

C.I.P.S.

MODELE MATHEMATIQUE DE LA  
POLLUTION EN MER DU NORD

---



TECHNICAL REPORT  
1974/PHYSIOLOGIE 01

---

This paper not to be cited without prior reference to the author.

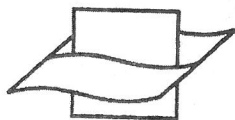
---

222774

ETUDE DE L' INTOXICATION DES MOULES ET DES  
ETOILES DE MER PAR LE MERCURE

Ch. PERPEET et M. VLOEBERGH

Laboratoire de Zoologie ULB.



Vlaams Instituut voor de Zee  
*Flanders Marine Institute*

## I MISE EN EVIDENCE DU MERCURE PAR AUTORADIOGRAPHIE

L'autoradiographie est une technique très fine permettant de détecter des traceurs à des doses infimes. Son principe repose sur l'impression d'émulsion photographique mise au contact de la coupe histologique renfermant un radio-isotope. Beaucoup d'auteurs l'ont déjà utilisée dans l'étude des métaux lourds et notamment du Zinc 65 (PAULEY and NAKATANI, 1967 ; CROSS, 1968 ; SCHOETTLI and SEILER, 1970 ; PENTREATH, 1973), du Fer 59 (HOBDEN, 1970) et du Chrome 51 (RAYMONT and SCHIELDS; 1964).

Ce mode d'étude a permis d'étudier la distribution de mercure 203 dans la caille (en tant que pesticide) (BACKSTROM, 1969) et dans des mammifères (BERLIN, 1963 et 1969).

Nous pensions que grâce à l'autoradiographie, nous pourrions mettre le mercure en évidence et suivre son trajet dans les tissus lors d'intoxication directe et indirecte (mise en évidence de nécroses au niveau de l'épithélium externe des pieds ambulacraires d'étoile de mer par histologie).

Parmi les diverses techniques autoradiographiques (contact, montage, émulsion liquide, émulsion détachable), la méthode par contact s'applique le mieux au cas du mercure (selon GAHAN, 1972) : freeze drying du tissu, enrobage, coupe, contact avec un film à rayons X Ilford industriel G à -18° pendant quelques jours, développement par le révélateur Phénisol Ilford et fixation par L'Hypan fixer Ilford.

Nous avons plongé une *Asterias rubens* dans une solution d'eau de mer à 1 ppm de mercure dont une partie est marquée (Hg 203) durant divers temps (de 2 à 48 heures). La méthode par contact décrite plus haut est alors appliquée sur des coupes d'organes tels que pied ambulacraire, estomac, caecum pyloriques, caecum rectaux, glande génitale. Après une longue mise au point de la méthode, il s'est avéré qu'elle est inutilisable dans ce cas, en effet, si les grains sont bien visibles sur les films (surtout des pieds ambulacraires) il est impossible de

superposer parfaitement coupe et film afin de repérer les cellules à l'origine des grains (organes trop petits).  
Même au niveau d'animaux entiers (moules) cette superposition reste délicate.

Vu le prix élevé des émulsions photographiques et des produits de développement, le manque d'appareillages adéquats, des essais d'autres techniques telles que l'émulsion liquide ou l'émulsion détachable n'ont pu être réalisés et des dosages par scintillation liquides ont été entrepris.

## II MISE EN EVIDENCE DU MERCURE PAR COMPTAGE RADIOACTIF

Les moules (*Mytilus edulis*) et les étoiles de mer (*Asterias rubens*) ont été prélevées à Knokke. Les expériences se sont déroulées en eau de mer synthétique 32‰ polluée par du mercure 203 (sous forme  $\text{Hg}^{203} \text{Cl}_2$  ; émetteur  $\beta$  0,205 Mev et  $\gamma$  0,279 Mev ; demi vie : 47 jours ; activité spécifique : 881 mCie/g. ) dans un local de 20°.

Les organes, après dissection, sont pesés et dissous dans 1ml de Soluène 350 (produit PACKARD) à 50° pendant 2 heures. Après addition de 10 ml de Dimilume (agent scintillant PACKARD), les échantillons sont comptés à l'aide d'un spectrophotomètre à scintillation liquide (PACKARD TRI CARB 3375). Les résultats ainsi obtenus sont corrigés par le quenching (rendement, une partie de l'énergie radioactive étant absorbée par le produit dosé, étalonnage préalable) et par la décroissance radioactive (table de décroissance radioactive en fonction du temps).

Les échantillons d'eau sont directement traités par le liquide scintillant et comptés.

Lors de chaque expérience, nous avons essayé d'utiliser le plus grand nombre possible d'individus afin de pouvoir calculer une moyenne et une erreur standard sur cette dernière statistiquement valable. D'autre part, afin de comparer les résultats entre eux, nous avons veillé à conserver le même rapport litres d'eau/ nombre d'individus même si tous ne sont pas utilisés dans l'expérience.

Nous tenons à exprimer tous nos remerciements et toute notre sympathie à Monsieur Bette pour sa gentillesse, son accueil et pour ses conseils et son aide précieuse aux comptages des échantillons.

A) Incorporation du mercure 203 dans les moules

I Distribution du mercure dans les organes

a.) à une concentration de 7ppb Hg 203 ( 0,005  $\mu$ Cie)

20 individus sont placés dans 5 litres d'eau contaminé par 7 ppb de mercure radioactif. Après 24 heures d'intoxication, les animaux sont disséqués et les branchies, le pied, le manteau, le muscle adducteur et le complexe digestif (rein, hépatopancréas, tube digestif) sont dosés.

TABLEAU I : ppb de Hg 203 trouvés dans la moule après 24 heures d'intoxication à 7 ppb Hg 203

	branchies	complexe	manteau	muscle	pied
	I7I4	855	I050	64	I08
	I650	I763	276	46	76
	I072	250	72	32	68
	2I95	355	48	24	58
	I4I7	837	I20	5I	83
	I868	442	324	75	I60
	I573	23I	208	49	76
	I5I0	II86	222	89	I35
	27I2	I67	I56	45	80
	3377	4627	3I0	47	I08
	2I28	I034	I76	4I	I66
	2276	I259	3I6	II0	I83
	I37I	507	432	36	I75
	I436	424	575	48	II2
	I890	400	209	345	II8
	I574	688	I40	49	I08
	I680	42I7	257	I3I	I05
	2446	II54	28I	I45	I65
	2023	649	257	-	I8I
	863	I942	225	36	I68
$\bar{m}$	I838 ±270	783 ±503	282 ±I23	62 ±32	I2I ±40

Les résultats repris dans le tableau I et graphique I mettent en évidence le rôle important de la branchie dans l'accumulation du métal lourd (~ 1800 ppb) par rapport au muscle qui le concentre 30 fois moins (~60 ppb). Le complexe digestif est également fort contaminé (~ 1100 ppb), alors que le manteau et le pied, organes passifs quant à la respiration et filtration et en contact avec l'eau, n'accusent pas une telle augmentation en mercure; ce qui laisse supposer que le mercure trouvé dans la branchie et le complexe n'est pas uniquement dû à l'absorption.

Lors de l'expérience, les moules étaient en période de maturité sexuelle et de ponte (début mai), or à cette époque de son cycle, l'animal a épuisé toutes ses réserves (contenu en glucides et lipides minimum, DE WOLF, 1972) et sa consommation d'oxygène est la plus importante (LUBET et LE GALL, 1967). Il était donc intéressant de répéter le test à d'autres périodes après la ponte. Déjà au mois de juin, mais surtout au mois d'août, le siège principal de l'accumulation est le complexe digestif (~2100 ppb) tandis que le taux de mercure dans les branchies demeure important (tableau2).

TABLEAU 2 : PPB de Hg 203 trouvés dans la moule après 24 heures d'intoxication à 7 ppb Hg 203, mois d'août

branchies	complexe	manteau
I258	-	39
2285	495	115
I32I	I258	61
I424	3949	34
2375	408	104
24I8	4248	154
I2I7	2648	95
399	4459	29
540	119	39
1155	1500	41
I439 +488	2120 +1238	71 +28

b.) à une concentration de 1 ppb ( $\approx 8.10^{-4}$   $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ )

Ces observations, de même que les suivantes, ont toutes été réalisées en période de repos sexuel.

Dans le cas d'une concentration aussi faible de mercure dans l'eau, la classification des organes en fonction de leur radioactivité demeure semblable, mais l'accumulation se fait à un taux nettement moins élevé. Si dans le cas précédent (7ppb) le facteur de concentration s'élevait à 300, dans le cas présent, il n'est que de 50.

Entre ces deux concentrations (7 et 1 ppb), il doit exister un seuil au dessous duquel le phénomène d'accumulation s'accélère très rapidement. Dans une situation intermédiaire, c'est à dire 5 ppb, le contenu en mercure 203 des divers organes se trouve dans le même ordre de grandeur que pour 1ppb, ce qui nous laisse supposer que ce seuil se situe entre 5 et 7 ppb.

TABLEAU 3: moyenne en ppb de la teneur en Hg 203 dans les organes de la moule après 24 heures d'intoxication à 5 et 1 ppb Hg 203

1 ppb Hg 203 (2 fois 10 individus)			5ppb Hg 203 (1 fois 5 individus)		
branchies	complexe	manteau	branchies	complexe	manteau
11,4 ±2,3	110 ±84	2,7 ±0,9	40 ±15	112 ±112	12 ±4
11,0 ±2,1	143 ±80	3,7 ±2,2			

## 2 Cinétique d'incorporation

Le phénomène d'accumulation à bref laps de temps (24 heures) est assez comparable pour 5 et 1 ppb de mercure, il serait dès lors intéressant d'en suivre l'évolution au cours du temps.

