

# Évaluation de la toxicité des sédiments de la rivière Chaudière pour les jeunes stades de deux espèces de poissons

Par : Charles Gauthier et Patrice Couture

Rapport de recherche INRS-ETE No R1587

26 mars 2015

Institut national de la Recherche scientifique

Centre Eau Terre Environnement

490 de la Couronne

Québec (Québec)

Canada G1K 9A9

### **Coordination et rédaction**

Cette publication a été réalisée par l'INRS Centre Eau Terre Environnement. Elle s'inscrit dans le plan d'action du MDDELCC face au déversement de pétrole dans la rivière Chaudière survenu le 6 juillet 2013, lors de l'accident ferroviaire de Lac-Mégantic.

### **Renseignements**

Pour tout renseignement, vous pouvez communiquer avec le Centre d'information du ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques.

Téléphone : 418 521-3830  
1 800 561-1616 (sans frais)

Télécopieur : 418 646-5974  
Courriel : [info@mddelcc.gouv.qc.ca](mailto:info@mddelcc.gouv.qc.ca)  
Internet : [www.mddelcc.gouv.qc.ca](http://www.mddelcc.gouv.qc.ca)

### **Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques**

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec  
2700, rue Einstein  
Québec (Québec) G1P 3W8  
Téléphone : 418 643-1301

Ou

Visitez notre site Web :  
<http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/lac-megantic/chaudiere.htm>

### **Référence à citer**

Gauthier, C. et Couture, P. Évaluation de la toxicité des sédiments de la rivière Chaudière pour les jeunes stades de deux espèces de poissons. INRS Centre Eau Terre Environnement. 18 pages et annexes  
ISBN 978-2-550-73730-8

Dépôt légal – 2015  
Bibliothèque et Archives nationales du Québec  
ISBN 978-2-550-73730-8 (PDF)

Tous droits réservés pour tous les pays.

© Gouvernement du Québec – 2015

## ÉQUIPE DE RÉALISATION

Terrain : Mélanie Desrosiers<sup>1</sup>, Jean-Pierre Mootz<sup>2</sup> et Charles Gauthier

Laboratoire : Charles Gauthier

Analyse des données et rédaction du rapport : Charles Gauthier

Supervision et vérification du rapport : Patrice Couture

Révision scientifique :

- Mélanie Desrosiers<sup>1</sup> et Gaëlle Triffault-Bouchet<sup>1</sup>
- Yvon Richard, David Berryman, Denis Laliberté<sup>3</sup>
- Sylvain Roy<sup>4</sup>
- Frédérick Dechamplain<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec

<sup>2</sup> Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, Direction régionale du Centre de contrôle environnemental de la Capitale-Nationale et de la Chaudière-Appalaches

<sup>3</sup> Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, Direction du suivi de l'état de l'Environnement

<sup>4</sup> Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Direction des opérations régionales faune Estrie-Montréal-Montérégie

## RÉSUMÉ

Mandaté par le MDDELCC pour étudier l'impact des sédiments contaminés de la rivière Chaudière suite au déversement à Lac-Mégantic, l'INRS ETE a entrepris une série d'études en laboratoire dont l'objectif était d'exposer des œufs de poissons à ces sédiments. Des montages expérimentaux ont été utilisés pour exposer des œufs menés à grosse tête (*Pimephales promelas*) et de truite brune (*Salmo trutta*) à de l'eau qui circulait dans des sédiments provenant de la rivière Chaudière. Les paramètres examinés étaient le taux de mortalité, le temps d'éclosion, l'incidence de malformations de la colonne vertébrale et l'activité d'enzymes liées aux stress oxydant (catalase, glutathion peroxydase et superoxyde dismutase) des larves. Les résultats démontrent que l'exposition aux sédiments contaminés n'a pas eu d'effets sur le taux d'éclosion des œufs ni sur la mortalité des œufs et des larves des espèces examinées. L'examen de l'activité des enzymes démontre aussi que l'exposition des jeunes stades des poissons étudiés aux sédiments contaminés n'induit pas un stress oxydant. Aucune différence statistiquement significative n'a été identifiée dans l'incidence de lordose (malformations dorsales de la colonne vertébrale) pour les truites brunes. Par contre, une augmentation de l'incidence de la scoliose, une malformation latérale de la colonne vertébrale, est observée chez la truite brune exposée aux sédiments les plus contaminés (1500 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> et 3200 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>) par rapport aux sédiments de la classe 1, de la classe 2 et aux témoins. Ces résultats concordent avec ceux d'autres études selon lesquelles des déversements de pétrole ont causé des déformations squelettiques chez les poissons.

# TABLE DES MATIÈRES

Résumé	i
Table des matières	iii
Liste des tableaux	iv
Liste des figures	v
Mise en contexte	vi
1. Introduction	1
2. Méthodologie	2
2.1 Échantillonnage, manipulation et entreposage des sédiments	2
2.2 Analyse des hydrocarbures pétroliers C <sub>10</sub> -C <sub>50</sub>	2
2.3 Exposition des œufs aux sédiments	2
2.4 Paramètres d'effets	5
2.4.1 Mortalité et temps d'éclosion	5
2.4.2 Détermination des malformations	6
2.4.3 Analyse des enzymes	6
2.5 Interprétation des résultats	7
3. Résultats et discussion	8
3.1 Classes de qualité des sédiments	8
3.2 Méné à grosse tête	9
3.2.1 Mortalité et malformations.	9
3.2.2 Activités enzymatiques CAT et SOD	10
3.3 Truite brune	11
3.3.1 Mortalité, temps d'éclosion et malformations	11
3.3.2 Activités enzymatiques	13
4. Bilan	16

5. Références bibliographiques	17
Annexe 1 - Contrôle de qualité des essais enzymatiques	19
Annexe 2 - Données brutes	21

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Conditions d'exposition des œufs de poissons aux sédiments. ....	5
Tableau 2 : Concentration en hydrocarbures pétroliers C <sub>10</sub> -C <sub>50</sub> dans les sédiments issus de la rivière Chaudière et classes de qualité correspondantes. ....	8

## LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : Méné à grosse tête Pimephales promelas. Mâle (haut) et femelle (bas). Source : esoxiste.com. \_\_\_\_\_ 1
- Figure 2 : Image d'une truite brune. © Sentier Chasse-Pêche. \_\_\_\_\_ 1
- Figure 3 : Élément de base du montage expérimental utilisé pour les expositions d'œufs aux sédiments. \_\_\_\_\_ 3
- Figure 4 : Montage expérimental utilisé pour l'exposition des œufs de truite brune au LARSA de l'Université Laval \_\_\_\_\_ 4
- Figure 5 : Montage expérimental utilisé pour l'exposition des œufs de mené à grosse tête dans les salles environnementales de l'INRS-ETE \_\_\_\_\_ 4
- Figure 6 : Exemples des malformations observées durant cette étude. A : larve de mené à grosse tête normale B : lordose chez le mené à grosse tête C : scoliose chez le mené à grosse tête D : truite brune normale E : lordose chez la truite brune F : scoliose chez la truite brune. \_\_\_\_\_ 6
- Figure 7 : Taux de mortalité (%) chez le mené à grosse tête. Moyenne + écart type. n=5 pour tous sauf les contrôles stérile et vide où n=10; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux \_\_\_\_\_ 9
- Figure 8 : Incidence de malformation chez le mené à grosse tête. Moyenne + écart type. n= 4-10; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux. Des lettres différentes au-dessus des colonnes indiquent une différence statistiquement significative entre les moyennes. \_\_\_\_\_ 10
- Figure 9 : Activités enzymatiques pour la CAT (haut) et la SOD (bas). Moyenne + écart type. n=2-5; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux. Des lettres différentes au-dessus des colonnes indiquent une différence statistiquement significative entre les moyennes. \_\_\_\_\_ 11
- Figure 10 : Taux de mortalité (haut) et temps d'éclosion moyen (bas) pour la truite brune. Moyenne + écart type; n=5; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux \_\_\_\_\_ 12
- Figure 11 : Incidence de scoliose (haut) et lordose (bas) chez la truite brune. Moyenne + écart type; n=5; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux. Des lettres différentes au-dessus des colonnes indiquent une différence statistiquement significative entre les moyennes. \_\_\_\_\_ 14
- Figure 12 : Activités enzymatiques de la CAT (haut), la GPx (centre) et la SOD (bas) chez la truite brune. Moyenne + écart type; n=5; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux. \_\_\_\_\_ 15

## MISE EN CONTEXTE

Le 6 juillet 2013, un train de 72 wagons transportant 7,679 millions de litres de pétrole brut a déraillé dans le centre-ville de Lac-Mégantic. Un incendie s'est déclaré, provoquant des explosions ainsi que l'émission et le déversement de pétrole et d'autres contaminants dans l'environnement. Des quelque six millions de litres de pétrole déversés ou brûlés, il a été estimé qu'environ 100 000 litres se sont déversés dans la rivière Chaudière, dont la tête est située à Lac-Mégantic.

Au cours de l'été et de l'automne 2013, des équipes ont été mises à pied d'œuvre pour nettoyer le littoral et, autant que possible, le fond de la rivière, par des méthodes manuelles. Au cours de la même période, un grand nombre d'observations visuelles et de nombreux échantillonnages ont été réalisés pour évaluer le niveau et l'étendue de la contamination du milieu par le pétrole et ses produits dérivés.

En janvier 2014, le ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MDDELCC) a confié à son Comité expert sur la rivière Chaudière le mandat de dégager un état de situation de la rivière sur la base des résultats obtenus en 2013, de déterminer les impacts potentiels sur l'écosystème et d'élaborer un plan de gestion de la contamination résiduelle. Le plan proposé par le Comité expert a été adopté par le ministère et rendu public le 12 mai 2014.

Le plan de gestion de la contamination résiduelle de la rivière Chaudière (MDDELCC, 2014) vise cinq objectifs et comprend 14 projets. Ce rapport présente les résultats du projet 2.2 – *Évaluation de la toxicité des sédiments sur les œufs et les jeunes stades de poissons*, dont la réalisation a été confiée à l'Institut national de la recherche scientifique, Centre Eau Terre Environnement (INRS-ETE). Il s'agit du rapport final de ce projet.

# 1. INTRODUCTION

Les études de caractérisation réalisées en 2013 ont mis en évidence une contamination importante des sédiments de la Haute-Chaudière par les hydrocarbures pétroliers (MDDELCC, 2014). Afin de disposer d'éléments permettant de prioriser les actions à mettre en œuvre, le Comité expert de la rivière Chaudière a recommandé la réalisation de caractérisations complémentaires des sédiments ainsi que la caractérisation de la toxicité de ces sédiments vis-à-vis, notamment, des jeunes stades de poissons.

