

**STATION MARINE
de
WIMEREUX**

EFFET DE LA POLLUTION METALLIQUE
LITTORALE :
EFFETS PATHOLOGIQUES ET MECANISMES
DE DETOXICATION CHEZ DES
POISSONS MARINS D'INTERET COMMERCIAL

RAPPORT D'ACTIVITES
AU 1ER JUIN 1989



F1

EFFET DE LA POLLUTION METALLIQUE
LITTORALE :
EFFETS PATHOLOGIQUES ET MECANISMES
DE DETOXICATION CHEZ DES
POISSONS MARINS D'INTERET COMMERCIAL

RAPPORT D'ACTIVITES
AU 1ER JUIN 1989

11 p.

SABINE DUQUESNE *USI Lille / Stat. Mar. Wimereux.*

Bourse IFREMER - Région N-P.C.

IFREMER-DERO/EL



0EL03191

1 - INTRODUCTION

Le but de cette étude (constituant la première partie d'un projet de recherche) est de démontrer si différentes espèces de poissons marins soumis à une pollution métallique littorale, assurent ou non leur détoxification par des métallothionéines (MTH). En effet, la présence de ce type de protéines, qui complexe les métaux, n'a été observée que chez quelques espèces de poissons marins ; de plus, dans la plupart des cas, ces poissons ont été intoxiqués au laboratoire (BOUQUEGNEAU et al., 1975 ; OVERNELL et al., 1985).

. Le littoral Nord/Pas-de-Calais (essentiellement les eaux côtières de Calais à Dunkerque) constitue une zone propice à l'étude des effets de la pollution métallique sur les organismes, étant donné la variété des rejets polluants métalliques.

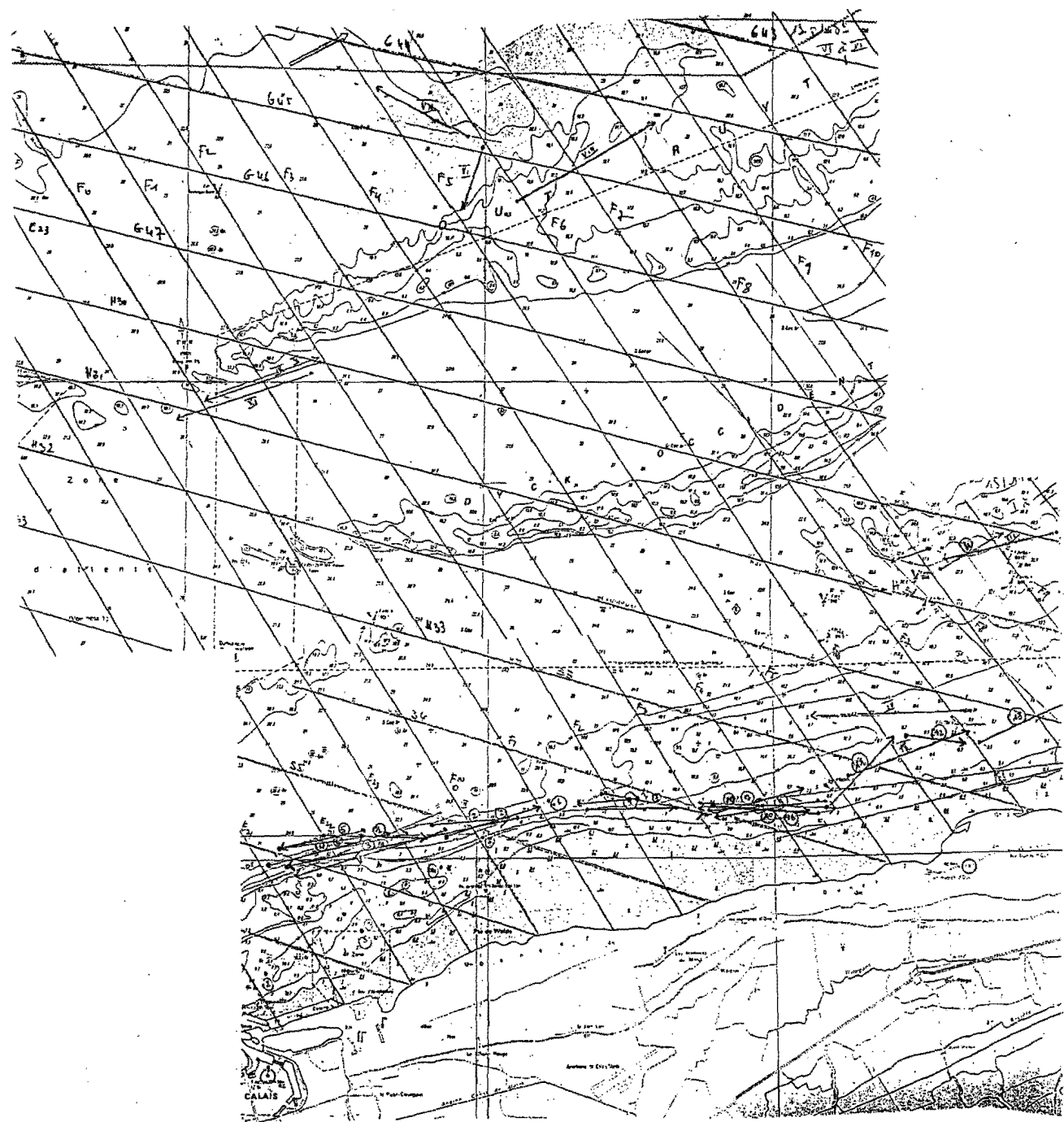
. Les travaux présentés ici portent donc sur la recherche de métallothionéines élaborées par quatre espèces de poissons, vivant dans leur milieu naturel.

Trois poissons : la morue, la sole et la limande, viennent dans la zone contaminée du littoral pour se reproduire en hiver et regagnent ensuite le large.

La limande-sole est une espèce qui ne vient jamais à la côte et qui ne devrait donc pas, théoriquement, être affectée par la contamination littorale.

. L'objectif des études réalisées jusqu'à maintenant est de rechercher la présence de protéines hépatiques complexant les métaux (le foie étant l'organe essentiel de synthèse des MTH).

Cette recherche est effectuée chez des poissons capturés en début et en fin de séjour dans les eaux "contaminées" du littoral. On considère que la limande-sole, capturée au large, joue le rôle d'espèce-témoin. Si des variations saisonnières du taux de métallothionéines hépatiques pouvaient être mises en évidence chez les 3 premières espèces de poissons, alors peut-être pourrait-on démontrer que les MTH peuvent servir d'indicateur de pollution. Les travaux, jusqu'à aujourd'hui, ont été réalisés dans ce but, mais il est impossible de donner dès à présent des résultats significatifs. En effet, pour diverses raisons justifiées dans ce rapport, les récoltes d'échantillons prélevés en fin d'hiver viennent d'être effectuées et les analyses n'ont pu être déjà réalisées.



