

Études de biomarqueurs chez la mye commune (*Mya arenaria*)  
du fjord du Saguenay : bilan de recherches (1997 à 2006)  
Biomarker studies of the soft-shell clam (*Mya arenaria*) in the  
Saguenay Fjord: research results (1997-2006)

François Gagné, Christian Blaise, Jocelyne Pellerin and Michel Fournier

Volume 22, Number 2, 2009

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/037484ar>

DOI: <https://doi.org/10.7202/037484ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE)

ISSN

1718-8598 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

Gagné, F., Blaise, C., Pellerin, J. & Fournier, M. (2009). Études de biomarqueurs chez la mye commune (*Mya arenaria*) du fjord du Saguenay : bilan de recherches (1997 à 2006). *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 22(2), 253–269. <https://doi.org/10.7202/037484ar>

Article abstract

This paper presents the major findings of annual field outings conducted from 1997 to 2006 in Saguenay Fjord intertidal areas as well as those located in proximity with the St. Lawrence River estuary. Study objectives sought to enhance our understanding of pollution pressures incurred on the soft shell clam, *Mya arenaria*, endemic to mud flats of these regions. By measuring the responses of a battery of biomarkers in whole animals, organs or cells, we demonstrated various adverse effects that are likely linked to chemical contamination sources (municipal, industrial, portuary, non point and atmospheric) intrinsic to the Saguenay area. Based on site and pollution features proper to each, health problems were observed in clams that included effects on their reproductive system (endocrine disruption events linked to estrogenic substances, metals or TBT), on their immune system (increase or decrease of immunocompetence assessed by phagocytic performance of hemocytes), as well as cumulative effects of pollutants, shown either by upward or downward responses of defense biomarkers (*e.g.*, metallothioneins, CYP1A1, glutathion S-transferase), damage biomarkers (*e.g.*, increase in DNA strand breaks, increase in inflammatory cyclo-oxygenase activity, lipid peroxidation) and metrics biomarkers (*e.g.*, growth inhibition, lower gonado-somatic index). In pollution-impacted sites, clams further displayed a greater expenditure of mitochondrial energy (measured by mitochondrial electron transport in gonad or digestive gland), an energy loss that could possibly be augmented under thermic stress conditions linked to climate change. This long-term biomarker work establishes *Mya arenaria* as a useful bioindicator species to appraise Saguenay Fjord water quality as reflected by the diverse chemical insults to which these invertebrates are exposed in an ecosystem still struggling with multiple contamination inputs. Future studies should contribute to strengthen our knowledge related to cumulative risk issues linked to the fjord's chemical pollution.

# ÉTUDES DE BIOMARQUEURS CHEZ LA MYE COMMUNE (*MYA ARENARIA*) DU FJORD DU SAGUENAY : BILAN DE RECHERCHES (1997 À 2006) \*

*Biomarker studies of the soft-shell clam (Mya arenaria) in the Saguenay Fjord: research results (1997-2006)*

FRANÇOIS GAGNÉ<sup>a\*</sup>, CHRISTIAN BLAISE<sup>a\*</sup>, JOCELYNE PELLERIN<sup>b</sup> et MICHEL FOURNIER<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Recherche sur les écosystèmes fluviaux, Environnement Canada, 105, rue McGill, Montréal (Québec), Canada, H2Y 2E7

<sup>b</sup>Institut des sciences de la mer de Rimouski (ISMER), Université du Québec à Rimouski, 310, allée des Ursulines, Rimouski (Québec), Canada G5L 3A1

<sup>c</sup>INRS-Institut Armand-Frappier, 531, boul. des Prairies, Laval (Québec), Canada, H7V 1B7

Reçu le 26 avril 2008, accepté le 9 septembre 2008

---

## RÉSUMÉ

Cet écrit se veut une synthèse des principales trouvailles afférentes aux études de terrain conduites annuellement de 1997 à 2006 en zones intertidales du fjord du Saguenay, et de celles situées autour de sa confluence avec l'estuaire du Saint-Laurent, dans le but de mieux comprendre les stress anthropiques auxquels est soumise la mye commune (*Mya arenaria*), bivalve ubiquiste de ces habitats sédimentaires. À l'aide d'une batterie variée de biomarqueurs, lesquels ont fait l'objet de mesures chez l'animal entier, certains de ses tissus ou cellules, nous avons pu mettre en évidence divers effets écotoxiques qui sont vraisemblablement imputables aux sources (urbaines, industrielles, portuaires, diffuses ou atmosphériques) de contamination chimique impactant le Saguenay. Dépendant du site et de ses caractéristiques pollutionnelles, nous avons noté des dérèglements de santé chez la mye qui incluent des effets sur son système reproducteur (divers types de perturbation endocrine associés aux substances estrogéniques, aux métaux ou aux TBT), sur son système immunitaire (stimulation ou dépression d'immunocompétence jaugée par la capacité de phagocytose d'hémocytes), ainsi que des effets cumulatifs de

polluants qui se traduisent par des réponses, à la hausse ou à la baisse, de biomarqueurs de défenses (*e.g.*, métallothionéines, CYP1A1, glutathione S-transférases), de dommages (*e.g.*, augmentation de brins d'ADN, augmentation de l'activité de cyclo-oxygénase témoignant d'inflammation, peroxydation des lipides) et morphologiques (*e.g.*, inhibition de croissance, baisse d'indice gonado-somatique). Nous démontrons aussi une plus grande dépense en énergie au niveau mitochondrial (transport d'électrons mitochondrial dans la gonade ou glande digestive) chez les myes de zones impactées, laquelle semble pouvoir être exacerbée en conditions de stress thermiques que laissent présager les changements climatiques à venir. Au final, ce bilan d'études de biomarqueurs confirme l'utilité du modèle bivalve *Mya arenaria* comme bio-indicateur de la qualité hydrique du Saguenay et il renseigne sur les divers affronts que subissent ces invertébrés dans ce milieu toujours aux prises avec des sources de contamination variées. D'autres études envisagées affineront nos connaissances au sujet des risques cumulatifs liés à la contamination chimique du fjord.

**Mots clés :** *Fjord du Saguenay, biomarqueurs, Mya arenaria, contamination chimique, zone intertidale, effets cumulatifs, stress thermique.*

\* Parc marin Saguenay–Saint-Laurent

\*Auteur pour correspondance :

Téléphone: 514 496-7105

Télécopie: 514 496-7398

Courriel: francois.gagne@ec.gc.ca

ISSN : 1718-8598

Revue des Sciences de l'Eau 22(2) (2009) 253-269

## ABSTRACT

This paper presents the major findings of annual field outings conducted from 1997 to 2006 in Saguenay Fjord intertidal areas as well as those located in proximity with the St. Lawrence River estuary. Study objectives sought to enhance our understanding of pollution pressures incurred on the soft shell clam, *Mya arenaria*, endemic to mud flats of these regions. By measuring the responses of a battery of biomarkers in whole animals, organs or cells, we demonstrated various adverse effects that are likely linked to chemical contamination sources (municipal, industrial, portuary, non point and atmospheric) intrinsic to the Saguenay area. Based on site and pollution features proper to each, health problems were observed in clams that included effects on their reproductive system (endocrine disruption events linked to estrogenic substances, metals or TBT), on their immune system (increase or decrease of immunocompetence assessed by phagocytic performance of hemocytes), as well as cumulative effects of pollutants, shown either by upward or downward responses of defense biomarkers (*e.g.*, metallothioneins, CYP1A1, glutathion S-transferase), damage biomarkers (*e.g.*, increase in DNA strand breaks, increase in inflammatory cyclo-oxygenase activity, lipid peroxidation) and metrics biomarkers (*e.g.*, growth inhibition, lower gonado-somatic index). In pollution-impacted sites, clams further displayed a greater expenditure of mitochondrial energy (measured by mitochondrial electron transport in gonad or digestive gland), an energy loss that could possibly be augmented under thermic stress conditions linked to climate change. This long-term biomarker work establishes *Mya arenaria* as a useful bioindicator species to appraise Saguenay Fjord water quality as reflected by the diverse chemical insults to which these invertebrates are exposed in an ecosystem still struggling with multiple contamination inputs. Future studies should contribute to strengthen our knowledge related to cumulative risk issues linked to the fjord's chemical pollution.