Afin d'évaluer la toxicité des sédiments pour les jeunes stades de poissons de la rivière Chaudière, deux espèces qui représentent deux niveaux trophiques dans la rivière ont été retenues. La première espèce est le méné à grosse tête (*Pimephales promelas*). Bien que peu présent dans la rivière Chaudière, ce petit poisson-fourrage est un représentant des cyprins omnivores ou généralistes présents dans la rivière (Figure 1). Une autre raison pour le choix de ce poisson est son utilisation courante dans les essais de toxicité depuis plusieurs décennies, ce qui donne accès à une grande quantité de données scientifiques avec lesquelles il est possible de comparer les résultats de la présente étude. La deuxième espèce est la truite brune (*Salmo trutta*). Une espèce prisée pour la pêche sportive qui est ensemencée dans la rivière Chaudière et représente un des poissons insectivore de la Haute-Chaudière (Figure 2). Le cycle de vie des truites étant plus long que celui des menés, notamment le temps d'incubation (12-14 semaines, par rapport à 5-7 jours pour le méné à grosse tête), l'utilisation des œufs de la truite brune permet d'examiner l'impact d'une exposition prolongée aux sédiments.



Figure 1 : Méné à grosse tête *Pimephales promelas*. Mâle (haut) et femelle (bas). Source : esoxiste.com.

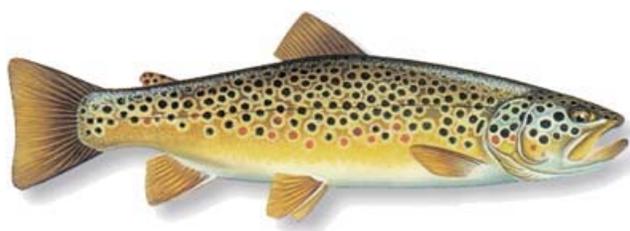


Figure 2 : Image d'une truite brune. © Sentier Chasse-Pêche.

## 2. MÉTHODOLOGIE

### 2.1 Échantillonnage, manipulation et entreposage des sédiments

Les échantillons de sédiments de surface (0-10 cm), de type composé, ont été prélevés à une vingtaine de stations fin septembre - début d'octobre 2014. À chaque site, les sédiments ont été récoltés avec une pelle en métal et mis dans un seau en métal. Au laboratoire, les sédiments ont été entreposés à 4 °C, puis tamisés à 4 mm, mis dans des pots en verre et entreposés à -20 °C. Quelques jours avant le début des expositions, les sédiments ont été décongelés à 4 °C.

Les stations d'échantillonnage étaient localisées dans les 30 premiers kilomètres de la rivière Chaudière selon un gradient de contamination. L'échantillonnage des sédiments dans le secteur du PK 4,5 a été effectué avant les travaux de dragage afin d'obtenir le gradient de contamination souhaité.

### 2.2 Analyse des hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>

L'analyse des hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub> à C<sub>50</sub> dans les sédiments a été réalisée conformément à la méthode MA. 400 – HYD. 1.1 du CEAEQ (2013).

Pour déterminer le contenu en hydrocarbures pétroliers, l'échantillon de sédiment est déshydraté avec du sulfate de magnésium anhydre, puis les hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub> à C<sub>50</sub> sont extraits avec de l'hexane, dans un bain à ultrasons. Par la suite, du gel de silice est ajouté à l'extrait afin d'absorber les substances polaires, puis le surnageant est analysé par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID). La concentration des hydrocarbures présents dans l'échantillon est déterminée en comparant la surface totale de l'ensemble des pics résolus et non résolus se situant entre n-C<sub>10</sub> et n-C<sub>50</sub>, avec les surfaces de la courbe d'étalonnage établie dans les mêmes conditions de dosage.

Les résultats sont exprimés en mg/kg de sédiment sec. La limite de détection de la méthode varie selon l'échantillon et est comprise entre 31 et 41 mg/kg de sédiment sec.

### 2.3 Exposition des œufs aux sédiments

Les montages utilisés par Luckenbach *et al* (2003) pour examiner les effets d'une contamination aqueuse sur des œufs de truite brune et ceux de Cachot *et al* (2007) développés pour l'exposition des œufs de medaka (*Oryzias latipes*) à des sédiments ont été adaptés pour les besoins de cette étude. Puisque les espèces utilisées ne placent pas leurs œufs directement en contact avec des sédiments fins, les montages ont été conçus pour simuler l'exposition à une eau qui aurait été contaminée par des sédiments (Figure 3). En effet, dans le milieu naturel, le méné à grosse tête dépose ses œufs adhésifs sous une pierre ou sous un morceau de bois immergé. Une fois fécondés, les œufs sont protégés par le mâle qui les nettoie et en assure l'oxygénation. Chez les salmonidés comme la truite brune, les œufs sont pondus dans des frayères constituées de gravier grossier au travers duquel une eau bien oxygénée circule. Le type de montage utilisé avait pour but d'assurer une exposition réaliste des œufs de poissons aux contaminants provenant des sédiments. Les montages permettent aux œufs d'être exposés à une eau qui a circulé dans les sédiments tout en limitant la remise en suspension de particules fines qui pourraient se déposer sur les œufs et les étouffer.

Les montages sont décrits sur les figures 3, 4 et 5. Ils ont été construits dans des pots en verre de 1 l. Un tube de verre d'un diamètre intérieur de 25 mm a été coupé en longueur de 125 mm. Trois fentes de 50 mm ont été coupées

dans la portion inférieure du tube de verre pour maximiser la circulation de l'eau dans les sédiments. Un panier circulaire de 75 mm avec un rebord de 12 mm recevait les œufs pour l'exposition. Ce panier était construit avec un grillage d'acier inoxydable 50M (20 brins par cm), percé au centre d'un trou de 28 mm pour laisser passer le tube de verre et fixé à ce dernier avec un adhésif à base de silicone, à une hauteur de 100 mm à partir du bout inférieur du tube (figure 3).

Pour faire les expositions des œufs aux sédiments, 250 ml de sédiments ont été placés dans le fond de chaque pot. Ensuite 100 ml de pierre volcanique concassée ont été déposés au-dessus des sédiments. Cette pierre volcanique était un substrat pour les bactéries dénitrifiantes responsables de la métabolisation de l'ammoniaque et du nitrite produits par l'activité biologique du sédiment et des œufs. Ces deux métabolites sont très toxiques pour les œufs de poissons et auraient pu causer des mortalités importantes. Le tube de verre a ensuite été inséré dans les sédiments jusqu'à ce qu'il soit en contact avec le fond du pot. Puis 400 ml d'eau ont été versés dans le pot. De l'eau reconstituée (pH 7,6 ; dureté de 120 ppm) a été utilisée pour les expositions des ménéas à grosse tête et de l'eau municipale traitée a été utilisée pour les expositions des truites. Pour assurer une circulation et une oxygénation de l'eau dans le pot, de l'air était injecté, par un diffuseur, dans le tube central, près de l'interface entre les pierres volcaniques et l'eau. Les bulles d'air qui montaient dans le tube central faisaient monter l'eau par entraînement et l'eau débordant du haut du tube coulait sur le panier immergé qui servait de support aux œufs. Ce mode de circulation de l'eau assurait ainsi une exposition maximale et directe des œufs à l'eau percolant à travers le sédiment. Au total, 120 de ces montages ont été construits, 60 pour chacune des espèces (figures 4 et 5).

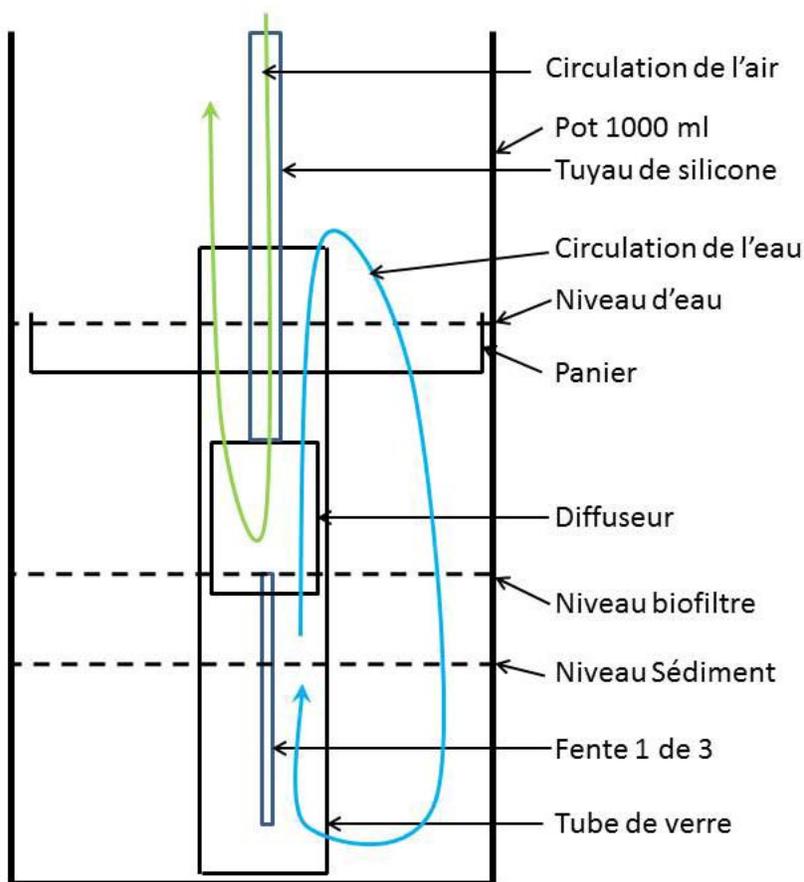


Figure 3 : Élément de base du montage expérimental utilisé pour les expositions d'œufs aux sédiments.



Figure 4 : Montage expérimental utilisé pour l'exposition des œufs de truite brune au LARSA de l'Université Laval



Figure 5 : Montage expérimental utilisé pour l'exposition des œufs de mené à grosse tête dans les salles environnementales de l'INRS-ETE

Les expositions des ménés à grosse tête ont été réalisées pour 20 sédiments, sur deux semaines consécutives, débutant le 31 octobre et le 7 novembre 2014. Les œufs de ménés à grosse tête ont été acquis chez Aquatic

Research Organisms (Hampton, New Hampshire) et envoyés la veille du début des expositions par livraison rapide. Les œufs de truites (pondus le 27 octobre 2014) ont été obtenus de la Station Piscicole de Baldwin-Coaticook (Coaticook, Québec) le 28 octobre 2014, transportés dans une glacière jusqu'au Laboratoire de Recherche en Sciences Aquatiques (LARSA, Université Laval) et placés dans les montages le jour même. Des contraintes logistiques (temps d'exposition et matériel disponible) ont fait en sorte que seuls 10 sédiments ont été évalués avec les truites. Pour chaque ronde d'exposition, 10 sédiments ont été testés et deux groupes contrôle ont été inclus. Le premier contrôle était constitué de montages avec des sédiments stériles (quartz concassé, 1 mm) tandis que le deuxième contrôle n'avait pas de sédiments. Pour chaque ronde d'expositions, 5 répliques ont été faites pour chaque sédiment et contrôle.