Carte marine: Calais- Dunkerque(zones de chalutage).

2 - MATERIELS ET METHODES

2.1. Les prélèvements

2.1.1. Organisation

Les poissons sont prélevés au chalut de fond à ouverture semi-pélagique à bord du navire SEPIA II du CNRS rattaché à la Station Marine de Wimereux. Dès qu'ils sont pêchés, les poissons sont disséqués et les organes (foie, rein, rate, branchie, muscle, gonade) sont congelés à - 10°C à bord puis transférés à - 20°C au laboratoire.

Les prélèvements devaient être effectués en début et en fin d'hiver. Malheureusement, les mauvaises conditions météo ont annulé nos sorties entre le 1er février 89 et le 18 avril 89. Par conséquent, nos échantillons correspondant à la fin de l'hiver ont été pêchés les 18 avril, 10, 11 et 16 mai 1989, ce qui a retardé les analyses de fin d'hiver.

2.1.2. Sites

L'essentiel des rejets de métaux lourds provient de Calais. Du fait de l'hydrodynamisme de la Mer du Nord, la partie du littoral la plus concernée par la pollution se situe entre Calais et Dunkerque. C'est dans cette zone que seront effectués les prélèvements, à la côte ou au large (cf. carte ci-contre).

2.1.3. Description des espèces

. La morue, appartenant à la famille des Gadidés, est un poisson nectobenthique carnivore dont le régime alimentaire est constitué principalement de crevettes et de vers. A l'âge adulte, les grandes morues se nourrissent de poissons plus petits, tels les carrelets et, à ce titre, peuvent être qualifiés de consommateurs tertiaires.

. La limande est un poisson plat benthique, carnivore. En Mer du Nord, les individus vivent au large sans dépasser les fonds de 100 mètres. Ils se rapprochent des côtes pour la reproduction (février à avril) puis la ponte accomplie, ils repartent vers le large. En Mer du Nord, la biomasse de la limande est élevée et égale à environ à 14 fois celle de la sole (YANG, 1982, cité par TASSEL, 1988).

. La sole est un soleidé, chalutée près de la côte, elle nous a semblé peu abondante du moins lors des sorties du début d'hiver en raison des chalutages effectués de jour avec un chalut dont le bourrelet n'avait

pas le chaînage suffisant pour prélever ces poissons dans le sédiment. Les jeunes vivent en zone littorale sur les plages sableuses et en grandissant, s'enfoncent entre 10 et 70 mètres. Nocture, elle s'ensable généralement le jour. Les femelles sont plus grandes que les mâles du même âge (comme la limande). Elles se nourrissent presque exclusivement d'Ophélie, de Néréides et de puces de mer. La saison de reproduction dépend des conditions hydrologiques : en février en Méditerranée, en mars-avril en Manche et en été en Mer du Nord.

. La limande-sole, pleuronectidé comme la limande, ne vient pas à la côte et devrait nous servir d'espèce-témoin (cf. introduction). Cette espèce recherche les fonds durs, les graviers et les roches. On la trouve de la Norvège à la Manche où elle devient rare.

2.2. Détermination de l'âge des poissons

La taille n'étant pas un paramètre suffisamment précis pour déterminer l'âge d'un poisson, les têtes des poissons disséqués sont rapportées au laboratoire afin d'y prélever les otolithes.

Au nombre de 3 paires les otolithes sont contenues dans l'oreille interne. Chez beaucoup d'espèces la Sagitta est la plus grande. Elle sert donc à déterminer l'âge grâce à l'alternance de zones transparentes et opaques liée au métabolisme du calcium.

Les otolithes ont été transférées au laboratoire de Monsieur A. SOUPLÉ à IFREMER-Boulogne afin d'y être "lues" : les otolithes de morues et de soles sont coupées transversalement, montées sur lames et le nombre d'anneaux translucides et opaques sont comptés à la loupe binoculaire. Les otolithes de limande et limande-sole sont observées directement à la loupe binoculaire.

2.3. Méthode de purification des métallothionéines

Les méthodes de purification de ces protéines sont basées essentiellement sur des techniques d'extraction tissulaire par homogénéisation et centrifugation suivie par une chromatographie de filtration sur gel.

2.3.1. Extraction tissulaire

Les échantillons de foie sont homogénéisés au moyen d'un Ultra-Turrax dans 2 volumes de sucrose 0,5 M. Les homogénats sont ensuite

centrifugés à 37000 g pendant 3 heures à 4°C. Surnageant, culot, couche lipidique sont séparés puis congelés à - 20°C. Le métal total sera dosé ultérieurement dans ces fractions. Les MTH, étant des protéines cytoplasmiques, sont contenues dans la fraction soluble. Une partie du surnageant (environ 2 ml) est donc, soit chromatographié immédiatement, soit mise en attente au congélateur.

2.3.2. Chromatographie de filtration sur gel

. La filtration sur tamis moléculaire permet de séparer les constituants d'un mélange selon leur poids moléculaire. Cette filtration s'effectue, pour les protéines métalliques, selon les conditions définies par SUZUKI en 1983, cité par DELVAL, 1984, c'est-à-dire :

- aucune absorbance des métaux sur la colonne
- pas de ligands, pour les différents métaux étudiés, au niveau des tampons.
- pH neutre ou légèrement basique, pour éviter la dissociation des métaux
- la composition de l'éluant doit être constante dans l'élution et la détection.

. Nous utilisons du gel Sephadex G 75. Ce type de gel exclut les macromolécules de PM > 70000 d et permet une séparation maximale des protéines de PM compris entre 70000 et 3000 d.

2 types de colonnes sont utilisables au laboratoire : 95 x 2,6 cm et 40 x 2,6 cm.

Nous avons opté pour la première qui sépare davantage les molécules de différentes classes de PM. Par contre, ce type de colonne présente l'inconvénient d'être lente pour filtrer les surnageants : 2,5 jours pour filtrer un échantillon suivi de 2 jours de rinçage, soit 4,5 jours pour un échantillon.

Avant leur utilisation, les colonnes sont lavées puis rincées à l'acide chlorhydrique 1 N puis à l'eau bidistillée. Les gels gonflés dans de l'eau bidistillée et dégazée à la pompe à vide, sont ensuite déposés dans les colonnes puis sédimentent par gravité et enfin sont stabilisés par passage du tampon pendant au moins 3 jours.

Le tampon utilisé est du formiate d'ammonium (pH proche de celui du

milieu intérieur) 0,01 M à pH = 7,4. Le tampon Tris HCl 0,01 M, pH = 8,6, fréquemment utilisé par les auteurs a été testé antérieurement au laboratoire par DELVAL C. (DELVAL, 1984) mais présentait l'inconvénient de n'être pas volatil lors des lyophilisations ; ne s'éliminant pas facilement, il nécessitait une étape supplémentaire de dessalage.

. Le débit du tampon à travers la colonne est réglé par une pompe péristaltique (Micro Perpex Pump LKB 2132) à 12 ml/heure.