Durant ce type d'expérience, l'eau contaminée est renouvelée chaque jour. Les résultats exprimés dans le tableau 4 et graphique 2 reposent sur des groupes de 5 indivi-

-dus, le manque de place et le coût des produits ne nous a pas permis d'en utiliser plus.

**TABLEAU 4** : Cinétique d'incorporation du Hg 203 dans les organes de la moule

INTOXICATION A 5 PPB

	I jour	2 jours	3 jours	4 jours	7 jours
branchie	45	246	638	1136	644
	35	146	545	847	753
	22	324	481	534	742
	45	493	669	1113	1091
	57	448	1232	707	-
	40 ±15	331 ±158	713 ±335	867 ±290	807 ±268
complexe	134	42	-	382	418
	105	331	246	282	131
	37	95	182	251	282
	14	426	23	88	-
	272	97	128	125	-
	112 ±112	198 ±188	145 ±129	225 ±133	277 ±259
manteau	6	22	35	-	68
	14	29	38	-	110
	10	44	49	77	138
	14	69	32	47	211
	15	34	50	22	-
	12 ±4	40 ±20	41 ±9	48 ±48	131 ±82



## INTOXICATION A I PPB

	I jour	3 jours	7 jours
branchie	9,5	8,4	62
	I5	25	22
	I3,5	I4	25
	I7,2	I3,8	35
	I0,8	32	I9
	I6		
	8,7		
	I2,8		
	I5		
	II		
		II,4 ±2,3	I8,6 ±II
complexe	64	-	I90
	-	45	70
	29,5	I46	-
	34,4	23	I02
	-	8I	34
	42,5		
	-		
	76		
	20		
	I24		
	II0 ±84	74 ±76	99 ±93
manteau	2,4	3,3	I2
	5,2	6	9,2
	I,I	2,7	23
	4,7	5,5	9,8
	2,4	I2	3,9
	I,7		
	2		
	2,6		
	I,7		
	3		
		2,7 ± 0,9	5,9 ± 4

L'accumulation au cours du temps est d'autant plus rapide que le milieu est plus contaminé : en effet, après 1 jour le facteur de concentration pour la branchie par exemple est à peu près identique dans les deux cas (8 et II) alors qu'après 1 semaine, il s'avère plus dissemblable (32 et I67).

Remarquons, qu'au bout d'une semaine dans une solution de 1 ppb de mercure, les organes de la moule renferment des quantités de métal proches des valeurs trouvées dans la nature (Technical report 1973 / Biol. Synthèse 05).

### 3 Effet de la salinité

Les travaux de plusieurs auteurs et notamment LUBET et CHAPUIS (1964) ont mis en évidence l'action du facteur salinité sur le métabolisme des moules. En effet les basses salinités ralentissent considérablement la filtration chez ces animaux.

Le principe expérimental est toujours le même, dans ce cas ci l'eau est préparée à 16 ‰, additionnée de 5ppb de mercure 203 et renouvelée chaque jour (Tableau 5, graphique 3)

TABLEAU 5 : Cinétique d'incorporation du mercure 203 dans une eau à 16 ‰ contaminée par 5 ppb de métal

	I jour	2 jours	3 jours	4 jours
branchies	5,9	19,5	21,7	32
	15	22	112	25
	16	48	91	466
	8,4	-	56	797
	-	17,5	127	571
	II± 6,8	27±20	81±48	379±381
complexe	3,7	3,1	7,1	9,5
	5,6	6,2	7,9	21
	4,5	9,6	10	50
	4,6	-	9,5	72
	-	7,7	29	28
	5±1	7±4	13±10	36±28

manteau	1,9	2,5	48	II
	6,1	3,8	5,5	I4
	2,6	24	25	70
	1,9	-	1,3	I2I
	-	16,2	10,5	I20
	3+3	I2+I4	I8+2I	67+60

Dès après 24 heures dans la solution, on peut remarquer une différence entre les moules contaminées à 32 et 16 ‰ mais celle ci va s'accroître au cours du temps de telle sorte que seule les branchies accumulent réellement le métal lourd et d'une manière moins importante.

#### 4 Excrétion du mercure

Après 24 heures d'intoxication à 7ppb, les animaux sont remis en eau propre exempte de mercure et changée chaque jour. Les résultats exprimés dans le tableau 6 et graphique 4 indiquent une curieuse augmentation de la teneur en métal lourd dans la branchie et le complexe après un et deux jours en eau propre, suivie d'une diminution. Le complexe se débarrasse du reste beaucoup plus facilement du polluant que la branchie. (Tableau 6, graphique 4)

L'eau dosée en parallèle, ne varie pas; le mercure serait donc éliminer sous forme non soluble, probablement dans les pseudo feces de l'animal.

**TABLEAU 6 : Excrétion du mercure 203 par des moules intoxiquées par 7ppb de mercure 203 (en ppb)**

	24 heures à 7 ppb	24 heures en eau propre	48 heures en eau propre	62 heures en eau propre
Branchies	908	-	3729	2968
	1379	2287	1054	2757
	2349	1337	2413	1890
	1514	1070	2238	2050
	1790	2086	3634	2408
	1588 ±595	1695 ±802	2616 ±1125	2360 ±1178
Complexe	3715	-	2142	1344
	1029	3620	3420	1656
	903	2280	2661	1164
	1430	2851	803	1717
	1640	2913	1868	605
	1743 ±403	2916 ±756	2179 ±1083	1297 ±501
Manteau	70	-	201	97
	106	196	150	133
	110	81	127	124
	261	143	77	-
	152	126	127	65
	140 ±83	136 ±65	136 ±50	105 ±43

## B) Dosage de l'eau

Outre les analyses d'organes, à chaque prise d'échantillon un prélèvement et un dosage d'eau ont été effectués. Pour toutes les expériences entreprises, nous avons remarqué que l'eau subit une perte considérable de radioactivité; après 6 à 12 heures, les concentrations enregistrées ne correspondent plus du tout à la concentration initiale et au bout de 24 heures, la solution ne contient même plus un dixième du mercure  $^{203}$  ajouté au départ de l'expérience.

UNLU (1970) de même que LEMEE (1970) n'ont pas manqué d'établir un parallèle entre la perte en mercure de l'eau et l'accumulation du métal dans le bivalve. Par contre, étudiant l'absorption du Cobalt 60 par les animaux marins et en particulier par les moules, SHIMIZU (1970,71) se doute que la cause de cette perte n'est pas à attribuer uniquement aux organismes mais également à d'autres facteurs notamment l'adsorption, phénomène mis en évidence par de nombreux auteurs (GAVIS and FERGUSON, 1972 ; JONASSON..). Il semble donc qu'outre une accumulation dans les animaux, somme toute faible, le mercure en solution s'adsorbe sur les parois de l'aquarium et sur les particules, et peut s'évaporer. Il peut aussi, selon certains, précipiter avec le mucus et détoxifier en quelque sorte le milieu (SPOTTE, 1970).

Nous avons entrepris de vérifier ces diverses hypothèses et d'en avoir une idée quantitative

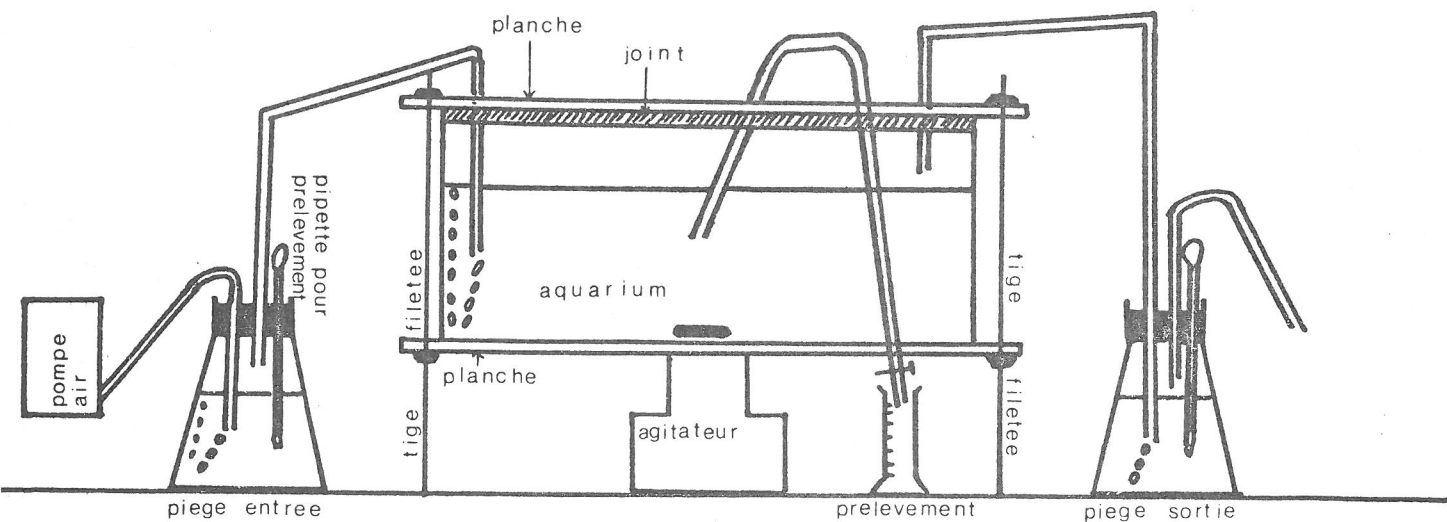
### I Perte du mercure $^{203}$ par une solution d'eau de mer

L'eau est préparée à 32 ‰ et dosée après divers temps. La courbe de concentration du mercure  $^{203}$  dans l'eau en fonction du temps (graphique 5) est assez semblable aux courbes obtenues lors d'intoxication de moules. Il serait donc incorrect de mettre en parallèle la décroissance du

mercure dans l'eau et l'augmentation de celui ci dans les animaux.