La veille de l'arrivée des œufs au laboratoire, les montages expérimentaux ont été préparés et laissés sans aération pour permettre aux particules fines de se déposer. Dans chacun des montages et pour chaque espèce, environ 50 œufs ont été placés dans le panier d'acier inoxydable.

## 2.4 Paramètres d'effets

### 2.4.1 Mortalité et temps d'éclosion

Les montages ont été inspectés quotidiennement. Durant l'inspection, le décompte des œufs morts a été fait et les mortalités enlevées. Les larves ont ensuite été transférées dans des tubes cryogéniques et congelés à -80 °C pour les mener à grosse tête ou plongés dans de l'azote liquide pour les larves de truite. La différence entre les deux méthodes de congélation se justifie par l'absence d'accès à un congélateur à -80 °C au LARSA de l'Université Laval.

Le temps d'éclosion a été noté pour chaque larve de truite éclos, chaque jour, et le temps moyen d'éclosion a été calculé pour chaque réplique. La moyenne des cinq répliques a été utilisée pour faire les analyses statistiques. Le temps d'éclosion n'a pas été calculé pour le méné à grosse tête, car pour cette espèce il n'est pas possible de déterminer la date exacte de la fécondation chez le fournisseur et leur temps de développement embryonnaire est très rapide (4 à 6 jours après la fécondation). Chacun des deux envois d'œufs de ménés à grosse tête comprenait environ 5000 œufs et leur fécondation remontait de 1 à 3 jours, tel que confirmé par l'observation d'œufs en développement avancé (apparition des yeux) au moment de leur arrivage.

Tableau 1 : Conditions d'exposition des œufs de poissons aux sédiments.

Paramètre	Description
Type d'essai	Montage semi-fermé en recirculation
Durée d'exposition	Jusqu'à l'éclosion
Organismes	Œufs de <i>Pimephales promelas</i> ou <i>Salmo trutta</i>
Récipient d'essai	Montage en verre de 1000 ml
Ratio eau/sédiment	250 ml de sédiments pour 400 ml d'eau
Origine de l'eau	Eau reconstituée ( <i>P. promelas</i> ) ou eau municipale traitée ( <i>S. trutta</i> )
Origine du sédiment	Sédiment naturel échantillonné dans la rivière Chaudière
Traitement de l'échantillon	Tamisage à 4 mm
Préparation des milieux d'essai	24 h avant l'introduction des organismes
Nombre de répliques/sédiment	5
Température	25 ± 1 °C ( <i>P. promelas</i> ) ou 7 ± 1 °C ( <i>S. trutta</i> )
Photopériode	16/8 h ( <i>P. promelas</i> ) ou en pénombre ( <i>S. trutta</i> ).
Aération	Bullage vigoureux
Alimentation	Aucune
Paramètre d'effet	Survie; temps d'éclosion; malformations; enzymes

### 2.4.2 Détermination des malformations

Les malformations squelettiques sont une conséquence reconnue de l'exposition aux hydrocarbures pétroliers. Seules les malformations squelettiques grossières causant des déformations de la colonne vertébrale ont été notées. Les larves de truite étant suffisamment grandes, la distinction entre la lordose (torsion dorso-ventrale) et la scoliose (torsion latérale) a pu être faite. Des exemples des malformations observées durant cette étude sont présentés dans la Figure 6. Les images de lordose et de scoliose pour le méné à grosse tête sont présentées à titre d'exemple seulement.

### 2.4.3 Analyse des enzymes

Une série d'enzymes liées au métabolisme du stress oxydant, la catalase (CAT; EC 1.11.1.6), la superoxyde dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) et la glutathion peroxydase (GPx; EC 1.11.1.9), ont été analysées dans les larves écloses, récoltées à la suite de l'exposition aux sédiments. Ces enzymes sont les plus couramment utilisées dans les



Figure 6 : Exemples des malformations observées durant cette étude. A : larve de méné à grosse tête normale B : lordose chez le méné à grosse tête C : scoliose chez le méné à grosse tête D : truite brune normale E : lordose chez la truite brune F : scoliose chez la truite brune.

études scientifiques pour examiner la réponse métabolique du stress oxydant induit par les contaminants. Pour chacune, des trousse d'analyse de Cayman Chemical ont été utilisées en suivant les instructions fournies avec la trousse.

Les échantillons conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$  ont été décongelés à  $4^{\circ}\text{C}$  et maintenus sur de la glace en tout temps. Un tampon d'homogénéisation (HEPES-EDTA, pH 7,5) froid a été utilisé à une dilution de 1/10 (w/v). Les homogénats ont été faits dans un homogénéisateur en verre de 2 ml en passant le piston 8 fois. Des aliquotes de cet homogénat ont ensuite été prélevés pour les analyses de protéines et pour les différentes centrifugations pour les enzymes. Suite à des essais d'optimisation pour les enzymes, les dilutions finales pour les analyses d'enzymes sont les suivantes : GPx : 1/10; Catalase : 1/100; SOD : 1/200. Ces aliquotes ont été recongelés à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'analyse des enzymes. La petite taille des larves de méné à grosse tête et le haut taux de mortalité dans certains traitements ont parfois obligé le regroupement de plusieurs répliquas afin d'avoir suffisamment de tissu pour faire un homogénat. Dans ces cas, des échantillons de tailles similaires ont été combinés pour faire un homogénat.

Le contrôle de qualité pour les enzymes a été fait par l'évaluation des contrôles fournis avec les trousseaux d'analyse et par une comparaison avec les données de la documentation scientifique. Les détails de ces évaluations sont présentés à l'annexe 1 et discutés à la section 3.

## 2.5 Interprétation des résultats

Les résultats ont été analysés en utilisant le logiciel JMP 11 Pro (SAS Institute Inc. 2013). Des tests ANOVA ont été utilisés pour comparer toutes les moyennes entre elles avec le test de comparaisons multiples Tukey HSD. Le seuil de signification a été établi à 0,05. Des corrélations de Pearson ont finalement été utilisées pour examiner la relation entre le temps d'éclosion et la concentration nominale en hydrocarbures pétroliers (C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>) dans les sédiments.

### 3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

#### 3.1 Classes de qualité des sédiments

En l'absence de critères de qualité des sédiments pour les hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> et afin de permettre la gestion des sédiments contaminés par les hydrocarbures, le ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MDDEFP, 2013) a retenu deux valeurs de référence :

- la valeur de référence – effets chroniques de 164 mg/kg d'hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>;
- la valeur de référence – effets aigus de 832 mg/kg d'hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>.

Si la concentration en hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> est inférieure à la valeur de référence – effets chroniques, le sédiment est de classe 1. Si la concentration en hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> est comprise entre les deux valeurs de référence, le sédiment est de classe 2. Enfin, si la concentration en hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> est supérieure à la valeur de référence – effets aigus, le sédiment est de classe 3.

Le [Tableau 2](#) présente les concentrations en hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> de chacun des sédiments échantillonnés, ainsi que la classe de qualité qui est associée à cette concentration. Cinq sédiments sont de classe 3 : STA6A, STA9A-9B, DR42-56, DR57 et DR58. Sept sédiments sont de classe 2. Il s'agit des sédiments identifiés par les nombres 282, 48-49, 405-406, 388, 24, DR50 et DR49. Huit sédiments ont été placés dans la classe 1, notamment : STA3A-3B, STA4A-4B, 9, 95, 121, 301-302, 394 et 469b/ZA-39.

Tableau 2 : Concentration en hydrocarbures pétroliers C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> dans les sédiments issus de la rivière Chaudière et classes de qualité correspondantes.

Localisation	Identification de la station	Concentration C <sub>10</sub> -C <sub>50</sub> (mg/kg sédiment sec)	Classe de qualité (C <sub>10</sub> -C <sub>50</sub> )
PK 3,4	STA4A-4B	<31	1
PK 3,2	394	<31	1
PK 4,8	9	<31	1
PK 2,7	STA3A-3B	<35	1
PK 9,1	121	<35	1
PK 31,7	301-302	<36	1
PK 7,6	95	<41	1
PK 2,0	469b/ZA-39	140	1
PK 1,2	282	200	2
PK 3,1	388	200	2
PK 5,4	24	210	2
PK 4,7	DR49	260	2
PK 4,7	DR50	370	2
PK 4,3	405-406	550	2
PK 4,0	48-49	650	2
PK 8,6	STA9A-9B	890	3
PK 4,6	DR58	1100	3
PK 5,3	STA6A	1500	3
PK 4,6	DR57	3200	3
PK 4,6	DR42-56	8000	3

## 3.2 Méné à grosse tête

### 3.2.1 Mortalité et malformations.

Le taux de mortalité chez le mené à grosse tête a été très variable et aucune différence statistiquement significative n'a été identifiée entre les différents sédiments ou entre les sédiments et les contrôles pour des sédiments dont les teneurs en C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> varient de < 31 mg/kg à 8000 mg/kg (Figure 7).

Aucune différence statistiquement significative dans l'incidence de malformations n'a été identifiée entre les sédiments et les contrôles (Figure 8) pour les mêmes sédiments. Par contre, une différence statistiquement significative a été identifiée entre deux sédiments de la classe 1. Il s'agit des sédiments 95 et 394, dont les C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> n'ont pas été détectés et, où l'incidence de malformation chez les ménés à grosse tête exposés au sédiment 95 était plus élevée que chez ceux exposés au sédiment 394 (< 31 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>), malgré une très forte variabilité de cette variable pour le sédiment 95. Aucune information sur la qualité de ces deux sédiments n'est disponible pour expliquer cette différence dans l'induction de malformations.