. La sortie de la colonne est reliée à un détecteur d'absorption U.V (Uvicord S, LKB 2138) fonctionnant à 254 nm sur une échelle de DO = 0,2. Il est lui-même relié d'une part à un collecteur de fractions (réglé à 30 minutes par fraction, c'est-à-dire à environ 6 ml par fraction), d'autre part à un enregistreur.

Cet ensemble (excepté l'enregistreur) placé dans une armoire réfrigérée à 4°C. La colonne a été calibrée par des standards et son homogénéité vérifiée par un échantillon de 2 ml de Bleu Dextran enrichi en sucrose.

. 3 pics d'absorption sont détectés par l'Uvicord et visibles sur les profils d'éluion. On sait, suite à la calibration, que les fractions constituant le 2ème pic (appelé pic II) contiennent des protéines d'un PM égal environ à 12000 d. Les éventuelles MTH sont donc situées dans ces fractions.

2.3.3. Dosage des métaux

Les dosages de Cu, Zn, Cr et Mn sont effectués à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique (modèle Perkin-Elmer 1100) équipé d'une flamme air-acétylène. Les fractions obtenues par chromatographie sont mesurées directement sans traitement préalable.

2.3.4. Mesure de l'absorption dans l'U.V des protéines isolées par chromatographie

Afin de localiser les MTH dans le pic II, les fractions correspondant au pic II sont recueillies à la sortie de la filtration sur gel. Elles subissent ensuite divers traitements et le passage au spectrophotomètre d'absorption U.V permet de visualiser les modifications dans leur absorption relatives à chaque traitement.

Chacune de ces fractions est d'abord passée au spectrophotomètre d'absorption U.V (Beckman, modèle 24) balayant sur un spectre de 200 à

300 nm.

Ensuite, on sature 1 ml de chaque fraction avec du Cd (soit un ajout de 20 μ l d'une solution Cd à 200 μ g/ml, c'est-à-dire 4 μ g de Cd ; le produit initial étant du $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$). Cette fraction est à nouveau passée au spectrophotomètre de 200 à 300 nm.

Enfin, l'échantillon est soumis à une acidification à $\text{pH} \approx 2$ pour libérer les métaux des MTH (soit un ajout de 12 μ l d'HCl 1 N au 1 ml d'échantillon saturé préalablement par le Cd) et balayé une dernière fois de 200 à 300 nm.

2.3.5. Lyophilisation

Les fractions, obtenues par chromatographie de filtration sur gel, du pic II sont ensuite lyophilisées afin d'être stockées dans l'attente des étapes ultérieures de séparation et de caractérisation des MTH.

3 - RESULTATS

Tout d'abord, rappelons que les résultats présentés ici correspondent aux prélèvements effectués en début d'hiver (temps T0). Les poissons devraient théoriquement ne contenir qu'une contamination résiduelle, voire nulle.

Aucun résultat concernant la sole n'apparaît dans ce rapport car les échantillons n'ont pas encore été analysés.

Les profils d'élution obtenus après filtration sur gel Sephadex G 75 montrent 3 pics d'absorption à 254 nm :

- . le 1er pic correspond au volume d'élution des protéines de PM supérieur à 60 000 daltons,

- . le 2ème à des protéines de PM comprises entre 10 000 et 13 000 d,

- . Le 3ème pic révèle les petites protéines (PM inférieur à 5 000 d) : il n'est pas représenté sur les figures n'étant pas intéressant pour cette étude ; en effet, les analyses ont montré que ce pic est dépourvu de métaux.

Le four du spectrophotomètre d'absorption atomique n'est pas encore utilisable. Les éléments Cr et Mn, dosés en flamme dans certaines chromatographies n'ont pu être détectés.

3.1. Concentrations de Cu et de Zn des fractions correspondant au pic II des profils d'élution

Profils d'elutions sur Sephadex G75 de fractions solubles de foies de poissons.

Figure 1: Morue
44 cm² 2 ans- femelle.