**Keywords:** Saguenay Fjord, biomarkers, *Mya arenaria*, chemical contamination, intertidal zone, cumulative effects, thermic stress.

## 1. INTRODUCTION

Tributaire majeur de l'estuaire du fleuve Saint-Laurent, le fjord du Saguenay est soumis à une contamination mixte et diffuse, dont les origines remontent au milieu du XX<sup>e</sup> siècle. Plusieurs sources de pollution anthropique, attribuables à des émissions ponctuelles d'effluents industriels (aluminerie, papetières), portuaires (bateaux commerciaux ou de plaisance) ou locales (rejets urbains), ainsi que diffuses (résidus de pesticides provenant de pratiques agricoles ou précipitations de polluants

atmosphériques impactant les bassins versants) expliquent l'introduction de divers contaminants (in)organiques dans cet environnement intertidal (COSSA, 1990; FORTIN et PELLETIER, 1995; PELLETIER et CANUEL, 1988). Dans la foulée du deuxième Plan d'Action Saint-Laurent (PASL I : 1993-1998), sous la coordination conjointe d'Environnement Canada et du ministère de l'Environnement du Québec, le fjord du Saguenay reçoit une attention particulière pour qu'y soit menées des recherches visant à protéger et conserver ses richesses hydriques et biotiques. Durant la même période, la création du Parc Marin du Saguenay – Saint-Laurent (PMSSL) conforte la notion de protection et de mise en valeur de cet écosystème marin exceptionnel.

Afin de contribuer à ces objectifs et pour mieux comprendre l'impact écotoxique possible de stress chimiques divers sur le biote de la zone intertidale du fjord, nous y avons entrepris des études de mesures de biomarqueurs depuis le PASL II en nous servant du modèle animal *Mya arenaria*. Nos choix sont motivés, d'une part, par l'utilité reconnue – à l'époque et maintenant – des biomarqueurs comme outils prédictifs de la dangerosité de substances chimiques (GAGNÉ et BLAISE, 2005; HENDERSON *et al.*, 1989; SCHULTE et MAZZUCKELLI, 1991; VASSEUR et COSSU-LEGUILLE, 2003) et, d'autre part, de l'intérêt d'emploi d'invertébrés, tels que les bivalves filtreurs géostationnaires, à intégrer les effets cumulatifs d'événements pollutionnels (DEPLEDGE et FASSI, 1994). Par ailleurs, la présence de la mye commune est ubiquiste en zone intertidale du Saguenay, ce qui facilite les études spatiales et temporelles de sites jusqu'à plus de 70 km en amont de l'embouchure du fleuve Saint-Laurent. Ci-après, nous présentons une synthèse, reflétant plus de dix ans d'études, des principales trouvailles issues de nos recherches en biomarqueurs sur les myes. Celles-ci font état des divers stress anthropiques auxquels elles sont soumises et soulignent la problématique de la qualité de l'eau du fjord du Saguenay en zone intertidale.

## 2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Ce bilan de recherche est le résultat de plusieurs campagnes d'échantillonnage réalisées annuellement dans la zone intertidale du fjord du Saguenay de 1997 à 2006. La plupart des missions sur le terrain ont privilégié les études spatiales, permettant ainsi des comparaisons intersites, et se sont principalement déroulées en mai ou juin, période de vitellogénèse active durant laquelle les myes peuvent s'avérer particulièrement sensibles à la pollution chimique. La présence des myes est relativement ubiquiste dans le fjord du Saguenay en zone intertidale (Figure 1), ce qui peut s'expliquer en partie par sa très grande tolérance aux variations de salinité imparties au fjord (GAUTHIER-CLERC *et al.*, 2002). Sa longévité (~15 ans), son mode de vie (sédentarité

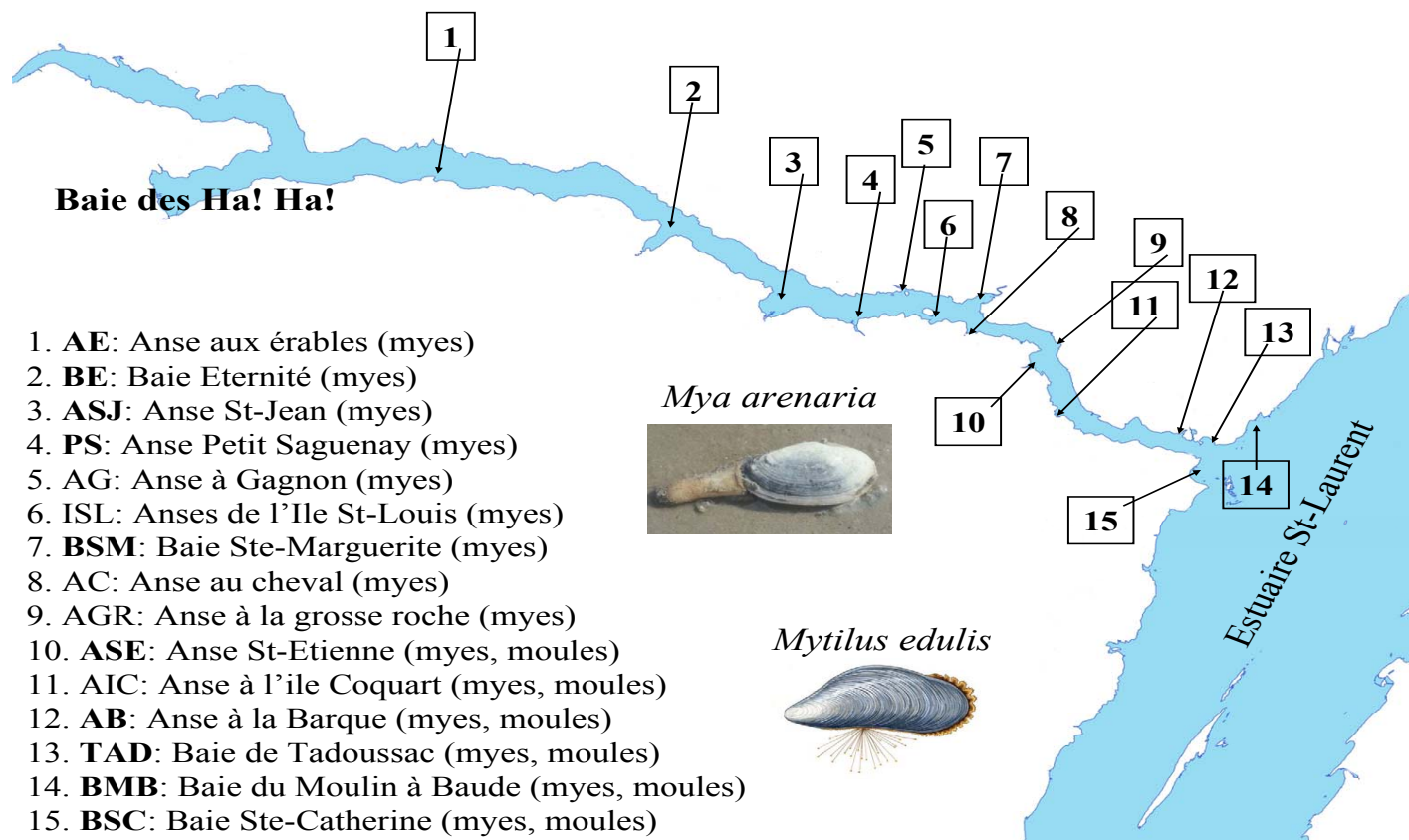


Figure 1. Sites d'emplacement des bivalves (*Mya arenaria* et *Mytilus edulis*) dans les zones intertidales du fjord du Saguenay et à proximité de l'embouchure de l'estuaire du Saint-Laurent.