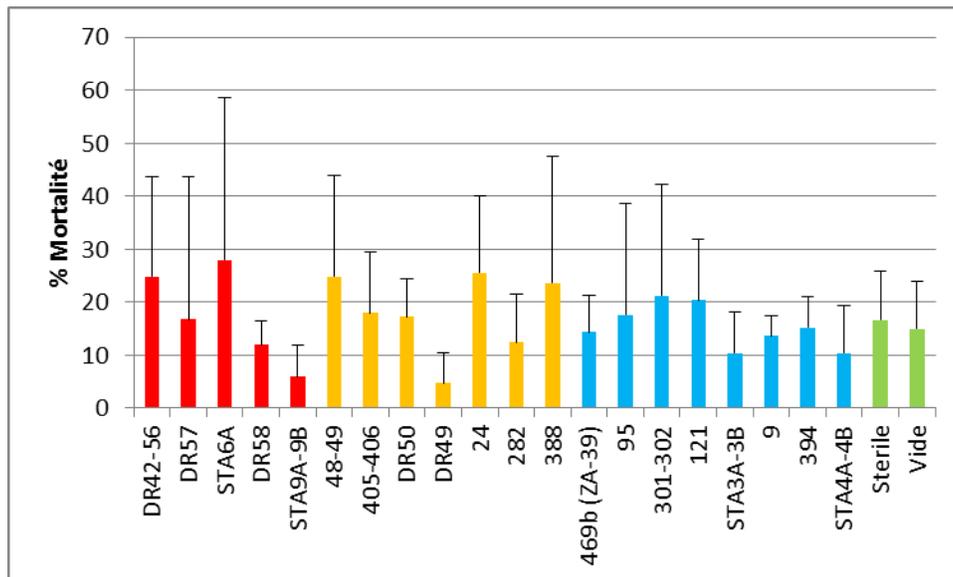


Figure 7 : Taux de mortalité (%) chez le mené à grosse tête. Moyenne + écart type. n=5 pour tous sauf les contrôles stérile et vide où n=10; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux

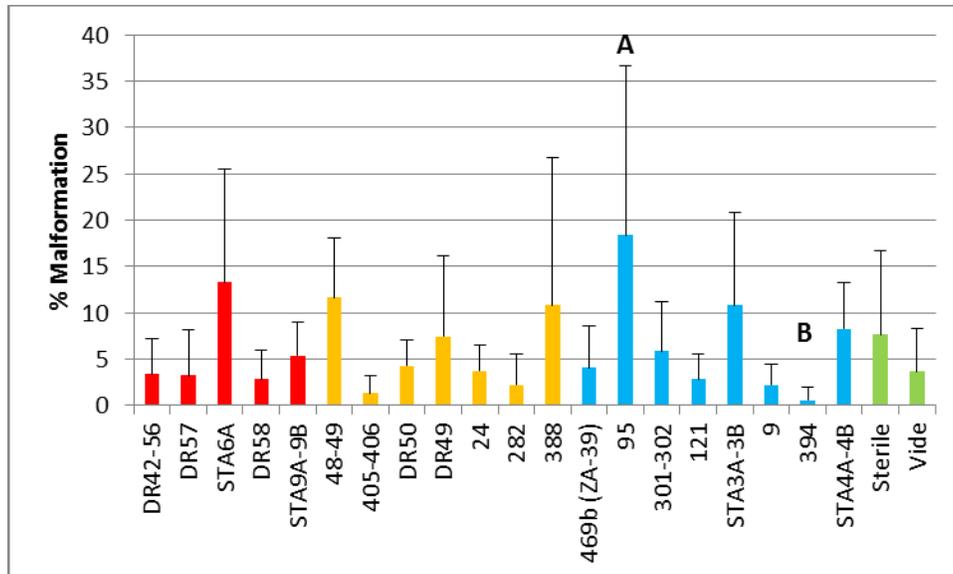


Figure 8 : Incidence de malformation chez le méné à grosse tête. Moyenne + écart type. n= 4-10; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux. Des lettres différentes au-dessus des colonnes indiquent une différence statistiquement significative entre les moyennes.

### 3.2.2 Activités enzymatiques CAT et SOD

Les activités des enzymes CAT et SOD dans les larves des ménés à grosse tête entières sont présentées à la [figure 9](#). Aucune différence d'activité entre les sédiments testés entre eux ou avec les contrôles n'a été identifiée pour la CAT pour des sédiments dont les teneurs varient de < 31 mg/kg à 8000 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>. Pour la SOD, chez les larves exposées au sédiment 95 dont les C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> n'ont pas été détectés (< 41 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> ; classe 1), l'activité était plus de 5 fois plus élevée que chez les larves du contrôle correspondant (stérile 1). Bien que la valeur moyenne d'activité de la SOD pour ce contrôle était particulièrement faible, la valeur pour les larves exposées aux sédiments du site 95 est parmi les plus élevées mesurées dans l'ensemble des expositions. Puisque le sédiment 95 est classé comme propre, mais qu'il était le seul qui amenait une hausse significative de malformations (voir section 3.2.1), il est probable que ce sédiment était toxique pour les jeunes stades de ménés à grosse tête. Les mesures de contaminants effectuées ne permettent pas cependant d'en identifier la cause. Finalement, comme le montre la section 3.3, le sédiment 95 n'induit aucun effet toxique chez les jeunes stades de truite brune, pourtant exposées pendant 3 mois. Le caractère toxique du sédiment 95 est donc incertain.

Une comparaison des activités mesurées dans cette étude avec des données de la documentation scientifique est présentée à l'annexe 1. Il apparaît que les activités de la CAT et de la SOD mesurées dans cette étude sont similaires aux valeurs obtenues par d'autres études (Lapointe *et coll.* 2011; Peters & Livingstone 1996).

Dans le cas des analyses de la GPx, l'activité dans les larves de menés à grosse tête était très faible et inférieure aux limites de détection.

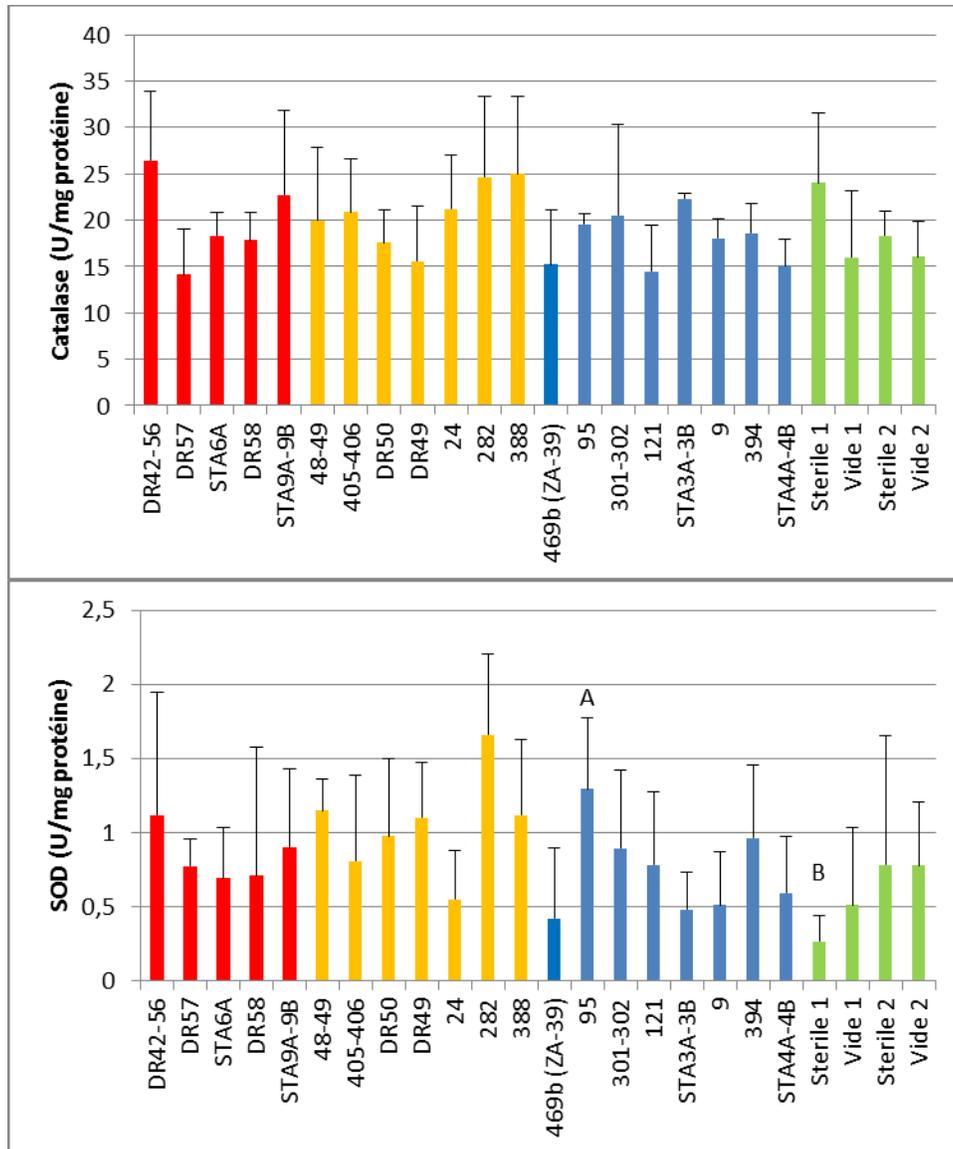


Figure 9 : Activités enzymatiques pour la CAT (haut) et la SOD (bas). Moyenne + écart type. n=2-5; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux. Des lettres différentes au-dessus des colonnes indiquent une différence statistiquement significative entre les moyennes.

### 3.3 Truite brune

#### 3.3.1 Mortalité, temps d'éclosion et malformations

Les résultats pour le taux de mortalité et le temps d'éclosion moyen pour la truite brune sont présentés dans la [figure 10](#). Pour les deux paramètres, aucune différence significative n'a été identifiée entre les sédiments ni avec les contrôles pour des sédiments dont les teneurs varient de < 31 mg/kg à 3200 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>.