## 2 Adsorption du mercure sur les particules et évaporation

Afin de mettre en évidence l'adsorption du mercure sur les particules et le phénomène d'évaporation, nous avons utilisé un aquarium monté en système fermé. Deux planches en bois sont solidement fixées sur et sous un aquarium par quatre tiges filetées, un joint en caoutchouc assure l'étanchéité du système (cf. schéma). L'aquarium est en contact avec un piège à mercure constitué d'acide sulfurique 10 % additionné de quelques gouttes d'une solution de permanganate de potassium. Un second piège est installé à l'entrée de l'air dans l'aquarium et sert de témoin au premier.



L'aquarium est rempli par 5 litres d'eau de Terneuzen(Escaut) prélevée le jour même de l'expérience auxquels on ajoute 0,1 mCi (44.000 coups/minute/millilitre) de mercure 203. Toutes les cinq minutes, on prélève :

- 10 ml. d'eau de l'aquarium (à l'aide d'un tuyau fermé par une pince). Ceux ci sont filtrés sur millipore; à la fois le filtre et l'eau sont dosés.

- 1 ml. de la solution acide de permanganate de chacun des pièges (au moyen d'une pipette).

Les filtres(dissous par solvène 350), l'eau et les solutions pièges sont passés au compteur et analysés (Tableau 7; graphique 5).

TABLEAU 7 : mise en évidence du phénomène d'adsorption sur les particules et d'évaporation du mercure 203

temps (min.)	eau		filtre		piège entrée		piège sortie	
	c/m/ml	ppb	c/m/ml	ppb	c/m/ml	ppb	c/m/ml	ppb
5	19.478	10	8.638	4,6	0	0	89	0,04
10	18.583	9,9	10.331	5,5	0	0	280	0,1
15	28.799	15	8.979	4,8	0	0	1.935	1
20	22.429	12	16.149	8,6	0	0	741	0,4
25	27.000	14	12.856	6,8	3	0	1.187	0,6
30	20.822	11	20.296	10,8	0	0	1.495	0,8
35	-	-	-	-	2	0	508	0,3
45	16.915	9	17.918	9,5	0	0	2.794	1,5
55	7.850	4	17.222	9,1	8	0	3.550	1,9
65	16.229	8,6	17.850	9,5	20	0	4.018	2,1

Une grande partie du mercure s'adsorbe effectivement sur les particules en suspension dans l'eau et ceci aux premières minutes, sinon aux premières secondes, de l'expérience. Ces particules sédimentent lentement et malgré l'agitation constante, à la fin de l'expérience, on en remarque un faible dépôt au fond de l'aquarium.

D'autre part, le mercure est volatil, le piège

passé en effet d'une activité de 89 coups / minute et millilitre à 4.000 à la fin de l'expérience. Il est à remarquer qu'on ne retrouve au mieux au total que 89 % de la radio-activité mise au départ, ce qui impliquerait une troisième cause de perte, à savoir celui de l'adsorption du métal sur les parois mêmes de l'aquarium. Ce dernier, vidé de son contenu et rincé, fait crépiter un compteur Geiger placé sur sa paroi.

### 3 Contamination de moules en milieu fermé

L'aquarium, monté en système fermé, contient de l'eau de mer synthétique (en principe sans particules), 0,02  $\mu$ Ci/ml. ( $\sim$  23ppb) de mercure 203 et 10 petites moules. Chaque jour 10 ml. d'eau sont filtrées sur millipore, filtre et eau sont dosés de même que la solution piège. En fin d'expérience (8 jours plus tard) les moules sont à leur tour analysées entièrement.

Le graphique 6 nous montre encore l'importance de l'évaporation, au bout de deux jours le piège est saturé. Malgré l'emploi d'une eau synthétique, il existe de petites particules en suspensions, celles-ci sont sans doute dues à la présence de moules, elles sédimentent lentement, raison pour laquelle l'activité des filtres diminue. Après analyse, les moules accusent une moyenne de 2.300 ppb, soit 2,3 ppm.



## C Incorporation du mercure 203 dans les étoiles de mer

Dans un aquarium , une étoile de mer nécessite plus d'eau qu'une moule , si 5 litres d'eau suffisent à 20 moules, cette même quantité ne convient qu'à 5 étoiles de mer . C'est pourquoi les expériences suivantes ont été menées avec un plus petit nombre d'individus.

### I Intoxication

5 étoiles de mer (*Asterias rubens*) sont placées dans une solution d'eau de mer synthétique 32‰ contenant 1 ppm de mercure dont une partie est constituée par du mercure radioactif. Les dissections de pieds ambulacraires ou podia, peau, liquide coelomique, estomac et caecums pyloriques sont réalisées après 2 heures et demi, 7,24, et 27 heures d'immersion dans la solution radioactive. Il faut faire remarquer que vers la quinzième heure déjà les animaux sont "mourants" (dépigmentation de la peau, gonflement du disque et des bras, diminution et arrêt de l'activité des pieds ambulacraires ....etc...).

Cet état expliquerait la libération progressive du mercure observée dans les podia (voir graphique 7) et en effet , la concentration en mercure de l'eau de mer diminue dans un premier temps puis augmente en fin d'expérience.

Les podia sont indiscutablement le siège de l'accumulation dans cette intoxication directe par le milieu ambiant alors que les organes digestifs ne jouent aucun rôle évident dans de telles conditions. Les résultats exprimés dans le tableau 8 et le graphique 7 sont ici relatifs à la totalité du mercure bien que seul le métal marqué ait été dosé, celui ci étant proportionnel à l'entière-

TABLEAU 8 : incorporation du mercure 203 dans les organes de *Asterias rubens* ( en ppm) placée dans 1ppm Hg 203

organes	2 heures I/2	7 heures	24 heures	27 heures
podia	30,0	34,2	14,7 29,I	25,2
peau I	11,7	20,2	7,3 10,I	8,I
peau 2	8,0	5,0	7,0 9,4	5,2
peau 3	8,8	13,3	4,I 9,5	6,6
caec.pyl.	0,4	0,7	1,8 4,I	1,7
estomac	0,5	1,3	0,9 1,9	2,I
liq.coel.	0,3	1,9	1,6 0,7	0,7
eau de mer	0,I6	0,I5	0,20	0,2I

## 2 Excrétion

Déjà dans l'intoxication précédente ,une perte en mercure des organes (podia) a pu être mise en évidence, le mauvais état de l'animal peut être mis en cause. Dans ce cas ci , la concentration utilisée pour l'intoxication est plus faible (0,2 ppm) ce qui évite ce mauvais état . Ayant séjourné 24 heures dans un tel milieu, les animaux sont remis en eau propre et disséqués après des temps de 5 et 24 heures.

Dans une telle intoxication le système digestif est pour ainsi dire autant concerné que les podia, déjà dans le cas du cuivre , nous avons montré que les plus fortes concentrations bloquent le système respiratoire et arrête en fait tout le métabolisme, tandis que lorsque la concentration du métal lourd diminue, la fonction respiratoire est moins endommagée et les autres fonctions peuvent continuer à s'accomplir, on retrouve ainsi le métal dans les organes internes. Lors de la désintoxication, le mercure s'élimine moins vite dans les organes digestifs que dans les podia et la peau. Sans doute le polluant est il en partie adsorbé sur ces deux derniers. On note enfin un passage lent dans l'estomac , puis dans les caecum pyloriques.(tableau 9, graphique 8)

TABLEAU 9 : désintoxication d'*Asterias rubens* contaminées par  
0,2 ppm de Hg 203 (en ppm)

organes	24 heures à 0,2 ppm	5 heures en eau propre	24 heures en eau propre
podia	2,7	1,4	1,2
peau	3,0	1,1	1,0
gonade	1,8	1,8	1,4
caec. pyl.	1,7	0,9	3,2
estomac	1,8	4,1	1,2

## D Incorporation du mercure 203 par la chaîne alimentaire

Il existe théoriquement 3 modes d'intoxication :

- directe , par le milieu
- indirecte , par la nourriture
- direct et indirect à la fois

Dans un premier temps, nous avons étudié des intoxications directes sur des moules et des étoiles de mer, animaux situés à des échelons différents dans la chaîne alimentaire. Des expériences préliminaires nous donnent une idée de l'action d'un métal lourd incorporé à la nourriture. Nous avons choisi *Asterias rubens* comme prédateur et *Mytilus edulis* comme proie.

Les résultats obtenus ne seront pas comparables entre eux, en effet la quantité de nourriture ingérée est différente dans chaque cas. L'important est en fait la proportionalité des concentrations de mercure d'organe à organe.

Des moules sont placées 24 heures dans une solution 0,8 ppm de mercure dont un aliquot est radioactif. Le tableau suivant (tableau IO) nous donne une indication sur leur contenu en mercure radioactif.

TABLEAU IO : radioactivité des organes de la moule (en coups/minute et gramme) intoxiquée pendant 24 heures par 0,2 ppm de mercure (moyenne sur 8 individus)

organes	c/m/g
branchies	35.436
complexe	3.905
manteau	2.235
pied	3.581
muscle	1.292

Une telle moule est donnée comme nourriture à une étoile de mer ,et 48 heures après son ingestion, l'étoile est disséquée et ses organes sont analysés.

TABLEAU II : radioactivité (en c/m/g) trouvée dans les organes d'une étoile de mer après ingestion d'une moule contaminée

organes	c/m/g
podia	310
peau	385
estomac	3.400
caec. pyl.	1.330

Les résultats du dosage consignés dans le tableau II, nous indique que la concentration la plus haute en mercure se retrouve dans l'estomac et non plus dans les podia comme c'était le cas dans l'intoxication directe.

#### Cinétique d'incorporation

Afin de réaliser des conditions aussi naturelles que possibles, les moules servant de proies sont contaminées par une très faible quantité de mercure (5ppb) radioactif uniquement. Le dosage de la radioactivité s'effectue sur 2 étoiles respectivement 48, 106, et 127 heures après l'ingestion d'une moule. Deux étoiles de mer non nourries mais en captivité dans le même aquarium servent de témoins.