— absorbance à 254 nm
— concentration en Zn
- - - concentration en Cu

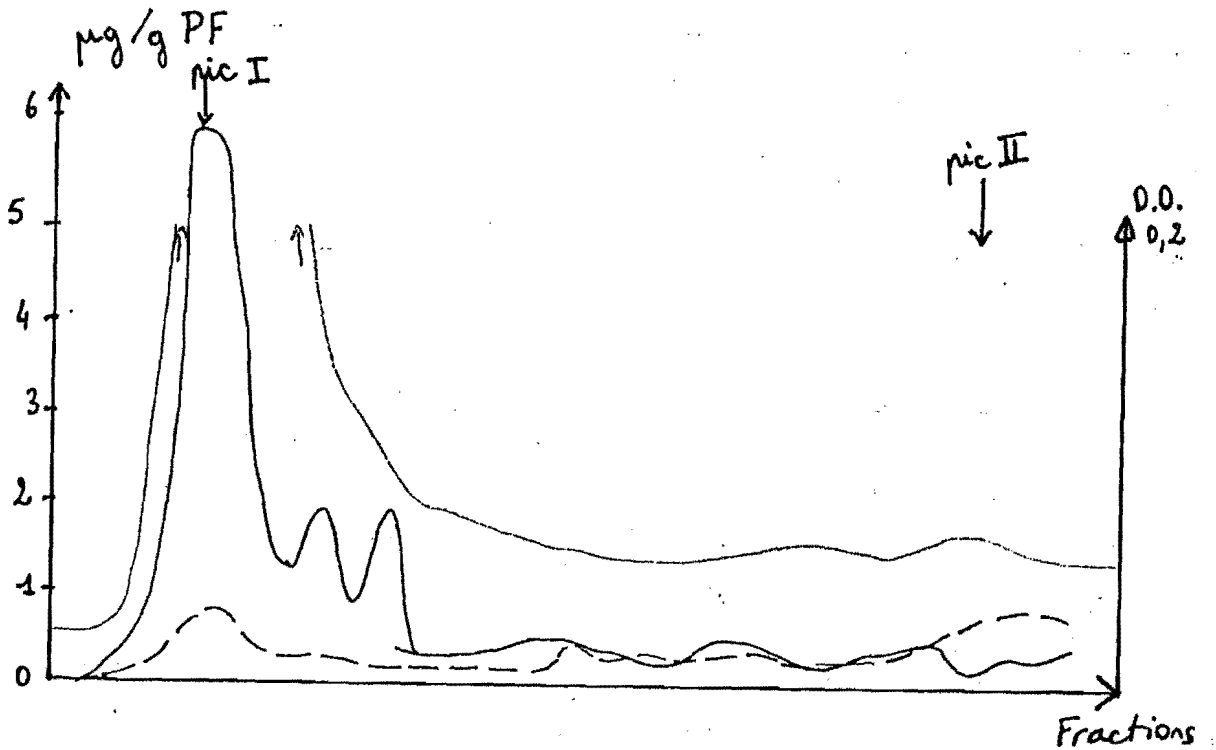
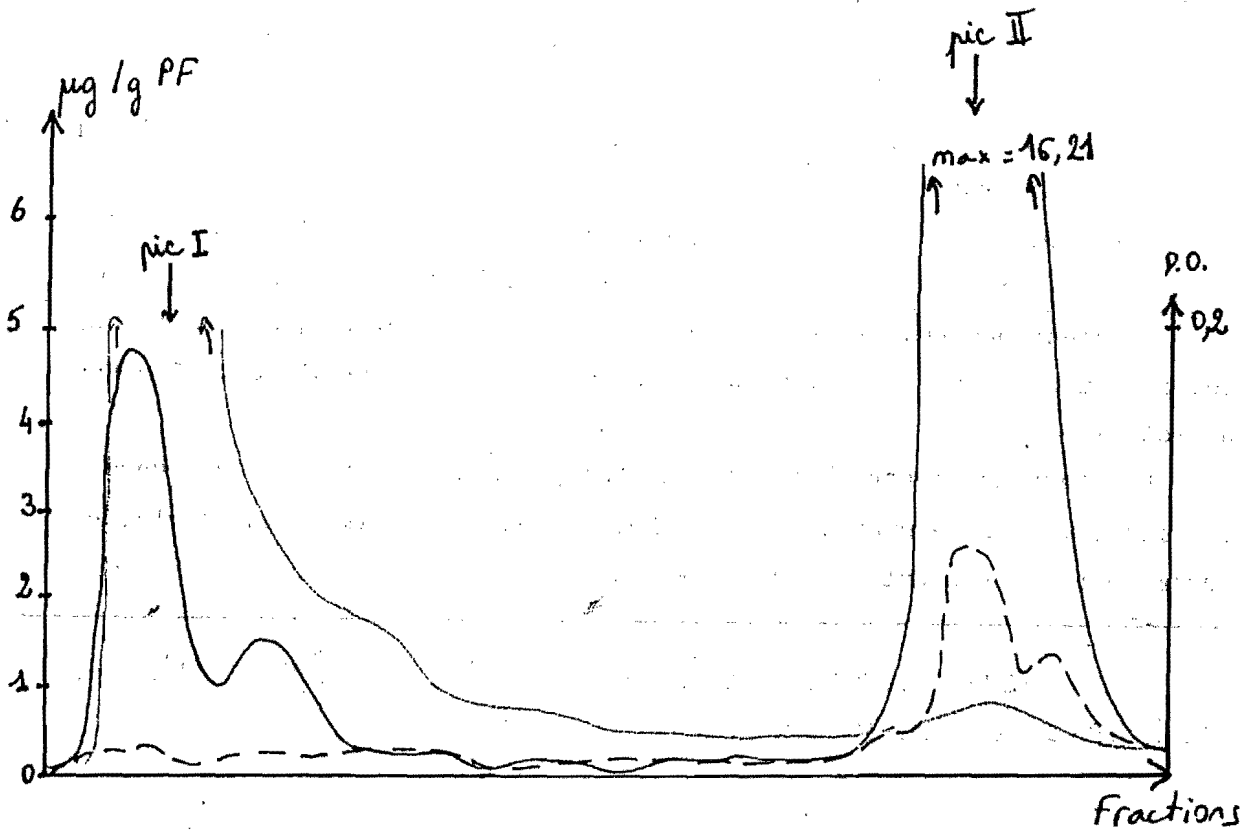


Figure 2: Limande-sole
29 cm- 3ans- femelle.



3.1.1. Concentrations métalliques chez les différentes espèces

Chez la morue (9 individus analysés) les fractions correspondant au pic II des profils d'éluion ne contiennent pas de Cu ni de Zn en quantité importante (cf. fig. 1).

Par contre, chez la limande et la limande-sole, ces teneurs sont beaucoup plus élevées mais très variables d'un individu à l'autre (chez les 5 limande-soles considérées, Zn varie de 1,18 à 16,21 $\mu\text{g/g}$ PF ; chez les 9 limandes considérées, Cu varie de 0,41 à 6,27 $\mu\text{g/g}$ PF).

On constate également que le Zn est généralement plus abondant que le Cu dans ces fractions correspondant au pic II.

3.1.2. Influence de l'âge

Les morues sont toutes âgées de 2 ans ; leur âge n'intervient donc pas dans l'interprétation des résultats

Chez la limande, certains individus du même âge, présentent des profils de teneurs métalliques très différentes chez la limande-sole, on peut faire la même observation : les teneurs maximales en Zn dans les fractions du pic varient de 2,90 $\mu\text{g/g}$ PF à 16,2 $\mu\text{g/g}$ chez 2 poissons du même âge (Fig. 2 et 3).

Toutefois, le nombre d'individus du même âge et de la même espèce étant restreint, on ne peut donc tirer actuellement avec ces résultats préliminaires, aucune conclusion quant à l'influence de l'âge sur les teneurs métalliques des fractions.