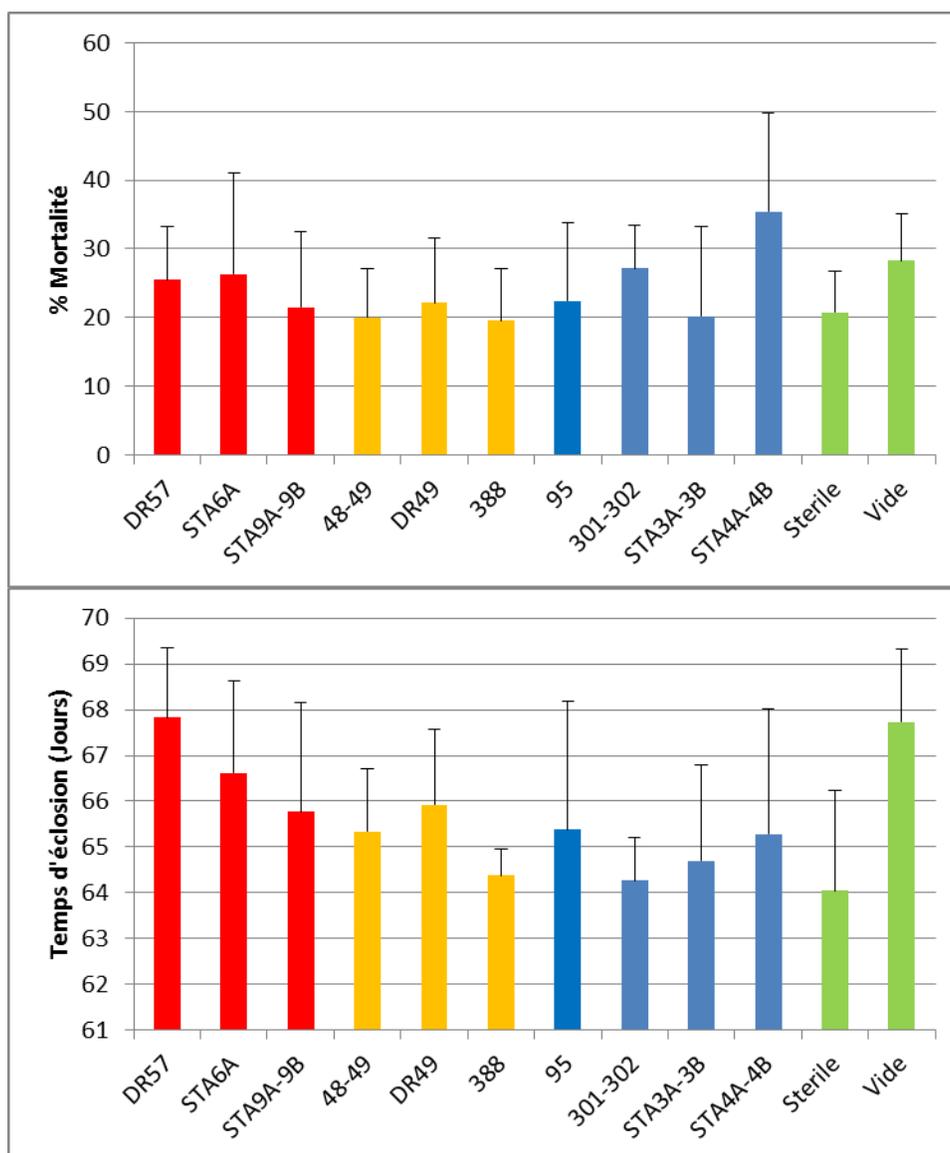


Figure 10 : Taux de mortalité (haut) et temps d'éclosion moyen (bas) pour la truite brune. Moyenne + écart type; n=5; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux

Les incidences de lordose et de scoliose sont présentées dans la [figure 11](#). Aucune différence statistiquement significative n'a été identifiée dans l'incidence de lordose pour les mêmes sédiments. Une comparaison de toutes les moyennes entre elles a permis de détecter une augmentation de l'incidence de scoliose chez les larves qui se sont développées dans les pots contenant deux des trois sédiments de classe 3 testés, par rapport à celles qui étaient en contact avec les quatre sédiments de classe 1 (< 31 mg/kg à < 41 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>). Cette différence se voit pour les larves élevées dans les sédiments les plus contaminés, DR57 (3200 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>) et STA6A (1500 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>), dont les différences moyennes d'incidences de scoliose avec les sédiments de classe 1, classe 2 et les témoins sont plus élevées de 13,4, 11,4 et 9,7 points de pourcentage respectivement. On note toutefois, qu'il n'y a pas d'augmentation de l'incidence des scoliose entre les sédiments STA6A (1500 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>) et DR57 (3200 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>) dont la différence dans les teneurs en C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> est plus du double. Le troisième sédiment de classe 3 (890 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>) ne montre pas d'augmentation de l'incidence de scoliose par rapport à aucun des sédiments ou contrôles.

Plusieurs études sur les déversements de pétrole ont rapporté des déformations squelettiques chez les poissons, avec des taux de déformations très variables (3% à 100%). Une étude utilisant une méthodologie différente sur des larves de hareng du Pacifique (*Clupea pallasii*), exposées à des extraits d'huile de l'Exxon Valdez (C<sub>6</sub>-C<sub>28</sub> entre 20 et 74 ppm dans l'eau), a démontré des taux de malformations compris entre 50 et 100 %, mais l'incidence de malformations dans les témoins de cette étude était de 40-50% (Kocan *et coll.* 1996a et b). Dans une autre étude, le taux de malformations du hareng de l'Atlantique (*Clupea harengus membras*), exposé à des fractions aqueuses d'huiles (2 à 14 ppm hydrocarbures totaux), était comprise entre 3 et 42 %, comparé à des taux de 0 % dans les contrôles (Linden, 1978). L'exposition des jeunes stades de ménés à grosse tête à des sédiments (Colavecchia *et coll.* 2004) et à des effluents (He *et coll.* 2012), dérivés des sables bitumineux, a induit des taux de malformations variant entre 3 % et 90 % avec des taux de malformation avoisinant 0 % dans les contrôles, dans les deux études. Ainsi, il apparaît que les incidences de malformations décrites dans la documentation scientifique sont similaires aux incidences de malformations obtenues dans la présente étude, qui varient entre 0,4 % et 16 % pour la scoliose chez la truite brune (2,4 % à 34 % pour les malformations totales) et entre 0,6 % et 18 % pour le méné à grosse tête.

### 3.3.2 Activités enzymatiques

Les résultats des analyses de CAT, GPx et SOD sont présentés dans la [figure 12](#). Comme pour le méné à grosse tête, aucune différence significative n'a été identifiée en fonction des classes de qualité des sédiments dont les teneurs varient de < 31 mg/kg à 8000 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>, quel que soit l'enzyme considérée. Une comparaison avec les valeurs rapportées dans la documentation scientifique est présentée à l'annexe 1. L'activité de la CAT et la SOD mesurée dans cette étude est similaire aux données recensées. Par contre, les valeurs pour la GPx sont légèrement inférieures aux valeurs pour des tissus/espèces comparables. Puisqu'il n'existe pas de données sur les jeunes stades de truites brunes et que l'activité enzymatique antioxydante varie fortement au cours du développement embryonnaire puis larvaire chez les poissons (Peters & Livingstone, 1996), les valeurs présentées dans cette étude sont cohérentes, mais l'absence de validation par comparaison aux résultats d'autres études incite à la prudence dans l'interprétation. Dans l'ensemble, les valeurs validées pour la CAT et la SOD et l'absence de signal clair concernant la GPx, portent à croire à une absence d'induction de stress oxydant par les sédiments prélevés dans la rivière Chaudière, contaminés aux hydrocarbures.

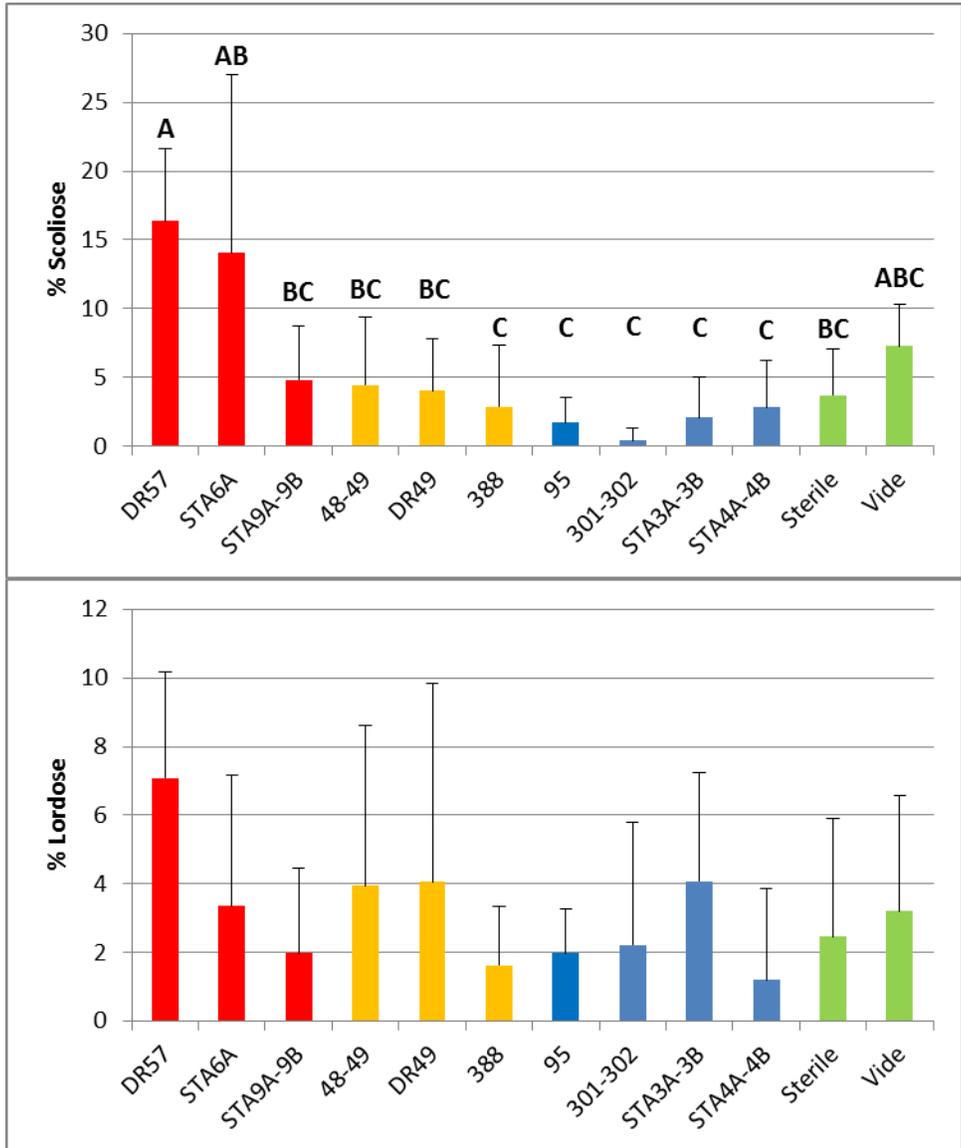


Figure 11 : Incidence de scoliose (haut) et lordose (bas) chez la truite brune. Moyenne + écart type; n=5; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux. Des lettres différentes au-dessus des colonnes indiquent une différence statistiquement significative entre les moyennes.