Les animaux nourris de cette manière ne présentent aucuns des symptômes d'intoxication décrit précédemment. Si après 48 heures de digestion, la radioactivité se retrouve dans les organes digestifs (tableau I2) ,on observe au cours du temps une concentration progressive dans les caecum pyloriques( fonction de stockage) ,l'estomac tendant à se décontaminer. Les caecum rectaux semblent également jouer un rôle important en accumulant le polluant tandis que les organes externes, peau et podia, ne subissent que

très faiblement l'influence du métal lourd dans ce mode d'intoxication.

A plusieurs reprises, durant l'expérience, nous avons constaté que les étoiles de mer secrétaient un mucus abondant. Ce mucus a été dosé et il renfermait curieusement une quantité appréciable de mercure 203 (jusqu'à 13 ppb). Il semblerait que l'animal puisse rejeter ainsi une partie du produit toxique.

TABLEAU I2 : contenu en ppb de Hg 203 dans les organes d'étoiles de mer nourries par des moules contaminées

organes	témoins		48 heures de digestion		106 heures de digestion		127 heures de digestion	
podia	0,27	0,51	0,98	0,48	1,47	2,34	0,85	1,22
peau	1,11	0,54	0,98	1,24	0,63	1,55	1,48	0,87
estomac	0,17	0,41	0,91	1,80	1,29	13,37	1,50	0,60
caec. pyl.	0,09	0,17	6,20	4,65	10,10	3,89	55,17	14,13
caec. rect.	0,32	1,50	2,29	1,04	1,65	6,79	13,60	6,50
gonade	0,14	0,33	1,39	5,00	0,80	-	6,4	0,39

### III MISE EN EVIDENCE DU MERCURE PAR ABSORPTION ATOMIQUE

Cette méthode, bien que moins précise et moins subtile que l'utilisation du mercure marqué, nous permet néanmoins de réaliser nos expériences dans des aquariums plus grands et à température de 13°. Cependant le minimum de mercure décelable avec l'analyseur de mercure MAS 50 est de 0,05 µg Hg dans un échantillon minéralisé de 100 ml. Or dans les intoxications à très faible concentration de métal, les branchies de moule par exemple se situent sous cette valeur.

Dans un premier temps, après calibration de l'appareil et mise au point de la technique de minéralisation (acide sulfurique, perhydrol sous réfrigérant), nous avons voulu tester le "bruit de fond" des animaux, c'est à dire la quantité de mercure que contient l'animal au départ de l'expérience.

Celle ci est incontestablement fonction de son poids (donc de son âge), les petites moules renferment en général plus de mercure par gramme de poids frais que les plus grandes (graphique 9). Si nous comparons ces résultats à ceux obtenus par dosage sur spectrophotomètre d'absorption atomique VARIAN type techtron AA5 (Technical report I973- Biol. synthèse 05) des moules de knokke, ils se situent dans le même ordre de grandeur.

Nous avons ensuite intoxiqué les moules par du mercure (à raison de 1 et de 7 ppb) de la même manière que dans les expériences de radioactivité mais avec du mercure non marqué. Les animaux ayant séjourné dans une eau de mer additionnée de 1 ppb de Hg pendant 24 heures, ne se distinguent pas nettement des témoins et ceci est vraisemblablement dû à leur faible teneur en mercure. Par contre pour des temps plus longs (48 heures et 8 jours) l'animal accumule rapidement l'agent métallique, le rythme

étant toujours plus élevé pour les petits échantillons et les deux nuages de points se détachent nettement du nuage témoin (voir graphique 9).

De Wolf (1972) a entrepris une expérience d'accumulation de mercure sur un banc naturel de moules avec une concentration initiale du métal dans l'eau de 6 ppb. Cet auteur souligne également l'importance de la grandeur du bivalve dans le phénomène et les chiffres que nous obtenons pour des concentrations de 7 ppb (24 heures) sont en concordance avec les siens.

Il nous est difficile de comparer les méthodes de dosage par radioactivité et absorption atomique vu que dans le premier cas seul les organes ont été analysés et dans le second l'animal tout entier. Cependant les phénomènes sont semblables et les conclusions similaires.



#### IV CONCLUSIONS

Nous avons donc entrepris l'étude théorique de diverses formes d'intoxication :

-directe , mercure en solution dans l'eau de mer synthétique.  
.....

Nous avons déjà conclu qu'à forte concentration le mercure se retrouve surtout dans les organes respiratoires et cause d'importantes nécroses aux tissus de sorte que l'organe est incapable d'encore assumer sa fonction. Une telle intoxication provoque la mort de l'animal à plus ou moins brève échéance. Même remis en milieu propre , vu les lésions tissulaires, l'animal est condamné.

A faible concentration, le métal se retrouve dans tous les organes; malgré cette accumulation, les fonctions vitales se poursuivent et l'animal survit, un phénomène de désintoxication reste possible.

Outre l'importance du facteur concentration du polluant, l'action du mercure est différente suivant l'état physiologique de l'animal d'une part ( repos sexuel, cycle de nutrition) et suivant les conditions du milieu d'autre part ( salinité, température, teneur en Oxygène).

-indirecte; mercure dans la nourriture.  
.....

Des résultats préliminaires obtenus avec les étoiles de mer nous laissent penser que le métal suit le phénomène digestif , passe dans les caecum pyloriques et peut migrer avec les réserves vers les gonades où il bloquerait le processus de reproduction. Le rejet de mercure <sup>203</sup> par un mucus, nous permet de supposer qu'une excrétion de mercure (désintoxication) se réalise.

Les phénomènes naturels sont beaucoup plus complexes que les cas théoriques que nous avons traités. En effet non seulement les modes de contamination coexistent, mais encore les eaux de mer naturelles contiennent des particules et des microorganismes jouant un rôle très im-

-tant. Nous avons montré clairement que le mercure s'ad-  
-sorbe sur les particules en suspension et ceci très rapi-  
-dement après l'addition du métal lourd dans le milieu  
(ordre de quelques minutes). Ces particules chargées de  
mercure sédimentent ensuite lentement. D'autre part au  
niveau des animaux la prise du métal est de l'ordre de quel-  
-ques heures sinon de quelques jours dans le cas de très  
faibles concentrations. Il s'en suit que normalement l'a-  
-nimal sera peu influencé directement et à brève échéance  
par la concentration de mercure en solution d'un rejet  
éventuel puisque celui ci s'adsorbera sur les particules  
présentes dans l'eau.

Ces particules sont soit organiques (par exemple plancton)  
soit inorganiques (par exemple boue, argile) et suivent  
divers chemins. Ils sédimentent, le sédiment est effective-  
-ment toujours plus riche en mercure que l'eau qui le re-  
-couvre, et de ce fait les eaux de surface ont des valeurs  
en métaux fort faibles. Si ce sédiment est réducteur, à  
bas potentiel redox, le mercure sera immobiliser sous forme  
de sulfure, mais il peut aussi être décomposer tant en  
aérobie qu'en anaérobie par des bactéries. Dans ce dernier  
cas, une méthylation du mercure est possible (JERNELOV,  
1972 ; GAVIS and FERGUSON, 1972). Le mercure organique  
est alors rapidement assimilé par les organismes.

Les animaux détritiphages intègrent quant à eux le sédiment  
et le mercure entre à ce niveau dans une chaîne alimentaire.  
Les particules non encore sédimentées peuvent également  
entrer dans une chaîne trophodynamique par le biais des  
animaux filtrants (moules notamment). Nous nous propo-  
-sons du reste de montrer la différence du taux d'incorpo-  
-ration du mercure dans des moules placées en eau de mer  
synthétique ou naturelle.

Il faut attirer l'attention sur le danger que présente le  
mercure en solution, aussi faible soit sa concentration,  
en effet sa présence constante cause à longue échéance  
une grosse accumulation chez les animaux (cf. moule dans

I ppb). On comprend mieux pourquoi la pollution par le mercure est une pollution locale; en un court laps de temps à l'endroit du déversement le mercure sédimentera avec les particules, ou sera absorbé par des animaux filtrants (souvent sédentaires). Ceci confirme un dosage de FIMREITE and all. (1971) sur des moules accusant 0,93 ppm de mercure à 3 kilomètres d'un rejet et 0,11 ppm lorsqu'on s'en éloigne de 11 kilomètres. C'est aussi pourquoi la teneur en métaux lourds des moules de Knokke (près de l'embouchure de l'Escaut) est plus faible que celle des moules de l'Escaut; le mercure déversé dans l'estuaire sédimente avec les particules et les boues n'arrivent donc pas à la mer en solution (Technical report 1973).

Les expériences que nous poursuivons actuellement tentent de cumuler l'effet du mercure en solution et inclus dans la nourriture et essayent de reproduire autant que possible les conditions naturelles. Des animaux contaminés dans de telles conditions peuvent être ensuite soumis à des essais de désintoxication, l'étude de ce dernier phénomène est particulièrement intéressant pour palier au risque de nuire à la santé humaine.