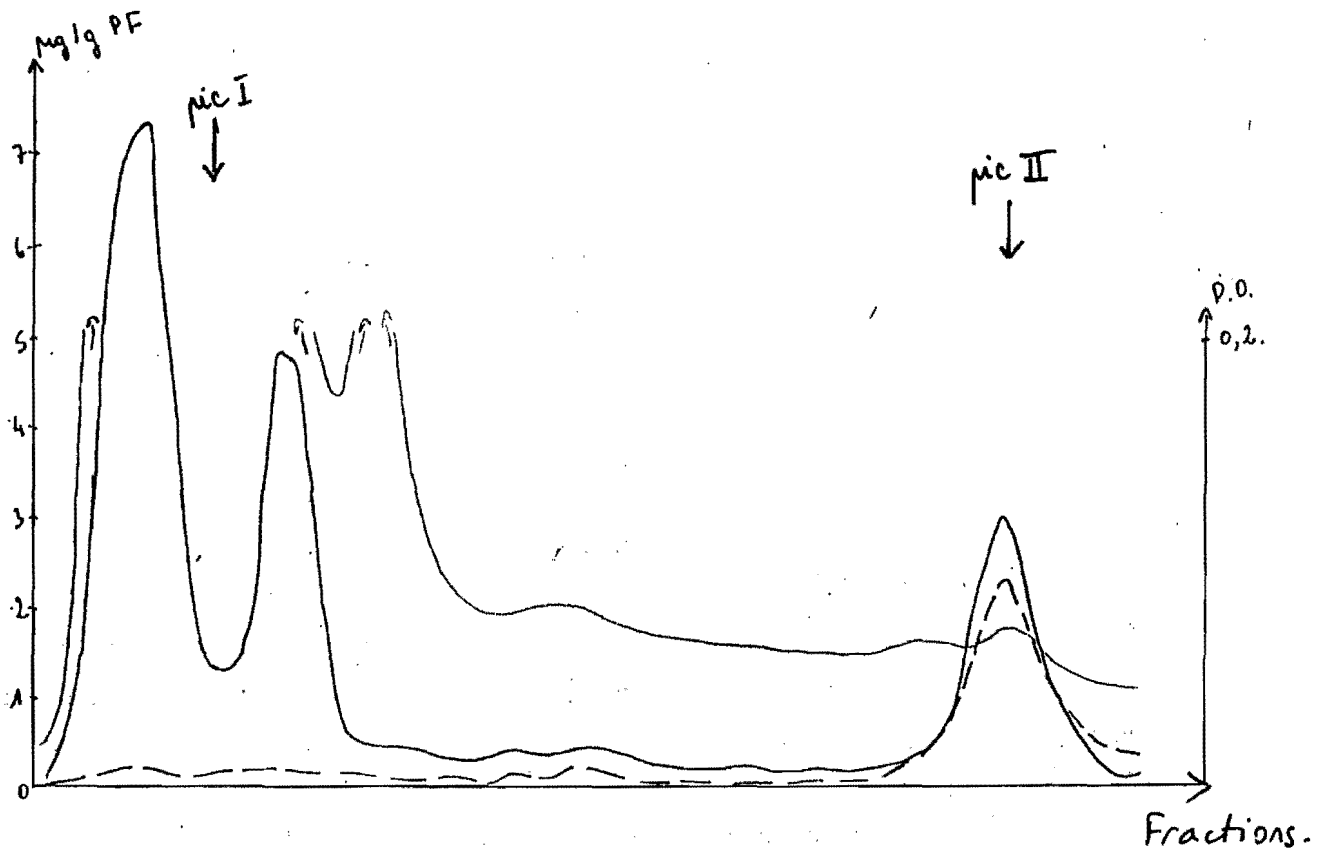
3.1.3. Influence du sexe

Les limandes et limande-soles dont les sexes ont été déterminés sont toutes des femelles : l'influence du sexe n'intervient donc pas dans l'interprétation des résultats. Toutefois, on peut noter que ces femelles ont des teneurs de Zn et Cu très variables dans ces fractions du pic II chez la limande-sole, la teneur en Zn est multipliée par un facteur 3 d'un individu à l'autre, celle du Cu est multipliée par 2).

Chez la morue, les variations des teneurs en Cu et Zn des fractions du pic II entre individus du même sexe sont aussi importantes que les variations entre mâles et femelles.

Avec les résultats dont nous disposons pour le moment, aucune tendance selon le sexe n'est donc observable chez ces 3 espèces.

Figure 3: Limande-sole
26 cm- 3 ans
sexe indéterminé.



Evolution du rapport d'absorbance: $R = \text{abs.250nm} / \text{abs.280nm}$
dans les fractions du pic II du profil d'élution.

Figure 4: Morue

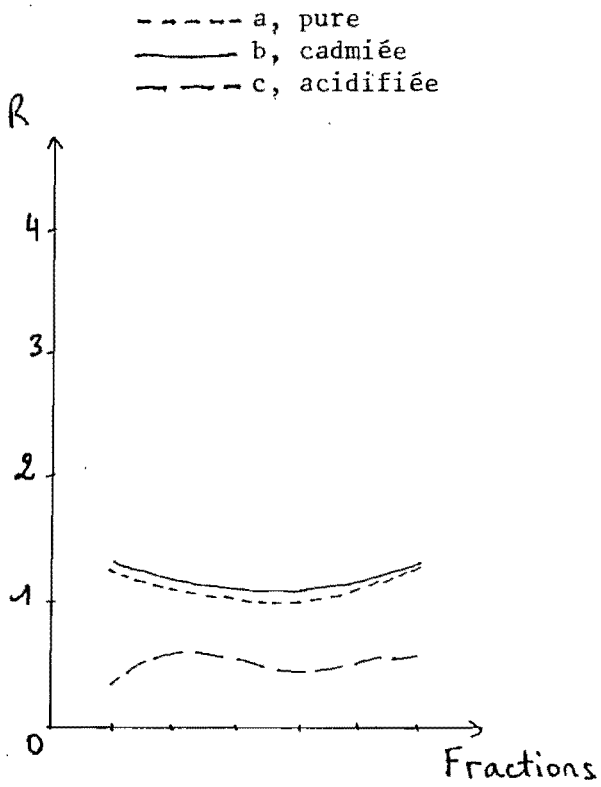


Figure 5: Limande-sole

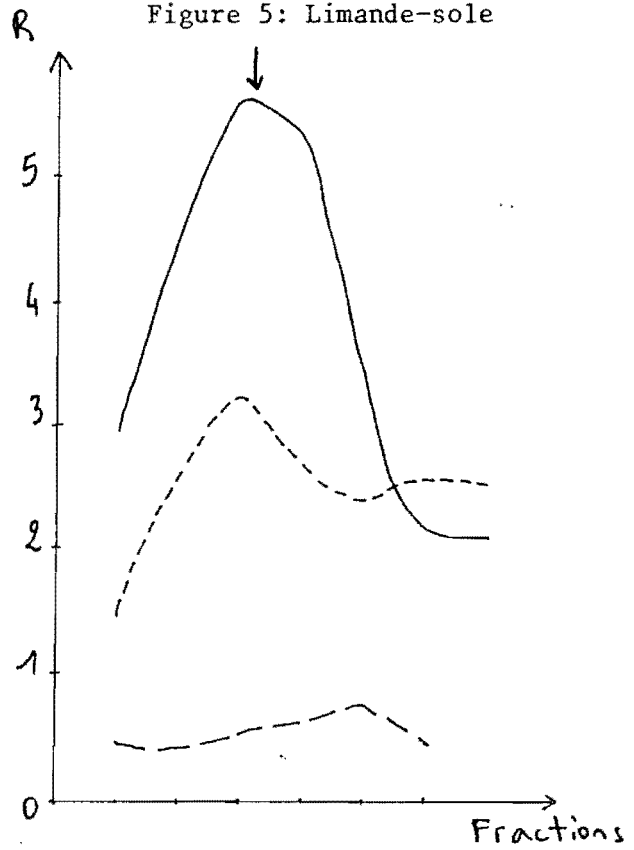
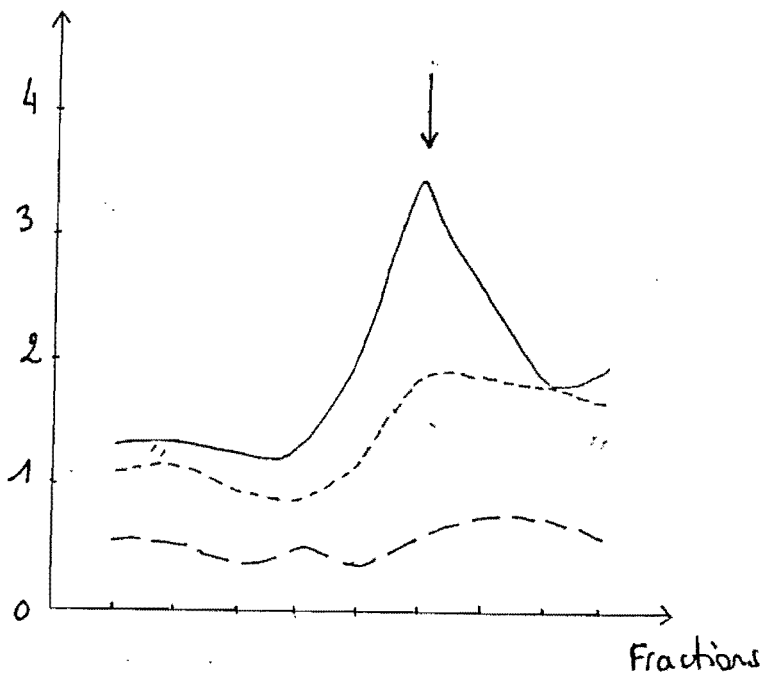


