité afin de minimiser l'évasion du mercure volatil dissous et de ne pas sous-estimer les résultats. L'échantillonnage en surface s'est fait à la main et juste sous la surface à une profondeur comprise entre 5 et 10 cm. Des gants en latex sans poudre ont été portés en tout temps lorsque du matériel d'échantillonnage devait être manipulé. Après chacun des prélèvements, les échantillons ont été conservés au frais et au noir dans le but d'éviter tout phénomène de photoréduction avant le bullage.

### **3.4. Suivi de la distribution spatiale des concentrations en MVD**

En vue d'étudier la distribution du MVD au sein de la colonne d'eau, nous avons conduit plusieurs profils en profondeur durant la saison d'échantillonnage. Les prélèvements ont été effectués à l'aide d'une ligne de Téflon (PFA) de 14 m de longueur (1/4 in. OD) et d'une pompe péristaltique ( $v = 250 \text{ mL/min}$ ). La ligne était, avant chaque échantillonnage, soigneusement rincée à l'acide ( $\text{HCl } 20\% \text{ HNO}_3 \text{ } 5\%$ ). Une fois encore afin d'éviter tout phénomène de photoréduction, la ligne de pompage en Téflon était gainée de néoprène noir (1/4 ID) et les bouteilles de Téflon de 1L étaient remplies dans une glacière et gardées dans des conditions d'obscurité et de fraîcheur maximales.

Afin d'éliminer tout artefact lié à l'ajout, sur la distribution spatiale des concentrations en profondeur, un profil a été effectué dans le lac de référence du projet, le lac 240.

### 3.5. Expérience d'incubation

Nous avons conduit des expériences de réduction en incubant des échantillons d'eau. Lors des incubations au sein de la colonne d'eau, les bouteilles ont été gardées à la profondeur d'intérêt en utilisant un support en plexiglas (Figure 5) relié à la surface par une fine corde en polypropylène. Chaque support pouvait contenir jusqu'à 3 bouteilles.

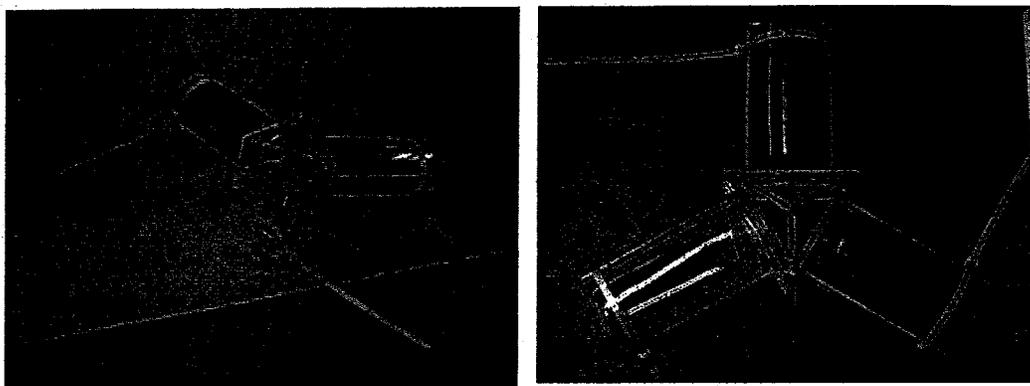
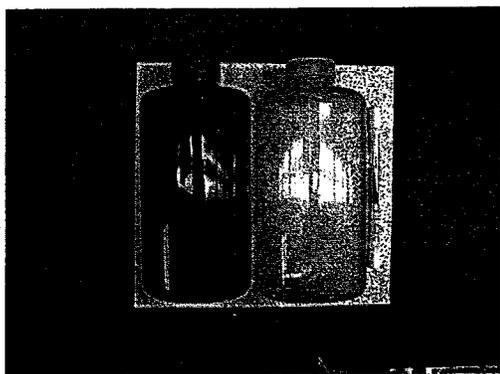


Figure 5 : Photos représentant les supports en plexiglas

Lors des incubations réalisées en surface, les bouteilles ont été placées dans des bacs en plastique transparents remplis d'eau de lac. Les bouteilles ont été incubées horizontalement avec le goulot pointant vers le nord comme mentionnée dans (Leifer, 1988). Nous avons pris soin de conserver la température dans les bacs d'incubation aussi constante que possible en renouvelant régulièrement l'eau. Dans tous les cas, soit lorsque



nous incubions des bouteilles pour une période prédéterminée de plusieurs heures, soit dans le cas des séries temporelles (une bouteille prélevée chaque heure), des bouteilles en Téflon noir remplies de manière similaire au traitement d'intérêt étaient incubées simultanément afin d'obtenir un contrôle sans lumière (Figure 6).

Figure 6 : Photos représentant les bouteilles en Téflon noires et claires

Lors du prélèvement et du transport des bouteilles en fin d'incubation, un grand soin a été apporté à la conservation de ces bouteilles au noir et au frais juste avant analyse. Dans tous les cas, les échantillons ont été analysés immédiatement après retour au laboratoire, les délais d'analyse limitant n'étant attribuables qu'au nombre d'échantillon à traiter. En vue d'étudier l'impact de la photosynthèse sur la production du Hg(0), nous avons préparé une solution mère de DCMU ( $C_i = 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) en dissolvant dans une fiole jaugée de 1L, 1.25 g de DCMU dans 200 mL d'éthanol et 800 mL d'eau ultra-pure (milli-Q®). Afin d'atteindre une concentration finale de  $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  nous avons ajouté 2.5 mL de la solution mère dans chacun de nos traitements (bouteille de Téflon de 1L). La solution de DCMU a été bullée pendant 4 heures avant son utilisation, afin de prévenir l'ajout accidentel de Hg(0) dans la solution réceptrice (dans notre cas, l'eau de lac)

### 3.6. Analyse du Mercure Volatil Dissous

Dans le but de collecter le MVD présent dans l'eau, chaque échantillon (500 mL) a été soigneusement versé dans un bulleur de 1L en verre ambré et a été dégazé pendant 20 minutes avec de l'argon ultra pur (UHP 5.0) (cf. Figure 7)



Figure 7 : Photos des bulleurs ambrés.

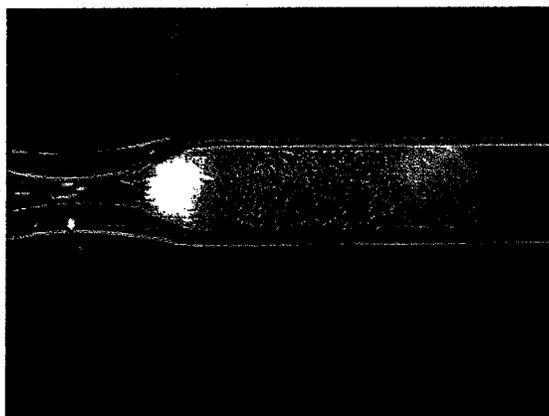


Figure 8 : Photo d'une trappe en fil d'or.

Nous avons placé une trappe en or, qualifiée de trappe de prévention, juste avant l'arrivée du gaz dans le bulleur afin d'assurer la pureté de l'argon utilisé. Deux échantillons étaient bullés simultanément. Il est à noter qu'en plus d'avoir des bulleurs ambrés, cette séparation de phase se faisait au noir dans la pièce. Ainsi, jusqu'au moment

de la collecte du MVD sur les trappes en or, l'échantillon n'a pas été exposé à un quelconque rayonnement lumineux.

Le MVD était ensuite piégé sur une trappe en or (Figure 7 et 8), qualifiée de trappe d'échantillonnage. (Brooks Rand Ltd, Seattle, U.S.A. / préparées au laboratoire). Cette trappe en or était ensuite connectée à la ligne analytique et désorbée par pyrolyse à une température de 500°C pour les trappes en fil d'or et à 300°C pour les trappes en sable d'or. Le produit de cette première désorption était ensuite collecté sur une seconde trappe en or, qualifiée de trappe analytique. Cette trappe était aussi désorbée et le MVD, majoritairement Hg(0), libéré puis quantifié. Cette technique de double amalgamation permet d'obtenir un signal plus fin et de limiter les interférences dues par exemple à un trop grand degré d'humidité dans la trappe. Le flux d'argon utilisé dans la ligne analytique a été fixé à 70 ml.min<sup>-1</sup>. Le MVD a été quantifié par spectrométrie atomique de fluorescence à vapeur froide (SAFVF) grâce à un Tekran™ (modèle 2500). La limite de détection de ce système d'analyse a été établit à 0.0045 pM ou 0.9 pg/L, correspondant à 3 fois l'écart type de 10 échantillons naturels de très faibles concentrations. Le <sup>202</sup>MVD collecté sur des trappes en or a été analysé par ICP-MS.

### 3.7. Analyse et identification du phytoplancton

Les analyses et l'identification du phytoplancton ont été réalisés par D.L. Findlay de Freshwater Institute, Pêches et Océans Canada, situé à Winnipeg. Les prélèvements ont été soit réalisés à l'aide de bouteilles munies de bouchon à fermeture à distance afin de prélever les échantillons à la profondeur voulue, soit à l'aide d'une pompe péristaltique. La méthode est décrite dans Findlay, *et al.* (2001). Les cellules ont été comptées et identifiées par la même personne. Les techniques de Ütermohl comme modifié par Nauwerck (Nauwerck 1963), et DAPI (Pomroy, 1984) ont été utilisées afin de, respectivement, connaître le biovolume algale, et mettre en évidence et compter les cellules. Les comptes cellulaires ont été convertis en poids humide de biomasse en approximant le volume cellulaire. L'estimation de ce volume cellulaire s'est fait pour chaque espèce en utilisant jusqu'à 50 cellules de cette espèce et en appliquant la formule mathématique décrivant le mieux la forme de la cellule. (Rott, 1981, Vollenweider 1968). La gravité spécifique pour la masse cellulaire a été fixé à 1.

Après prélèvement, les échantillons ont été préservés grâce à l'ajout de lugol. Les échantillons sont ensuite titrés avec du thiosulfate de sodium afin d'éliminer le lugol des échantillons puis teints en utilisant du 4',6'-diamidino-2-phenylindole (DAPI, Pomeroy, 1984) puis analysés en utilisant la microscopie à épifluorescence.

### 3.8. Analyse du *mer-A*

Les analyses et l'identification des séquences génétiques ont été réalisées par T. Barkay, (Rutgers University, NJ). Les échantillons d'eau ont été filtrés au travers de filtres-cartouches de 0.22 µm. (Sterivex-GS; Millipore Corp., Bedford, Mass.) immergés dans un bain de glace. Après que les filtres aient été vidés de tout liquide, ils ont été conservés sur de la glace sèche ou à -70C jusqu'à extraction. Les échantillons traités dans le cadre de cette étude ont été filtrés sur le terrain et envoyés pour analyse au laboratoire. Les cellules collectées sur les filtres ont été détruites, leur ARN purifié et sa concentration déterminée à l'aide de la polymérase chain reaction (PCR). Cette méthode est basée sur l'amplification d'un gène cible en utilisant des sondes ADN (« DNA primers ») et de l'ADN polymérase. L'ARN est d'abord converti en ADNc (ADN cyclique) grâce à une ADN polymérase ARN dépendante (ou transcriptase inverse), puis le gène cible situé sur cet ADNc nouvellement formé est amplifié en utilisant la PCR.

Tout d'abord les gènes codant pour l'ARN ribosomal 16s (ARNr 16s) ont été amplifiés puisqu'ils sont les plus communs. Cette première étape permet de savoir si la méthode fonctionne et si effectivement de l'ARN bactérien est présent dans les échantillons. La seconde étape consiste à amplifier un gène très commun, codant pour la glutamine synthétase (*glnA*). Cette étape permet de savoir si de l'ARN messager (ARNm) est réellement présent dans l'échantillon. Cette étape est cruciale car l'ARNm est beaucoup moins stable que l'ARN ribosomal (ARNr) et une perte est toujours possible.

Si et seulement si *glnA* est trouvé dans l'échantillon, la quantification du *mer-A* débute. Lorsque du *mer-A* est trouvé en utilisant une PCR qualitative, un protocole basé sur une PCR quantitative est conduit. Cette dernière étape nous permet alors de savoir combien de transcripts *merA* sont effectivement présents dans l'extrait original d'ARN.

## 4. Distribution Spatiale des concentrations en Mercure Volatil Dissous (MVD)

### 4.1. Phénomène régissant la production de MVD en surface

#### 4.1.1. Photoproduction de MVD à la surface du lac 658, et dans la zone humide

Afin de confirmer l'influence du rayonnement solaire sur la production de Mercure Volatil Dissous, nous avons incubé de l'eau de surface du lac 658 dans des bouteilles en Téflon claires, permettant le passage de la lumière (97.5 % du rayonnement incident, Amyot *et al* 1994) et noires, mettant les échantillons à l'abri de toutes radiations solaires. Cette section présente les résultats des incubations réalisées dans le lac et dans la zone humide attenante au lac 658.

##### a). Calcul du taux de réduction

Les taux de réduction, caractérisés par une *cinétique de premier ordre*, peuvent être calculés grâce à l'équation suivante :

$$d[\text{Hg}^0]/dt = -k[\text{HgP}] \quad (1)$$

Après intégration, nous obtenons :

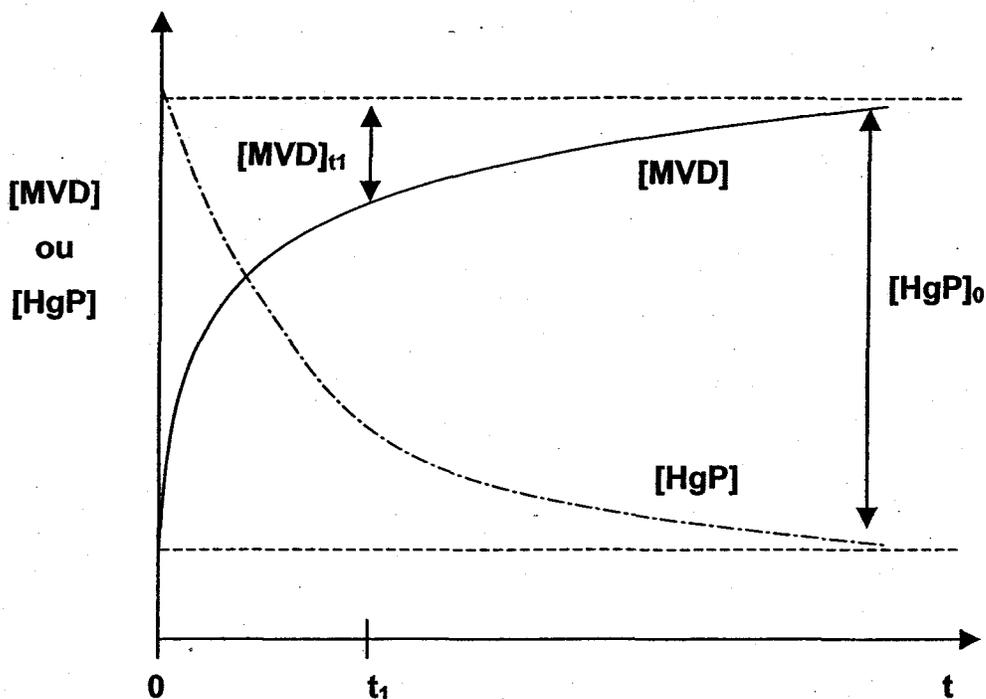
$$a) \ln[\text{HgP}] = \ln[\text{HgP}]_0 - kt$$

avec

$$b) \ln[\text{HgP}] = \ln([\text{HgP}]_0 - [\text{MVD}]_t)$$

où  $[\text{HgP}]_0$  est la concentration initiale de Hg photoréductible définie lorsque les concentrations en MVD atteignent un plateau ( $d[\text{Hg}^0]/dt = 0$ ),

$[\text{HgP}]$  est la concentration de Hg photoréductible au temps  $t$ , définie par la différence entre la concentration initiale en Hg photoréductible ( $[\text{HgP}]_0$ ) et la concentration en Mercure Volatil Dissous au temps  $t$ ,  $[\text{MVD}]_t$ . (Figure 9)



**Figure 9:** Représentation schématique des termes utilisés lors du calcul des taux de réduction

**b). Calcul du taux de photoproduction**

Contrairement au taux de réduction qui nous donne une information cinétique, i.e. sur la vitesse à laquelle une réaction peut se produire, le taux de photoproduction nous donne une idée de la capacité photoprodutrice d'un milieu. Bien que les deux, soit très fortement lié, le taux de photoproduction est parfois plus aisé à interpréter.

Le calcul des taux de production est calculé comme indiqué ci-après,

$$[MVD]_{\text{prod}} = ([MVD]_a - [MVD]_b)/t \quad (2)$$

où

$[MVD]_{\text{prod}}$  est le taux de photoproduction ( $\text{fmol} \cdot \text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ ),

$[MVD]_a$  est la concentration en MVD dans les bouteilles transparentes (fM),

$[MVD]_b$  est la concentration en MVD dans les bouteilles noires (fM).