*Location of bivalves (Mya arenaria et Mytilus edulis) in the intertidal flats of the Saguenay Fjord and in proximity to the St. Lawrence Estuary.*

endobenthique et grande capacité à filtrer l'eau) et son potentiel d'accumulation de polluants, autant par la colonne d'eau que par le sédiment, en font un indicateur biologique de premier ordre. Notons aussi une certaine présence de moules bleues (*Mytilus edulis*) dans la partie aval du fjord (Figure 1), laquelle s'estompe, cependant, dans les zones situées davantage en amont, là où la salinité de l'eau n'est pas suffisamment importante pour assurer son implantation. Bien que la moule bleue constitue incontestablement une espèce sentinelle d'intérêt pour la mesure de biomarqueurs, sa présence parsemée et spécifique à certains sites du Saguenay l'exclut comme bivalve de choix pour les études pressenties.

Les principaux sites d'échantillonnage de myes pour lesquels nous rapportons des résultats sont indiqués en gras à la figure 1. Ceux-ci ont été privilégiés de par leur accès routier, ce qui simplifie la logistique de terrain, et en tenant compte aussi de leur bonne répartition géographique amont/aval. Les caractéristiques afférentes à leur statut de contamination sont précisées au tableau 1. Les biomarqueurs développés et appliqués au fil du temps chez la mye afin de tenir compte de ses réponses physiologiques possibles face à la contamination chimique des eaux du Saguenay sont regroupés au tableau 2. Les divers effets mesurés selon des campagnes de terrain particulières sont discutées dans les sections qui suivent.

## 2.1 Effets sur le système reproducteur

Divers types de perturbation endocrine ont été observés chez les myes du Saguenay suite à la réalisation de nos relevés annuels.

### 2.1.1 Estrogénicité

En juin 1997, la protéine du jaune d'œuf, ou vitellogénine (Vg), a été mesurée par une méthode indirecte (phosphate labile en milieu alcalin, ou PLA) dans l'hémolymphe de myes des stations AE, BE, ASJ, PS, ASE, AB et BMB (référer au tableau 1 pour les sites et à la figure 1 pour leur emplacement). Alors que les teneurs de PLA de six stations se situaient entre 200 et 390  $\mu\text{g PO}_4/\text{mg}$  de protéines d'hémolymphe – témoignant de concentrations élevées mais normale en période de fin de vitellogénèse et gamétogénèse – celles de la station ASJ s'avéraient significativement plus élevées (730  $\mu\text{g PO}_4/\text{mg}$  de protéines d'hémolymphe). Seul site directement impacté par un effluent municipal (celui du village de l'Anse-St-Jean : population de 2 000 habitants) qui se déverse à quelques centaines de mètres de notre station d'échantillonnage, les myes y sont donc exposées à des substances (xeno)estrogéniques provenant de cet émissaire, lesquelles stimulent les récepteurs

**Tableau 1. Caractéristiques des principales stations d'échantillonnage de myes, dont il est question dans cet article, en fonction de leurs sources potentielles de contamination.****Table 1. Description of the major clam sampling stations reported in this paper based on their contamination profile.**

Site	Emplacement dans le fjord du Saguenay (position GPS)	Sources potentielles de contamination*
Anse-aux-Érables (AE)	70 km en amont de l'estuaire du St-Laurent : proche de la limite amont habitable pour des bivalves de type <i>Mya arenaria</i> (48.21 N; 70.34 O)	<u>Industrielle</u> : des eaux usées provenant d'alumineries et de papetières des villes d'Alma, Jonquière, Chicoutimi et La Baie sont émises à la rivière et au fjord du Saguenay en amont de ce site. <u>Domestique</u> : quinze chalets d'occupation saisonnière délimitent le pourtour de l'anse; des effluents municipaux situés en amont présentent aussi une source potentielle de rejets urbains.
Baie-Éternité (BE)	50 km en amont de l'estuaire du St-Laurent (48.17 N; 70.20 O)	<u>Portuaire</u> : quai et marina permettant l'amarrage de bateaux de plaisance et de bateaux d'opérations touristiques (20 m ou plus) en saison. <u>Industrielle/domestique</u> : des rejets urbains/industriels mixtes (apport en contaminants organiques et métalliques) peuvent provenir du village de Baie-Éternité par l'entremise de la rivière Éternité qui se jette dans la baie.
Anse-Saint-Jean (ASJ)	40 km en amont de l'estuaire du St-Laurent (48.14 N; 70.11 O)	<u>Domestique</u> : l'effluent municipal du village de l'Anse-Saint-Jean (2 000 habitants) se déverse directement dans la zone intertidale. <u>Portuaire</u> : quai et grande marina permettant l'amarrage de bateaux de pêche et de plaisance.
Petit-Saguenay (PS)	32 km en amont de l'estuaire du St-Laurent (48.14 N; 70.06 O)	<u>Portuaire</u> : quai et marina permettant l'amarrage de bateaux de pêche et de plaisance. <u>Domestique</u> : Quelques chalets d'occupation saisonnière autour d'une partie de l'anse.
Baie-Ste-Marguerite (BSM)	40 km en amont de l'estuaire du St-Laurent (48.15 N; 69.57 O)	Absence de sources apparentes de pollution directe, bien qu'une influence des sources de pollution industrielles et urbaines de l'amont soit possible.
Anse de Saint-Etienne (ASE) : site de référence pour le Saguenay	20 km en amont de l'estuaire du St-Laurent (48.12 N; 69.54 O)	Absence de sources apparentes de pollution directe.
Anse-à-la-Barque (AB)	5 km en amont de l'estuaire du St-Laurent (48.08 N; 69.44 O)	<u>Portuaire</u> : quais d'amarrage pour le traversier à Baie-Sainte-Catherine et à Tadoussac; service annuel en continu du traversier assurant le transport de véhicules entre Tadoussac et Baie-Ste-Catherine.
Baie-de-Tadoussac (TAD)	2 km au nord-est de l'embouchure du fjord du Saguenay dans l'estuaire du St-Laurent (48.08 N; 69.42 O)	<u>Portuaire</u> : quai et grande marina permettant l'amarrage de bateaux de tourisme (croisières aux baleines), de pêche et de plaisance.
Baie-Ste-Catherine (BSC)	2 km au sud-ouest de l'embouchure du fjord du Saguenay dans l'estuaire du St-Laurent (48.06 N; 69.43 O)	<u>Portuaire</u> : grand quai permettant l'amarrage de bateaux de tourisme (croisières aux baleines annuelles de mai à octobre); traversier public assurant la navette entre Baie-Ste-Catherine et Tadoussac à l'année longue); trafic naval constant entre le fjord et l'estuaire. <u>Domestique</u> : l'effluent municipal du village de Baie-Ste-Catherine (300 habitants) se déverse directement dans la zone intertidale.
Baie-du-Moulin à Baude (BMB) : site de référence pour l'estuaire à l'embouchure du Saguenay	5 km au nord-est de l'embouchure du fjord du Saguenay dans l'estuaire du St-Laurent (48.08 N; 69.40 O)	Absence de sources apparentes de pollution directe.

\*Tous les sites sont aussi sujets aux retombées atmosphériques de HAPs au niveau des bassins versants, conséquence de décennies d'activités industrielles des alumineries (SMITH and LEVY, 1990).