Figure 6: Limande



3.2. Localisation des métallothionéines dans le pic II des profils d'élu-tion

Les fractions des pics II de diverses chromatographies ont été passées au spectrophotomètres U.V. Les résultats obtenus sont les suivants :

- chez la morue, les courbes b représentant les rapports $R = \text{Absorbance à } 250 \text{ nm} / \text{Absorbance à } 280 \text{ nm}$ des échantillons saturés en Cd sont peu décalées par rapport aux courbes a représentant les rapports R des échantillons purs. Ces 2 courbes évoluent de la même façon (Fig. 4).

- chez la limande et la limande-sole, les rapports R augmentent de façon significative pour certaines fractions après l'ajout de Cd. Par conséquent, les 2 courbes (a et b) sont décalées (Fig. 5 et 6).

- les courbes représentant le rapport $R = A_{250} / A_{280}$ des fractions acidifiées (courbes C) sont toujours situées dans la zone où $R < 1$. Leur évolution est considérée comme non significative.

4 - DISCUSSION

Les résultats concernant les teneurs métalliques des fractions élevées montrent qu'il existe des variations significatives entre les profils des différentes espèces. Contrairement à la limande et à la limande-sole, la morue n'a pratiquement pas de Cu ni de Zn dans les fractions du pic II du profil d'élu-tion.

Le Cu et le Zn sont 2 éléments faisant partie des constituants cellulaires. Les MTH complexent ces métaux et les libèrent selon les besoins. Elles assurent ainsi l'homéostasie cellulaire. C'est pourquoi ces 2 éléments ont été dosés systématiquement. Le Cr et le Mn ne sont pas détectables au S.A.A. équipé d'une flamme. Ultérieurement ces métaux et d'autres éventuellement pourront être dosés si certains s'avèrent être intéressants. En effet, nous devons recevoir de l'Institut Pasteur de Lille (Contrat commun Convention IFREMER-REGION) des résultats d'analyses concernant 12 métaux contenus dans différents organes (branchie, foie, rate, reins, muscle, contenu gastrique) des 4 espèces de poissons étudiés ici.

Sur nos profils d'élu-tion, il est clair que la quantité totale de Zn est supérieure à celle du Cu. Cette observation a été également faite par DELVAL en 1984, qui a dosé le métal total dans le foie de Flet. Ce type de dosage (métal total) sera effectué prochainement dans notre

laboratoire par minéralisation des foies des poissons présentés ici, afin d'établir s'il existe ou non une relation entre le métal total et la concentration en MTH dans cet organe. En effet, selon ADDISON, en 1988, il n'y a pas de relation ; par contre, selon OVERNELL et al. en 1987, cette relation existe pour le Zn.

D'après nos résultats, il est impossible de détecter si l'âge a une influence ou non sur la variabilité des teneurs en Zn et en Cu des fractions du pic II entre les individus.

Chez la morue, on n'observe aucune relation particulière entre les teneurs métalliques des différentes fractions et le sexe. Cette constatation peut être faite également pour les limandes et limande-soles étant donné la disparité relativement importante des résultats obtenus à partir des femelles. A ce sujet, il faut signaler que OVERNELL et al., en 1986 ont réalisé une étude sur le carrelet et ont tiré les conclusions suivantes : la reproduction est le facteur saisonnier affectant le plus les concentrations de Zn et de MTH contenues dans le foie de femelles. Ces deux concentrations sont les plus élevées lors des premiers stades de maturation. C'est à ce moment, que la variabilité individuelle des concentrations de MTH est également la plus élevée. Par contre, chez les mâles, les niveaux de concentrations de MTH et de Zn ne sont pas liées au développement des gonades.

Les limandes femelles étudiées ici étaient en début de maturation au moment de leur capture. Il est donc probable que les analyses au "temps t0" soient perturbées par le phénomène "reproduction" et que l'évolution des teneurs métalliques au cours de l'hiver ne soit pas attribuable qu'au simple facteur "contamination".

Les fractions correspondant au pic II du profil d'élution ont été passées au spectrophotomètre d'absorption U.V. en 3 étapes : tout d'abord pures, ensuite saturées en Cd, enfin acidifiées. En effet, les MTH présentent la caractéristique d'absorber à 250 nm lorsqu'elles sont liées au Cd. D'autre part, elles ont une absorption minimale à 280 nm car elles ne contiennent pas de résidus aromatiques. Les forces de liaison des différents métaux liés aux MTH varient selon les éléments : $Zn < Cd < Cu$. Ainsi considère-t-on que le Cd ajouté à la fraction prend la place du Zn. L'augmentation significative du rapport d'absorbance : A_{250}/A_{280} entre l'échantillon pur et l'échantillon saturé impliquerait donc que la fraction contient un taux non négligeable de MTH. L'acidification à

pH \approx 2 libère les métaux des MTH et entraîne une diminution de l'absorbance à 250 nm. Cette réversibilité (augmentation puis diminution de l'absorbance à 250 nm suite à la saturation par le Cd puis à l'acidification) est caractéristique des MTH (KAY et al., 1986).

Les fractions provenant des échantillons de foie de limandes et de limande-soles donnent des résultats plus significatifs que ceux provenant de la morue (courbes a et b moins dissociées chez la morue). Le rapport R augmente de façon significative, chez les 2 pleuronectidés, pour 1 ou 2 voire 3 fractions du pic II. C'est surtout dans ces fractions que se situerait le pool de MTH. Ces fractions reportées sur le profil d'élution initial correspondent aux fractions contenant le maxima de Cu et de Zn et aux fractions situées juste après les maxima.

Ces résultats correspondent avec ceux obtenus par l'équipe A. RICHARD ayant localisé les MTH du foie de flet au sommet et sur la pente descendante du pic II du profil d'élution de la chromatographie. Cette localisation a été définie suite à une chromatographie de filtration sur gel Sephadex G 75 et à une HPLC. Elle a été déterminée par analyse d'acides aminés, et parallèlement par électrophorèse.