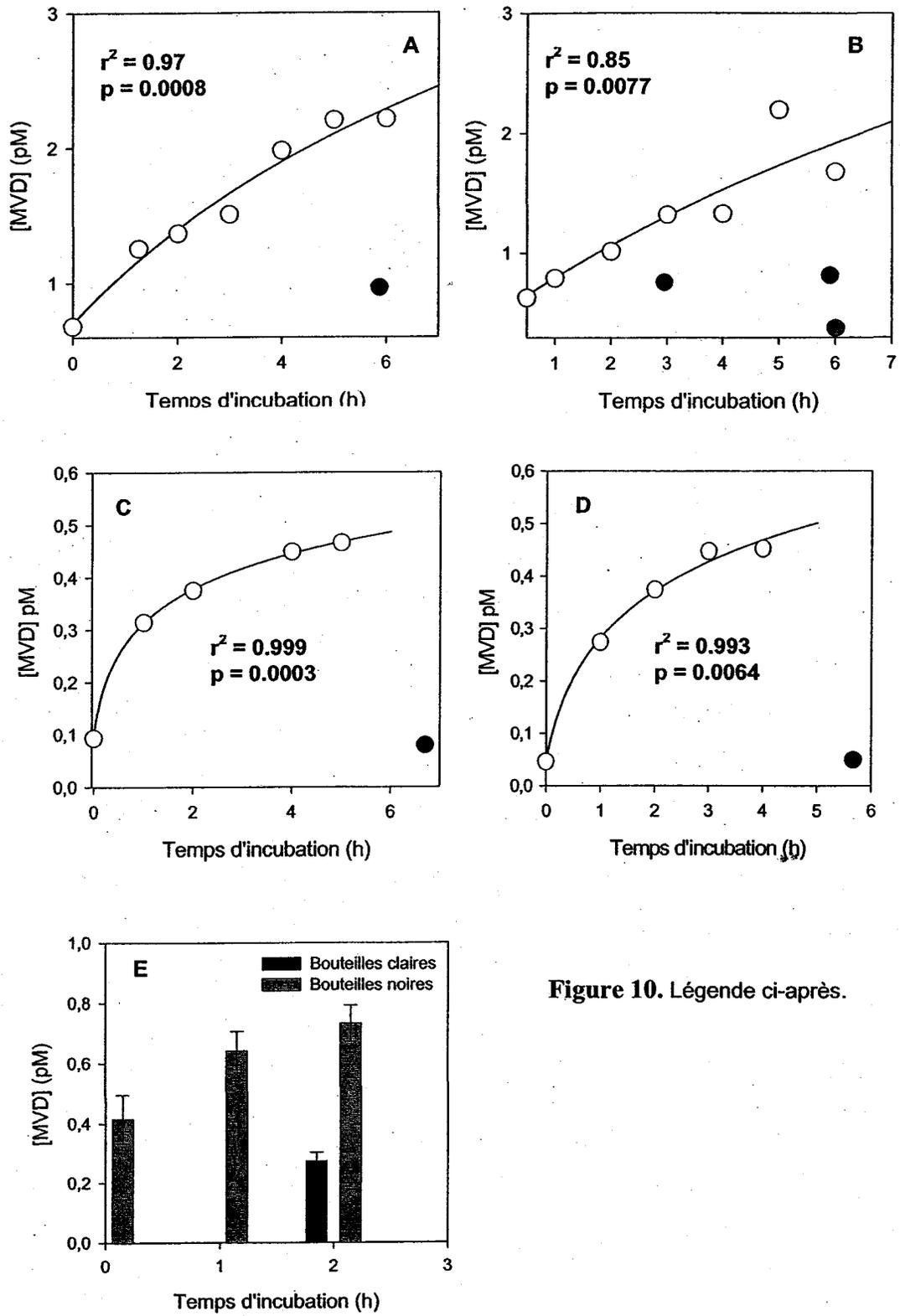


Figure 10. Légende ci-après.

**Figure 10:** Séries temporelles des concentrations en MVD dans l'eau de surface du lac 658 (A, le 08/08/01 incubation mixte mélange eau du 658/eau du winnange 50/50 et B, le 28/09/01, eau du lac 658 seule). Séries temporelles des concentrations en MVD dans l'eau de surface de la zone humide (C, zone ouverte, et D zone couverte, végétation très dense, le 07/08/01). E, incubation réalisée dans le lac 658, le 25 mai 2001. Dans tous les cas, les points blancs représentent les incubations réalisées dans les bouteilles en Téflon claires et les points noirs représentent les bouteilles noires. Le point gris correspond à un blanc de terrain. Ce point représente la valeur donnée par une bouteille de Téflon remplie d'eau milliQ, apportée sur le terrain, ouverte et manipulée comme les échantillons puis analysée. Elle représente la contamination potentielle apportée par le transport, la manipulation et le stockage des échantillons. La ligne droite continue représente une régression non linéaire de la forme  $[y = y_0 + \ln(x-x_0)]$  appliquée sur les données.

**Tableau 6 :** Synthèse des taux de production de MVD dans l'eau de surface et dans la zone humide du lac 658 ainsi que quelques données trouvées dans la littérature. Les incubations ont été réalisées entre 10 :00 et 14 :00 h. La valeur de PAR représente une moyenne des données obtenues toutes les 10 minutes.

Description	Taux de photoproduction (fM·h <sup>-1</sup> )	Taux de réduction (h <sup>-1</sup> )	PAR (μE/m <sup>2</sup> /sec <sup>-1</sup> )
Lac 658 (25/05/01) surface	275	2	-
Lac 658 (28/09/01)	193	0.44 ± 0.09	1083.3 ± 60
Mélange 50/50 Winnange/L.658 (08/08/01)	249	0.62 ± 0.12	1466.6 ± 71
Zone humide ouverte (07/08/01)	87	0.92 ± 0.17	1483.3 ± 98
Zone humide couverte (07/08/01)	113	0.93 ± 0.03	1483.3 ± 98
Lac tempéré (Ranger Lake) (Amyot et al. 1994)	Août : 182 Septembre : 77	-	-
Lac arctique (North Lake) (Amyot et al. 1997)	Juillet : 314 à 396	-	-

Dans tous les cas, les échantillons incubés dans les bouteilles claires ont vu leurs concentrations en MVD augmenter et tendre vers un plateau, en fonction du temps d'exposition à la lumière, contrairement au traitement dans lequel l'eau était incubée dans des bouteilles noires (Figure 10). La diminution des taux de réduction et de photoproduction entre mai et septembre (respectivement de  $2\text{h}^{-1}$  à  $0.44 \pm 0.09\text{ h}^{-1}$  et de  $275\text{ fM}\cdot\text{h}^{-1}$  à  $193\text{ fM}\cdot\text{h}^{-1}$ ) est vraisemblablement le reflet d'une diminution de l'intensité lumineuse. Ces données sont comparables à ce que l'on peut retrouver dans la littérature. Cependant les valeurs de PAR pour le mois de mai ne sont pas disponibles ce qui ne nous permet pas de conclure sur le rôle de la lumière d'une manière quantitative. Comme des études antérieures ont pu le montrer (Amyot, *et al.* 1994, Amyot, *et al.* 1997) pour d'autres environnements, la génération de MVD en surface (dans le cas du lac 658 et de sa zone humide) est de nature photochimique.

#### 4.1.2. Atténuation du phénomène de photoproduction avec la profondeur.

Afin de savoir si la photoréduction du mercure n'était un phénomène observé que dans les premiers centimètres sous la surface, nous avons conduit une expérience d'incubation en surface (20 cm) et à 1 mètre de profondeur avec de l'eau prélevée à 1 mètre.

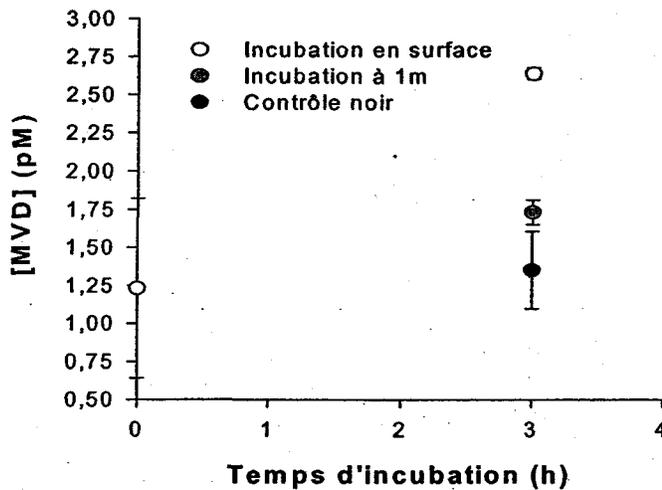
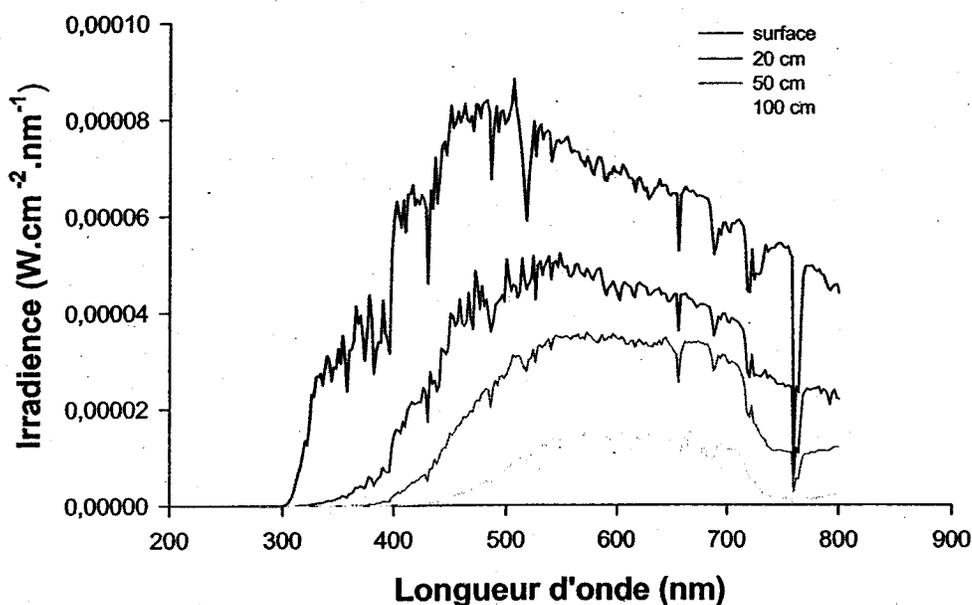


Figure 11: Incubation d'eau prélevée à 1 mètre de profondeur et incubée en surface ou à 1 mètre de profondeur.

Tableau 7 : Taux de photoproduction de MVD dans des échantillons incubés, soit en surface (20 cm) soit à 1 mètre de profondeur.

Profondeur	[MVD] <sub>h=3</sub> (pM)
surface (20 cm)	0,43
1 mètre	0,11

Les concentrations et les taux de photoproduction en MVD sont plus faibles lorsque les échantillons sont incubés à 1 mètre de profondeur (Figure 11 et Tableau 7), comparativement à ceux incubés sous la surface (l'eau étant de même qualité dans les deux cas puisque prélevée à 1 mètre).



**Figure 12:** Évolution de l'irradiance entre la surface et 1 mètre de profondeur, L.658, Juin 2001.

Il est possible de comparer d'une manière quantitative les données de MVD et l'intensité du rayonnement lumineux. Pour ce faire, on effectue le ratio entre les quantités d'énergie présentes aux deux profondeurs d'incubation que l'on compare avec le ratio des taux de photoproduction à ces deux profondeurs.

**Tableau 8:** Comparaison quantitative de la baisse de l'intensité lumineuse (irradiance) vs la diminution de photoproduction.

	Irradiance moyenne (W.cm <sup>2</sup> .nm)	Photoproduction (µmol.Lsh <sup>-1</sup> )
20 cm sous la surface	2.89451E-05	0.43
100 cm sous la surface	6.09181E-06	0.12
Ratio	0.21	0.27

Les ratios sont similaires, passant de 0.21 pour la lumière à 0.27 pour la photoproduction. (Tableau 8). La baisse de photoproduction de MVD avec la profondeur

est fortement liée à la diminution de la quantité de lumière. Dans la zone comprise entre 0 et 1 m la lumière est donc le paramètre majeur conduisant à la formation de MVD. La diminution de la lumière avec la profondeur suit une décroissance logarithmique, comme nous l'indique la loi de Beer. Une simple extrapolation nous permet de dire que l'on retrouvera à 3 m de profondeur, moins de 1% de l'énergie lumineuse présente en surface. Sur le terrain, les mesures prises sur une base bimensuelle nous indique qu'effectivement, le 1% de l'énergie lumineuse fluctue entre 4 et 5 m de profondeur pour le Lac 658 (M. Lyng, commun. pers.).



## 4.2. Production de Mercure Volatil Dissous à l'interface métalimnion / hypolimnion

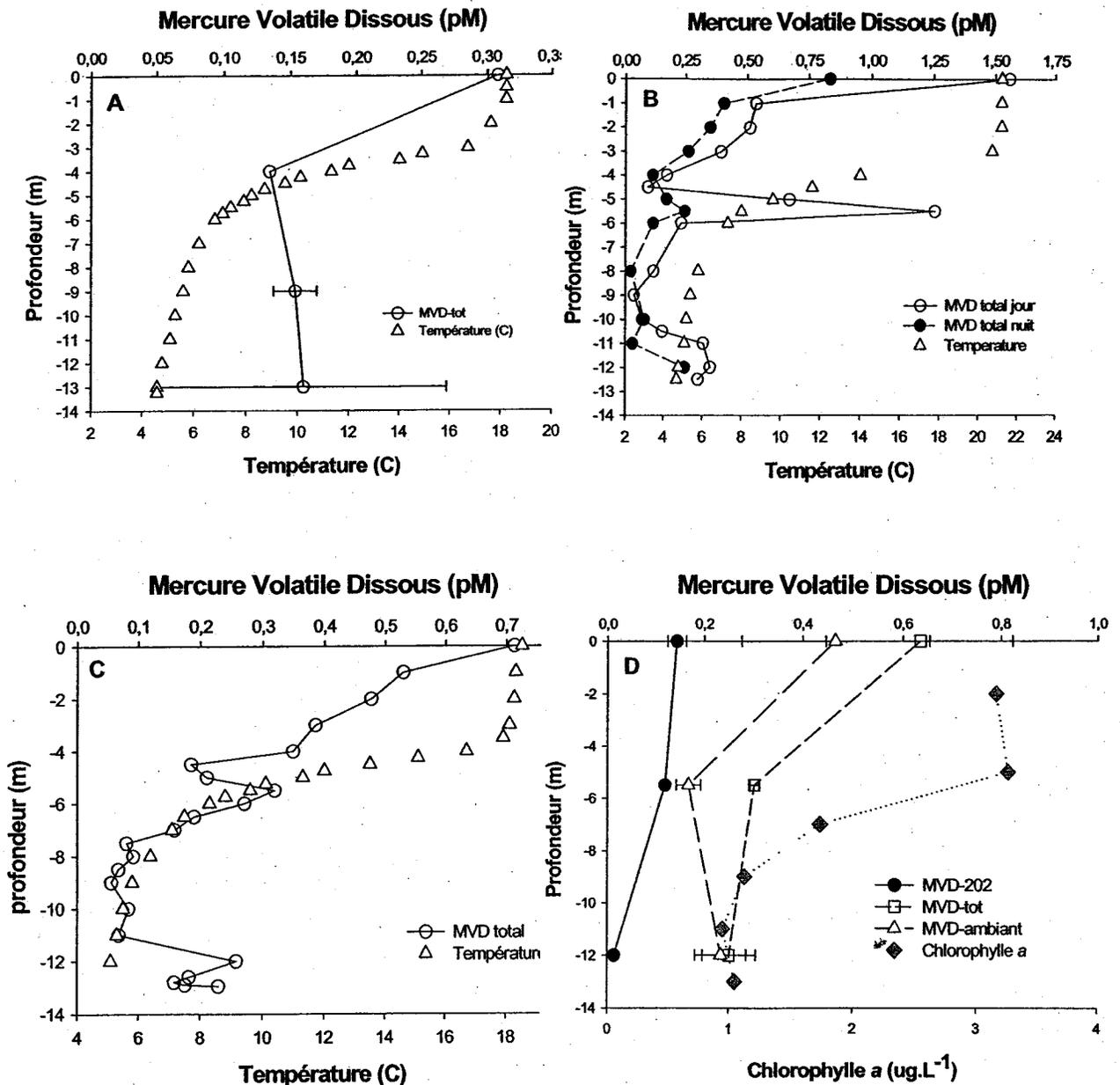
Cette partie présente les résultats de deux saisons d'échantillonnage (de mai à octobre 2001, puis de juin à août 2002).

### 4.2.1. Saison d'échantillonnage 2001

Comme nous l'avons vu précédemment, la production de MVD dans le premier mètre de la colonne d'eau est majoritairement dirigée par le phénomène de photoréduction dépendant de l'intensité lumineuse pénétrant au sein de cette même colonne d'eau. Afin de savoir si d'autres zones de production pouvaient exister au sein du lac 658, nous avons conduit plusieurs profils en profondeur.

Afin d'appréhender l'évolution du profil en profondeur en fonction du temps, 4 profils ont été effectués au cours des mois de juin, août, septembre et octobre (**Figure 13**). On peut discerner au mois d'août (**Figure 13 B**) trois zones au sein desquelles la production de MVD semble importante. Tout d'abord, la surface, dont nous avons déjà parlé précédemment, ensuite, la limite inférieure du métalimnion, à 5.5 m de profondeur et enfin la zone située juste au-dessus des sédiments, entre 12 et 13.9 m de profondeur. Dans le cadre de cette partie nous nous intéresserons aux phénomènes se produisant sous la zone de photoproduction de MVD, i.e. la zone inférieure à 4 m.