**Tableau 2. Biomarqueurs développés/appliqués pour l'étude d'effets écotoxiques chez la mye du Saguenay.**  
**Table 2. Biomarkers developed and/or applied to measure ecotoxic effects in Saguenay clams.**

Biomarqueur	Tissu, organe ou cellule d'analyse	Signification écotoxicologique	Référence méthodologique
<b>Catégorie: biomarqueurs de défense</b>			
MT : métallothionéines	Glande digestive	Indicateur de prise en charge de contaminants métalliques; mécanisme de détoxification de métaux lourds biodisponibles et la capture de l'anion superoxyde.	GAGNÉ <i>et al.</i> , 1990; VIARENGO <i>et al.</i> , 1997
CYP1A1 : activités enzymatiques associées à ce cytochrome	Glande digestive	Cytochrome indicateur du métabolisme oxydatif de produits organiques aromatiques polycycliques.	HAHN <i>et al.</i> , 1995
CYP3A4 : activités enzymatiques associées à ce cytochrome	Glande digestive	Cytochrome généralement induit par les composés polycycliques hydroxylés et hétérocycles retrouvés notamment chez les produits pharmaceutiques	QUINN <i>et al.</i> , 2004
XOR: xanthine oxydoréductase	Glande digestive	Enzyme impliquée dans le métabolisme des purines et de ses analogues ( <i>e.g.</i> , caféine) et capture de radicaux libres oxygénés. Cette enzyme peut être induite par le métabolisme de l'oxygène, la dégradation de brins d'ADN et aussi par d'autres xanthines telles que la caféine.	ZHU <i>et al.</i> , 1994.
GST : glutathione S-transférase	Branchies, glandes digestives et gonades	Enzyme de conjugaison du glutathion et des xénobiotiques organiques polaires; également induite par le TBT et le stress oxydatif.	BORYSLAWSKYJ <i>et al.</i> , 1988
<b>Catégorie: Mesures de dommage et d'intégrité physiologique</b>			
<b>Dommage tissulaire</b>			
ADN : dommage à l'ADN	Branchies, glandes digestives, hémocytes ou gonades	Cassures d'ADN issues de la réparation de l'ADN et de la dégradation des purines.	GAGNÉ et BLAISE, 1995; OLIVE, 1988.
LPO* : peroxydation des lipides <i>*Lipid peroxidation</i>	Branchies, glandes digestives et gonades	Mesure de la malonaldéhyde formée lors de la décomposition des lipides insaturés	WILLS, 1987
<b>Immunité et inflammation</b>			
PHAG : Phagocytose	Hémocytes prélevés dans l'hémolymphe au niveau du muscle adducteur postérieur	Mesure d'immunocompétence à phagocyter des bactéries fluorescentes (technique en microplaque); mesure d'immunocompétence à phagocyter des billes de latex fluorescentes (technique en cytométrie de flux);	BLAISE <i>et al.</i> , 2002b (technique en microplaque); BROUSSEAU <i>et al.</i> , 2000 (technique en cytométrie de flux)
COX: cyclo-oxygénase	Branchies et gonades	Enzyme oxydant l'acide arachidonique lors de la synthèse des prostaglandines précurseurs de la contraction des muscles lisses et de l'inflammation (stress oxydatif).	FUJIMOTO <i>et al.</i> , 2002
<b>Catégorie : biomarqueurs associés à la reproduction</b>			
Amines biogéniques SER : sérotonine DOP : dopamine	Ganglions cérébroïdes (gonade)	L'initiation de la gamétogénèse se manifeste par une élévation de la dopamine et une baisse de sérotonine; à l'inverse, elle se termine par l'action de la sérotonine qui est un initiateur de la ponte, ce qui termine la maturation des gonades.	ORSINGER <i>et al.</i> , 1980; SZABO <i>et al.</i> , 1983.
Vg : vitellogénine (indirectement quantifiée dans nos travaux en mesurant les groupes phosphates labiles en milieu alcalin (PLA)	Gonade	Protéine précurseur de celle du jaune d'œuf. Sa synthèse est stimulée, en partie du moins, par l'estradiol-17 $\beta$ et ses analogues ( <i>e.g.</i> , nonylphenol).	GAGNÉ et BLAISE, 1998; BLAISE <i>et al.</i> , 1999; GAGNÉ <i>et al.</i> , 2003
ATC: aspartate transcarbamoylase	Gonade	Enzyme déterminante dans la production des pyrimidines lors de la biosynthèse de l'ADN dans les ovocytes et les spermatozoïdes.	MATHIEU <i>et al.</i> , 1982; HERRIES, 1967
IM : index de maturation des gonades	Gonade	Mesure indirecte de la gamétogénèse; informe sur l'évolution des stades des gonades.	GAUTHIER-CLERC <i>et al.</i> , 2002

**Catégorie : biomarqueurs associés à l'allocation cellulaire en énergie**

MET* : dépense énergétique MET <sub>T</sub> : dépense énergétique et sa dépendance à la température	Gonade et glande digestive	Mesure du transport d'électrons qui est couplée à la phosphorylation oxydative durant la respiration cellulaire. Son activité est accrue par la pollution qui occasionne une plus grande dépense d'énergie. La dépendance de la température est accrue par la pollution et l'adaptation à des températures chaudes (liens avec les changements climatiques)	KING et PACKARD, 1975; GAGNÉ <i>et al.</i> , 2006a
*Mitochondrial electron transport			
Lipides et sucres totaux	Gonade et glande digestive	Réserves en énergie sous forme lipidiques et de sucres totaux dans les tissus	FRINGS <i>et al.</i> , 1972; JERMYN, 1975

**Catégorie: Biomarqueurs morphologiques**

FC : facteur de condition	Mye entière	Rapport: poids total sur longueur comme indicateur physiologique général de santé	ERNST <i>et al.</i> , 1991
IC : indice de croissance	Longueur et âge d'individus	Le rapport « longueur sur âge » permet de mesurer la croissance annuelle aux sites étudiés	(pas de référence particulière)
IGS : indice gonado- somatique	Tissu mou entier; gonade	Mesure du rapport de la masse de la gonade sur celle du tissu entier.	(pas de référence particulière)

estrogéniques gonadiques bien au-delà de leurs besoins reproductifs (BLAISE *et al.*, 1999). Reconnus notoires en matière de potentiel estrogénique, les rejets urbains peuvent d'ailleurs émettre des molécules à caractère hormonal telles que l'estradiol-17 $\beta$ , l'éthinylestradiol, le nonylphenol ou d'autres agents tensioactifs présents dans les savons et le bisphenol A.

Ce premier constat de perturbation endocrine est ensuite corroboré par un relevé temporel conduit la même année impliquant un échantillonnage mensuel de myes à trois sites (BE, ASE, BMB) durant la période comprise entre mai et octobre, 1997. Contrairement aux sites de références pour le Saguenay (ASE) et l'estuaire (BMB), voir tableau 1, où la vitellogénèse est initiée en mai et se trouve à son apogée en juin (i.e., par une élévation de teneurs de PLA mesurées dans l'hémolymphe et dans la gonade), le site BE présente toujours des teneurs de PLA de base en mai, lesquelles augmentent cependant à partir de juin (BLAISE *et al.*, 1999). Chez les myes prélevées durant ce même relevé temporel, une étude histologique des tissus de gonades révèle que le stade de maturation des myes des sites ASE et BMB est nettement plus avancé en mai et juin que celui des myes du site BE pour la même période (GAUTHIER-CLERC *et al.*, 2002). Ce délai de reproduction chez les myes du site BE, corroboré à la fois par le manque d'augmentation de la PLA et un stade de maturation moins avancé, peut impliquer leur exposition à des substances anti-estrogéniques. En effet, des concentrations de métaux analysées dans le tissu mou d'animaux en juin 1997 indiquent des teneurs en Cd, Cr et Ni, deux fois plus élevées, et en Hg et Mn, six fois plus élevées, respectivement, au site BE comparativement au site BMB. Certains métaux, notamment le cadmium, sont réputés capables d'inhiber la vitellogénèse en bloquant la transcription et la traduction de la Vg (OLSSON *et al.*, 1995).