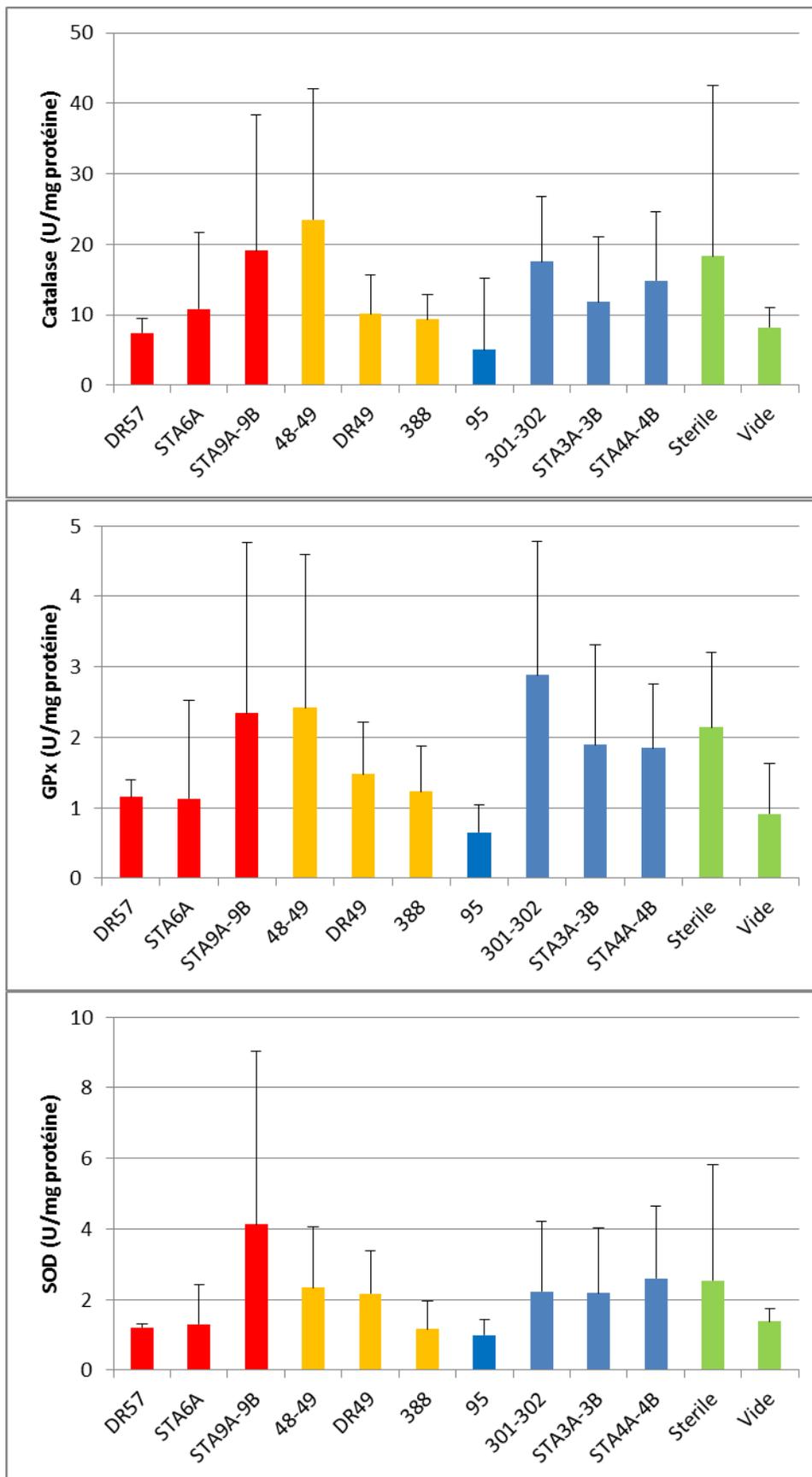


Figure 12 : Activités enzymatiques de la CAT (haut), la GPx (centre) et la SOD (bas) chez la truite brune. Moyenne + écart type; n=5; rouge = sédiments classe 3; orange = sédiments classe 2; bleu = sédiments classe 1; vert = contrôles expérimentaux.

## 4. BILAN

L'exposition des œufs de ménés à grosse tête et de truites brunes, jusqu'à leur éclosion, à de l'eau contaminée par les hydrocarbures présents dans les sédiments de la rivière Chaudière, dont les teneurs varient de < 31 mg/kg à 8000 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>, n'a pas causé d'impacts statistiquement significatifs sur le taux de mortalité ni sur le temps d'éclosion. De plus, les activités enzymatiques liées au stress oxydant de ces organismes n'ont pas été affectées de façon significative. Ces conclusions sont supportées par les données du contrôle de qualité et par une comparaison avec des valeurs d'activités enzymatiques retrouvées dans la documentation scientifique, qui confirment que les valeurs obtenues sont du même ordre de grandeur que celles rapportées dans des tissus et pour des espèces similaires (voir annexe 1).

Aucune différence statistiquement significative n'a été identifiée dans l'incidence de lordose (malformations dorsales de la colonne vertébrale) pour les truites brunes exposées à des sédiments dont les teneurs varient de < 31 mg/kg à 3200 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>. Il en est de même pour l'incidence de scoliose (malformations latérales de la colonne vertébrale), lorsque les œufs sont exposés à des sédiments dont les teneurs sont inférieures à 890 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>. Toutefois, elle a augmenté de façon statistiquement significative, avec des moyennes de 13,4 % et 11,4 %, chez les truites brunes exposées aux deux sédiments de classe 3 les plus contaminés (1500 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> et 3200 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>), en comparaison avec les sédiments de classes 1 (< 31 à < 41 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>) et de classe 2 (200 à 650 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>) respectivement. Toutefois, par rapport aux témoins, l'augmentation d'incidence de scoliose est un peu plus faible avec une augmentation entre 7,2 et 12,6 points de pourcentage. Les incidences de malformations rapportées ici sont comparables à celles observées dans d'autres études sur les effets des hydrocarbures pétroliers sur le hareng et le mené à grosse tête (Linden 1978, Colavecchia *et coll.* 2004, He *et coll.* 2012).

Bien que les montages utilisés dans cette étude soient expérimentaux, ils sont basés sur des montages utilisés pour des expositions similaires sur la truite brune (Luckenback *et coll.* 2003) et le medaka (Cachot *et coll.* 2007). Tous les efforts ont été mis pour maximiser le transfert des hydrocarbures pétroliers des sédiments à la phase aqueuse. De plus, le montage a été adapté pour minimiser le potentiel d'interférence en privilégiant des matériaux à base de silice ou de métaux. Malheureusement, la conception des montages ne permettait pas de mesurer en continu l'accumulation des hydrocarbures pétroliers dans la phase aqueuse. Aussi, l'utilisation d'une colonne d'air pour assurer la circulation de l'eau a potentiellement causé une perte des hydrocarbures plus volatils, mais ce phénomène s'observe probablement aussi en milieu naturel. Malgré ces limites, nous sommes d'avis que l'exposition est réaliste et que les effets observés sont en lien avec le niveau d'exposition aux hydrocarbures pétroliers.

En conclusion, cette étude suggère que l'exposition à long terme des jeunes stades de truite à de l'eau en contact avec les sédiments les plus contaminés (1500 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub> et 3200 mg/kg C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>) de la rivière Chaudière pourrait induire une augmentation des malformations, posant un risque pour les populations de salmonidés.

## 5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CACHOT, J., LAW, M., POTTIER, D., PELUHET, L., NORRIS, M., BUDZINSKI, H., WINN, R.. 2007. Characterization of toxic effects of sediment-associated organic pollutants using the  $\lambda$  transgenic medaka. *Environmental Science and Technology* vol. 41 pp. 7830-6

CEAEQ (2013). Détermination des hydrocarbures pétroliers (C10 à C50) : dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme, MA. 400 – HYD. 1.1. Rév. 1, Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs du Québec, 16 p.

COLAVECCHIA, M.V., BACKUS, S.M., HODSON, P.V., PARROT, J.L.. 2004. Toxicity of oil sands to early life stages of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry* vol. 23 pp. 1709-18

HE, Y., PATTERSON, S., WANG, N., HECKER M., MARTIN J.W., EL-DIN, M.G., GIESY, J.P., WISEMAN, S.B.. 2012. Toxicity of untreated and ozone-treated oil sands process-affected water (OSPW) to early life stages of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Water Research* vol. 46 pp. 6359-68

KOCAN, R.M., HOSE, J.E., BROWN, E.D., BAKER, T.T.. 1996a. Pacific herring (*Clupea pallas*) embryo sensitivity to Prudhoe Bay petroleum hydrocarbons: Laboratory evaluation and in situ exposure at oiled and unoiled sites in Prince William Sound. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* vol. 53 pp.2366-75

KOCAN, R.M., MARTY, G.D., OKIHIRO M.S., BROWN, E.D., BAKER, T.T.. 1996b. Reproductive success and histopathology of individual Prince William Sound Pacific herring 3 years after the Exxon Valdez oil spill. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* vol. 53 pp.2388-93.

LAPOINTE D., PIERRON, F., COUTURE, P.. 2011. Individual and combined effects of heat stress and aqueous or dietary copper exposure in fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Aquatic Toxicology* vol. 108 pp.80-5

LINDEN, O. 1978. Biological effects of oil on early development of the Baltic herring *Clupea harengus membras*. *Marine Biology* vol. 45 pp. 273-83

LIU, H., WANG, W., ZHANG, J., WANG, X.. 2006. Effects of copper and its ethylenediaminetetraacetate complex on the antioxidant defenses of the goldfish, *Carassius auratus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* vol. 65 pp. 350-4

LUCKENBACK T., FERLING, H., GERNHÖFER, M., KÖHLER, H-R., NEGELE, R-D., PFEFFERLE, E., TRIEBSKORN, R.. 2003. Developmental and subcellular effects of chronic exposure to sub-lethal concentrations of ammonia, PAH and PCP mixtures in brown trout (*Salmo trutta f. fario* L.) early life stages. *Aquatic Toxicology* vol. 65 pp.39-54

MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT DURABLE, DE L'ENVIRONNEMENT ET DE LA LUTTE CONTRE LES CHANGEMENTS CLIMATIQUES. 2014, Tragédie ferroviaire de Lac-Mégantic – Rapport du Comité expert sur la contamination résiduelle de la rivière Chaudière par les hydrocarbures pétroliers – Constats, Recommandations, Actions proposées. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 40 p. + annexes.

MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT DURABLE, DE L'ENVIRONNEMENT, DE LA FAUNE ET DES PARCS DU QUÉBEC. 2013, Lignes directrices pour l'évaluation de la qualité des sédiments du Lac-Mégantic et de la rivière Chaudière, en lien avec l'accident ferroviaire du 6 juillet 2013. Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs du Québec, 7 p.