La production métalimnétique de Mercure Volatil Dissous est maximale à 5.5 mètres de profondeur. En août celle-ci correspond à un pic métalimnétique de concentration en chlorophylle *a* (**Figure 14 A**). Ces pics métalimnétiques de chlorophylle *a* ont déjà été observés par Fee dans différents lacs de la région des lacs expérimentaux (Fee, 1976). Les concentrations en MVD diminuent tout comme les concentrations en chlorophylle *a* suivant un rythme saisonnier entre août ([MVD] = 1.27 pmol·L<sup>-1</sup> (**Figure 13 B**) à 5.5 mètres de profondeur, [Chl *a*] = 14.52 µg·L<sup>-1</sup> (**Figure 14 A**) et septembre puis octobre ([MVD] = 0.32 pmol·L<sup>-1</sup> (**Figure 13 C et D**) à 5.5 mètres de profondeur, [Chl *a*] = 3.2 µg·L<sup>-1</sup> (**Figure 14 B**). Nous observons de plus, une diminution des concentrations en Mercure Volatil Dissous (de 1.27 pmol·L<sup>-1</sup> 2 :00 pm à 0.27 pmol·L<sup>-1</sup> 2 :00 am (**Figure 13 B**), pendant la nuit lorsque l'activité autotrophe des organismes



**Figure 13 :** Profils au sein de la colonne d'eau du Lac 658 pour les mois de juin (A), août (B), septembre (C) et octobre (D). Ce dernier profil représente les données isotopiques (<sup>202</sup>MVD) et non isotopiques (MVD-tot).

photosynthétiques est nulle. Cette diminution des concentrations nocturnes peut cependant être la conséquence de trois phénomènes :

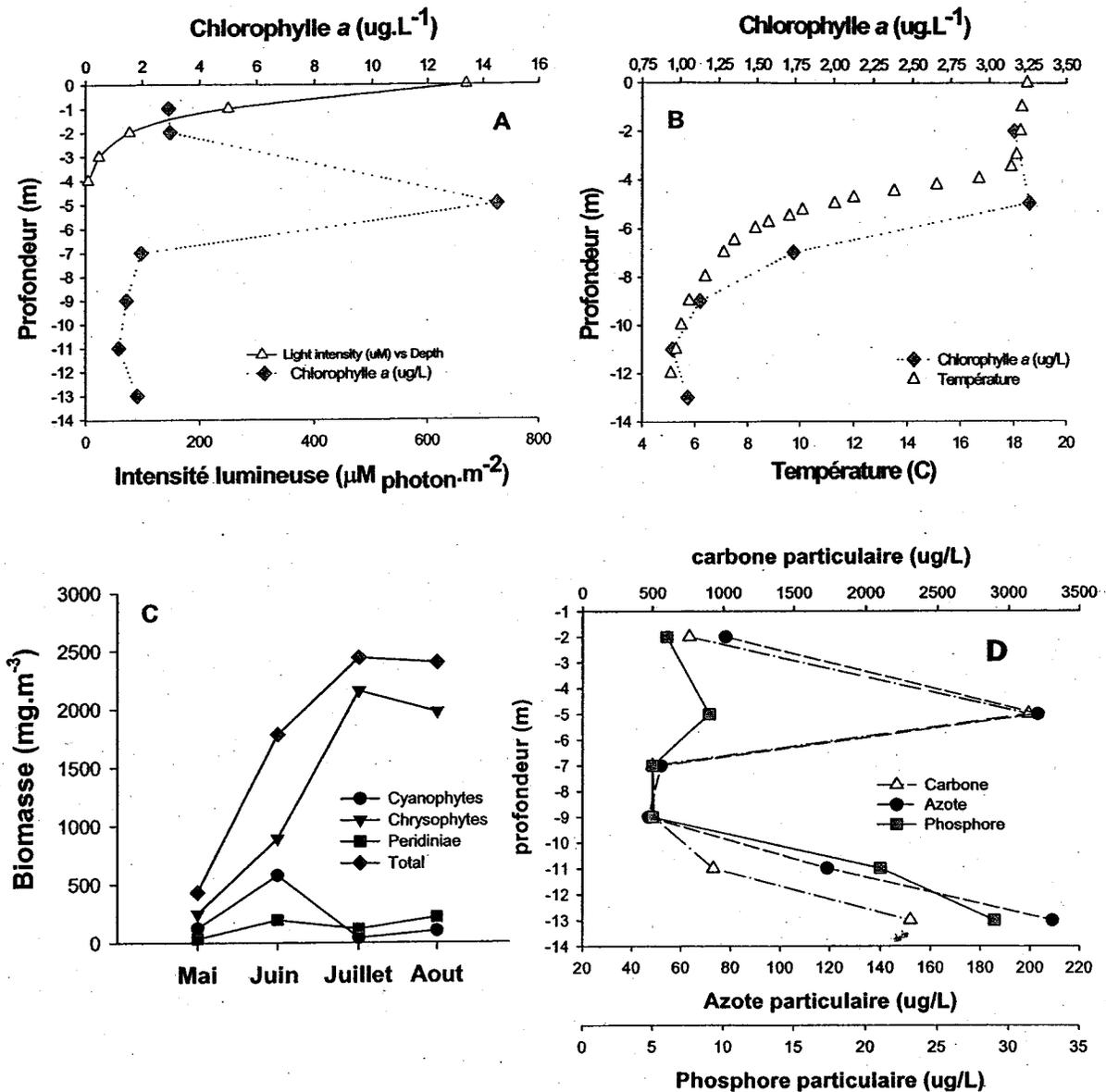
1. Diminution de la production de MVD à 5.5 mètres de profondeur.
2. Augmentation durant la nuit du phénomène d'oxydation.
3. Diffusion du MVD produit durant le jour de part et d'autre de la zone de production, le phénomène de mélange étant négligeable en raison du gradient trop fort de température régnant dans cette zone.

Cette zone d'intérêt située à la limite inférieure de la thermocline est riche en éléments dissous et particulaires (Figure 14 C) et notamment en matière organique ayant pour origine la dégradation bactérienne des organismes morts et des débris végétaux sédimentant à cet endroit en raison du fort gradient de température.

L'observation microscopique des cellules phytoplanctoniques responsables de ce pic de chlorophylle *a* en août (Figure 14 A) révèle que ces cellules sont en bon état et vivantes (Findlay commun. pers.). L'étude du suivi de la biomasse phytoplanctonique du métalimnion du lac 658 durant les mois de juin, juillet, août (Figure 14 C) et septembre (Findlay, commun. pers.) montre que les Chrysophycées sont le groupe dominant (jusqu'à 90% de la biomasse totale), notamment les genres *Synura* et *Dinobryon*.

Les Chrysophycées sont des algues unicellulaires souvent organisées en colonie dans le cas de plusieurs espèces. Certaines possèdent la particularité d'être mixotrophes (cas de *Dinobryon*), c'est-à-dire qu'elles peuvent utiliser la matière organique comme source alternative de carbone. Ceci se fait soit par broutage des bactéries soit par l'utilisation du carbone organique dissous. De plus, ces algues aiment les environnements caractérisés par une faible intensité lumineuse et riches en matière organique (Findlay, *et al.* 2001) et sont souvent responsables des blooms métalimnétiques et hypolimnétiques (Findlay, *et al.* 2001).

La présence de ces algues sous le 1% de l'énergie lumineuse reçue en surface et dans la zone d'accumulation de la thermocline, dans notre cas à 5.5 mètres de profondeur est consistante avec leur écologie. Il semble que les concentrations en Mercure Volatil Dissous enregistrées à 5.5 mètres de profondeur, varient en fonction de la présence (similitude entre les pics de [MVD] et de [Chl *a*]) et de l'activité des Chrysophycées (diminution des [MVD] la nuit, lorsque l'activité photosynthétique des organismes autotrophes est réduite voire nulle). Cette production de MVD est associée à une baisse

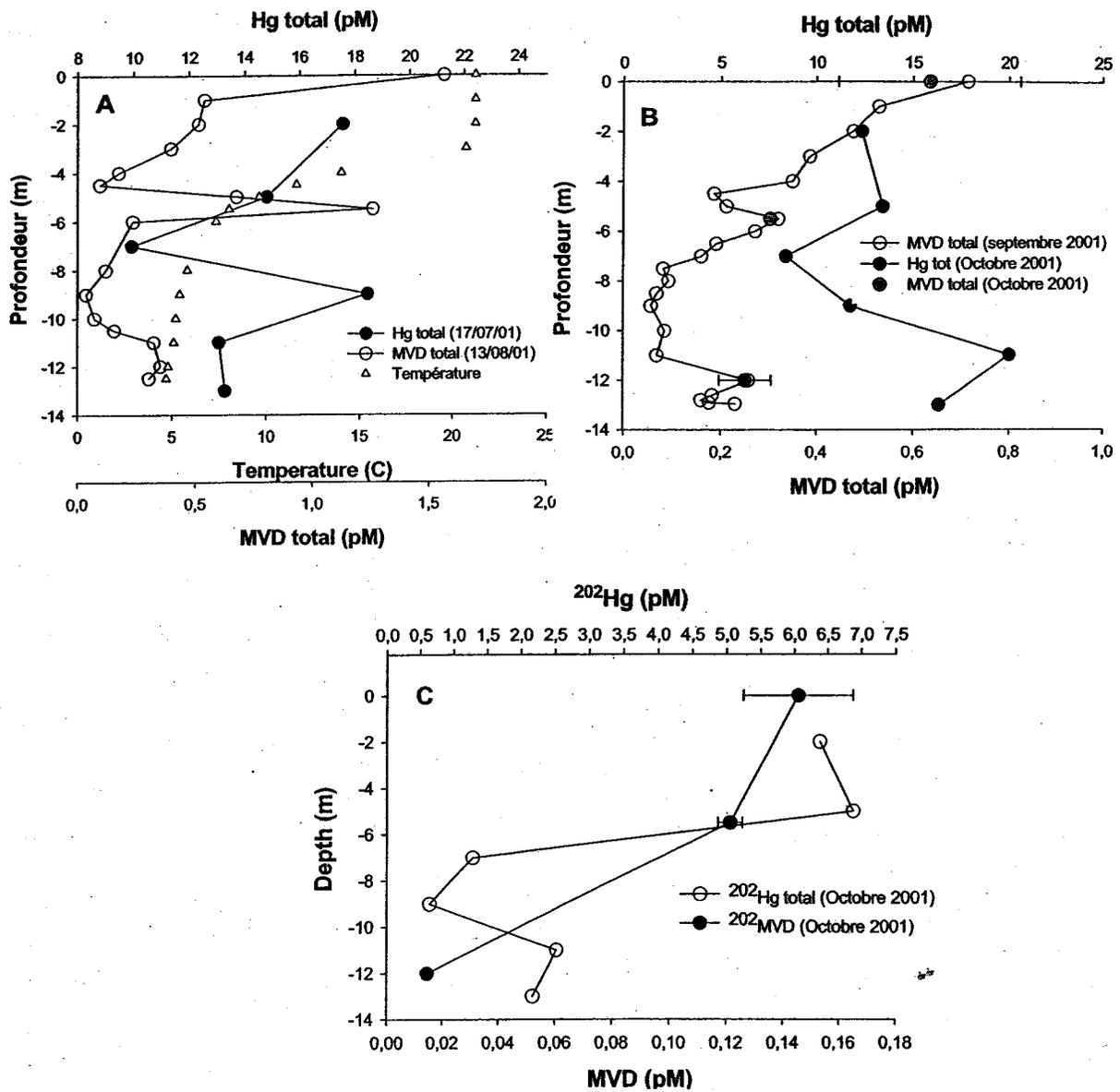


**Figure 14 :** Évolution de la concentration en chlorophylle a en fonction de la profondeur entre Août (A) et septembre (B). Distribution du phytoplancton métalimnétique (échantillon intégré) de mai à août (C) et Distribution du carbone, de l'azote et du phosphore particulaire au sein de la colonne d'eau du lac 658, août 2001 (D).

du Hg total entre 5 et 7 mètres (Figure 15 A et B). Il est possible que la production biologique de MVD à ces profondeurs cause cette baisse.

Les isotopes nouvellement ajoutés, sont eux aussi réduits à 5.5 m, comme le montre la présence de concentrations en  $^{202}\text{MVD}$  proches de celles trouvées à la surface ( $^{202}\text{MVD}_{5.5\text{m,oct}} = 0.13 \text{ pM}$  et  $^{202}\text{MVD}_{\text{surf,oct}} = 0.15 \text{ pM}$ ) (Figure 15 C).

Dans le cadre de notre étude, l'analyse des échantillons collectés en vue de mettre en évidence la présence de l'opéron mercure codant pour la réductase du mercure ne s'est pas avérée positive. Le *mer-A* n'a pu être identifié ni en surface ni à 5.5 mètres de profondeur alors que le seuil d'induction (50 pM) est dépassé. L'absence du *mer-A* est cependant à nuancer. Ces résultats signifient soit que le *mer-A* n'est vraiment pas présent chez les organismes situés à ces profondeurs, soit que les sondes utilisées dans le processus de PCR ne sont pas assez spécifiques et ne permettent pas de détecter les transcripts issus des organismes de lac 658. Cependant, les sondes employées sont celles qui sont utilisées d'une manière régulière dans le cas des études menées par l'équipe de T. Barkay sur les sites contaminés du New-Jersey et semble constituer un bon exemple de ce que l'on peut retrouver dans l'environnement.



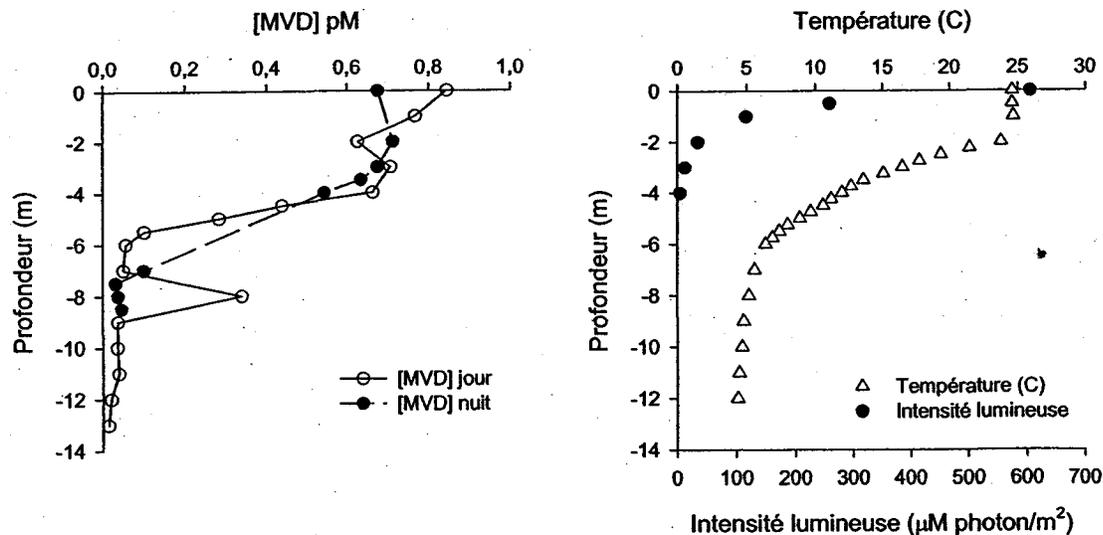
**Figure 15 :** Distribution des concentrations en MVD total (août) et Hg total (juillet) dans le lac 658 (A). en MVD total (septembre et octobre) et en Hg total (octobre) dans le lac 658 (B) et Distribution des concentrations en  $^{202}\text{MVD}$  et  $^{202}\text{Hg}$  au sein de la colonne d'eau du lac 658, octobre (C). Dans tous les cas pour l'année 2001.

#### 4.2.2. Saison d'échantillonnage 2002

Au cours de la saison 2002, nous souhaitons confirmer le rôle du phytoplancton dans les mécanismes conduisant à la production de MVD. Les caractéristiques du Lac 658 étaient cependant différentes de la saison 2001 en raison d'une fonte des glaces très tardive. Le premier bloom observé début juillet était situé entre 3.5 mètres et 4 mètres de profondeur. (Findlay, com. pers.). Ces données ont été confortées sur le terrain en observant directement en plongée, la présence d'une couche trouble d'une trentaine de centimètres à environ 3.5 mètres de profondeur. L'observation microscopique sommaire des échantillons a révélé qu'il s'agissait de cellules biologiques. L'identification et l'analyse complète des échantillons effectuées par D. Findlay a permis de les classer comme des Dinoflagellés mixotrophes avec la présence notable de Nanoflagellés de la famille des Chrysophycées du genre *Synura*.

Le premier profil de MVD réalisé le 01/07/02 nous indique une production de MVD inattendue entre 3 et 4 mètres de profondeur (

Figure 16).



**Figure 16** : Profils réalisés au sein du Lac 658. 1<sup>er</sup> juillet 2002. Le point enregistré à 8 mètre de profondeur peut constituer un artefact ou une erreur analytique et n'est pas pris en considération dans la discussion.

Les concentrations en MVD dans la zone métalimnétique ( $0.68 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) atteignent des valeurs proches de celles observées en surface ( $0.84 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Ces concentrations ne peuvent pas être le résultat du mélange des couches épilimnétiques et métalimnétiques en raison du gradient de température trop fort régnant au sein du métalimnion. De plus, cette zone est située au niveau du 1% de l'énergie lumineuse reçue en surface, tous les processus photochimiques sont donc fortement atténués. Ces concentrations sont donc le résultat d'une production *in-situ* au sein du métalimnion. Deux semaines après le premier profil, nous avons tenté une nouvelle fois de connaître la distribution spatiale du MVD au sein de la colonne d'eau (Figure 17).