Les Vg sont des protéines de haut poids moléculaire (>400 kda) constituées d'hydrates de carbone, de lipides,

de phosphates labiles en milieu alcalin dites *alkali labile phosphates*, de calcium et de zinc que l'on retrouve dans les tissus de gonades de bivalves (OSADA *et al.*, 1992; SUZUKI *et al.*, 1992). En juin 1998, nous avons récolté des myes provenant du site de référence ASE et des sites BE et ASJ (voir Figure 1 et Tableau 1 pour leur emplacement et caractéristiques pollutionnelles), afin de tester l'hypothèse selon laquelle les niveaux des constituants de la Vg pourraient être altérés par la présence de contaminants. Mesurés dans les gonades d'animaux femelles ayant toutes atteint le stade de maturité, cette étude a confirmé des différences intersites marquées au niveau de la constitution de la Vg (GAGNÉ *et al.*, 2002). En effet, la Vg des myes du site BE (pollution portuaire et industrielle/domestique) était caractérisée par des teneurs plus fortes en zinc et en calcium et plus faibles en lipides et en protéines, comparativement à celle du site ASE, alors que celle du site ASJ (pollution fortement domestique) présentait des teneurs plus fortes en phosphates labiles et en calcium et plus faibles en protéines. En parallèle, les réponses de certains biomarqueurs dans la glande digestive corroboraient notamment l'influence de contamination chez les myes du site BE (élévation d'EROD, de MT et de dommage à l'ADN; diminution de FC) et du site ASJ (élévation de MT et de dommage à l'ADN) comparativement à celles du site ASE (GAGNÉ *et al.*, 2002). Ainsi, la production de Vg, laquelle fait intervenir divers processus biochimiques impliquant la phosphorylation, la glycosylation, et aussi la mobilisation de cations et de lipides, peut être effectivement perturbée au niveau de sa constitution par une contamination hydrique. Ce constat invoque des préoccupations quant à la qualité nutritionnelle de la Vg chez les myes vivant en zones contaminées et aux conséquences possibles pour les jeunes larves au niveau de leur développement, voire même à leur succès de survie d'atteindre le stade d'alimentation autonome. Notons, enfin, que les effets de la perturbation endocrine sur la reproduction des mollusques sont variés et préoccupants (KETATA *et al.*, 2008).

### 2.1.2 Tributylétain

Il est reconnu que l'emploi de produits anti-salissures, tels que le TBT (tributylétain), imprégnés sur la coque de bateaux, contribue globalement à la contamination des sédiments (ANTIZAR-LADISLAO, 2008) et que, dans les zones portuaires canadiennes, leurs concentrations en TBT peuvent atteindre des pics de 5 100 ng Sn/g en poids sec (CHAU *et al.*, 1997). La présence de butylétains dans les sédiments de l'estuaire du Saint-Laurent est également documentée avec des concentrations variant entre 2-75 ng Sn/g en poids sec (ST-LOUIS *et al.*, 1997), alors qu'elles sont de 6-288 Sn/g en poids sec dans les sédiments profonds du fjord du Saguenay (VIGLINO *et al.*, 2004). L'effet de perturbation endocrine le plus remarquable attribuable au TBT est sans aucun doute le phénomène de l'imposex démontré chez les gastéropodes qui impose littéralement une masculinisation de l'appareil reproducteur des animaux femelles (GIBBS and BRYAN, 1996).

Le site BSC situé à l'embouchure du fjord du Saguenay (Figure 1) s'avère particulièrement vulnérable à une contamination par le TBT de par les activités navales qui le caractérisent (Tableau 1). En mai 2001, période correspondant au début de la vitellogénèse des myes, nous avons donc récolté des individus au site BSC dans le but de vérifier, à l'instar des effets notés chez les gastéropodes, un déséquilibre possible du ratio des sexes qui pourrait être lié à la présence de TBT. Sexées (n = 60) en les comparant au même nombre de myes prélevées à nos deux sites de références (ASE, BMB), nous y avons constaté un effet de masculinisation significatif au site BSC où l'on a retrouvé 63 % de mâles, alors que ce pourcentage s'établissait à 42 % et à 35 % aux sites ASE, BMB, respectivement (GAGNÉ *et al.*, 2003). Par ailleurs, l'analyse en TBT du tissu de gonades des myes du site BSC a démontré des teneurs moyennes de  $109 \pm 18$  ng Sn/g de poids sec, alors que celui des myes de ASE et de BMB s'avérait non détectable. Enfin, d'autres biomarqueurs mesurés chez les myes des trois sites témoignent d'effets de contamination du site BSC. Ainsi, l'IC (indice de condition), l'IGS (indice gonado-somatique) et les teneurs en PLA des gonades femelles – pour n'en nommer que quelques-uns – présentaient des valeurs nettement inférieures à celles des deux sites de références (GAGNÉ *et al.*, 2003). Ces travaux rapportent pour la première fois un effet de masculinisation de bivalves par les organoétains antérieurement observé chez les gastéropodes. L'inhibition de l'aromatase (enzyme convertissant la testostérone en 17 $\beta$ -estradiol) rapporté pour le TBT (HEIDRICH *et al.*, 2001) est vraisemblablement liée à ce dérèglement sexuel et peut appuyer nos constats. *In fine*, cette étude indique que le Saguenay, ainsi que la région confluente avec l'estuaire du Saint-Laurent, sont soumis à la présence de composés anti-estrogéniques qui peuvent être différents selon le site (*e.g.*, effets de métaux au site BE, tel que décrit précédemment, et de TBT au site BSC).

L'étude conduite en juin 2003 a aussi contribué, entre autres, à documenter la contamination des myes par le TBT dans les zones connexes à la confluence du fjord avec l'estuaire du Saint-Laurent. Ainsi, on y rapporte des teneurs totales en mono-, di- et tributylétain, de 40 et 82, 66 et 139, 49 et 135 et de 57 et 103, en ng Sn/g de poids sec, dans les tissus de gonade et de glande digestive, pour les sites BMB, AB, TAD et BSC, respectivement (GAGNÉ *et al.*, 2006c). Contrairement à l'étude de mai 2001 où le TBT n'avait pas été détectable dans la gonade des myes du site de référence BMB (voir précédemment), on en retrouve cette fois-ci autant dans la gonade que dans la glande digestive, bien qu'en quantités moindres que pour les trois autres sites. En comparaison avec le site BMB, les myes des trois autres sites ont présenté des différences significatives à l'égard de plusieurs biomarqueurs tels que : baisse de FC, ratio des sexes fortement incliné vers les mâles, réduction de l'IGS, activité ATC réduite, baisse de PLA gonadique, augmentation de l'activité GST et de LPO (GAGNÉ *et al.*, 2006c). À l'instar de l'étude de mai 2001, celle-ci confirme également les insultes afférentes aux produits anti-salissures que subissent les myes au niveau de leur santé physiologique et sur leur reproduction dans cette zone sensible située à la confluence du fjord avec l'estuaire du Saint-Laurent.