BIBLIOGRAPHIE

- BACKSTROM J. ; 1969 : Distribution studies of mercuric pesticides in quail and some fresh water fishes. Acta Pharmacol. Toxicol. 27 suppl. 3 103 pp.
- BERLIN M. and all. ; 1963 : Accumulation and retention of mercury in the mouse. Arch. Envir. Health 6 , 589.
- BERLIN M. and all. ; 1969 : The uptake of mercury in the brain of mammals exposed to mercury vapor and to mercury salts. Arch. Envi. Health 18, 719.
- CARR R. and P. WILKNISS ; 1973 : Mercury short term storage of natural waters. Environ. Sc. and Techn. 7(I), 62.
- CORNER E. and F. RIGLER ; 1957 : The loss of mercury from stored sea water solutions of mercuric chloride. J. mar. Biol. Ass.U.K. 36 , 449.
- CROSS F. and all. ; 1968 : Distribution of Zinc 65 in tissues of two marine crustaceans determined by autoradiography. J. Fish. Res. Bd. Canada 25(II) ; 2461.
- DELHAYE W. et D. CORNET ; 1974 : Contribution to the study of the effect of copper on *Mytilus edulis* during reproductive period. Comp. Biochem. Physiol. 50A (sous presse).
- DE WOLF P. ; 1972 : Een meetnet voor zware metalen langs de Nederlandse kust. TNO Nieuws 27 ; 504.
- DE WOLF P. and all. ; 1972 : Veldproeven over de invloed van koper en kwik op een natuurlijke mosselbank. TNO Nieuws 27 , 497.
- FIMREITE N. and all. ; 1971 : Mercury in fish and fish eating birds near sites of industrial contamination in Canada. The Canadian field naturalist 85(3) , 211.
- GAHAN P. ; 1972 : Autoradiography for Biologists. Acad. Press. London and New York.
- GAVIS J. and J. FERGUSON ; 1972 : The cycling of mercury through the environment. Water research 6(9) , 989.
- HOBDEN ; 1970 : Aspects of iron metabolism in fresh water mussel. Can. J. Zool. 48(I) , 83.
- JOASSON : Mercury in the naturel environment , a review of recent work. Geol. survey of Canada paper 70 , 57.
- JERNELOV A. ; 1972 : Mercury, a case study of marine pollution. J. Wiley and Sons , Inc. Wiley Interscience Division, New York , 161.
- LEMEE J. et coll. ; 1970 : Contamination de crevettes roses au moyen de Caesium 137 par voie alimentaire. Radioprotection 6(2) , 133.
- LUBET P. et P. LE GALL ; 1967 : Observations sur le cycle sexuel de *Mytilus edulis* à Luc sur mer. Bull. de la Soc. Lin. de Normandie 10 ième série 8 ; 303.

- LUBET P. et J. CHAPPUIS ; 1964 : Etude de la filtration de l'eau chez *Mytilus galloprovincialis*, influence de la taille et de la salinité. C. r. Sea. Soc. Biol. 158(II), 2125.
- PAULEY G. and R. NAKATAN ; 1967 : The uptake of the radioisotope Zinc 65 by various tissues of the fresh water mussel *Anodonta californiensis*. Proc. nat. Schellfish Ass. 57 , 7.
- PENTREATH R. ; 1973 : The accumulation from water of Zinc 65, Manganese 64, Cobalt 58 and Iron 59 by the mussel *Mytilus edulis* . J. mar. Biol. Ass. U.K. 53 , 127.
- PERPEET C. et M. VLOEBERGH ; 1973 : Effets des métaux lourds sur les invertébrés marins. Technical report CIPS, Biol. Synthèse 05.
- RAYMONT J. and J. SHIELD ; 1964 : Toxicity of Copper and Chromium in the marine environment. Adv. in Water Poll. 3 , 273.
- SCHOETTLI G. and H. SEILER ; 1970 : Uptake and localisation of radioactive Zinc in the visceral complexe of the land pulmonate *Arion rufus*. *Experienta* 26 , 1212.
- SHIMIZU M. and all. ; 1970 : Uptake of Cobalt 60 by marine animals. Records of Oceanog. works in Japan 10(2) , 137.
- SHIMIZU M. and all. ; 1971 : Uptake of Cobalt 60 by mussel. J. of Radiation research, Tokyo 12(1) , 17.
- SPOTTE S. ; 1970 : Fish and invertebrate culture . Wiley inter-science. New York. p. 93.
- UNLU M. et coll. ; 1970 : Le mercure en tant que polluant hydrosphérique ; accumulation et excrétion du Mercure 203 chez *Tapes decussatus*. Conf. Tech. Poll. FAO Rome 1970.

ppb Hg 203

GRAPHIQUE I : contenu en mercure des organes de *Mytilus edulis* après intoxication directe par diverses concentrations de Hg

7 ppb (mai)

7 ppb (juin)

7 ppb (aout)

2000

1000

0

5 ppb

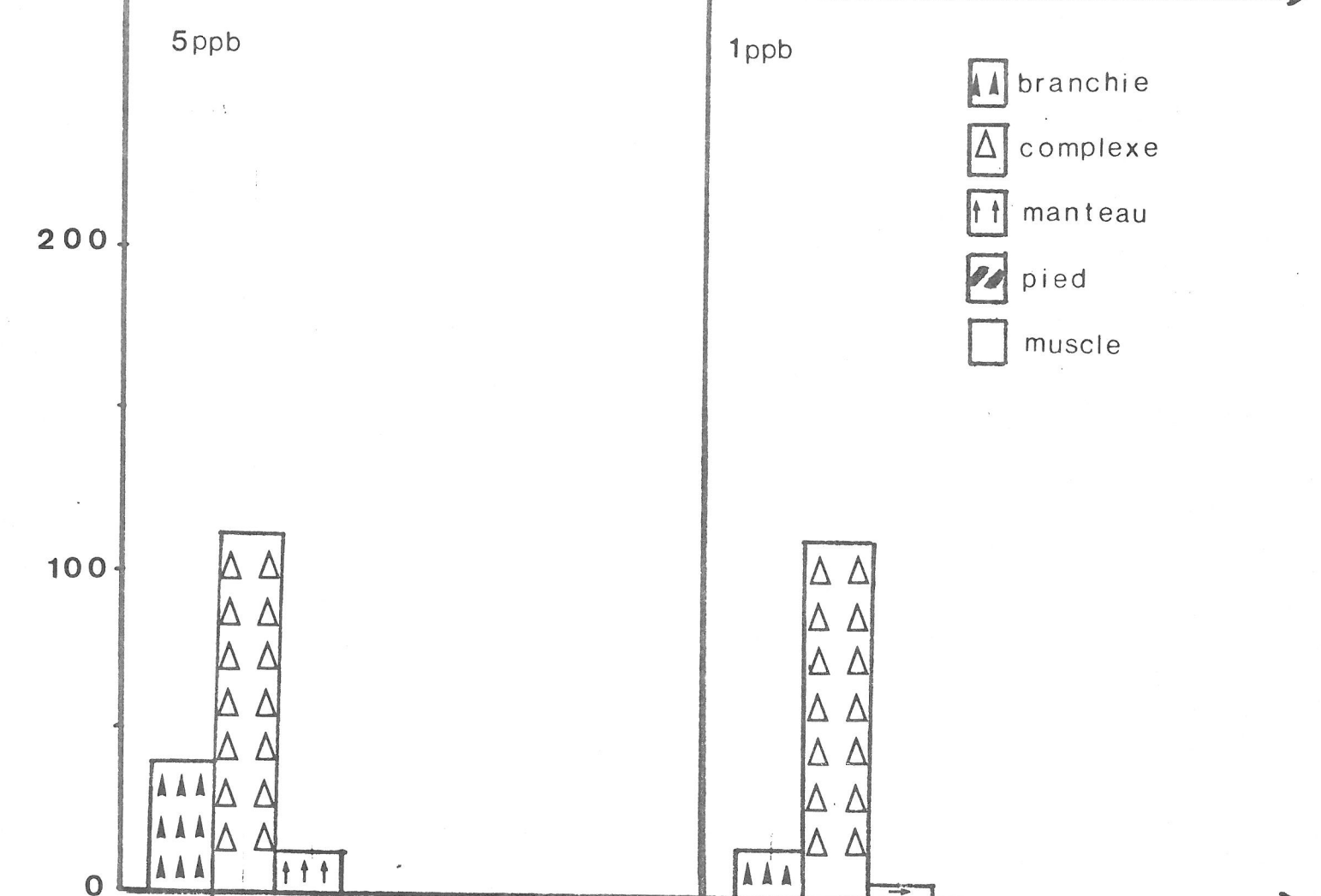
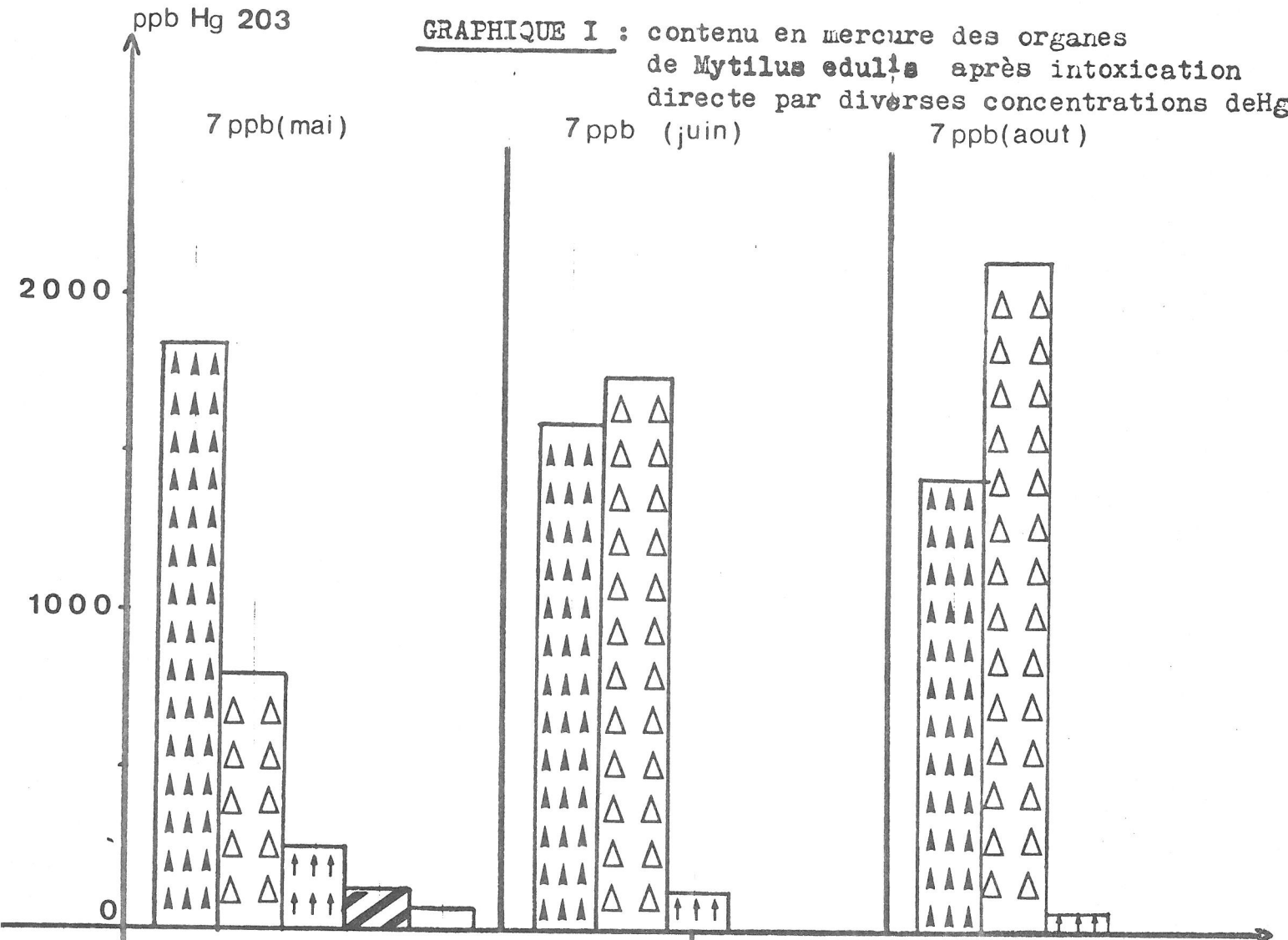
1 ppb