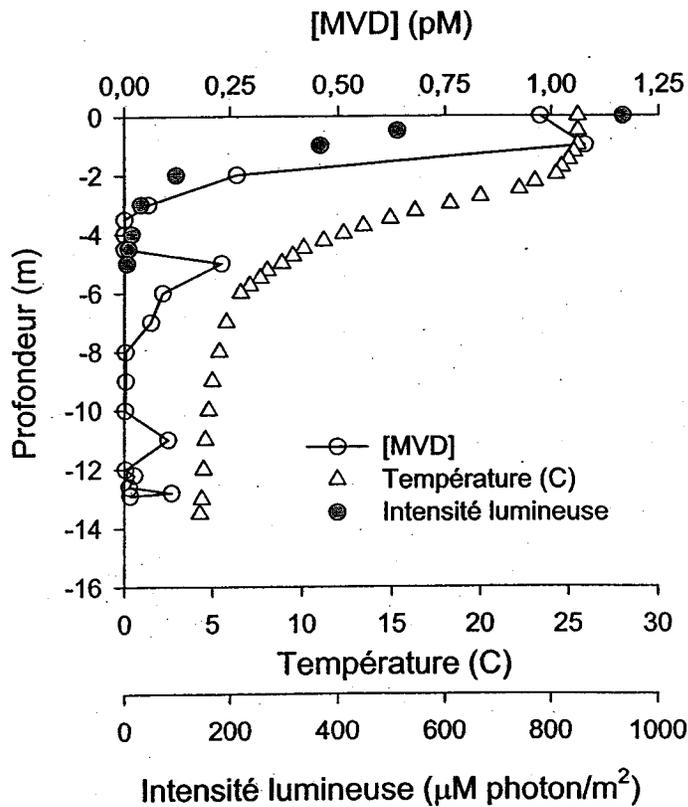


Figure 17: Profil réalisé au sein de la colonne d'eau du lac 658. 17 juillet 2002.

Les concentrations, bien que très similaires à ce que l'on a pu observer deux semaines plus tôt pour l'ensemble de la colonne d'eau, sont presque nulles dans la zone comprise entre 3 et 4.5 mètres. La quantification du phytoplancton métalimnétique nous

révèle que la biomasse a déçu de plus de 60% entre le 1<sup>er</sup> juillet et le 15 juillet 2002 (Figure 18). Cette décroissance rapide de la biomasse nous indique que le bloom de Dinoflagellés a été de courte durée. Les concentrations métalimnétiques en MVD suivent cette décroissance. Le bloom de Dinoflagellés, lorsqu'il disparaît, semble être associé à une diminution des concentrations en MVD.

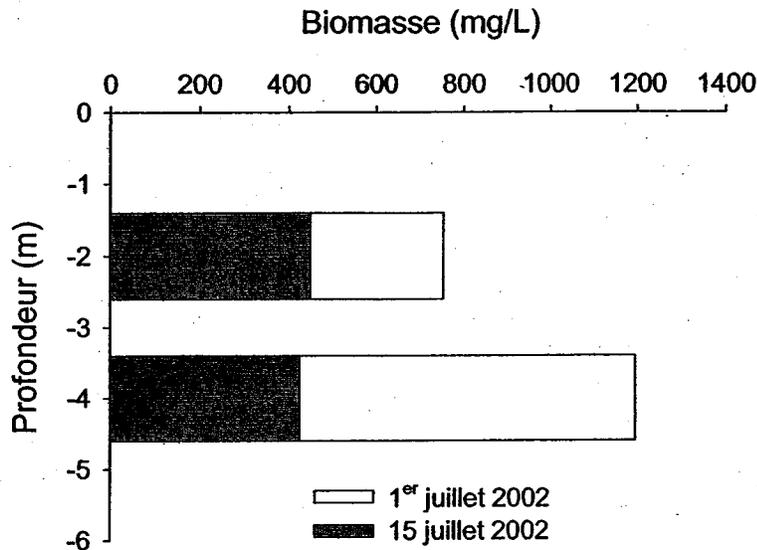


Figure 18 : Évolution des biomasses phytoplanctoniques épilimnétiques et métalimnétiques entre le 1<sup>er</sup> juillet et le 15 juillet 2002. L. 658.

Dans le cas des profils réalisés en 2002, la décroissance nocturne n'est pas significative (Figure 16). Ceci pourrait peut-être s'expliquer par la présence majoritaire d'organismes mixotrophes qui ont pu réduire le Hg alors qu'ils opéraient en mode hétérotrophe. Les conditions du milieu en termes de nutriments, les ont peut être entraîné à fonctionner selon ce mode.

Afin de mieux caractériser les organismes impliqués dans cette production de MVD, nous avons conduit une expérience d'incubation à 3.5 mètres de profondeur avec de l'eau prélevée à 3.5 mètres. L'eau a été filtrée et/ou additionnée de DCMU, un inhibiteur du photosystème II (PSII). Après trois jours d'incubation *in-situ* à 3.5 m de profondeur, la seule augmentation en MVD a été observée dans le traitement non filtré (UF) conduisant à une augmentation des concentrations de 33% (Tableau 9). Dans le cas

du traitement filtré, nous n'observons pas de différence significative entre le jour 0 et le jour 3. Dans les deux cas (UF et F), l'ajout de DCMU, entraîne une diminution significative des concentrations en MVD de l'ordre de 46 % (Tableau 9).

Le phytoplancton aurait potentiellement la capacité de réduire le mercure soit directement par des mécanismes membranaires ou cytosoliques soit indirectement grâce au relargage de produits réducteurs, dans tous les cas, ces mécanismes dépendent de son métabolisme. Lors de l'ajout de DCMU, nous freinons l'activité photosynthétique en stoppant le transport d'électrons du photosystème II au niveau du site de fixation des plastoquinones. Dans les traitements avec le DCMU, la diminution des concentrations (Figure 19) en MVD provient de la consommation du Hg(0) par les réactions d'oxydation. En l'absence de l'élément réducteur (i.e. le métabolisme du phytoplancton), l'équilibre d'oxydoréduction du mercure à l'intérieur de nos bouteilles d'incubation a été rompu et tend alors vers la formation de Hg(II) au détriment du Hg(0). Les concentrations un peu plus élevées à  $t = 0$  proviennent vraisemblablement de la solution de DCMU induisant une légère contamination.. Dans le cas du traitement non filtré (UF + DCMU), la diminution (Figure 19) est le reflet de l'arrêt de l'activité photosynthétique du phytoplancton, permettant aux réactions d'oxydation de devenir majoritaire. Dans le cas du traitement filtré (F + DCMU), cette diminution est le reflet de l'enlèvement de l'élément réducteur et/ou de l'inhibition métabolique d'organismes de taille inférieure à 1  $\mu\text{m}$ . Dans les deux cas, soit par inhibition directe du métabolisme, soit par élimination des organismes par filtration, les concentrations en MVD diminuent en raison de la prépondérance des réactions d'oxydation.

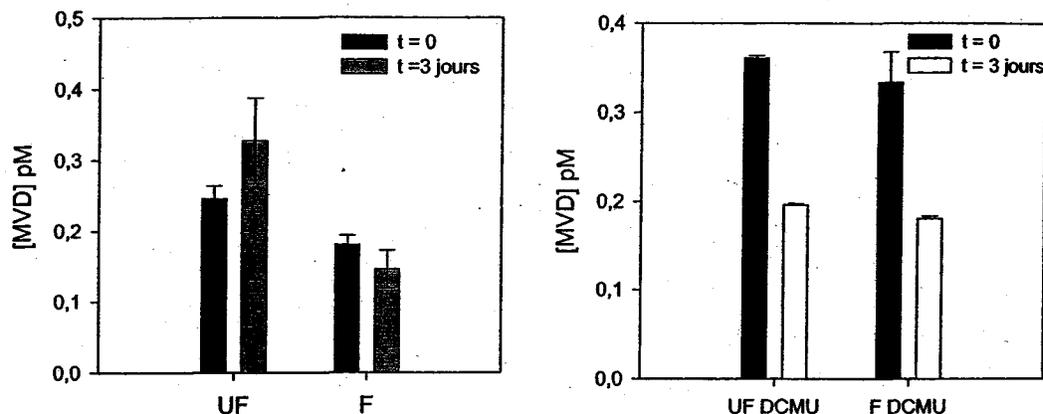


Figure 19: Incubation réalisée *in-situ*, à 3.5 mètres de profondeur dans le lac 658, entre le 5 et le 8 août 2002. Les traitements sont repérés à l'aide des lettres sur l'axe des abscisses. UF = non filtré, F = filtré à 1µm, UFDCMU = non filtré et ajout de DCMU (25µM), FDCMU = filtré à 1µm et ajout de DCMU (25µM).

Dans le traitement filtré (F), nous observons, là encore, une diminution des concentrations en MVD (Figure 19) Toutefois, cette diminution (environ 20%) est différente de celle observée dans le traitement avec DCMU (environ 45%). La filtration à 1 µm, enlève théoriquement la majorité des colonies phytoplanctoniques. Cependant, il n'est pas exclu que certaines cellules de plus petites tailles et non coloniales aient pu traverser la barrière créée par le filtre, enrichissant ainsi légèrement le traitement F avec des organismes capable de photosynthèse et donc potentiellement capable de réduire le Hg, limitant ainsi les réactions d'oxydation.

Bien que l'hypothèse de bioreduction soit confirmée grâce aux expériences avec les traitements filtrés et non-filtrés, il est important de garder à l'esprit que durant cette expérience nous n'avons malheureusement pas testé l'impact du DCMU sur la volatilisation du DCMU en milieu stérile. L'étude de l'impact du solvant utilisé (ethanol) pour préparer la solution de DCMU n'a pas été entreprise. Des expériences complémentaires devront être conduites dans le futur afin d'établir d'une manière plus précise le rôle de la photosynthèse sur la production de Hg(0).

**Tableau 9 :** Synthèse de l'expérience d'incubation et expression des résultats en terme de pourcentage d'augmentation (+) ou de diminution (-) des concentrations en MVD.

Site	Temps d'incubation	Traitement	[MVD] pmol·L <sup>-1</sup>	% valeur initiale
L.658	0	UF	0,246 ± 0.018	
		UF + DCMU	0,361 ± 0.003	
		F	0,181 ± 0.013	
		F + DCMU	0,334 ± 0.034	
	3 jours	UF	0,327 ± 0.06	+ 33
		UF + DCMU	0,196 ± 0.002	-46
		F	0,146 ± 0.027	-19
		F + DCMU	0,181 ± 0.003	-46
	3 jours au noir	UF	0,163	
		UF + DCMU	0,082	
		F	0,096	
		F + DCMU	0,153	

L'augmentation des concentrations à t=0 dans le cas des traitements avec ajout de DCMU est vraisemblablement le résultats d'un effet du DCMU. Ceci peut être le résultat, soit de l'ajout de réducteurs présents dans la solution, entraînant une légère augmentation des concentrations en Hg(0) soit une légère contamination en Hg(0) dans la solution elle-même, ceci malgré le bullage effectué avant l'utilisation de la solution de DCMU.

### 4.3. Production de mercure volatil dissous sous un couvert de glace

Les températures en dessous du point de congélation conduisant à la formation d'une épaisse couche de glace à la surface des lacs du bouclier constitue une composante importante du climat canadien. Afin de saisir la distribution des concentrations en MVD sous la glace nous avons effectué plusieurs profils en profondeur entre le 28 février et le 4 mars 2002. Contrairement à ce à quoi on pouvait s'attendre sous un couvert de glace l'hiver, la grande majorité du MVD ne se retrouve pas juste sous la surface suite à un effet d'accumulation ou « *build-up* ». Nous distinguons deux zones, au sein de la colonne d'eau, dans lesquelles les concentrations en MVD sont les plus importantes. Premièrement, la zone comprise entre la surface et 3 m de profondeur puis la zone comprise entre 8 et 9 mètres (Figure 20). Juste sous la surface, les concentrations en MVD sont comprises entre 0.035 et 0.15 pmol·L<sup>-1</sup> et dans la zone comprise entre 8 et 9 mètres les concentrations se répartissent entre 0.025 et 0.125 pmol·L<sup>-1</sup>. Ces concentrations représentent environ 10 % des concentrations estivales. Dans le reste de la colonne d'eau les concentrations sont très faibles et majoritairement inférieure à 0.02 pmol·L<sup>-1</sup>. (limite de détection à 0.0045 pmol·L<sup>-1</sup>).

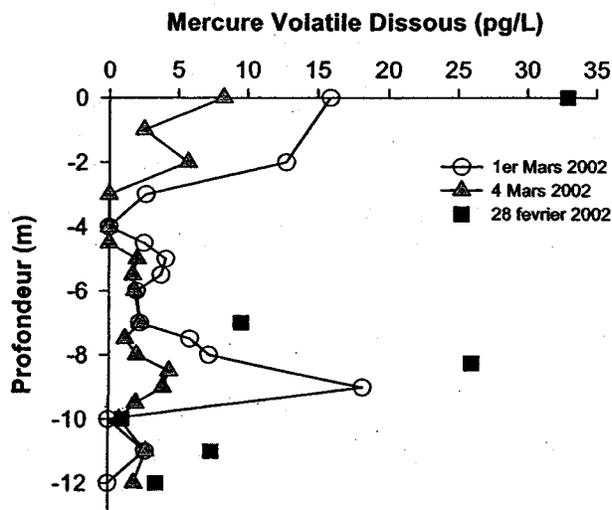
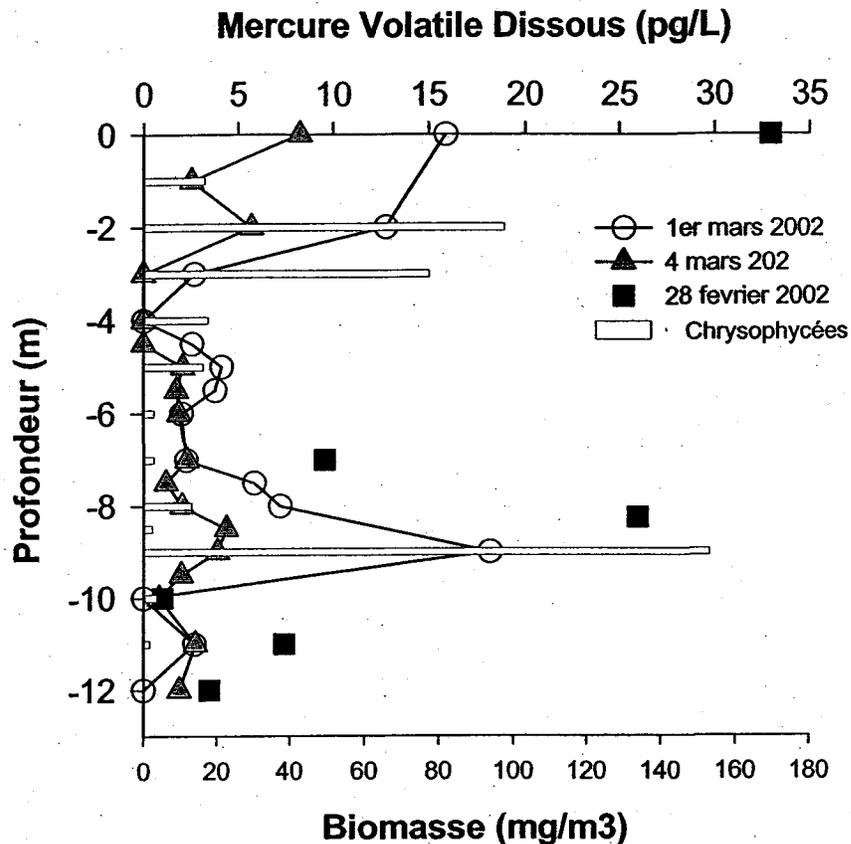


Figure 20 : Distribution des concentrations en MVD sous un couvert de glace, hiver 2002.



**Figure 21:** Distribution des concentrations en DGM et de la biomasse Chrysophytique sous un couvert de glace (hiver 2002).

La **Figure 21** montre la distribution des Chrysophycées au sein de la colonne d'eau. Les populations les plus nombreuses se tiennent sous la surface, (entre 1 et 3 mètres de profondeur) et à 9 mètres où la population est maximum à  $157 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ . Les maxima dans les concentrations en MVD correspondent aux maxima enregistrés dans la biomasse Chrysophytique sous la surface et à 9 mètres de profondeur. Ces résultats sont représentatifs de la composition hivernale des autres lacs de la Région des Lacs Expérimentaux, la biomasse atteignant 10% de ce que l'on peut retrouver en été. Il est donc possible que, été comme hiver, les Chrysophycées agissent sur l'état d'oxydation du Hg.

#### 4.4. Production de Mercure Volatil Dissous au-dessus des sédiments

La troisième zone au sein du lac 658, dans laquelle on peut observer une production de MVD est située juste au-dessus des sédiments.

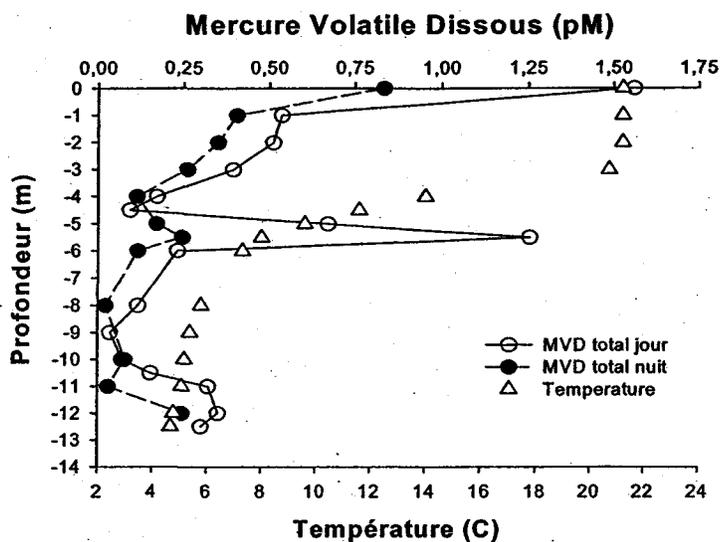


Figure 22 : Distribution des concentrations en MVD au sein de la colonne d'eau du lac 658. Août 2001.