### 2.1.3 Perturbation neuroendocrine

Dans le but de mieux appréhender les effets de la pollution chimique mixte du Saguenay sur la gamétogénèse des myes, nous avons analysé des animaux récoltés en juin 2004 aux sites de références ASE et BMB, ainsi qu'aux sites AE, BE, ASJ et BSC, lesquels sont sujets aux sources de contamination rapportées au tableau 1. Plusieurs biomarqueurs ont fait l'objet de mesures, notamment ceux permettant d'estimer l'état des processus neuroendocriniens des myes dont l'action est primordiale au succès de leur reproduction (GAGNÉ *et al.*, 2007). Entre autres, les teneurs en dopamine (accrue en période de vitellogénèse et de spermatogénèse) et sérotonine (accrue durant le stade de maturation final des œufs et de spermatocytes précédant la ponte), la COX, l'ATC et la PLA ont été déterminées (Tableau 2).

Sans surprise, les sites davantage sujets aux rejets urbains (sites AE et ASJ) ont présenté des teneurs en PLA ou en activité ATC (site AE) plus importantes qu'aux sites de références (ASE, BMB), indiquant un état de gamétogénèse toujours actif – corroboré par une concordance du rapport sérotonine/dopamine avec les protéines PLA et avec l'ATC (synthèse des pyrimidines) – ce qui est contraire à un état de ponte. Par ailleurs, l'activité COX des gonades des sites impactés (AE, BE, ASJ, BSC) était augmentée et corrélée avec la plupart des biomarqueurs de stress (IGS, IC, FC, GST, MT, LPO, ADN), démontrant un état d'inflammation peu propice au déclenchement de la ponte. Enfin, une analyse multi-



variée s'est avérée utile pour discriminer les sites entre eux (efficacité > 71 %) et à démontrer l'importance de l'emploi des biomarqueurs neuroendocriniens et de stress à rapporter l'état physiologique des myes (GAGNÉ *et al.*, 2007). Cette étude indique encore les effets de la pollution chimique impartie aux bivalves de certains sites et leur vulnérabilité vraisemblablement plus forte aux contaminants en période de gamétogénèse.

## 2.2 Immunocompétence

La fonction immunitaire de myes exposés à long terme à des pollutions mixtes et diffuses comme celles du Saguenay peut être compromise et mener à une plus grande susceptibilité aux infections microbiennes ou à d'autres pathologies (*e.g.*, cancers). La phagocytose, entre autres, constitue un important moyen par lequel les hémocytes – cellules de l'hémolymphe composées de granulocytes et de hyalinocytes – peuvent gérer la prise en charge et l'élimination de microorganismes indésirables (GLINSKI et JAROSZ, 1997). Lors de la campagne de juin 1997, nous avons documenté l'immunocompétence de myes récoltés à plusieurs sites du fjord à l'aide d'une technique développée en microplaque qui mesure la capacité des hémocytes à phagocyter des bactéries fluorescentes (BLAISE *et al.*, 2002b). Ce biomarqueur d'immunocompétence nous a signalé, comparativement aux sites de références ASE et BMB, une augmentation significative de l'activité de phagocytose aux sites AE, BE et ASJ, au sujet desquels des effets indésirables chez la mye ont déjà été observés précédemment, et qui se trouvent à plus grande proximité des sources industrielles et urbaines provenant de l'amont (Figure 1). La présence dans les eaux du fjord de microbes d'origine urbaine ainsi que de métaux de sources industrielles peuvent expliquer l'effet de stimulation de phagocytose observé. Bien que les métaux peuvent effectivement inhiber la phagocytose à fortes concentrations, ils sont reconnus capables de la stimuler à des concentrations moins importantes (BROUSSEAU *et al.*, 2000; FOURNIER *et al.*, 2001).

Par ailleurs, l'étude temporelle réalisée aux sites BE, ASE et BMB de mai à octobre 1997 aura permis de mettre en évidence une plus forte activité de phagocytose chez les hémocytes des myes durant la période estivale, notamment en juillet et en août (BLAISE *et al.*, 2002a). D'une part, l'augmentation de la température de l'eau à cette période est propice à une plus grande prolifération de microbes, ce qui peut en augmenter l'ingestion par les bivalves filtreurs et vraisemblablement induire une stimulation de phagocytose. D'autre part, la diminution de teneurs en métallothionéines chez la mye, afin d'augmenter la disponibilité de zinc physiologique pressenti nécessaire pour la production de Vg durant ces mois où des activités de reproduction sont encore possibles, peut aussi accroître l'exposition des hémocytes aux métaux et donc moduler leur réponse phagocytaire.

En revanche, l'étude de terrain de juin 2005 a nettement démontré une baisse de la capacité phagocytaire des myes de sites sujets à des sources de contamination en comparaison avec celles des sites de référence, et ce, autant pour la technique conduite par cytométrie en flux (paramètre analysé : % d'hémocytes ayant ingéré des billes de latex fluorescentes) que pour celle entreprise en microplaque (paramètre analysé : fluorescence de bactéries ingérées/mg de protéine d'hémocytes). Après analyse cytométrique, les myes des sites de référence ASE et BMB présentaient un pourcentage supérieur d'hémocytes capables de phagocyter à celui des myes des sites AE, BE, ASJ et BSC. Seul le site AB démontrait un pourcentage d'hémocytes phagocytaires semblable à celui des sites de référence (GAGNÉ *et al.*, 2008). Des résultats identiques furent obtenus avec l'essai de phagocytose en microplaque (résultats non publiés de l'étude de juin 2005). L'intérêt du biomarqueur d'immunocompétence basé sur la phagocytose est davantage discuté plus loin en fonction de sa pertinence à l'égard des effets cumulatifs de contaminants sur les populations de myes.

## 2.3 Effets intégrés de la contamination sur les myes du fjord

L'emploi d'une batterie de biomarqueurs s'avère incontournable dans une tentative de mieux comprendre et d'interpréter les dangers/risques de contaminants impartis aux populations de myes de la zone intertidale saguenéenne, puisque des interactions peuvent exister entre certains et que, par conséquent, l'un pourra parfois moduler l'expression de l'autre à la hausse ou à la baisse (BLAISE et GAGNÉ, 2008). L'intégration des mesures individuelles de plusieurs biomarqueurs et leur réduction en une seule valeur indicielle présente un intérêt qui permet de classer des lieux géographiques en fonction de leur dangerosité relative (NARBONNE *et al.*, 1999). Nous avons appliqué un indice similaire mais plus robuste aux déviations de la normalité pour les zones intertidales du Saguenay étudiées en juin 1997 dans le but d'en dégager le potentiel écotoxique propre à chacune. Plusieurs biomarqueurs rapportés au tableau 2 ont été exploités dans sa construction. L'indice catégorise l'intensité des réponses de chaque biomarqueur à partir de la somme des rangs obtenus de valeurs moyennes ou de médianes d'un sous-ensemble de  $n = 16$  myes. La somme des rangs pour chaque biomarqueur d'un site établit alors une valeur indicielle qui témoigne de l'intensité de réponse avec laquelle on peut effectuer des comparaisons intersites (BLAISE *et al.*, 2002a).