Les limandes et les limande-soles possèdent donc en début d'hiver un pool de MTH. Il est possible que ce pool ne serve que de réservoir au Cu et au Zn et ne soit pas lié à une contamination métallique de l'environnement. Il est possible également que ce pool soit le reflet d'une contamination. La variabilité de ces teneurs sera donc surveillée notamment chez la limande-sole pour vérifier si cette contamination initiale n'est que "résiduelle" et reste stable dans le temps. Dans le cas contraire, le choix de la limande-sole en tant qu'espèce-témoin ne serait pas justifié. L'analyse des échantillons prélevés en fin d'hiver éclaircira ce point.

Le fait que la morue soit le poisson le moins pourvu de métaux associés aux MTH peut s'expliquer par son mode de vie. Les 2 pleuronectidés sont des poissons benthiques et, par conséquent, ils sont plus exposés que la morue à un environnement chargé en éléments métalliques.

5 - CONCLUSIONS - PERSPECTIVES

Les analyses des poissons récoltés en début d'hiver ont amené les résultats suivants :

Les foies de morues contiennent très peu de Cu et de Zn au niveau des molécules dont le poids moléculaire est compris entre 10 000 dalton et 13 000 dalton (c'est dans cette gamme de PM que se situent les MTH).

A l'inverse, les foies de limande et de limande-sole sont largement pourvus de Cu et Zn à ce niveau.

Parallèlement, la présence de MTH a pu être décelée dans certaines fractions contenant des protéines dont le PM varie de 10 000 à 13 000 d chez les 2 pleuronectidés.

Par contre, les MTH n'ont pu être détectées chez la morue, probablement en raison de leur faible quantité ou de leur absence. Cette observation concorde avec le fait que les teneurs en Cu et Zn de cette espèce soient très faibles puisque le rôle initial des MTH est de lier ces métaux.

Les travaux prévus et à mettre en oeuvre sont les suivants :

- effectuer le même type d'analyse que précédemment pour les poissons récoltés en fin d'hiver,
- visualiser s'il existe ou non des variations saisonnières au niveau des concentrations de métaux et de MTH, ceci en tenant compte essentiellement du paramètre "sexe" pouvant interférer,
- effectuer un bilan comparatif entre les teneurs globales en métaux de différents organes de poissons et les quantités de MTH.

On localisera pour cela, de façon plus précise les MTH grâce à la mise en oeuvre de techniques autres que celles utilisées jusqu'à maintenant c'est-à-dire HPLC, analyse d'A.A., électrophorèse.

Dans un avenir très proche, nous testerons chez nos 4 espèces de poissons, l'efficacité de l'Anticorps anti-MTH polyclonal de flet élaboré récemment par l'équipe A. RICHARD.

Il restera à mettre au point la technique de dosage des MTH par ELISA et RIA pour quantifier rapidement ces protéines chez nos poissons.

CONTRAT RICHARD campagne d'été juillet 1989

POISSON	ORGANE	mg/kg de poids sec											
		Cu	Pb	Zn	Cd	Hg	Mn	Cr	Ni	Fe	Al	Ti	V
MORUE 1,00 m	muscle	1,5	0,30	23	<0,01	0,59	1,8	<0,20	<0,20	36	8,8	0,88	<0,2
	branchies	5,0	0,80	93	0,10	0,30	5,7	0,57	0,50	173	29	1,60	0,3
	foie	18,8	0,13	66	0,13	0,47	1,3	0,26	<0,20	23	0,5	<0,20	<0,2
	rate	4,4	0,33	80	0,07	0,51	1,3	<0,20	<0,20	920	2	<0,20	0,2
	rein	4,4	0,23	88	0,03	0,21	1,7	<0,20	<0,20	467	2,7	0,23	<0,2
MORUE 0,61 & 0,64 m	muscle	1,0	0,15	14	<0,01	0,10	0,8	<0,20	0,70	5	4	<0,20	<0,2
	branchies	4,3	0,70	73	0,13	0,11	4,7	0,37	0,90	93	4	0,53	<0,2
	foie	8,8	0,24	36	0,05	0,07	1,0	<0,20	0,25	31	0,5	0,55	<0,2
	rate	4,3	0,85	65	0,03	0,13	1,7	<0,20	0,30	907	4,3	0,23	<0,2
	rein	4,7	0,20	87	0,03	0,12	2,0	<0,20	0,40	194	2,7	0,23	<0,2
MORUES 0,54 & 0,55 m	muscle	1,3	0,15	15	<0,01	0,26	1,0	<0,20	<0,20	5	0,5	<0,20	<0,2
	branchies	4,0	0,80	74	0,07	0,08	4,7	0,33	<0,20	80	2,7	0,43	<0,2
	c - gastrique	12,3	0,70	45	0,33	<0,01	11,3	0,67	0,95	303	467	19,50	1,0
	foie	16,9	0,15	72	0,06	0,06	1,0	<0,20	<0,20	31	0,4	<0,20	<0,2
	rate	4,0	0,47	72	0,03	0,13	1,3	0,20	<0,20	907	4,3	0,40	<0,2
	rein	4,7	0,13	68	0,03	0,08	2,3	<0,20	<0,20	214	0,3	<0,20	<0,2
MORUES 0,40 & 0,41 m	muscle	1,0	0,23	18	<0,01	0,19	1,0	<0,20	<0,20	5	0,3	0,30	<0,2
	branchies	5,3	4,10	90	0,17	-	7,7	0,47	0,50	180	5	3,30	<0,2
	c - gastrique	7,7	0,40	60	0,33	0,07	6,0	0,47	0,25	120	204	9,30	0,5
	foie	6,0	0,19	34	0,02	0,07	1,0	<0,20	<0,20	20	0,4	<0,20	<0,2
	rate	4,4	0,63	92	0,03	-	2,5	0,50	0,63	800	3,8	0,30	<0,2
	rein	4,5	0,55	98	0,05	-	3,0	0,30	<0,10	270	1,5	0,55	<0,2
MORUE M 3	muscle	1,8	0,13	24	<0,01	0,41	0,8	<0,20	0,20	6	0,3	<0,20	<0,2
	foie	9,1	0,14	38	<0,02	0,08	0,8	<0,20	<0,20	41	0,2	<0,20	<0,2
	rate	4,5	0,30	98	<0,05	-	2,0	<0,20	<0,20	760	1	0,65	<0,2
	rein	4,3	0,28	101	<0,03	0,19	2,0	0,25	<0,20	407	<0,3	1,40	<0,2
MORUE M 5	muscle	1,5	0,60	34	<0,01	1,09	1,0	<0,20	0,20	13	0,7	0,20	<0,2
	branchies	4,2	0,60	96	<0,06	-	8,2	0,50	0,35	112	15,3	2,60	<0,2
	coeur*	9,1	0,80	136	<0,10	-	3,4	1,90	1,00	261	5,6	0,60	<0,2
	foie	5,6	1,45	46	0,20	0,15	2,8	<0,20	0,20	40	<0,30	<0,20	<0,2
	rate **	7,1	1,40	161	<0,35	-	7,1	<0,70	0,35	500	<0,35	0,35	<0,2
	rein	6,0	0,30	101	<0,05	-	3,0	<0,20	<0,20	250	0,5	<0,20	<0,2