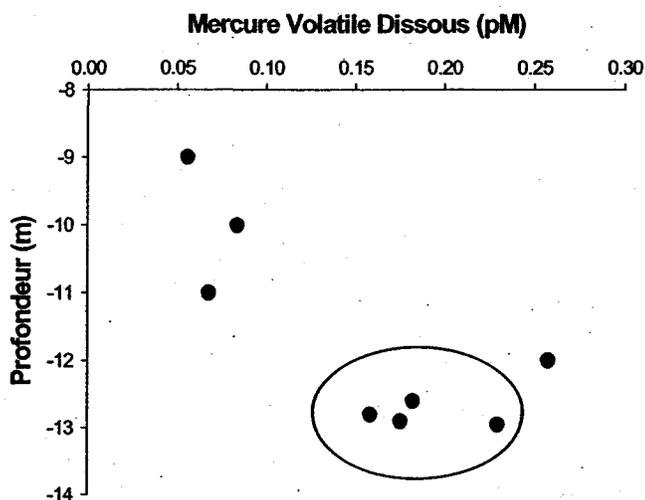


Figure 23 : Distribution des concentrations en MVD dans la partie inférieure de l'hypolimnion du lac 658, septembre 2001. Les points entre 12.6 et 13 m ont été échantillonné à l'aide de la ligne et pompage et du CIS « Close Interval Sampling ».

Les concentrations en MVD total au dessus des sédiments atteignent des concentrations plus élevées que les concentrations enregistrées dans la partie supérieure de l'hypolimnion (Figure 22 et Figure 23). Les phénomènes photochimiques conduisant à la formation de MVD sont dans ce cas exclus en raison de l'absence de lumière à ces profondeurs.

L'absence de MVD isotopique est à noter juste au-dessus des sédiments, alors que le  $^{202}\text{Hg}(\text{II})$  est présent (Figure 15 C) Deux hypothèses pourraient expliquer ceci :

1. Au-dessus des sédiments, les micro-organismes établissent une discrimination entre le  $^{202}\text{Hg}(\text{II})$  et le  $\text{Hg}(\text{II})$  en vue de le réduire; peut-être un processus de transport membranaire est impliqué.

ou

2. La production de MVD se fait majoritairement dans les sédiments. Ces derniers relarguant le MVD nouvellement produit. L'absence ou la trop faible concentration en  $^{202}\text{Hg}(\text{II})$  dans les sédiments (Hintelmann, commun. pers.) pourrait expliquer le fait que l'on n'observe pas de  $^{202}\text{MVD}$  à cet endroit.

La production hypolimnétique de MVD peut être soit d'origine biotique soit abiotique. La réduction abiotique implique l'intervention de substances humiques et fulviques. La réduction biotique nécessite l'intervention des micro-organismes. Les analyses génétiques permettant de mettre en évidence la présence du transcript *merA* dans les échantillons prélevés juste au dessus des sédiments se sont avérées surprenantes. Une réponse à la PCR (Polymérase Chain Reaction) inattendue et consistante (duplicat, deux jours différents) a été obtenu lors de l'analyse génétique des échantillons. Cependant, après séquençage de l'ADN des organismes présents à cette profondeur, la séquence initialement d'intérêt ne présente que trop peu de ressemblance avec un *mer*-operon pour être réellement impliquée. La production de MVD juste au dessus des sédiments est donc dirigée soit par les réactions abiotiques, impliquant les substances humiques soit par les micro-organismes mais selon une voie différente de celle du *mer*-operon communément trouvé. De plus, nous proposons que la production de MVD juste au-dessus des sédiments nécessite, soit de très faibles concentrations en oxygène, soit une anoxie complète. En effet, si l'on compare les concentrations en MVD dans la région inférieure de l'hypolimnion pour les profils réalisés en 2002, début juillet celles-ci étaient presque nulles alors que mi-juillet on peut observer qu'elles ont légèrement augmenté. Ceci

coïncide avec l'apparition de sulfures en concentrations très faibles (M. Tate, com. pers.) caractéristiques d'un milieu devenant anoxique.

#### 4.5. Conclusion

Il est possible que la réduction du mercure par les Chrysophycées et les Dinoflagellés soit liée au processus de la photosynthèse. Jones, *et al.* (1987) ont montré que des enzymes présentent dans le plasmalemme de *D. tertiolecta* et *T. weissflogii* possédaient la capacité de réduire les métaux traces tels le cuivre et le fer. Peut-être en est-il de même pour le mercure ? Les auteurs proposent que le donneur d'électron soit le NADPH intra-cellulaire.

Chez les organismes autotrophes, ce pouvoir réducteur, formé durant la photosynthèse est durant le jour consommé par le cycle de Calvin pour fixer le carbone inorganique. Durant la nuit, la respiration étant le phénomène majeur le NADPH est consommé mais n'est pas régénéré en raison de l'absence de lumière.

À la lumière de ces études et au regard de nos résultats, nous proposons donc que la génération de MVD, à 5.5 mètres de profondeur, soit liée à l'activité du phytoplancton et vraisemblablement à celle des Chrysophycées et des Dinoflagellés. Les concentrations diminueraient pendant la nuit en raison du non-renouvellement du NADPH intracellulaire, et diminueraient selon un rythme saisonnier, en raison de la disparition dans la zone d'intérêt des organismes. De plus, il est bien connu que les blooms de phytoplancton sont des phénomènes brefs et que les populations disparaissent lorsque les conditions environnementales ne sont plus propices à leur développement (diminution de la température, des éléments nutritifs...). Le fait que durant la seconde saison d'échantillonnage, la diminution nocturne des concentrations en MVD ne soit pas aussi marquée que durant la saison 2001, peut-être attribuée au caractère mixotrophe des organismes présents. Les facteurs déclenchant les aptitudes mixotrophes des algues sont mal connus et ne semblent pas reposer sur un mécanisme du type «tout ou rien». Ils semble plutôt répondre à des règles plus subtiles (Stoecker, 1998) basées alternativement sur l'irradiance, la disponibilité des nutriments, ou encore la disponibilité des proies.



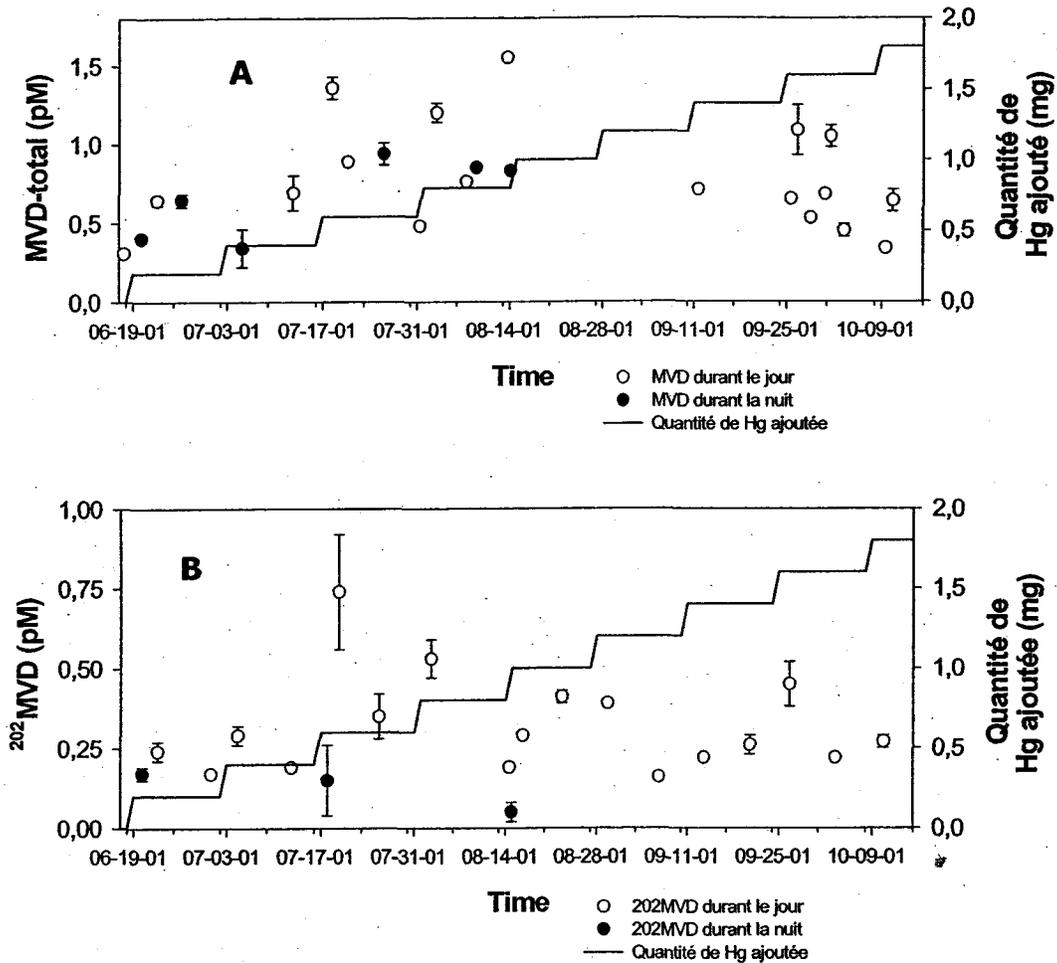
## **5. Estimation du flux de Mercure Volatil Dissous à l'interface air/eau**

### **5.1. Introduction**

Suivre les concentrations en mercure volatil dissous en surface et sur une période de plusieurs mois, va nous permettre d'en calculer l'évasion. Cette évasion, quantifiée en terme de flux, représente une part du réservoir de mercure qui ne sera pas méthylé et qui ne rentrera pas dans les chaînes trophiques, puisque destiné à retourner dans l'atmosphère.

## 5.2. Évolution saisonnière des concentrations en MVD

### 5.2.1. Tendances générales durant la saison d'échantillonnage.



**Figure 24 :** A, suivi des concentrations en MVD total (natif + isotopique). B, suivi des concentrations en MVD isotopique (issu du  $^{202}\text{Hg}$  ajouté). La ligne continue noire représente le cumul de la quantité de mercure isotopique ajouté. 9 ajouts ont été effectués au cours de la saison entre le 19/06/01 et le 09/10/01.

Dans la grande majorité des cas, les concentrations en MVD suivent de manière fidèle ce à quoi l'on pouvait s'attendre (Figure 24 A et B) :

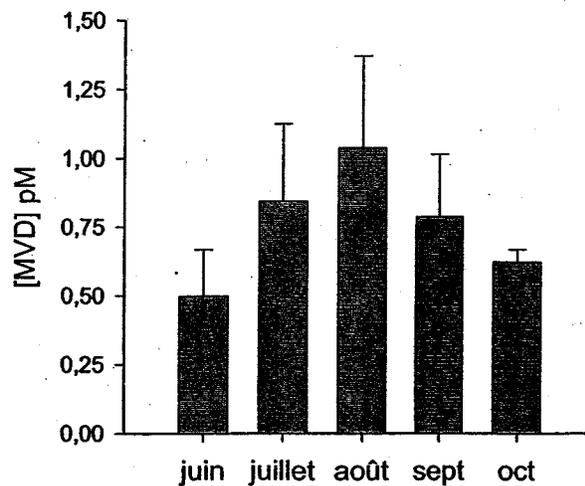
- *D'un point de vue discret, les concentrations en MVD augmentent après chaque ajout (Tableau 10).*

**Tableau 10** : Évolution des concentrations en MVD-total avant et après un ajout.

Ajout	Avant	stdev	Après	stdev
1	0.31	0.01	0.40	0.01
2	0.64	0.04	0.75	0.12
3	0.69	0.11	1.31	0,00
4	0.48	0.00	1.20	0.06
6	0.53	-	0.68	0.01
8	0.65	-	1.09	0.16
9	0.34	0.00	0.64	0.07

Note : Les données isotopiques suivent la même tendance.

- *D'un point de vue plus général, les concentrations sont fonction de la quantité de Hg ajoutée et des conditions environnementales.*



**Figure 25** Évolution des concentrations en MVD-total au cours de la saison 2001. Les données représentent une moyenne mensuelle des points pris pendant le jour et la nuit. (Voir le texte pour détails)

Les concentrations ont augmenté avec la dose de Hg ajoutée jusqu'en août (de 0.49 à 1.04 pmol·L<sup>-1</sup>) (Figure 25) puis ont décrues entre août et octobre passant de 1.04 à 0.62 pmol·L<sup>-1</sup>. Cette diminution peut être attribuée de manière non exclusive aux facteurs suivant:

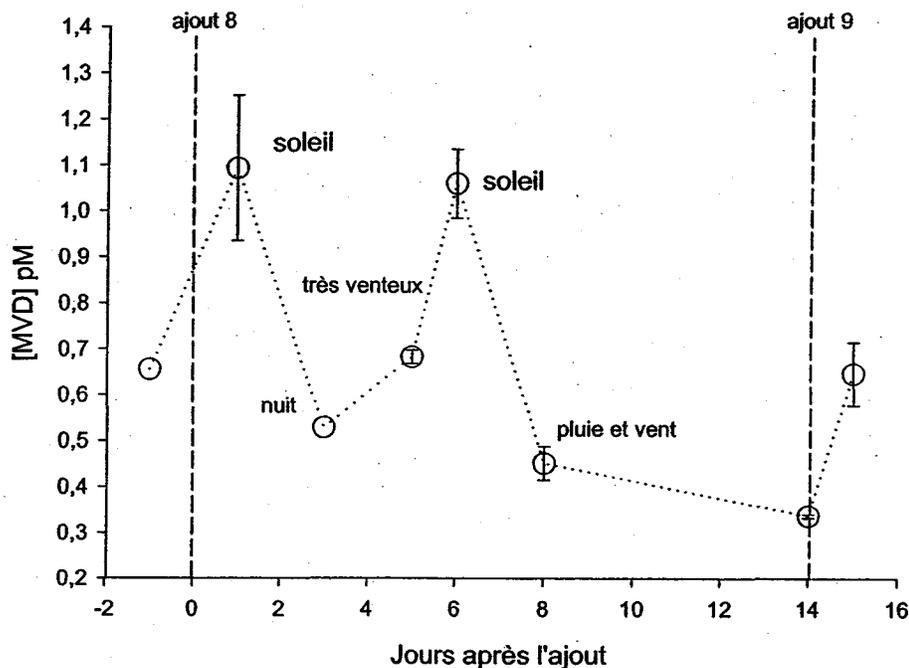
1. Une diminution de la quantité et de la qualité de lumière, réduisant le processus de photoréduction.
2. Un début de mélange du lac (débutant mi-septembre) permettant aux concentrations épilimnétiques de se trouver diluées avec de l'eau provenant des couches plus profondes.
3. Un changement physico-chimique de l'eau de surface, impliquant un vieillissement du COD (le temps de renouvellement de l'eau étant de 4 ans)

- *Les concentrations en <sup>202</sup>MVD sont plus basses la nuit que le jour (Figure 24B)*

La nuit, les concentrations en MVD diminuent en raison de l'arrêt de la production photochimique qui ne renouvelle pas le réservoir de MVD en surface, et du processus d'évasion qui permet au MVD présent de quitter la colonne d'eau.

### **5.2.2. Autres facteurs influençant les concentrations post-ajout.**

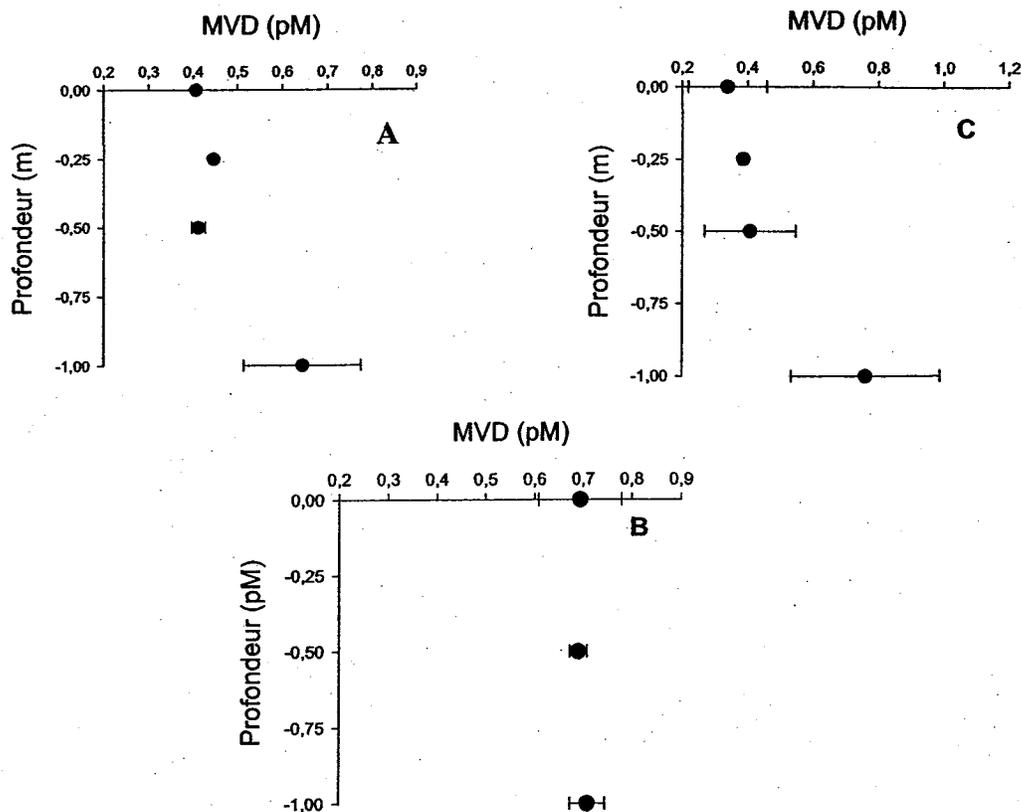
Les concentrations en MVD au contraire des concentrations en Hg total sont très variables (de 0.37 pmol·L<sup>-1</sup> à 1.12 pmol·L<sup>-1</sup>) (Figure 26) et dépendent beaucoup des conditions environnementales telles les conditions climatiques comme le présente le suivi du 8<sup>ième</sup> ajout (Figure 26). Il est difficile de pouvoir expliquer dans tous les cas, les variations dans la distribution des concentrations en MVD. Quelques hypothèses peuvent cependant expliquer certaines fluctuations; i) la solution utilisée lors de l'ajout contient du mercure volatil dissous en équilibre avec le mercure divalent isotopique, ce qui a pour effet d'augmenter les concentrations en MVD juste après un ajout, ii) la réduction intervient dès le lever du soleil et ce, même à de très faibles intensités lumineuses ou, iii) après le coucher du soleil, l'eau de surface possède la capacité de réduire le mercure.