PETERS, L.D., LIVINGSTONE, D.R.. 1996. Antioxidant enzyme activities in embryologic and early larval stages of turbot. *Journal of Fish Biology* vol. 49 pp.986-97

YANG, J-H.. 2010. Perfluorooctanoic acid induces peroxisomal fatty acid oxidation and cytokine expression in the liver of male Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Chemosphere vol. 81 pp. 548-52

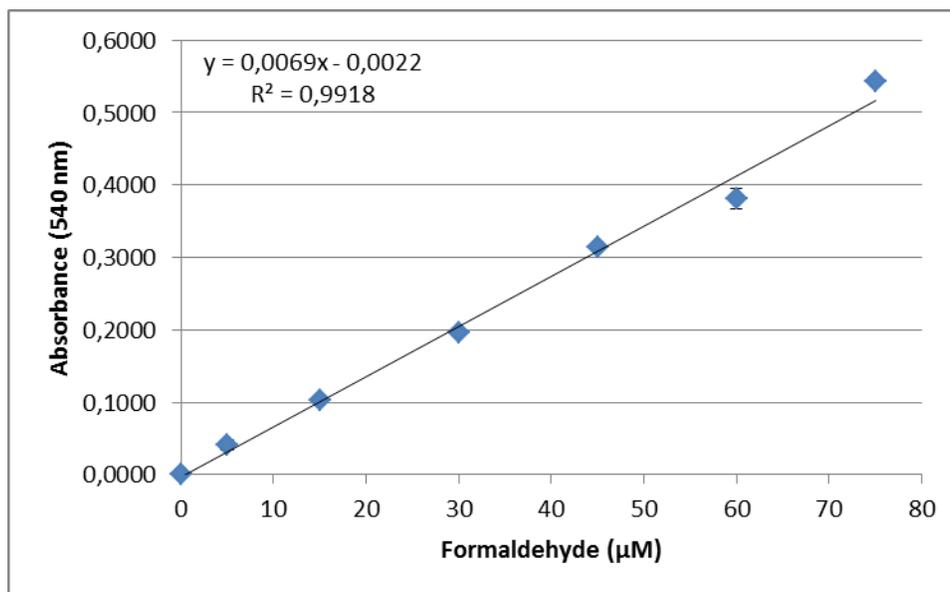
## ANNEXE 1 - CONTRÔLE DE QUALITÉ DES ESSAIS ENZYMATIQUES

### Énoncé général

Il n'existe pas de standard certifié pour l'activité enzymatique, car elle varie selon la température et les conditions du milieu réactionnel et elle diminue avec le temps à un taux qui dépend des conditions d'entreposage. Les enzymes commerciales disponibles sont fournies avec un certificat d'analyse indiquant une gamme d'activité. Les trousseaux utilisés pour les essais enzymatiques de CAT et SOD sont fournis avec un contrôle positif qui sert à préparer une courbe étalon utilisée pour calculer l'activité des échantillons. Le contrôle de qualité est effectué à deux niveaux : (1) validation de la courbe étalon; et (2) comparaison de l'activité mesurée dans les échantillons avec des valeurs rapportées dans la documentation scientifique pour des organismes et tissus semblables.

### Catalase - Courbe standard

La courbe standard de la catalase est générée avec un extrait de formaldéhyde. La courbe standard utilisée pour nos analyses est présentée dans la figure ci-dessous. La courbe typique, fournie dans le livret de la trousse de Cayman Chemical, a une équation de  $y=0,01x - 0,0034$  ( $r^2=0.9987$ ).



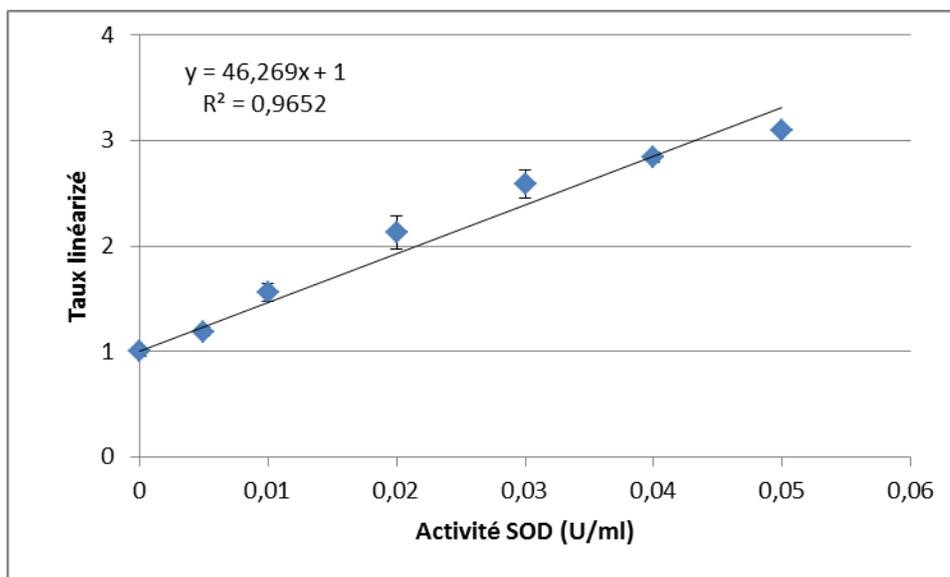
Courbe standard pour la catalase. Moyenne  $\pm$  écart type.

### Glutathion Peroxydase - Contrôle positif

Les trousseaux de GPx ne génèrent pas de courbe standard, mais sont fournis avec un contrôle négatif et un contrôle positif. La pente typique pour la GPx bovine utilisée dans le contrôle positif est de -0,0582. Au cours de nos analyses, nous avons obtenu une pente moyenne de -0,0442 avec un écart type de 0,007.

### Superoxyde dismutase - Courbe standard

Pour la superoxyde dismutase, la courbe standard est générée avec un extrait de SOD bovine. La courbe standard utilisée pour nos analyses est présentée dans la figure ci-après. La courbe typique, fournie dans le livret de la trousse de Cayman Chemical, a une équation de  $y=52,55x + 1,045$ .



Courbe standard de la SOD. Moyennes  $\pm$  écart type.

### Comparaison avec la littérature

Une revue de la documentation scientifique a été entreprise afin de comparer les activités enzymatiques observées dans nos études avec des valeurs comparables, produites par d'autres chercheurs. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Les valeurs pour la CAT et la SOD sont comparables à celles observées dans le muscle du méné à grosse tête et dans les larves de turbot (*Scophthalmus maximus*). Par contre, les valeurs pour la GPx sont inférieures d'un ordre de grandeur aux valeurs retrouvées dans la documentation scientifique. Plusieurs explications sont possibles pour comprendre ces différences. Premièrement, l'utilisation de larves entières a pour effet de diluer les activités versus un tissu seul puisqu'une bonne partie des tissus ne présentent pas des activités très élevées (ex. yeux, peau, os, sac vitellin). Des différences interspécifiques ou ontogéniques pourraient aussi expliquer la différence avec les activités mesurées dans d'autres larves de poissons.

Activités enzymatiques (U/mg prot) pour les enzymes catalase (CAT), glutathion peroxydase (GPx) et superoxyde dismutase (SOD) de cette étude et dans la littérature.

Espèce	Tissu	CAT	GPx	SOD	Référence
Gross tête	Larves	14 - 27	n.d.	0,26 - 1,66	Cette étude
Truite brune	Larves	5 - 23	0,64 - 2,88	0,99 - 4,13	Cette étude
Gross tête	Muscle	1 - 2	---	5,6 - 7,4	Lapointe <i>et coll.</i> 2011
Medaka	Foie	9 - 11	5 - 7	~ 70	Yang 2010
Turbot	Larves	1 - 35	8 - 55	2 - 10	Peters & Livingstone 1996
Poisson Rouge	Foie	5 - 16	20 - 30	9 - 11	Liu <i>et coll.</i> 2006

## ANNEXE 2 - DONNÉES BRUTES

Le tableau ci-dessous présente les résultats bruts pour les expositions des ménéés à grosse tête : Sem. - semaine d'exposition; %Mort = % de mortalité; %Malf = % de malformation; nd = valeur non déterminée.

Sem.	Pot	Sédiment	C10-C50 (mg/kg)	% Mort	% Malf.	CAT/Prot (U/mg prot)	SOD/Prot (U/mg prot)
2	11	DR42-56	8000	12	0,00	21,89	0,87
2	23	DR42-56	8000	20	0,00	34,69	0,08
2	38	DR42-56	8000	4	9,09	18,58	1,93
2	49	DR42-56	8000	38	3,45		
2	54	DR42-56	8000	50	4,55	30,69	1,60
1	1	DR57	3200	14	0,00	18,45	1,00
1	4	DR57	3200	64	0,00		
1	6	DR57	3200	2	0,00	10,89	0,55
1	8	DR57	3200	2	10,53	9,02	0,79
1	16	DR57	3200	2	2,38	18,27	0,77
1	13	STA6A	1500	2	3,23	16,25	0,88
1	24	STA6A	1500	40	10,00	20,99	0,32
1	30	STA6A	1500	76	33,33	16,60	0,97
1	35	STA6A	1500	6	4,55	20,99	0,32
1	47	STA6A	1500	16	15,38	16,60	0,97
2	6	DR58	1100	10	2,44	18,82	0,62
2	14	DR58	1100	14	4,35	20,37	0,43
2	16	DR58	1100	12	0,00	20,08	0,16
2	35	DR58	1100	6	7,32	16,88	2,22
2	52	DR58	1100	18	0,00	12,94	0,13
1	12	STA9A-9B	890	4	5,26	17,28	1,11
1	17	STA9A-9B	890	4	5,41	10,87	0,70
1	18	STA9A-9B	890	0	0,00	24,10	0,64
1	36	STA9A-9B	890	16	10,34	27,21	0,34
1	53	STA9A-9B	890	6	5,88	34,30	1,72
1	11	48-49	650	0	4,44	14,69	1,03
1	26	48-49	650	44	0,00		
1	31	48-49	650	26	20,00	14,11	
1	54	48-49	650	42	11,11	19,90	1,03
1	56	48-49	650	12	11,11	31,06	1,40
2	2	405-406	550	4	0,00	19,10	0,82
2	3	405-406	550	26	3,57	15,03	1,56
2	13	405-406	550	8	3,23	22,98	0,71
2	51	405-406	550	30	0,00	29,84	
2	59	405-406	550	22	0,00	17,22	