* prise d'essai inférieure à 0,50g

CONTRAT RICHARD campagne début d'hiver 1988

POISSON	ORGANE	mg/kg de poids sec											
		Cu	Pb	Zn	Cd	Hg	Mn	Cr	Ni	Fe	Al	Ti	V
MORUE	muscle	1,3	0,20	18	<0,01	0,16	1,8	2,50	0,25	23	3	0,50	<0,2
	branchies	4,0	1,40	93	0,04	0,16	10,0	3,00	1,50	225	61	4,50	0,4
	c - gastrique	15,0	0,35	80	0,04	0,12	18,0	8,50	3,50	180	141	11,00	1,0
	foie	9,4	<0,20	29	<0,03	0,10	2,5	<0,20	10,00	31	2,4	<0,30	<0,2
	foie+nodules	7,9	<0,20	53	0,10	-	2,5	<0,20	14,00	42	2,5	0,42	<0,2
	rate	4,0	0,67	109	0,05	-	4,0	<0,20	<0,20	527	6,2	0,67	<0,2
	rein	4,0	0,40	110	<0,03	0,17	4,0	<0,20	<0,20	395	10	1,00	<0,2
LIMANDE	muscle	1,3	0,20	20	<0,01	0,40	1,8	0,20	<0,20	10	1	0,30	<0,2
	branchies	4,0	1,80	95	0,05	0,18	13,5	0,70	0,25	195	238	23,00	1,2
	c - gastrique	7,5	1,25	145	0,02	5,80	2,4	0,60	2,00	810	290	20,00	2,4
	foie	20,0	<0,20	87	0,25	0,17	3,0	0,20	<0,20	65	9	4,00	<0,2
	rate**	7,7	<2	115	<0,20	-	7,7	<0,40	<0,20	4600	15	<4	<2
	rein	4,4	0,63	142	0,25	-	5,0	<0,20	1,25	310	4,4	1,30	0,3
LIMANDE SOLE	muscle	1,3	<0,20	17	0,02	0,14	3,5	8,00	3,50	40	1,9	0,30	<0,2
	branchies *	4,0	1,20	91	0,10	-	26,0	5,20	3,00	170	57	<0,30	2,0
	c - gastrique	5,6	2,40	82	0,07	-	39,0	3,80	1,40	700	745	50,00	13,0
	foie	32,0	<0,20	160	0,15	0,12	2,5	0,40	<0,20	330	1,5	1,00	0,3
	rate **	12,5	<3	90	<0,20	-	<3	<2	<2	2800	31	<3	<3
	rein *	6,7	<2	106	<0,20	-	6,7	<0,50	<0,20	2100	60	<3	<2
SOLE	muscle	0,3	0,33	22	0,02	0,22	3,3	10,70	5,00	70	2,5	0,70	<0,2
	branchies*	4,5	<1	84	<0,20	-	13,6	0,90	<1	204	80	4,60	<1
	c - gastrique *	3,6	2,50	23	<2	-	3,6	3,60	2,90	1390	1265	61,00	<2
	foie	81,0	<0,20	50	0,10	0,22	6,0	13,00	6,00	350	6	0,50	<0,2
	rate **	10,0	<5	88	<0,50	-	20,0	<1	<1	700	12	<5	<5
	rein *	7,9	<1	116	<0,20	-	10,5	1,60	10,00	370	21	2,50	<1

* prise d'essai inferieure à 0,50g

CONTRAT RICHARD campagne de fin d'hiver 1989

POISSON	ORGANE	mg/kg de poids sec											
		Cu	Pb	Zn	Cd	Hg	Mn	Cr	Ni	Fe	Al	Ti	V
MORUE	muscle	1,7	<0,10	21	<0,01	0,27	2,0	0,85	0,25	7	1,7	0,35	<0,2
	branchies	4,3	0,15	85	0,03	0,18	6,7	<0,20	0,35	83	25	4,00	<0,2
	c - gastrique	26,6	0,50	120	0,20	0,16	20,7	3,00	1,00	70	157	11,00	0,8
	foie	10,3	0,12	29	0,04	0,18	1,7	0,30	0,40	19	2,9	<0,20	<0,2
	foie+nodules	6,0	0,21	54	0,18	0,51	5,4	0,90	0,50	30	1,8	0,30	<0,2
	rate *	2,0	<0,50	105	<0,05	-	5,0	20,00	0,60	490	9	5,00	<0,2
	rein	5,4	0,45	122	0,03	0,14	4,7	0,40	0,40	420	13	2,70	<0,2
LIMANDE	muscle	1,0	0,16	20	0,05	0,37	2,7	<0,20	0,20	7	2,7	0,35	<0,2
	branchies	3,0	0,35	95	0,10	0,07	13,3	5,30	2,30	83	22	1,40	0,3
	c - gastrique	4,7	0,23	61	0,07	0,06	36,5	2,30	1,50	230	33	20,00	1,5
	foie	8,7	<0,10	55	0,26	0,13	4,0	<0,20	0,20	73	12	1,00	<0,2
	rate *	2,5	<1	88	0,15	-	5,0	<1	1,00	1850	11	<2	0,3
	rein	4,7	0,65	104	0,17	-	13,5	<0,20	1,50	310	17	6,00	0,6
LIMANDE SOLE	muscle	1,7	0,16	19	<0,01	0,01	2,4	7,40	<0,20	10	7	8,30	<0,2
	branchies	5,0	0,90	100	0,08	-	31,0	1,00	0,65	9	65	5,00	1,5
	c - gastrique	6,0	3,70	153	0,46	0,06	66,5	6,00	1,65	960	1900	185	6,5
	foie	13,0	0,26	155	0,30	0,1	6,7	1,00	0,20	160	4	0,40	0,3
	rate *	6,6	<1	87	<0,20	-	6,6	<0,20	13,00	700	21	3,00	<0,2
	rein *	7,0	<0,50	109	0,10	-	10,0	<0,50	0,40	300	10	33,00	0,3
SOLE	muscle	1,7	<0,10	23	0,02	0,2	1,7	<0,20	0,20	7	3,7	0,30	<0,2
	branchies	34,0	1,80	92	0,03	0,08	26,5	0,85	0,30	63	57	3,70	0,3
	c - gastrique	10,0	4,30	233	0,83	0,11	46,5	6,00	<0,20	1065	1730	167	7,5
	foie	70,0	0,16	77	0,07	0,12	6,7	0,50	0,30	100	8	0,65	<0,2
	rate *	7,2	<1	138	0,07	-	4,3	<0,50	1,00	430	29	5,70	<0,2
	rein	5,0	<0,10	92	0,06	0,22	5,0	<0,20	0,30	215	5,5	0,50	<0,2

* prise d'essai inférieure à 0,50 g