**Figure 26:** Distribution temporelle des concentrations en MVD lors des deux derniers ajouts. Les ajouts sont représentés par des lignes pointillées verticales.

**i). La solution contient du  $^{202}\text{MVD}$  en équilibre avec le  $^{202}\text{Hg}$ .**

Cette première hypothèse peut être étayée par la **Figure 27 A, B et C**. Les concentrations augmentent à 1 mètre sous la surface (**Figure 27 A et C**). La raison pour laquelle, même 2 jours après l'ajout, les concentrations sont toujours plus élevées à 1 mètre de profondeur nous est donnée par les données météorologiques. La journée et la nuit précédents le second ajout ont été très peu venteuses ( $V_{\text{vent}} < 3\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ), minimisant le phénomène d'évasion et de mélange de la couche supérieure de l'épilimnion. 7 jours après un ajout, cette stratification n'existe plus comme présenté sur la **Figure 27 B**, les concentrations sont uniformes dans le premier mètre.

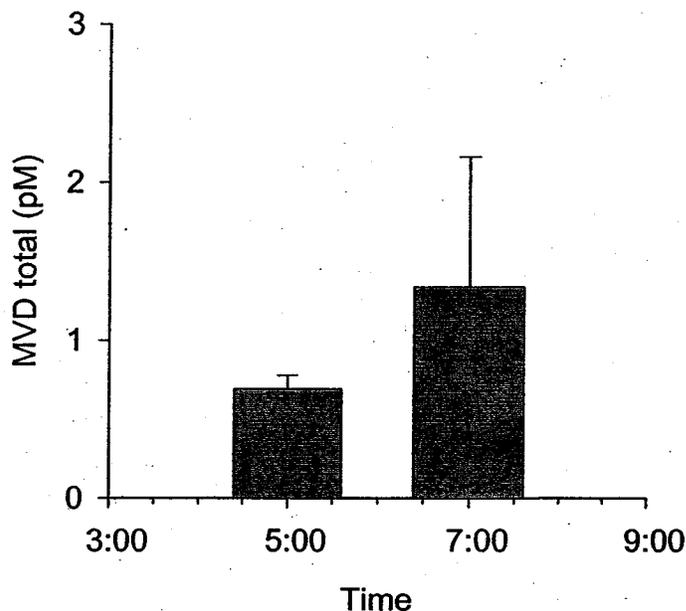


**Figure 27** : A, profil dans le premier mètre sous la surface des concentrations en MVD. Jour 1 après le premier ajout (20/06/01). B, 7 jours après le premier ajout, (05/07/01) et C, 2 jours après le second ajout. Dans les trois cas l'échantillonnage s'est déroulé à 5:00 am, avant le lever du soleil.

**ii). Les premiers rayons solaires matinaux peuvent induire la réduction du mercure**

Lorsque les échantillons sont collectés le lendemain d'un ajout et juste après le lever du soleil, les concentrations sont élevées. Dans les deux cas, le lac a reçu une dose de mercure isotopique la veille. Le lac est alors riche en mercure nouvellement ajouté et le peu de lumière disponible semble avoir la capacité d'induire cette réduction (**Figure 28**). Les concentrations augmentent dès que les premiers rayons du soleil atteignent la

surface du lac, même lorsque ce dernier n'a pas reçu d'isotopes la veille. Ce phénomène a déjà été observé dans d'autres systèmes (Amyot *et al* 2001).



**Figure 28 :** Concentrations en Mercure Volatil Dissous Total avant (5:00 am) et après (6:45am) le lever du soleil, bassin ouest, L.658, le 26 juin 2001.

### iii). Présence de réducteur peu stable produit photochimiquement pendant le jour

Il est aussi vraisemblable, au regard des cinétiques de réaction observées jusqu'alors (Amyot, *et al.* 2000), que les phénomènes régissant la photoréduction du mercure passent par des intermédiaires excitables présents dans le milieu. Il est envisageable que certains de ces intermédiaires excités par la lumière solaire pendant le jour, acquièrent des propriétés réductrices leur permettant de réduire le mercure au noir, ceci pendant un temps bref. Cette hypothèse pourrait s'appliquer aux points nocturnes (MVD-tot) enregistrés les 25/07/01, 08/08/01 et le 14/08/01 (**Figure 24 A**). Les deux premiers points ont été collectés moins d'une heure après le coucher du soleil et le dernier plus de 3 heures après. Même trois heures après le coucher du soleil les concentrations sont toujours élevées mais l'absence de vent quasi-totale observé ce jour, a pu permettre au mercure de ne pas quitter la surface par évaporation.

### 5.3. Calcul des coefficients de transfert de masse.

Afin de calculer les flux de mercure volatil dissous à l'interface air/eau, trois méthodes sont couramment utilisées. La première utilise le modèle de la double couche. La seconde est basée sur une mesure *in-situ* en utilisant les chambres à flux. La troisième implique que tout le MVD produit est volatilisé vers l'atmosphère; cette approche est surtout employée dans les modèles prédictifs et souffre de lacunes en ne tenant pas compte des phénomènes d'oxydation pouvant exister (Lalonde *et al.* 2001). La méthode utilisant le modèle de la double couche est pratique mais pas nécessairement précise dans tous les cas, car basée sur des formules empiriques caractéristiques d'autres composés chimiques volatils. Il existe deux conditions principales à l'application du modèle de la double couche :

- Le composé d'intérêt ne subit aucune réaction chimique au sein de la couche.
- La concentration du composé d'intérêt aux limites de l'interface (eau/interface et interface/air) doit être gardée constante afin d'atteindre un état d'équilibre.

Dans le cadre de cette étude nous supposons que le Mercure Volatil Dissous suit ces conditions et que l'échantillonnage dans les 5 premiers centimètres sous la surface est représentatif de ce qui se passe à l'interface. Il est en effet difficile d'obtenir des mesures précises de MVD juste à l'interface.

Cette partie présente le détail des calculs effectués afin de d'obtenir le coefficient de transfert de masse qui nous permettront finalement de quantifier l'évasion globale du système en terme de MVD.

#### 5.3.1. Utilisation de la vitesse du vent.

Le modèle de la double couche a été appliqué afin d'estimer le flux de Mercure Volatil Dissous au travers de la surface du lac 658.

Le modèle est décrit par l'équation suivante :

$$F_m = K_{ol} (C_w - C_a RT/H) \quad (3)$$

où

H est la constante de Henry ( $\text{Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ ),

$C_a$  est la concentration en MVD dans l'air ( $\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$ ),

$C_w$  est la concentration en MVD dans l'eau ( $\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$ ),

$K_{ol}$  est le coefficient global de transfert de masse ( $\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$ ),

$R$  est la constante régissant la loi des gaz parfaits ( $\text{Pa}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ), et

$T$  est la température à l'interface air/eau (K)

$K_{ol}$  suit l'équation suivante :

$$1/K_{ol} = 1/K_w + RT/HK_a \quad (4)$$

où

$K_a$  est le coefficient de transfert de masse dans l'air, et

$K_w$  est le coefficient de transfert de masse dans l'eau.

Comme la constante de Henry pour le mercure élémentaire est élevée ( $H = 729 \text{ Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$  (Poissant, *et al.* 2000)), la plus grande résistance se tient dans la couche liquide.  $K_{ol}$  peut donc être exprimée seulement en fonction de  $K_w$ . Le transfert de  $\text{Hg}^0$  au travers de la double couche peut être corrélé au transfert de  $\text{CO}_2$  au travers de l'interface air/eau. Cette relation, (Eq 5) a été développée à l'aide d'expériences utilisant les  $\text{SF}_6$ , un composé volatil, possédant une grande résistance (tout comme le mercure) au transfert au travers de la couche liquide. La relation a été normalisée avec le nombre de Schmidt approprié pour le  $\text{CO}_2$  et le mercure dans l'eau.

$$K_w = (0.45U_{10}^{1.64})\cdot[Sc_w(\text{Hg})/Sc_w(\text{CO}_2)]^{0.5} \quad (5)$$

où

$K_w$  est le coefficient de transfert de masse au travers de la couche liquide. ( $\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$ ),

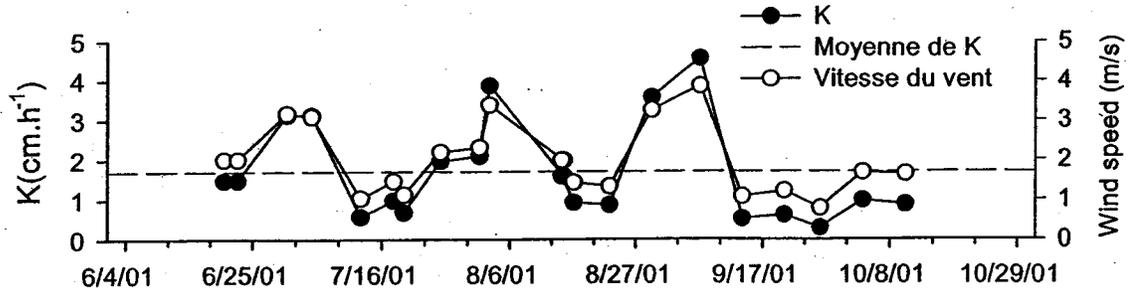
$U_{10}$  est la vitesse du vent à 10 mètres ( $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ),

$Sc_w(\text{Hg})$  est le nombre de Schmidt relié au mercure dans l'eau, et

$Sc_w(\text{CO}_2)$  est le nombre de Schmidt relié au  $\text{CO}_2$  dans l'eau.

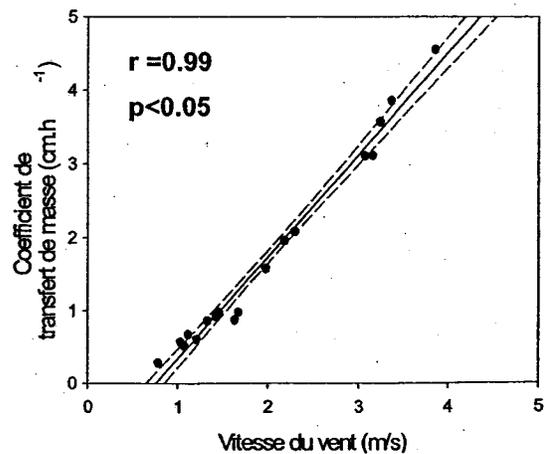
Le nombre de Schmidt et la constante de Henry mentionnée plus haut, dépendent de la température de l'eau à l'interface. Les formules permettant de les calculer sont décrites dans (Poissant, *et al.* 2000).

Grâce à une station météorologique flottante basée au milieu du bassin Ouest du lac 658, nous possédions tous les paramètres nécessaires à ces calculs.



**Figure 29:** Distribution du coefficient de transfert de masse ( $K_w$ ) et de la vitesse du vent au cours de la saison d'échantillonnage. Chaque point représente une journée pendant laquelle des échantillons de MVD ont été collectés afin de conduire les analyses isotopiques

Le coefficient de transfert de masse est hautement variable (de 0.2 à 4.5  $\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$ ) (Figure 29) et fortement dépendant de la vitesse du vent (Figure 30). La ligne pointillée (Figure 29) représente la valeur moyenne des coefficients de transfert intégrant toutes les données de la saison. Cette valeur ( $K_{\text{moyen}} = 1.8 \text{ cm}\cdot\text{h}^{-1}$ ) est proche de la moyenne habituellement utilisée lorsque la vitesse du vent est en moyenne proche de  $3 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  ((Amyot, *et al.* 1997)). Une valeur de  $K$  proche de 2 semble donc représentative, en moyenne, de ce qui se passe dans le Lac 658. Cependant, les valeurs de MVD étant soumises à de grandes variations journalières, on se rend compte au regard de la Figure 29, qu'effectuer les calculs en vue d'obtenir  $k_w$  de manière journalière (voire horaire) est préférable.



**Figure 30** Corrélation entre le coefficient de transfert de masse et la vitesse du vent.

### 5.3.2. Utilisation des SF<sub>6</sub>

Une autre méthode *in situ* permettant de comparer les coefficients de transfert de masse est l'ajout dans le système de SF<sub>6</sub>. Ce composé inerte et volatil permet d'obtenir une valeur intégrée du coefficient de transfert de masse. Cette méthode a été utilisée durant deux périodes. Le tableau ci-après rend compte des résultats. Cette étude a été réalisée par C. Matthews (University of Alberta). Le détail des calculs est présenté dans : (Matthews, *et al.* 2002).

**Table 1 :** Valeurs des coefficients de transfert de masse obtenus après l'ajout des SF<sub>6</sub> dans le lac 658.

Période	k cm/h
20 au 22 août 2001	2.55
1 au 3 septembre 2001	2.85

**Table 2 :** Valeurs moyennes des coefficients de transfert de masse pour les mois d'août et septembre 2001. Les nombres entre parenthèses représentent le coefficient de variation de la valeur calculée (CV = SD/moyenne).

Période	k cm/h
Août	2.06 (+/- 0.59)
Septembre	1.49 (+/- 1.38)

Comme nous l'avons vu précédemment, le coefficient de transfert de masse est très variable d'une journée à l'autre. Cependant les valeurs obtenues à l'aide de l'ajout de SF<sub>6</sub> et celles obtenues avec la formule empirique et la vitesse du vent sont du même ordre de grandeur. Malheureusement l'ajout de SF<sub>6</sub> ne s'étant pas fait sur toute la période d'échantillonnage, la comparaison des données de flux obtenues avec chacune de ces valeurs s'avère impossible.

## 5.4. Calcul des flux

### 5.4.1. Utilisation du modèle de la double couche

Afin de calculer le flux de MVD nous avons utilisé une formule légèrement modifiée du modèle de la double couche, comme décrit dans (Amyot *et al.* 1997).

$$F = -K_w \cdot (C_a \cdot H^{-1} - C_w) \cdot 10 \quad (6)$$

où

F est le flux de MVD vers le lac (-) ou vers l'atmosphère (+) ( $\text{pmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ),

$K_w$  est le coefficient de transfert de masse dans l'eau ( $\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$ ),

$C_a$  est la concentration en MVD dans l'air (supposée égale à  $0.0075 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (Lindberg, commun. pers.),

$C_w$  est la concentration de MVD dans l'eau ( $\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), et

H est la constante de Henry dépendante de la température, **sans dimension**, calculée d'après Sanemassa (1985).

Nos concentrations étant exprimées en  $\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , le facteur 10 présent dans l'équation 6 permet d'obtenir le flux en  $\text{pmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$  à partir du coefficient de transfert de masse exprimé en  $\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$ . Afin de pouvoir comparer nos résultats aux études précédemment réalisées, les flux ont ensuite été convertis en  $\text{ng} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ .

K étant exprimé en  $\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$  et les concentrations en DGM étant exprimées en  $\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , un facteur 10 apparaît lors du calcul de flux suivant le développement suivant :

$$F = k \cdot \text{DGM}$$

$$F = \text{cm} \cdot \text{h}^{-1} * \text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$F = 10^{-2} \text{ m} \cdot \text{h}^{-1} * \text{pmol} \cdot 10^3 \text{ m}^{-3}$$

$$F = 10 \cdot \text{pmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$$

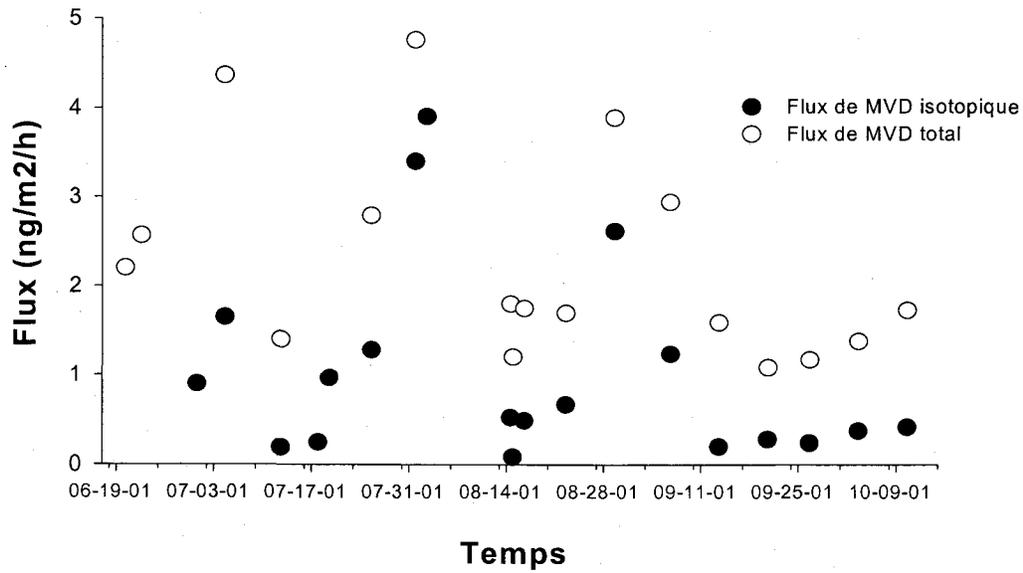
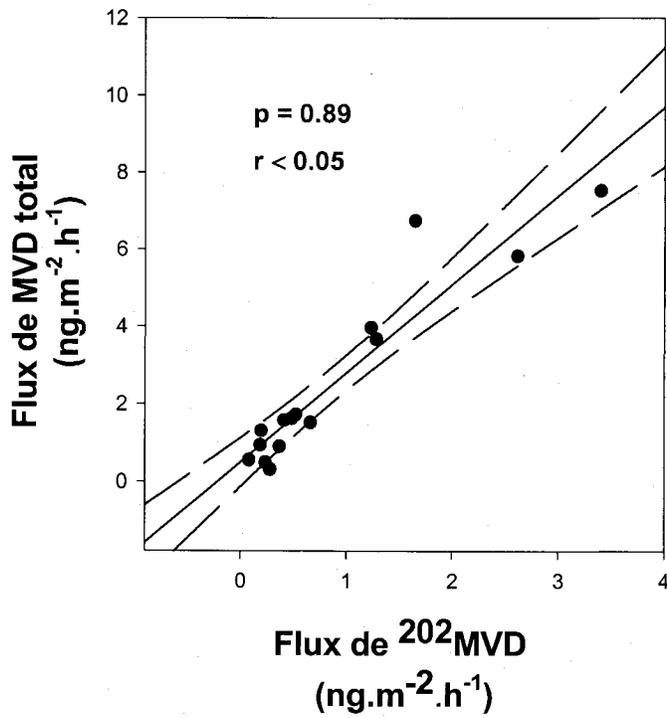


Figure 31 : Distribution des flux de MVD isotopique au cours de la saison d'échantillonnage



Les flux de  $^{202}\text{MVD}$  et de MVD total durant la saison d'échantillonnage suivent le même patron et sont fortement influencé par le coefficient de transfert de masse et la vitesse du vent. Nous avons pu observer des variations de  $0.1$  à  $3.8 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$  pour le flux isotopique (moyenne de  $1.03 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ) (Figure 31) et de  $0.3 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$  à  $7.6 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$  pour le flux total (moyenne de  $2.6 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ) (Figure 31). Le MVD total est la somme du MVD issu du mercure isotopique et du MVD issu du mercure natif, déjà présent dans le système. Le coefficient de corrélation ( $r = 0.88$   $p < 0.0001$ ) nous indique que le flux de  $^{202}\text{MVD}$  celui de total sont fortement corrélés (Figure 32). Le fait que ce coefficient de corrélation ne soit pas égal à 1, peut indiquer une différence dans le comportement du MVD issu du mercure isotopique vis-à-vis du MVD natif. Il est important de garder à l'esprit que cette variabilité peut être d'ordre analytique. En effet les techniques d'analyse des isotopes de Hg à des concentrations ultra-trace étant novatrices, des imprécisions dans les résultats peuvent apparaître. Nous tenterons d'apporter des éléments de réponse à ceci dans la partie «comportement du mercure isotopique vs du mercure natif».

#### 5.4.2. Utilisation des chambres à flux

Les expériences visant à calculer le flux de mercure isotopique et non isotopique en provenance du lac en utilisant la méthode des chambres à flux ont été réalisées par Southworth et Lindberg (Oak Ridge National Laboratory, USA). Les résultats présentés ici (Figure 33) représentent une synthèse mensuelle des données obtenues lors de leur campagne d'échantillonnage. Les valeurs totales se répartissent entre 0.8 et 2  $\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$  pour le mois de juin et entre 4.2 et 6.2  $\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$  pour le mois d'août. Les valeurs isotopiques sont quant à elles comprises entre 0.1 et 0.3  $\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$  en juin et entre 0.8 et 2  $\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$  en août.

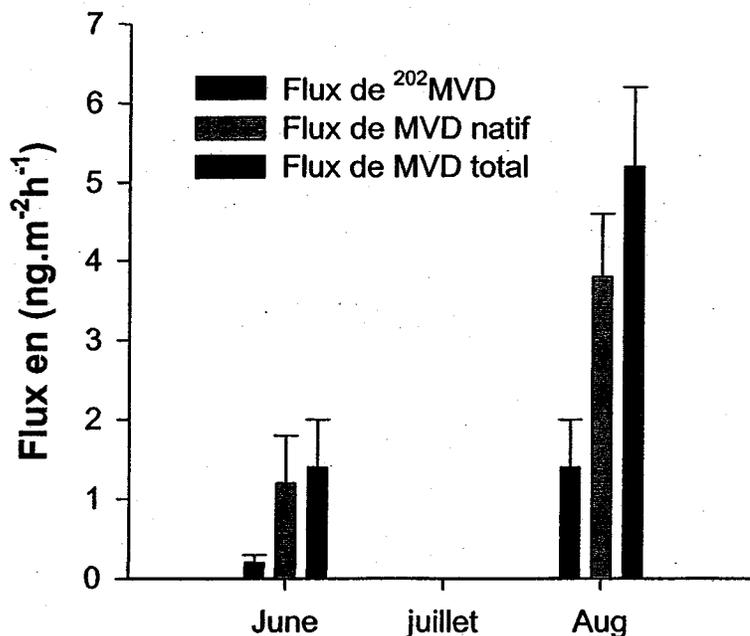
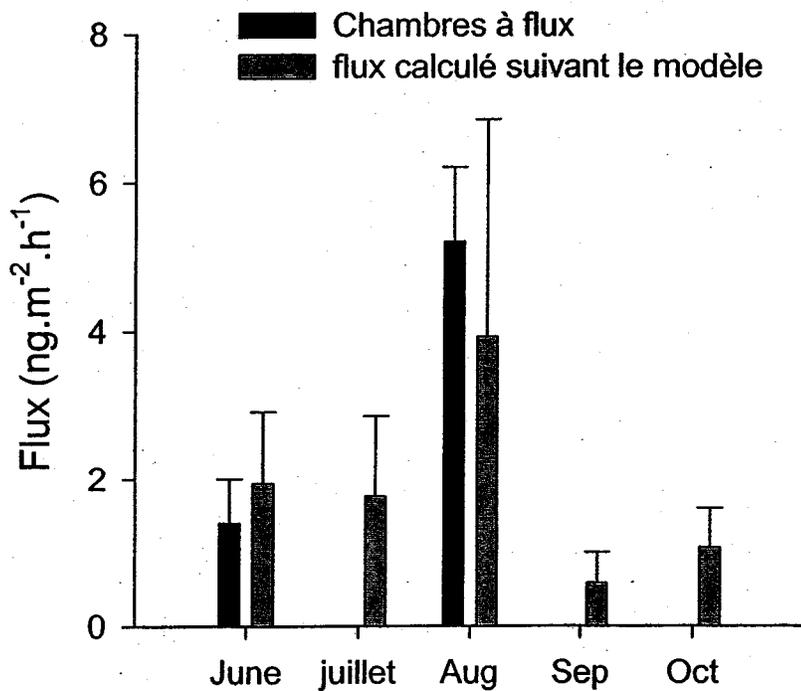


Figure 33: Synthèse mensuelle des calculs de flux de MVD isotopique, natif et total par l'ORNL en utilisant des chambres a flux (Données de S. Lindberg et G. Southworth).

Les valeurs obtenues à l'aide des chambres à flux et celles basées sur la formule empirique et l'utilisation du modèle donnent des données intégrées comparables (Figure 34). Cette comparaison possible est certainement liée à l'utilisation - dans la formule décrivant le coefficient de transfert de masse de paramètres (température de l'eau et

vitesse du vent) caractéristiques des conditions précises d'échantillonnage. Ceci nous permet d'obtenir des données plus fines et plus proches de la réalité que l'utilisation de valeurs moyennes.



**Figure 34 :** Comparaison des flux obtenus avec les chambres à flux et ceux obtenus en utilisant le modèle de la double couche à partir des concentrations en MVD.

## 5.5. Calcul de l'évasion globale

Ces résultats présentent l'évasion du MVD isotopique issu du  $^{202}\text{Hg}$  et du MVD total dans le cadre du système représenté par le L.658.

**Table 3** : Synthèse des flux de MVD isotopique et non isotopique a la surface du lac 658. Ces résultats représentent une moyenne horaire des valeurs observées durant toute la saison d'échantillonnage. NB les valeurs sont données avec leurs écarts types. Aucun des flux calculés n'a été négatif. (flux négatif = flux de l'atmosphère vers le lac).

	Flux ( $\text{ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{h}^{-1}$ )
$^{202}\text{MVD}$	$1,03 \pm 1,11$
MVD total	$2,61 \pm 2,24$

a) Flux durant la période d'échantillonnage :

Le flux de  $^{202}\text{MVD}$  durant la période d'échantillonnage (20 semaines soit 140 jours) est de :  $3,5 \mu\text{g}\cdot\text{m}^2$ .

Le flux de MVD total durant la période d'échantillonnage est de :  $9 \mu\text{g}\cdot\text{m}^2$ .

b) flux annuel :

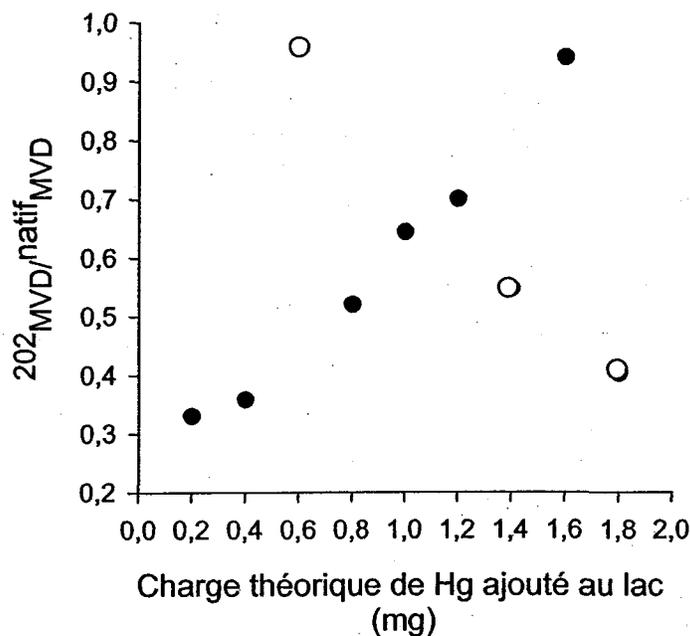
Le flux annuel, basé sur une période pendant laquelle les lacs ne sont pas couverts de glace (7 mois soit 214 jours) est de  $5,3 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{an}^{-1}$  pour le  $^{202}\text{MVD}$ , et de  $13,4 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{an}^{-1}$  pour le MVD total.

c) Ratio évasion/ajout :

La charge de mercure isotopique entre juin et octobre 2001 a été de  $19,6 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ . Environ 18% du mercure ajouté a été perdu vers l'atmosphère par évasion durant cette période. Sur une base annuelle, cette perte représente 27% de l'apport initial. Ceci est en accord avec les valeurs retrouvées dans la littérature (Vandal *et al.* 1991, Fitzgerald *et al.* 1994).

## 5.6. Comportement du Hg natif vs $^{202}\text{Hg}$

Ajout après ajout, le réservoir de mercure isotopique possiblement photoréductible augmente. La proportion de mercure isotopique dans le réservoir de mercure total devrait logiquement augmenter, elle aussi. Dans un système ne dépendant que des ajouts isotopiques en terme d'entrée de mercure, la quantité de mercure isotopique devrait donc tendre ultimement vers celle en mercure natif et le ratio isotopique/natif devrait augmenter.



**Figure 35 :** Évolution du ratio  $^{202}\text{MVD}/\text{MVD}$  ambiant en fonction de la quantité de mercure ajoutée. Les points blancs représentent des données ne suivant pas l'augmentation du ratio en fonction des ajouts.

Certains ratios, représentés par les points blancs, ne suivent pas cette augmentation. Ils sont soit trop élevé pour l'ajout 3, soit trop bas pour les ajouts 7 et 9 et sont certainement le reflet de la variabilité à très court terme des processus impliqués dans les phénomènes de réduction et d'évasion du mercure dans l'eau de surface. Peut-être ces

variations sont-elles liées à des phénomènes de mélange ou de dilution causés par des périodes très venteuses ou des fortes pluies. Peut-être traduisent-elles un comportement particulier du mercure isotopique vis-à-vis du mercure natif. Se pose alors la question de la pertinence de cet isotope dans un but de représentativité des dépositions atmosphériques. Le mercure isotopique est peut-être plus facilement réductible que le mercure natif et dans un état de spéciation tel (avant ou après réduction) qu'il pourrait favoriser sa subséquente évaporation, appauvrissant la surface en Mercure Volatil Dissous isotopique et provoquant des ratios particulièrement élevés (cas de l'ajout 3). Le suivi de ces ratios, au-delà du mois d'octobre aurait pu s'avérer très riche en information. Peut-être aurions-nous observé une diminution de constante de ce ratio en raison du vieillissement de la matière organique naturelle photoréactive présente en surface. Peut-être aurions-nous observé une diminution constante de cette valeur avec une importance grandissante du phénomène de mélange automnal des lacs (octobre, novembre et décembre). Ce mélange pourrait avoir comme effet de diminuer la proportion du mercure isotopique dans le réservoir total de mercure photoréductible en raison d'un accroissement du volume de l'épilimnion entraînant une dilution de ces concentrations isotopiques.

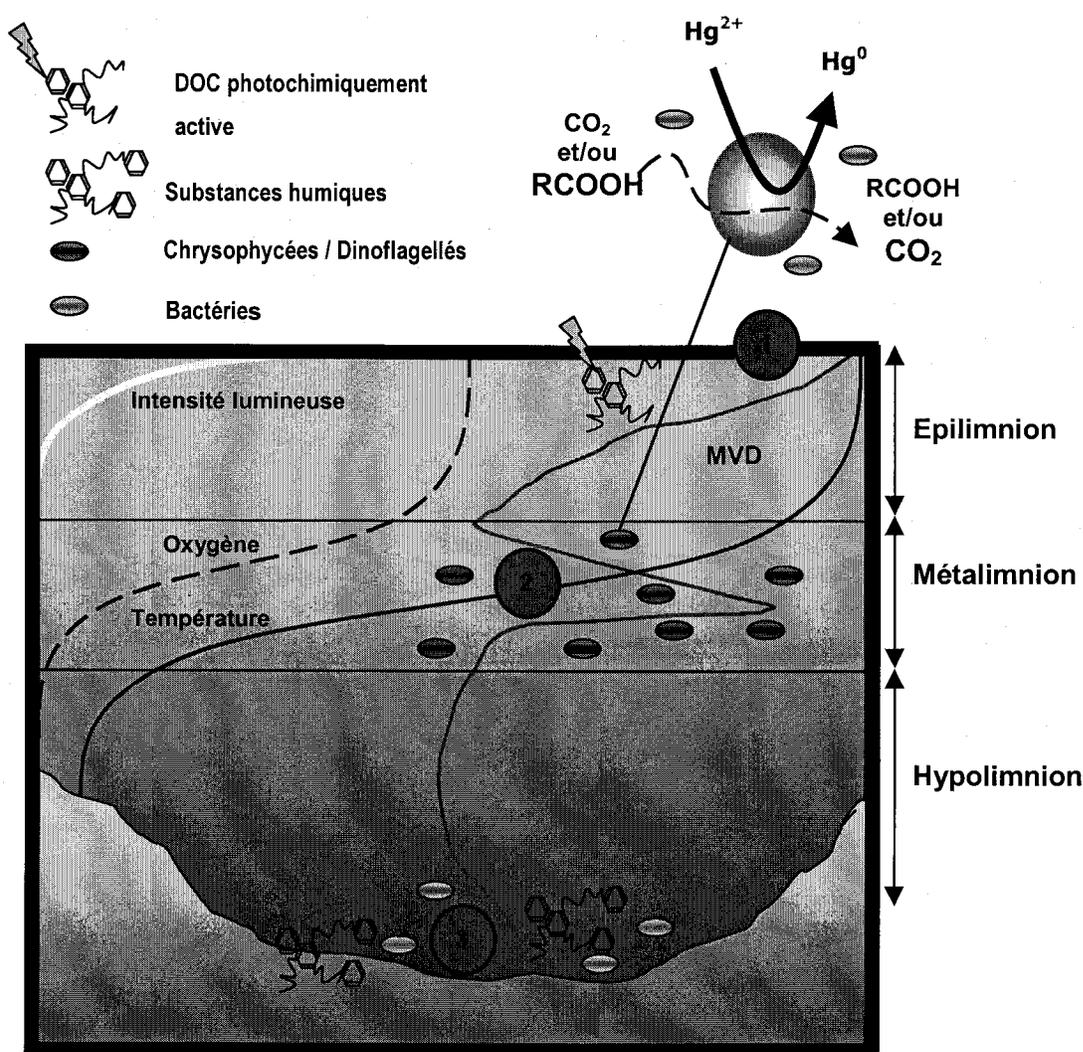
## 6. Conclusion

Grâce à l'étude de l'écosystème représenté par le Lac 658, plusieurs points peuvent être mis en évidence en étroite relation avec la production de MVD.