200

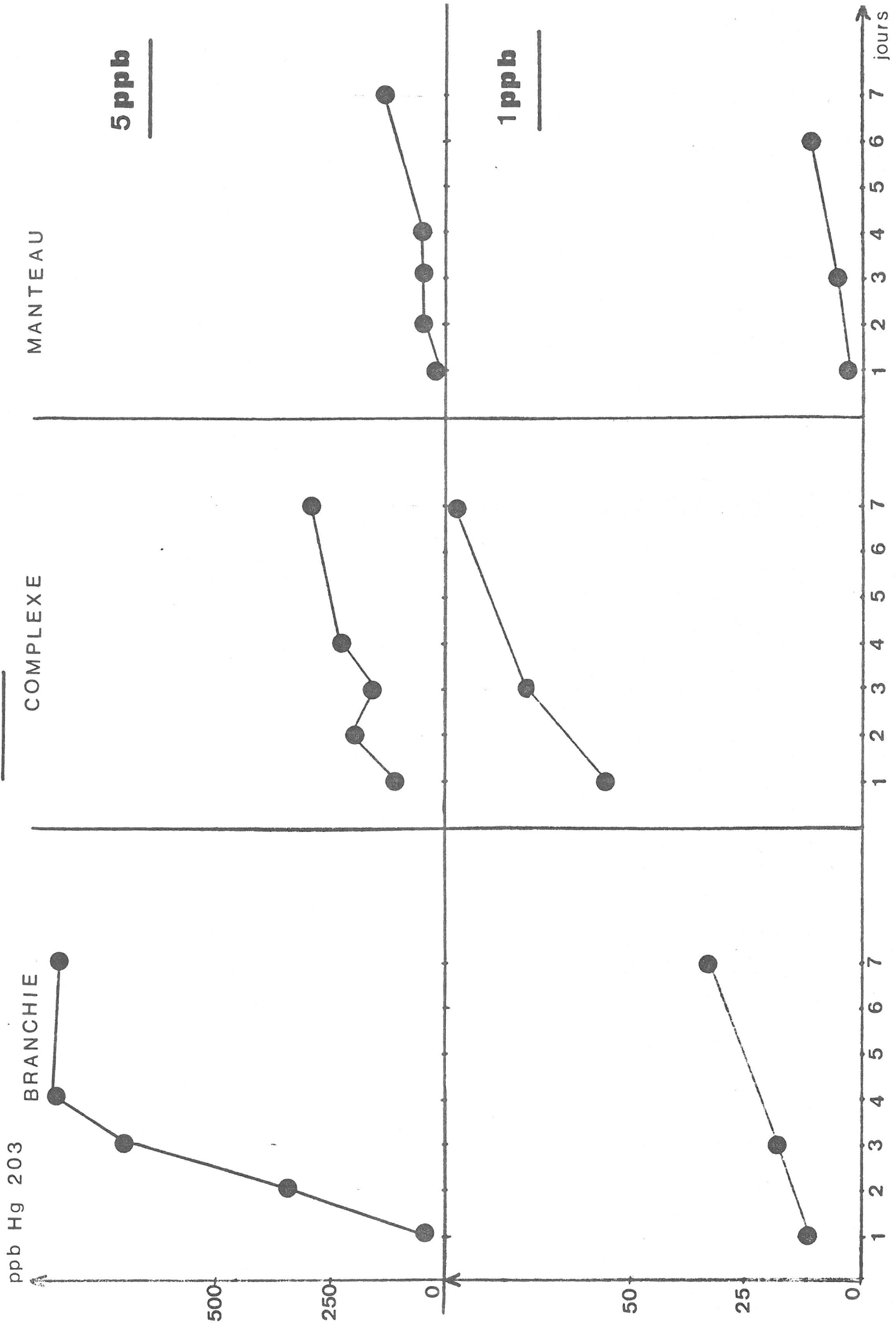
100

0

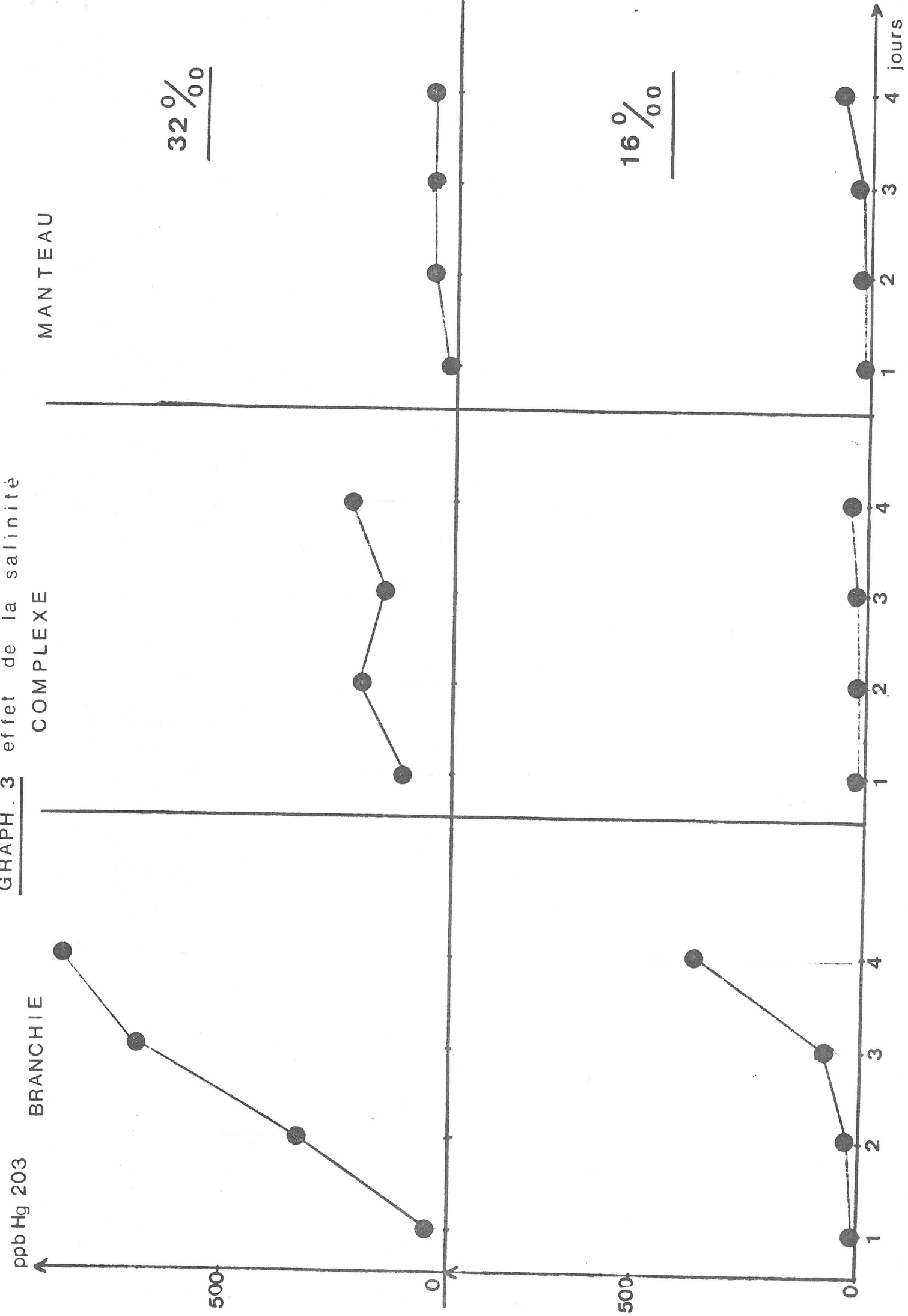
-  branchie
-  complexe
-  manteau
-  pied
-  muscle