L'indice suggère une dichotomie en matière de stress anthropiques impartis aux myes des zones intertidales du fjord, alors que les sites amont AE, BE et ASJ présentent des valeurs indicielles plus fortes que celles des sites aval PS, ASE, AB et BMB (Figure 2). Les sources de pollution (industrielles et urbaines combinées de la ville de Saguenay, secteurs Chicoutimi et de La Baie) de l'amont – plus importantes que celles, davantage

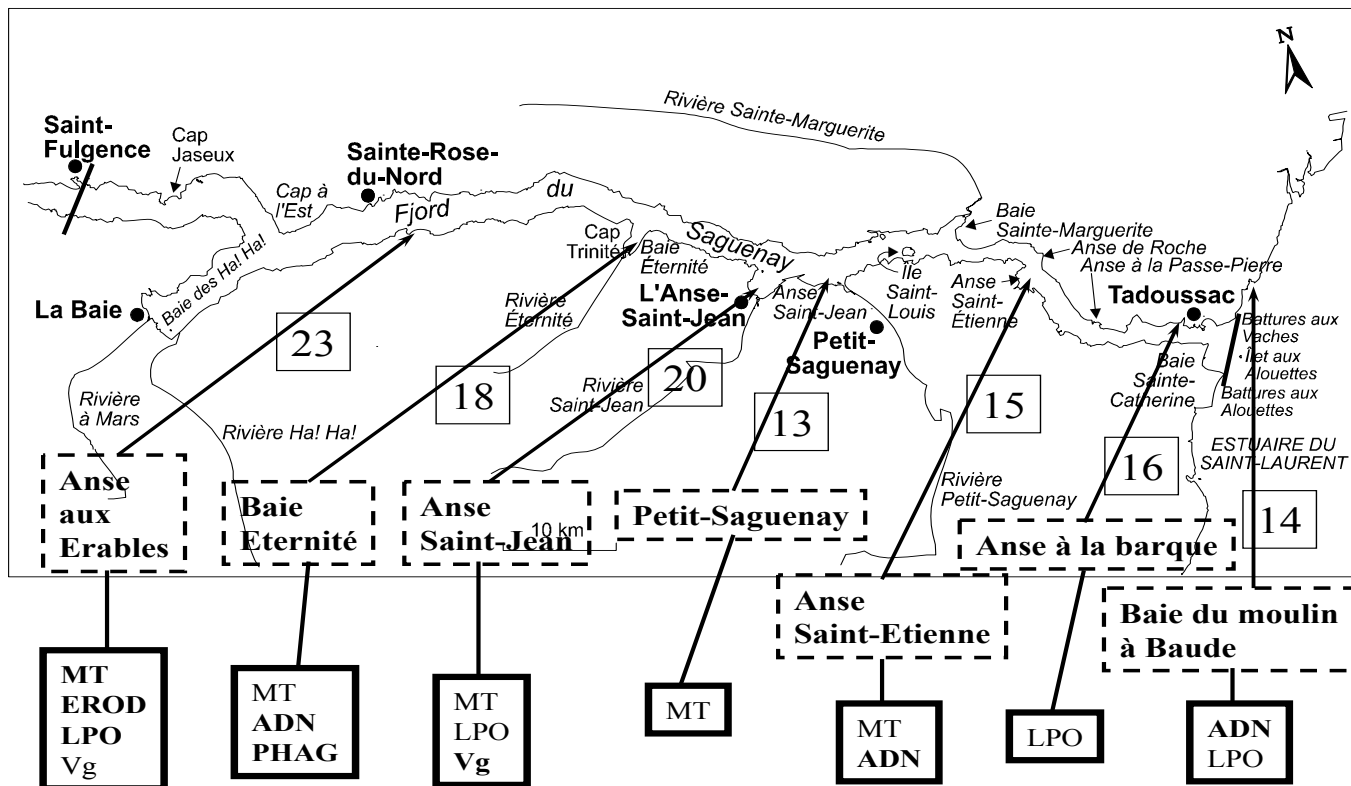


Figure 2. Valeurs indicielles relatives d'impact de zones intertidales basées sur des classes d'intensité de réponses de plusieurs biomarqueurs (voir texte pour explications). Les biomarqueurs rapportés en police de type gras ont généré la plus forte classe de réponse aux sites indiqués, alors que ceux en police de type normal ont généré des réponses situées dans une classe significativement plus élevée que celle des sites de référence ASE (Anse-Saint-Étienne) ou BMB (Baie-du-Moulin à Baude).  
*Relative intertidal zone index values based on ranked intensity classes of biomarker responses (see text for explanation). Biomarkers in bold print were in the strongest response class, while those in normal script were situated in a response class that was significantly higher than that of either reference sites, ASE (Anse-Saint-Etienne) or BMB (Baie-du-Moulin à Baude).*

locales et parfois saisonnières, des zones situées plus en aval – exposent vraisemblablement les myes à une plus forte charge en contaminants. Ainsi, les myes du site AE ont présenté les plus fortes réponses des biomarqueurs MT, CYP1A1 et LPO, le site BE en ADN et PHAG et le site ASJ en PLA (Figure 2). On notera aussi une réponse la plus élevée pour le biomarqueur ADN associée aux sites de référence ASE et BMB. Bien que ces sites ne présentent aucune source de pollution apparente ou directe (Tableau 1), on ne peut y exclure l'influence de source épisodique de pollution, lesquelles ont, dans ce cas-ci, induit des dommages à l'ADN des hémocytes (BLAISE *et al.*, 2002a).

La recherche de méthodes d'intégration d'indicateurs biochimiques pour évaluer l'état de santé de bivalves suscite un vif intérêt. Celui-ci s'explique par les études écotoxicologiques menées sur le terrain qui sont souvent confrontées à une complexité associée à la variation spatiale (*e.g.*, caractéristiques géologiques ou locales des habitats), variabilité temporelle (*i.e.*, cycle de reproduction, saisons) ou à la disponibilité d'organismes au site de collecte. De tels facteurs peuvent limiter l'acquisition des données et leurs analyses basées sur la distribution normale

des données. Certaines stratégies à appliquer dépendent de l'obtention d'une distribution normale des données, ce qui n'est pas toujours le cas dans les études de terrain. Parmi certaines stratégies intégratrices, un indice intégré de biomarqueurs, dit « integrated biomarker response » ou IBR, a été développé en tenant compte de la moyenne et de la variance des réponses normalisées. Celles-ci sont alors reportées sur des figures multi-axes d'apparence étoilée ou « star plots » (Beliaff et Burgeot, 2002). L'indice IBR constitue la somme des aires de réponses pour chacun des biomarqueurs et permet de visualiser l'ensemble des réponses. Une autre échelle d'intégration de biomarqueurs a aussi été proposée par NARBONNE *et al.*, (1999). Dans cette méthode, qui dépend de la distribution normale des données, chaque mesure de biomarqueur est corrigée selon un facteur de discrimination défini par la somme de l'intervalle de confiance et de la différence entre la plus petite et la plus grande des données, le tout étant ensuite divisé par l'intervalle de confiance. Au final, les valeurs corrigées de chaque biomarqueur sont additionnées pour former l'indice. Des approches multivariées indépendantes de la distribution des données ont aussi été examinées. Ces modèles dépendent plutôt de la formulation ou de la création de règles qui intègrent les différents

biomarqueurs plutôt que de la combinaison (multiple) linéaire de variables paramétriques. Dépassant largement le contexte de la présente revue, mentionnons néanmoins la méthode des ensembles approximatifs (CHÈVRE *et al.*, 2003a) et l'analyse hiérarchique basée sur des arbres de décision (CHÈVRE *et al.*, 2003b) au sujet desquelles le lecteur peut se documenter.