Sem.	Pot	Sédiment	C10-C50 (mg/kg)	% Mort	% Malf.	CAT/Prot (U/mg prot)	SOD/Prot (U/mg prot)
2	7	DR50	370	16	3,45	21,40	
2	10	DR50	370	20	2,78	13,41	0,55
2	18	DR50	370	10	9,30	21,09	0,62
2	42	DR50	370	12	2,78	15,40	1,04
2	56	DR50	370	28	3,23	16,59	1,69
1	9	DR49	260	0	19,05	8,30	1,14
1	14	DR49	260	0	3,92	11,79	0,58
1	19	DR49	260	6	0,00	23,51	1,27
1	23	DR49	260	4	14,29	18,12	
1	55	DR49	260	14	0,00	16,25	1,43
2	21	24	210	30	7,14	20,32	0,46
2	25	24	210	26	2,94	14,41	0,58
2	26	24	210	24	3,03	23,49	0,78
2	27	24	210	4	5,56	18,14	0,90
2	50	24	210	44	0,00	29,68	0,04
2	1	282	200	6	0,00	37,68	1,62
2	12	282	200	6	0,00	16,67	0,90
2	24	282	200	28	7,69	19,68	
2	37	282	200	10	3,33	29,48	2,05
2	45	282	200	12	0,00	19,71	2,07
1	2	388	200	62	0,00	34,11	1,49
1	25	388	200	28	38,89	34,11	1,49
1	37	388	200	10	6,25	19,15	0,56
1	38	388	200	18	5,26	19,15	0,56
1	42	388	200	0	3,57	18,39	1,49
2	15	469b (ZA-39)	140	10	6,67	25,02	
2	17	469b (ZA-39)	140	10	10,34	12,36	0,13
2	30	469b (ZA-39)	140	16	0,00	12,01	1,12
2	32	469b (ZA-39)	140	26	3,33	10,89	0,33
2	40	469b (ZA-39)	140	10	0,00	16,03	0,11
1	3	95	<41	0	10,53	18,69	1,13
1	29	95	<41	54	50,00		
1	41	95	<41	8	12,50	18,94	1,33
1	43	95	<41	16	15,38	19,15	0,80
1	44	95	<41	10	3,45	21,35	1,93
1	5	301-302	<36	58	0,00	14,50	0,90
1	34	301-302	<36	10	14,29	17,70	0,05
1	45	301-302	<36	6	5,56	37,74	1,49
1	46	301-302	<36	16	3,33	18,17	1,12
1	48	301-302	<36	16	6,25	14,50	0,90
2	19	121	<35	10	5,56	17,81	0,29

Sem.	Pot	Sédiment	C10-C50 (mg/kg)	% Mort	% Malf.	CAT/Prot (U/mg prot)	SOD/Prot (U/mg prot)
2	43	121	<35	18	0,00	8,73	0,78
2	44	121	<35	10	0,00		
2	53	121	<35	36	5,56		
2	55	121	<35	28	3,13	16,86	1,28
1	15	STA3A-3B	<35	14	12,50		
1	21	STA3A-3B	<35	16	26,67	22,74	0,66
1	39	STA3A-3B	<35	2	8,33		
1	40	STA3A-3B	<35	2	6,67		
1	50	STA3A-3B	<35	18	0,00	21,88	0,31
2	9	9	<31	16	0,00	20,91	0,37
2	28	9	<31	24	3,23	18,46	0,43
2	29	9	<31	12	2,86	15,56	0,38
2	36	9	<31	16	5,13	16,75	1,14
2	39	9	<31	8	0,00	18,70	0,25
2	5	394	<31	10	0,00	19,23	0,69
2	31	394	<31	12	0,00	17,74	
2	34	394	<31	12	0,00	17,62	1,53
2	41	394	<31	14	3,03	23,58	0,43
2	48	394	<31	20	0,00	14,72	1,20
1	10	STA4A-4B	<31	22	10,00	11,08	0,42
1	20	STA4A-4B	<31	6	9,68	17,53	1,21
1	32	STA4A-4B	<31	2	15,15	12,98	0,17
1	51	STA4A-4B	<31	18	3,13	17,02	0,55
1	57	STA4A-4B	<31	4	3,45	16,78	0,62
1	22	Sterile	nd	16	9,38	20,71	0,50
1	33	Sterile	nd	4	9,09	28,43	0,07
1	49	Sterile	nd	30	5,71		
1	58	Sterile	nd	10	7,50	31,76	0,30
1	59	Sterile	nd	24	3,85	15,20	0,20
2	8	Sterile	nd	6	0,00	18,22	0,26
2	20	Sterile	nd	14	31,58	17,12	0,08
2	46	Sterile	nd	10	6,25	22,07	2,02
2	47	Sterile	nd	28	0,00		
2	57	Sterile	nd	24	3,13	15,94	0,78
1	7	Vide	nd	24	0,00	6,31	0,18
1	27	Vide	nd	18	15,15	12,41	0,07
1	28	Vide	nd	6	6,45	15,30	0,17
1	52	Vide	nd	30	3,85	22,98	1,08
1	60	Vide	nd	6	0,00	22,98	1,08
2	4	Vide	nd	2	0,00	16,46	1,29
2	22	Vide	nd	12	2,78	21,63	0,77

Sem.	Pot	Sédiment	C10-C50 (mg/kg)	% Mort	% Malf.	CAT/Prot (U/mg prot)	SOD/Prot (U/mg prot)
2	33	Vide	nd	22	5,71	12,24	0,38
2	58	Vide	nd	12	2,56	12,51	1,13
2	60	Vide	nd	18	0,00	17,33	0,34

Le tableau ci-dessous présente les résultats bruts des expositions de la truite brune. Sed. = sédiment; %Mort = % de mortalité; Éclosion = temps d'éclosion moyen; nd = valeur non-déterminé

Pot	Séd.	C10-C50 (mg/kg)	Mort (%)	Éclosion	Scoliose (%)	Lordose (%)	GPx (U/mg prot)	CAT (U/mg prot)	SOD (U/mg prot)
1	DR57	3200	33,33	66,31	14,58	6,25	1,07	6,57	1,04
4	DR57	3200	27,66	66,29	19,15	8,51	1,52	6,77	1,20
6	DR57	3200	17,78	69,59	17,78	2,22	0,83	5,34	1,23
8	DR57	3200	16,67	67,93	8,33	10,42	1,16	7,73	1,31
16	DR57	3200	32,00	69,00	22,00	8,00	1,17	10,77	1,26
13	STA6A	1500	51,02	68,63	32,65	2,04	0,34	8,94	1,53
24	STA6A	1500	27,08	68,14	18,75	8,33	3,57	29,55	3,18
30	STA6A	1500	19,15	63,74	0,00	0,00	0,24	8,74	0,74
35	STA6A	1500	21,57	67,03	3,92	0,00	0,64	3,83	0,62
47	STA6A	1500	12,77	65,56	14,89	6,38	0,87	3,10	0,39
12	STA9A-9B	890	10,20	69,27	6,12	2,04	0,48	9,70	1,71
17	STA9A-9B	890	16,00	66,60	10,00	6,00	2,14	8,95	3,08
18	STA9A-9B	890	28,85	65,19	0,00	1,92	6,55	52,93	12,78
36	STA9A-9B	890	15,69	64,93	1,96	0,00	1,53	16,80	2,07
53	STA9A-9B	890	36,73	62,84	6,12	0,00	1,00	7,13	1,02
11	48-49	650	32,69	66,57	1,92	1,92			
26	48-49	650	17,65	66,29	5,88	7,84	0,25	8,36	0,88
31	48-49	650	16,00	66,12	0,00	10,00	7,86	131,69	6,92
54	48-49	650	17,65	63,52	1,96	0,00	4,61	44,13	4,22
56	48-49	650	16,07	64,21	12,50	0,00	2,41	17,95	1,89
9	DR49	260	28,00	66,61	6,00	2,00	1,19	4,52	0,82
14	DR49	260	16,33	65,54	0,00	0,00	1,55	15,73	3,58
19	DR49	260	14,00	66,63	6,00	2,00	1,23	7,17	2,57
23	DR49	260	16,33	67,56	8,16	14,29	2,69	16,39	2,85
55	DR49	260	36,00	63,31	0,00	2,00	0,74	6,81	1,04
2	388	200	13,73	63,70	0,00	1,96	1,29	9,04	1,23
25	388	200	16,67	65,20	0,00	0,00	0,48	5,92	0,34
37	388	200	12,50	64,38	0,00	2,08	1,87	14,14	1,69
38	388	200	26,53	64,58	4,08	0,00	1,85	11,54	2,15

Pot	Séd.	C10-C50 (mg/kg)	Mort (%)	Éclosion	Scoliose (%)	Lordose (%)	GPx (U/mg prot)	CAT (U/mg prot)	SOD (U/mg prot)
42	388	200	28,57	64,00	10,20	4,08	0,66	6,19	0,35
3	95	<41	23,64	63,57	0,00	3,64	0,92	6,07	1,52
29	95	<41	10,42	63,79	2,08	0,00	0,22	7,99	1,27
41	95	<41	24,44	64,18	4,44	2,22	0,80	8,35	0,42
43	95	<41	14,00	70,28	0,00	2,00	0,25	14,20	0,78
44	95	<41	39,58	65,10	2,08	2,08	1,05	14,05	1,00
5	301-302	<36	18,75	63,62	0,00	0,00	3,08	22,06	3,86
34	301-302	<36	35,29	65,23	0,00	2,94	2,95	26,81	4,82
45	301-302	<36	30,61	65,35	0,00	0,00	0,70	8,36	0,19
46	301-302	<36	26,53	63,36	0,00	0,00	5,81	23,48	1,19
48	301-302	<36	24,49	63,81	2,04	8,16	1,88	6,98	1,10
15	STA3A-3B	<35	4,00	67,02	0,00	8,00	0,82	6,98	1,50
21	STA3A-3B	<35	36,73	66,06	0,00	6,12	3,79	28,21	5,36
39	STA3A-3B	<35	25,00	64,83	6,25	2,08	0,97	7,02	0,83
40	STA3A-3B	<35	25,00	64,06	4,17	4,17	0,83	7,91	1,12
50	STA3A-3B	<35	10,20	61,55	0,00	0,00	3,05	8,98	2,04
10	STA4A-4B	<31	27,45	68,35	3,92	0,00	3,14	30,87	6,02
20	STA4A-4B	<31	26,00	65,27	0,00	6,00	2,41	15,67	2,75
32	STA4A-4B	<31	44,90	67,67	8,16	0,00	1,09	13,22	1,69
51	STA4A-4B	<31	22,92	62,43	2,08	0,00	1,57	8,35	1,80
57	STA4A-4B	<31	56,00	62,68	0,00	0,00	1,03	6,04	0,75
22	Sterile	nd	17,31	67,79	0,00	1,92	3,66	61,39	8,28
33	Sterile	nd	22,92	63,92	6,25	8,33	1,35	6,80	0,74
49	Sterile	nd	25,00	63,25	0,00	2,08	1,68	5,18	0,91
58	Sterile	nd	12,24	62,19	6,12	0,00	1,20	7,09	0,58
59	Sterile	nd	26,53	63,11	6,12	0,00	2,80	10,91	2,17
7	Vide	nd	17,65	67,40	3,92	3,92	1,09	8,02	1,83
27	Vide	nd	36,00	68,38	10,00	8,00	0,22	8,79	1,43
28	Vide	nd	30,61	70,12	10,20	0,00	0,27	5,89	1,20
52	Vide	nd	30,00	65,97	8,00	0,00	1,00	5,58	0,84
60	Vide	nd	27,08	66,80	4,17	4,17	1,98	12,69	1,57