En surface, les phénomènes de photoréduction dirigent majoritairement la production de mercure volatil dissous. Cette génération de MVD permet au mercure de quitter le système grâce au phénomène d'évasion diminuant ainsi le réservoir de mercure potentiellement «méthylable». Ainsi, sur une base annuelle, environ 27% du mercure nouvellement déposé (représenté par les isotopes) retourne vers l'atmosphère. Toutefois, les mécanismes discrets de cette photoproduction sont encore méconnus. Plusieurs questions restent encore en suspend :

1. Le mercure isotopique a-t-il le même comportement que le mercure natif ? La différence comportementale observée provient-elle seulement d'un état de spéciation différent du mercure isotopique lors de son ajout ou observe-t-on le résultat d'un fractionnement isotopique ?
2. Comment se comporte le MVD à l'interface air/eau ? Le modèle de la double couche utilisé est-il fidèle aux mécanismes conduisant à l'évasion du mercure volatil dissous ? Un effort en vue de développer une méthode d'échantillonnage permettant d'obtenir un gradient (de l'ordre du millimètre) des concentrations en MVD juste sous la surface est nécessaire à une meilleure compréhension des phénomènes dirigeant l'évasion.
3. Quelle est le rôle de la biologie dans la réduction de surface ? Les études menées jusqu'à présent n'ont pas permis de mettre en évidence la bioréduction à la surface. Cela est-il en relation avec la nature des agents biologiques responsable de la réduction ? La bioréduction contribue-t-elle à l'évasion du mercure ?
4. Quel est le rôle exact de la matière organique naturelle (MON) dans les réactions de photoréduction ?
5. De quelle nature est la MON impliquée dans les réactions de réduction ? Est-elle de nature allochtone, apportée par le bassin versant ou autochtone, étant intimement liée à la production primaire ?

Au-delà des phénomènes de surface (**Figure 36. 1**), nous avons pu déterminer, dans le cas du système représenté par le lac 658, deux autres types de réactions pouvant conduire à la production de MVD. A la limite métalimnion / hypolimnion cette réduction n'est pas dirigée directement par la lumière, en raison d'une intensité lumineuse trop faible, mais semble en étroite relation avec l'activité des organismes phytoplanctoniques présents (**Figure 36. 2**).



**Figure 36** : Représentation schématique synthétisant les zones de production de MVD au sein de la colonne d'eau d'un lac ainsi que les principaux paramètres gouvernant cette production. les numéros encadrés en rouge, font référence aux numéros entre parenthèses dans le texte.

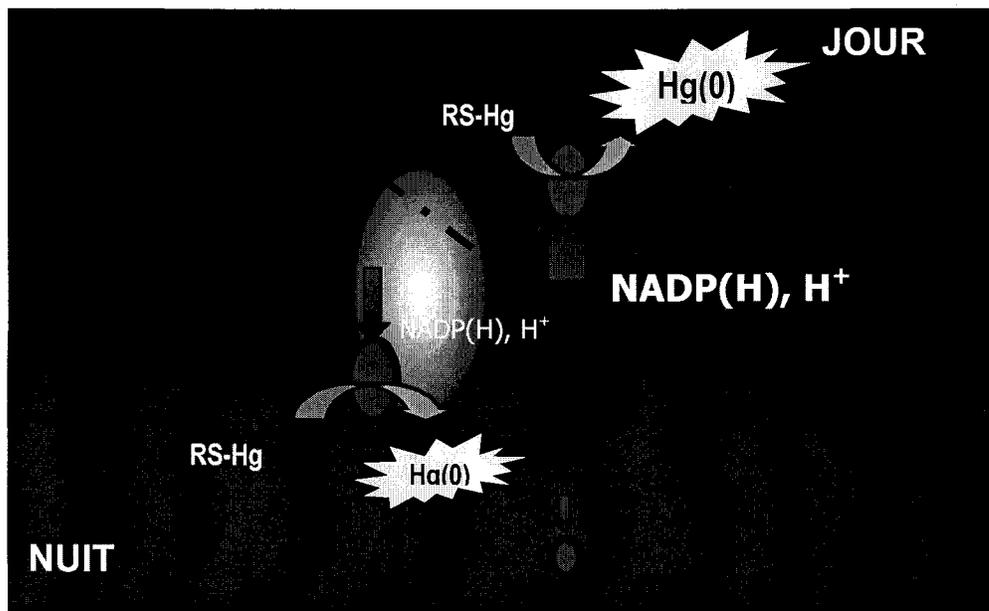
Juste au-dessus des sédiments, les micro-organismes hétérotrophes et/ou les réactions abiotiques semblent être impliquées en milieu déficient en oxygène (**Figure 36. 3**).

Ces résultats suggèrent donc plus généralement que :

1. La réduction du mercure en profondeur est un processus d'importance, ceci au regard des concentrations obtenues ( $1,23 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$  à 5.5 mètres vs  $1.56 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$  en surface).
2. Les organismes phytoplanctoniques, puissent être des acteurs majeurs, été comme hiver, dans les processus de réduction du mercure et constituent la première preuve de cette activité en milieu naturel lentique.
3. L'activité réductrice des organismes phytoplanctoniques soit liée à leur caractère mixotrophe.
4. Dans la région hypolimnétique, si les réactions de méthylation et de réduction peuvent être considérées comme antagonistes car étant en compétition pour le même substrat (i.e. le Hg(II) associé aux différents ligands présent dans le milieu), il est alors envisageable, que la réduction en profondeur ralentisse la méthylation.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises quant à la voie qu'utilise le phytoplancton en vue de réduire le Hg.

1. La membrane de ces organismes possède des propriétés oxydoréductrices, soit par le biais d'enzymes (**Figure 37**), soit par l'intermédiaire de groupements réducteurs, présents sur la membrane.
2. La réduction du Hg passe par l'excrétion, par les organismes phytoplanctoniques, de composés réducteurs issus de leur métabolisme.
3. Une séquence génétique similaire au *mer*-operon trouvée chez les organismes procaryotes est peut-être présente chez le phytoplancton eukaryote, permettant de réduire le mercure grâce à la synthèse d'un complexe enzymatique similaire à la réductase du mercure, déjà connue.



**Figure 37:** Schéma permettant d'expliquer le possible rôle de la membrane du phytoplancton dans les processus dirigeant la réduction du Hg.

Aussi, peut-être le lien entre phytoplancton et réduction est-il moins direct ? La réduction du mercure est peut-être associée aux communautés bactériennes, dont peuvent se nourrir les organismes ayant la capacité de fonctionner en mixotrophie. Dans ce cas les blooms de phytoplanctons mixotrophes, peuvent être des «traceurs» permettant de localiser les zones de réduction au sein de la colonne d'eau.

Des études plus poussées sont nécessaires afin de mieux caractériser les mécanismes d'oxydoréduction du mercure au sein de la colonne d'eau et les voies permettant d'y arriver sont multiples :

D'un point de vue *géochimique*, la réduction du Hg en profondeur, en changeant son état d'oxydation, modifie ses propriétés de liaison avec les ligands présents ou sa capacité d'association aux particules, influençant ainsi son cycle au sein de la colonne d'eau.

- ◆ La connaissance de la spéciation du Hg(0) au sein de la colonne d'eau est indispensable afin de connaître son devenir. Peut-être ce mercure est-il très lentement re-oxydable, ou encore dans certaines conditions, très vite re-transformé en Hg(II) ?

D'un point de vue *écotoxicologique*, la réduction du mercure en profondeur, permettrait de minimiser ou de ralentir les mécanismes de méthylation, en immobilisant le Hg(II) sous la forme Hg(0) – sous réserve que le mercure élémentaire n'ait pas la possibilité d'être méthylé.

- ◆ Des tests simulant la production de CH<sub>3</sub>-Hg pourraient être accompagnés de tests permettant de quantifier la réduction afin de savoir si cette réduction a un impact sur les taux nets de méthylation.

D'un point de vue *écologique*, le fait que des organismes mixotrophes puissent avoir un lien avec les mécanismes de réduction du Hg, permettrait de savoir si ces organismes, caractéristiques des blooms métalimnétiques et hypolimnétiques, sont métaboliquement actifs et ne constituent pas seulement une biomasse « morte » localisée dans les zones de plus grande densité d'un lac. Ceci passera par l'étude de la production de Hg(0) en milieu contrôlé :

- ◆ en maîtrisant la mixotrophie des organismes dans des incubateurs simulant les paramètres physico-chimiques (nutriments, T, O<sub>2</sub>, pH, luminosité...) du métalimnion.
- ◆ en testant différentes combinaisons de ligands, organiques ou inorganiques, afin de connaître l'état de spéciation sous lequel le Hg est réductible.

## Références

Alberts, J.J., J.E. Schindler, R.W. Miller, and D.E. Nutter Jr 1974. Elemental Mercury Production Mediated by Humic Substances. *Science* 184: 895-897.

Allard, B. and I. Arsenie 1991. Abiotic Reduction of Mercury by Humic Substances in Aquatic System - An Important Process for the Mercury Cycle. *Water, Air and Soil Pollut.* 56: 457-464.

Amyot, M., D. Lean, and G. Mierle 1997. Photochemical formation of volatil mercury in high arctic lakes. *Environ. Tox. Chem.* 16: 2054-2063.

Amyot, M., D.R.S. Lean, L. Poissant, and M.R. Doyon 2000. Distribution and transformation of elemental mercury in the St. Lawrence River and Lake Ontario. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54: 155-163.

Amyot, M., G. Mierle, D.R.S. Lean, and D.J. McQueen 1994. Sunlight-Induced Formation of Dissolved Gaseous Mercury in Lake Waters. *Environ. Sci. Technol.* 28: 2366-2371.

Amyot, M., J.C. Auclair, L. Poissant. 2001. In situ high temporal resolution analysis of elemental mercury in natural water. *Analytica Chimica Acta* 447 : 153-159.

Baeyens, W. and M. Leermakers 1998. Elemental mercury concentrations and formation rates in the Scheldt estuary and the North Sea. *Marine Chemistry* 60: 257-266.

Barkay, T., M. Gillman, and R.R. Turner 1997. Effects of Dissolved Organic Carbon and salinity on bioavailability of mercury. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 4267-4271.

Barkay, T., C. Liebert, and M. Gillman 1989. Environmental significance of the potential for *mer*(Tn21)-mediated reduction of  $Hg^{2+}$  to  $Hg^0$  in natural waters. *Applied and Environmental Microbiology* 55: 1196-1202.

Ben-Bassat, D. and A.M. Mayer 1978. Light-Induced Hg Volatilization and O<sub>2</sub> Evolution in *Chlorella* and the Effect of DCMU and Methylamine. *Physiol. Plant.* 42: 33-38.

Brosset, C. 1987. The behavior of mercury in the physical environment. *Water, Air, and Soil Pollution.* 34:145-166.

Fee, E.J. 1976. The Vertical and seasonal distribution of chlorophyll in lakes of the Experimental Lakes Area, northwestern Ontario: Implications for primary production estimates. *Limnol. Oceanogr.* 21: 767-783.

Findlay, D.L., S.E.M. Kasian, M.P. Stainton, K. Beaty, and M. Lyng 2001. Climatic influences on algal populations of boreal forest lakes in the Experimental lakes Area. *Limnol. Oceanogr.* 46: 1784-1793.

Fitzgerald, W.F., R.P. Mason, G.M. Vandal, and F. Dulac Air-Water cycling of mercury in lakes., *Mercury Pollution: integration and synthesis.*

Fujita, S., H. Horii, and S. Taniguchi 1973. Pulse photolysis of mercuric ion in aqueous solutions. *Journal of Physical Chemistry* 77: 2868-2871.

Gilmour, C.C., Riedel, G.S., Ederington, M.C., Bell, J.T., Benoit, J.M., Gill, G.A., Stordal, M.C. 1997. Methylmercury concentrations and production rates across a trophic gradient in the northern Everglades. *Biogeochemistry*.

Iverfeldt, A. and O. Lindqvist 1986. Atmospheric Oxidation of Elemental Mercury by Ozone in The Aqueous Phase. *Atmospheric Environment* 20: 1567-1573.

Iwahori, K., F. Takeuchi, K. Kamimura, and T. Sugio 2000. Ferrous iron-dependent volatilization of mercury by the plasma membrane of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 3823-3827.

Jones, G.J. and F.M.M. Morel 1988. Plasmalemma Redox Activity in the Diatom *Thalassiosira*. *Plant. Physiol.* 87: 143-147.

Jones, G.J., B.P. Palenik, and F.M.M. Morel 1987. Trace metal reduction by phytoplankton: The role of plasmalemma redox enzymes. *J. Phycol.* 23: 237-244.

Lalonde, J.D., Amyot, M., Kraepiel, A. M. L., Morel, F.M.M., 2001. Photooxidation of Hg(0) in Natural and Artificial Waters. *Environ. Sci. Technol.* 35 (7), 1367 -1372

Leifer, A 1988. *The Kinetics of Environmental Aquatic Photochemistry - Theory and Practice* -. Washington, DC, American Chemical Society.

Lindberg, S.E., S. Brooks, C.-J. Lin, K.J. Scott, M.S. Landis, R.K. Stevens, M. Goodsite, and A. Richter 2002. Dynamic Oxidation of Gaseous Mercury in the Arctic Troposphere at Polar Sunrise. *Environ. Sci. Technol.* 36(6) :1245-1256.

Mason, R.P., F.M.M. Morel, and H.F. Hemond 1995. The role of microorganisms in

elemental mercury formation in natural waters. *Water, Air and Soil Pollut.* 80: 775-787.

Matthews, C. J. D., St.Louis, V. L., and Hesslein, R. H. A comparison of three techniques used to measure diffusive gas exchange from heterogeneous aquatic surfaces. Masters thesis, University Of Alberta. 2002.

Munthe, J., McElroy, W.J. 1992. Some aqueous reactions of potential importance in the atmospheric chemistry of mercury. *Atmospheric Environment.* 26A(4) :553-557.

Nauwerck, A. 1963. Die beziehungen zwischen zooplankton und phytoplankton in See Erken. *Symbolae Bot. Upsaliensis* 17: 1-163.

Nazaret, S., W.H. Jeffrey, E. Saouter, R. Von Haven, and T. Barkay 1994. merA Expression in Aquatic Environments Measured by mRNA production and Hg(II) Volatilization. *Applied Environmental Microbiology* 60: 4059-4065.

Poissant, L., M. Amyot, M. Pilote, and D. Lean 2000. Mercury Water-Air Exchange over the Upper St. Lawrence River and Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* 34: 3069-3078.

Pomroy, A.J. 1984. Direct counting of bacteria preserved with Lugol iodine solution. *Applied and Environmental Microbiology* 47: 1191-1192.

Price, N.M. and F.M.M. Morel 1990. Role of Extracellular Enzymatic Reactions in Natural Waters, p. 235-257. *Aquatic Chemical Kinetics.* Wiley.

Rott, E. 1981. Some results from phytoplankton intercalibrations. *Schweiz. Z. Hydrobiol.* 43: 43-62.

Schroeder, W.H. and J. Munthe 1998. Atmospheric mercury – an overview. *Atmos. Environ.* 32: 809-822.

Schuster, P.F., D.P. Krabbenhoft, D.L. Naftz, D. Cecil, M.L. Olson, J.F. Dewild, D.D. Susong, J.R. Green, and M.L. Abbott Atmospheric mercury deposition during the last 270 years: A glacial ice core record of natural and anthropogenic sources. *Environ. Sci. Technol.* (WEB).

Seigneur, C., J. Wrobel, and E. Constantinou 1994. A chemical kinetic mechanism for atmospheric inorganic mercury. *Environ. Sci. Technol.* 28: 1589-1597.

Sellers, P., C.A. Kelly, J.W.M. Rudd, and A.R. MacHutchon 1996. Photodegradation of methylmercury in lakes. *Nature* 380: 694-697.

Siciliano, S.D., N. O'driscoll, and D. Lean 2002. Microbial reduction and Oxidation of Mercury in freshwater Lakes. *Environ. Sci. Technol.* (WEB) A-E.

Stoecker, D. K. 1998 *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. Mixotrophy among Dinoflagellates, The society of Protozoologists, 51st Annual Meeting.

Swain, E.B., D.R. Engstrom, M.E. Brigham, T.A. Henning, and P.L. Brezonik 1992. Increasing rates of atmospheric mercury deposition in midcontinental North America *Science* 257: 784-787.

Vandal, G.M., R.P. Mason, and W.F. Fitzgerald 1991. Cycling of volatile Mercury in temperate Lakes. *Water, Air and Soil Pollut.* 56: 791-803.

Vollenweider, R. A. 1968. Scientific fundamentals of eutrophication of lakes and flowing

waters, with particular reference to nitrogen and phosphorus as factors in eutrophication.

Watras, C.J., R.J. Morrison, T.M. Frost, and T.K. Kratz 2000. Decreasing Mercury in Northern Wisconsin: Temporal Patterns in Bulk Precipitation and a Precipitation-Dominated Lake. *Environ. Sci. Technol.* 34: 4051-4057.

Xiao, Z.F., Munthe, J., Stromberg, D., Lindqvist, O. 1994. Photochemical behavior of inorganic mercury compounds in aqueous solution. *Mercury pollution: integration and synthesis.* pp

Zhang, H. and S.E. Lindberg 2001. Sunlight and Iron (III)-Induced Photochemical Production of Dissolved Gaseous Mercury in Freshwater. *Environ. Sci. Technol.* 35: 928-935.