GRAPH. 2 cinétique d'incorporation



GRAPH. 3 effet de la salinité





ppb Hg 203

GRAPH. 4

excrétion

BRANCHIE

MANTEAU

COMPLEXE

4000

3000

2000

1000

0

24 24 48 62  
7ppb Hg203 eau propre

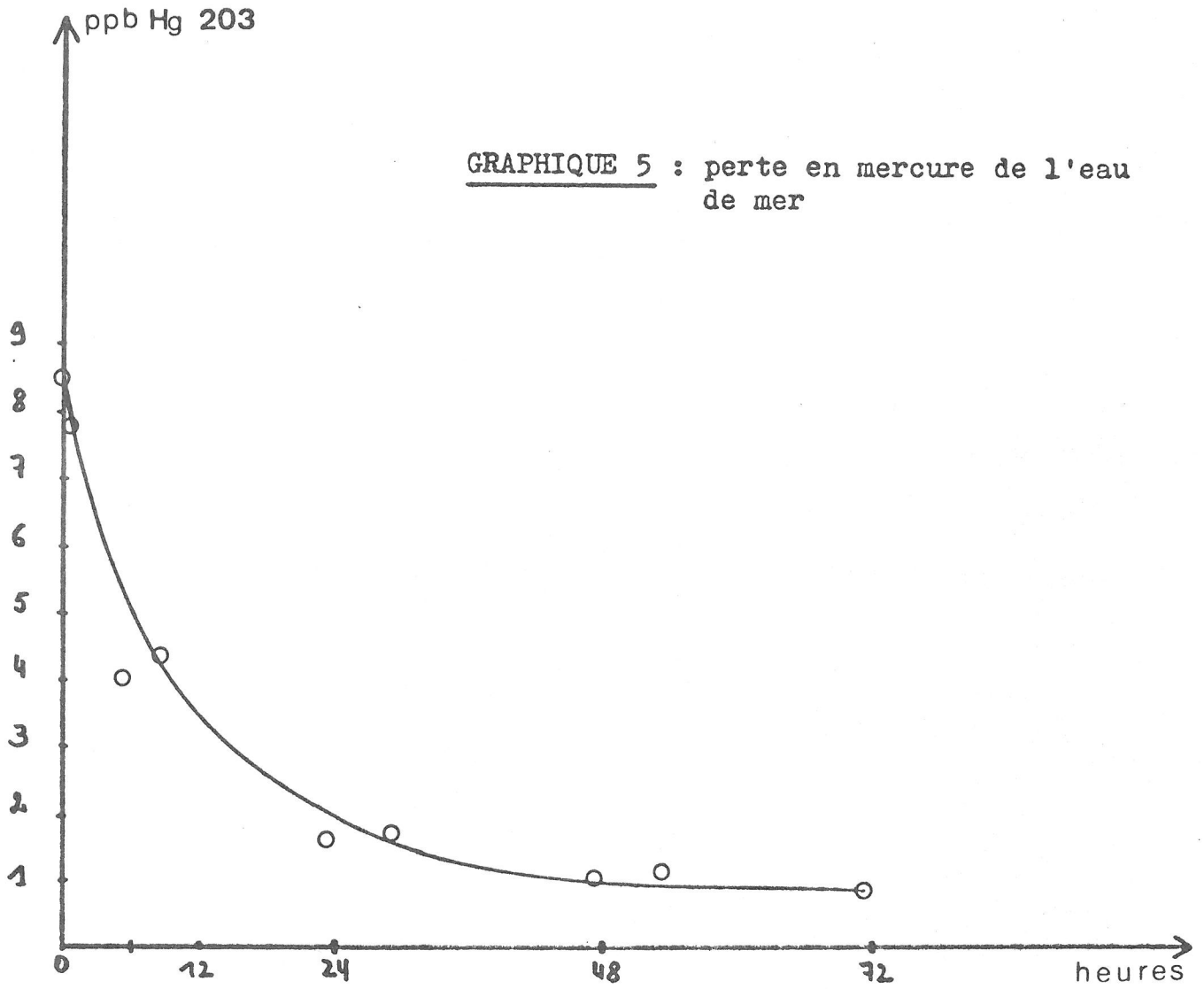
24 24 48 62  
7ppb Hg203 eau propre

24 24 48 62  
7ppb Hg203 eau propre

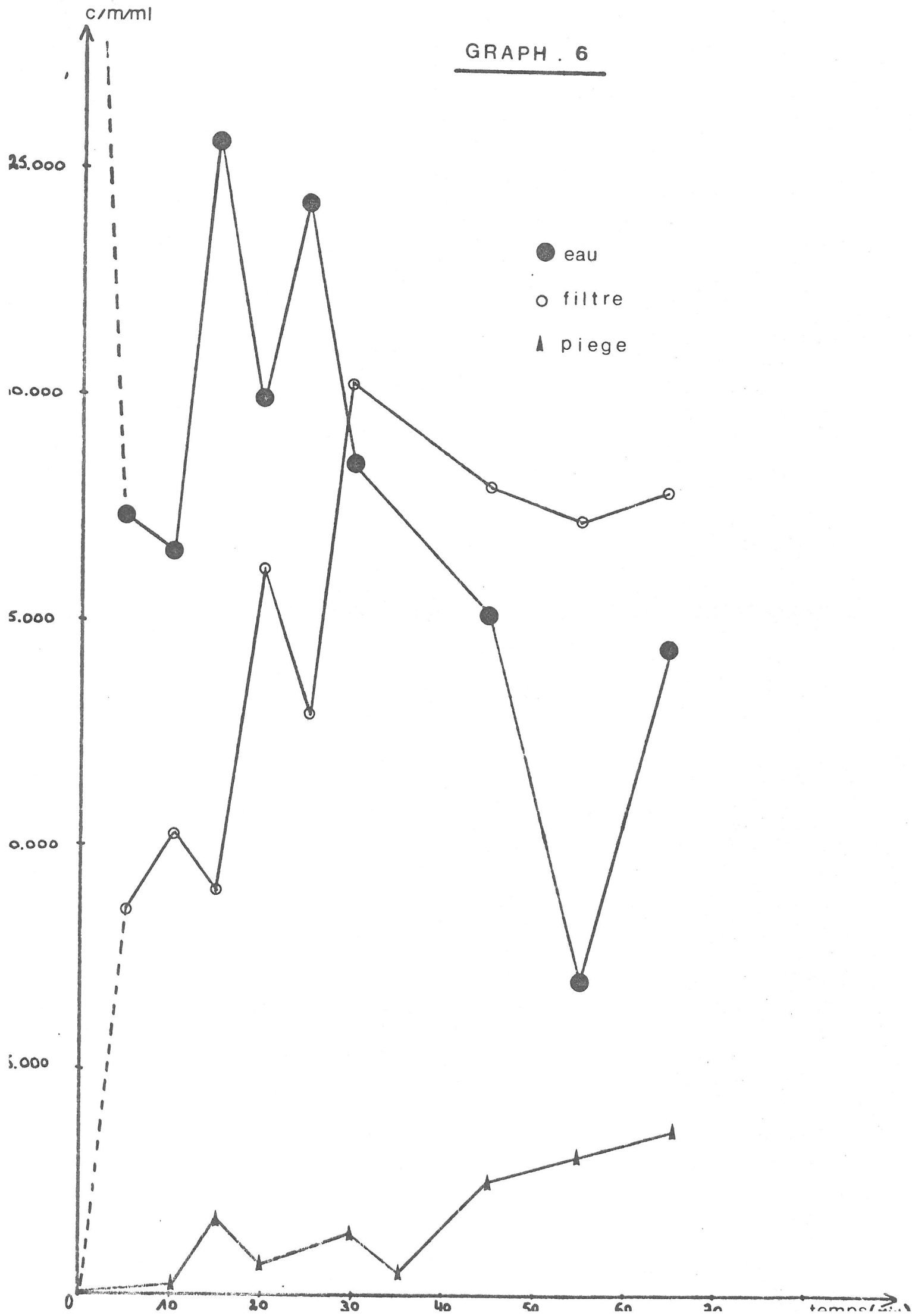
heures



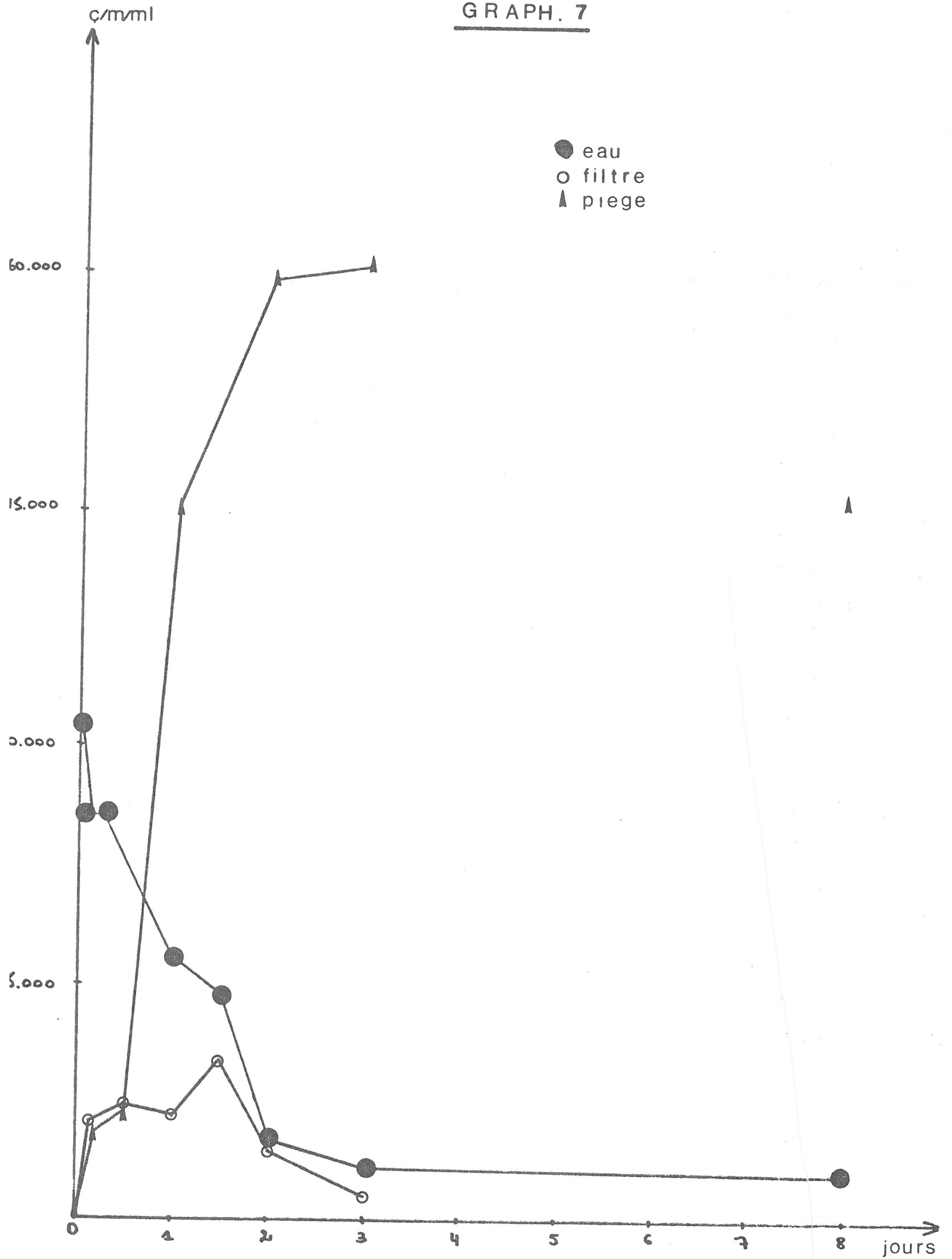
GRAPHIQUE 5 : perte en mercure de l'eau de mer



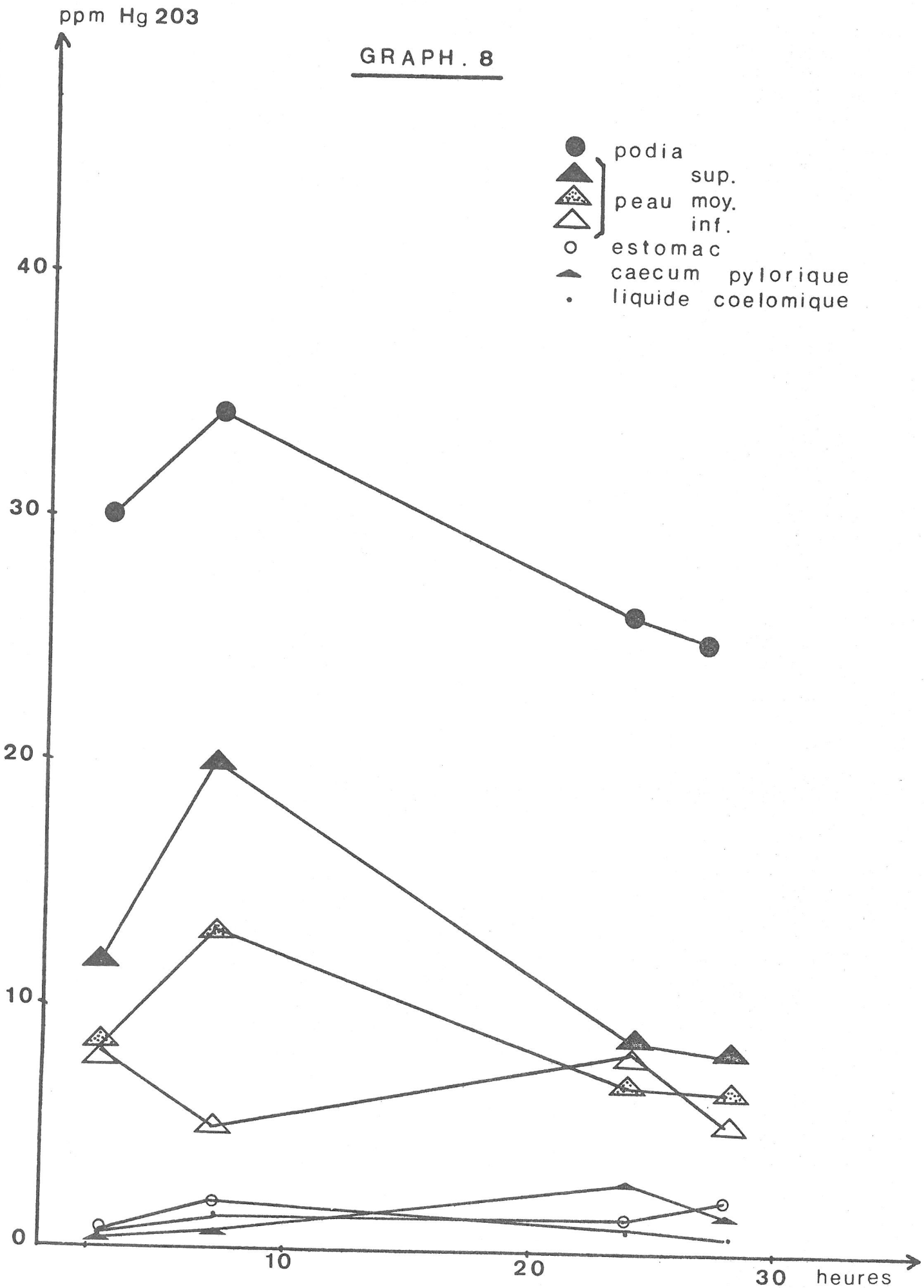
GRAPH . 6



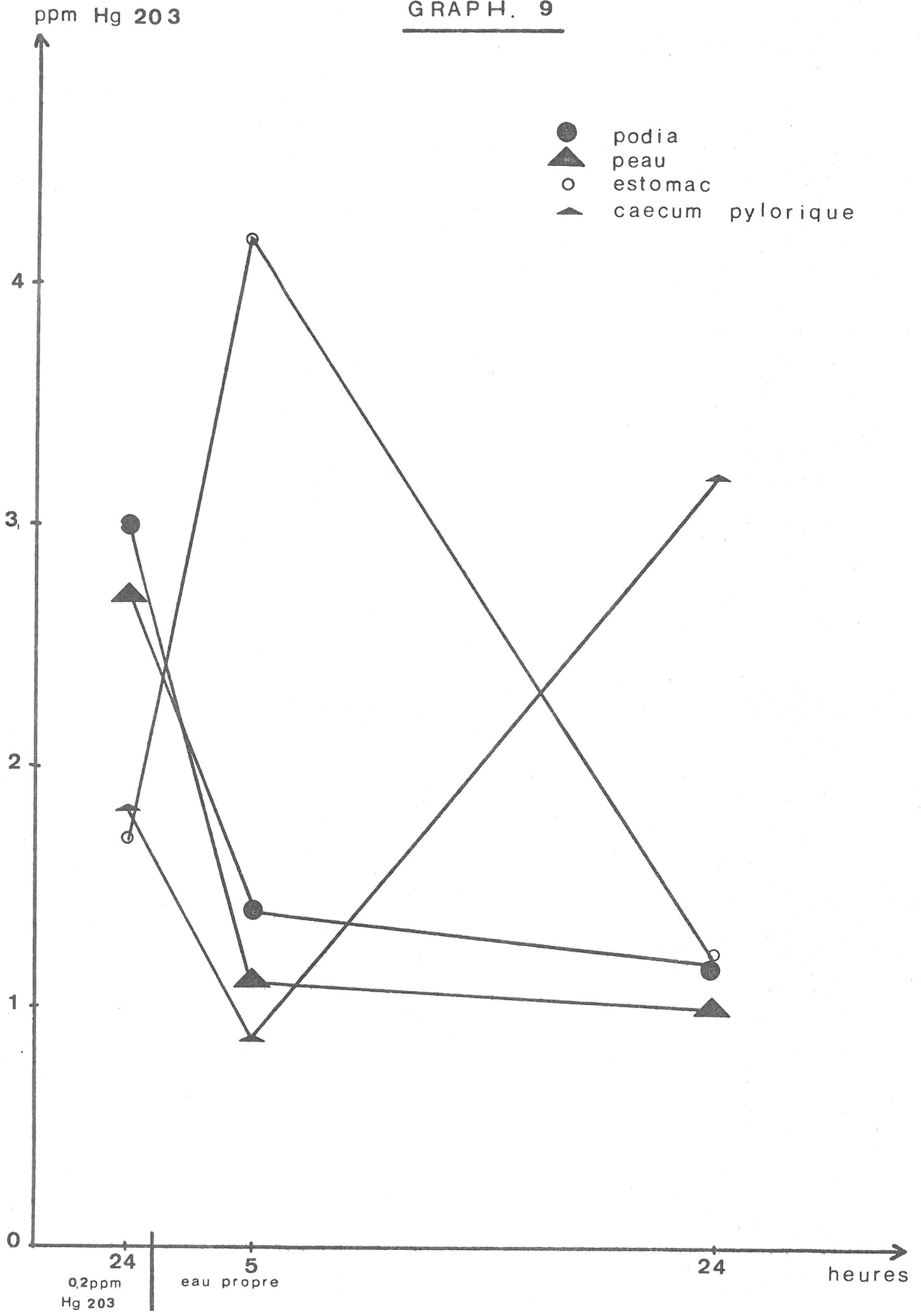
GRAPH. 7



GRAPH. 8



GRAPH. 9



GRAPH. 10