Dans le cadre de nos travaux, nous avons aussi exploité les réseaux de neurones, algorithmes intelligents et adaptatifs qui se basent sur les réseaux neuronaux et l'établissement d'une connexion variable de neurones durant l'apprentissage. Ces réseaux « apprennent » en trouvant des relations, qu'elles soient linéaires ou non, pour prédire des effets ou l'appartenance à un site à partir d'un sous-ensemble de données. Par analogie à l'analyse factorielle, les réseaux de neurones artificiels offrent la possibilité de sélectionner un sous-groupe de variables qui peuvent prédire des effets selon un logiciel qui simule la sélection génétique. Par ailleurs, les variables qui ne sont pas impliquées dans la prédiction des effets sont éliminées un peu à l'instar d'une sélection naturelle. Appliqués à nos biomarqueurs d'effets physiologiques, nous avons voulu voir s'ils pouvaient prédire des changements au niveau des populations des myes reflétés par la distribution de l'âge, la densité des myes et par le nombre de coquilles vides (GAGNÉ *et al.*, 2008). La modélisation a montré qu'un réseau de neurones artificiel utilisant les algorithmes de sélection génétique et d'apprentissage par rétro-propagation (backpropagation) confirmait que les biomarqueurs suivants étaient prédictifs des paramètres populationnels avec moins de 20 % d'erreur : indice gonado-somatique, la maturation des gonades, l'activité MET des mitochondries à basse température (0 - 4 °C), la peroxydation des lipides (LPO), le dommage à l'ADN et la capacité de phagocytose (PHAG). L'intégrité du système immunitaire et du matériel génétique, la mesure du stress oxydatif, l'activité des gamètes et le transport d'électrons des mitochondries à basse température apparaissent donc des paramètres critiques pour le maintien des populations de myes dans le fjord du Saguenay et l'estuaire du Saint-Laurent (GAGNÉ *et al.*, 2008).

En juin 2002, nous avons récolté des myes à plusieurs sites au Saguenay dans le but d'explorer les relations possibles existant entre la métrologie des populations (densité d'animaux vivants et morts / m<sup>2</sup>, la distribution d'âge et le rapport longueur sur âge (= indice de croissance ou IC) et la réponse de biomarqueurs (MT, LPO, PLA, IGS, FC). Tous sites confondus, l'analyse statistique intersite a généralement révélé que le nombre d'animaux morts et l'âge des myes semblaient davantage influencés par des facteurs naturels propres à chaque site plutôt qu'à la présence de contaminants (BLAISE *et al.*, 2003). En revanche, le nombre d'animaux vivants et l'IC sont apparus des paramètres essentiellement liés aux contaminants au vu de leurs valeurs amoindries aux sites impactés. Par ailleurs, la mesure de biomarqueurs réalisée chez les myes de deux sites impactés (BSC, AE) et de deux sites de référence (BMB, ASE)

a permis de constater une plus grande détresse physiologique chez les premières (hausse en LPO à BSC et AE; hausse de MT à AE; hausse de PLA à AE imputable aux sources urbaines de l'amont; baisse de PLA et de IGS à BSC imputable au TBT; baisse en FC à BSC et AE), ce qui conforte les relations existant entre certains paramètres métrologiques des populations et des effets notés au niveau biochimique (BLAISE *et al.*, 2002a). Ainsi, l'IC, le nombre d'animaux vivants, le FC, l'IGS et les biomarqueurs mesurés apparaissent collectivement être de bons paramètres indicateurs pour jauger les pressions anthropiques. Nous ne pouvons cependant pas exclure l'influence des facteurs propres à l'écosystème du fjord (caractéristiques de l'habitat intertidal, prédation, sources de nutrition phyto-planctoniques, salinité, etc.) dans l'interprétation et la signification globale de nos résultats. Lors de l'étude conduite en juin 2005 (déjà évoquée à la section 2.2), l'analyse canonique – mettant en relief des paramètres de population couplés à des mesures de biomarqueurs – aura aussi confirmé une corrélation étroite entre la densité d'animaux vivants et l'IC avec des biomarqueurs d'immuno-compétence (viabilité des hémocytes, PHAG) et de dépenses énergétiques (MET), leur attribuant ainsi la capacité de prédire des effets au niveau de la population de myes (GAGNÉ *et al.*, 2008).

#### 2.4 La baie Sainte-Marguerite

La baie Sainte-Marguerite (Figure 1) est apparemment un lieu de consommation de myes par le béluga, *Delphinapterus leucas* (communications avec le personnel scientifique du Parc marin Saguenay), cétaqué résident du fjord et de l'estuaire du Saint-Laurent soumis aux multiples pressions de contaminants présents dans cet écosystème hydrique (MARTINEAU *et al.*, 2002). Il est allégué que ce site servirait de refuge pour les femelles et leurs petits au cours de l'été pour éviter l'agressivité de mâles adultes solitaires. Par ailleurs, l'alimentation y serait diversifiée et, enfin, l'eau de surface dulçaquicole plus chaude provenant de la rivière Sainte-Marguerite pourrait s'avérer bénéfique pour les jeunes bélugas. Dans le but d'estimer la qualité des myes de la baie Sainte-Marguerite (BSM) puisque ces bivalves sont une source de nutrition des bélugas, nous avons effectué des mesures de biomarqueurs chez des animaux récoltés à ce site en octobre 2006 et les avons comparées à celles générées chez les myes du site de référence ASE situé à quelque 8 km en aval (Figure 1).

Plus jeunes en âge que celles du site ASE (7,0 ± 0,7 ans), les myes du site BSM (5,3 ± 0,7 ans) indiquent cependant que ces dernières sont davantage exposées à des événements de pollution que ces premières (Tableau 3). Le FC des myes du site BSM est plus faible, ce qui peut suggérer un état de santé moindre que celui du site ASE, mais la différence peut être fonction de la différence en âge qui ne reflèterait pas alors un effet pollutionnel. En effet, une analyse de covariance à deux

**Tableau 3. Mesures de biomarqueurs déterminées chez les myes de la baie Sainte-Marguerite (BSM) et de l'Anse-Saint-Étienne (ASE) en octobre 2006.****Table 3. Biomarker data generated in Baie Ste-Marguerite (BSM) and Anse -aint-Etienne (ASE) clams in October 2006.**

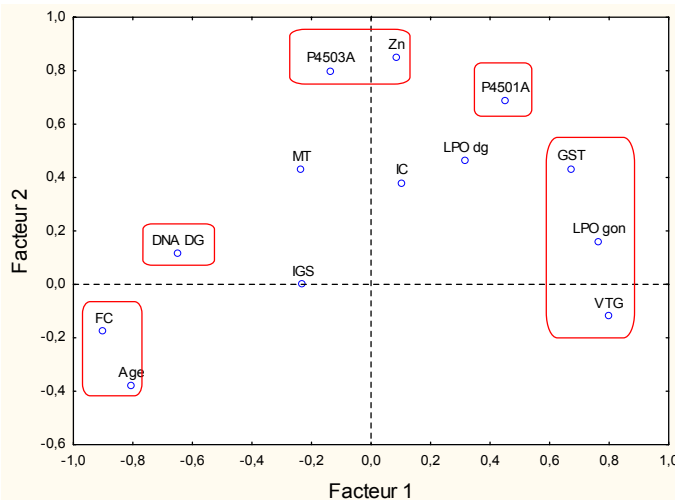
Biomarqueur <sup>a</sup>	Expression des valeurs (tissu analysé)	Site: valeur moyenne de n = 8 myes ± écart-type		Significativité <sup>b</sup>
		BSM	ASE	
FC	Poids total/longueur de coquille (mye entière)	0,31 ± 0,02	0,51 ± 0,04	p<0,001*
IC	Longueur de coquille/âge (mye entière)	M <sup>c</sup> : 12 ± 0,3 F: 9 ± 0,4	M: 10 ± 0,3 F: 11 ± 0,4	M: p = 0,01* F: p = 0,02 *
IGS	Poids de gonade/poids de tissu mou	0,35 ± 0,1	0,3 ± 0,05	p = 0,7
Vg (PLA)	µg ALP/g gonade (gonade)	M: 1,4 ± 0,3 F: 3 ± 0,3	M: 0,45 ± 0,09 F: 1,1 ± 0,2	M: p = 0,02* F: p <0,001*
Zn libre	µg/mg protéines (glande digestive)	M: 15,8 ± 0,7 F: 12 ± 0,4	M: 13,3 ± 1 F: 8,4 ± 1,6	M: p = 0,11 F: p = 0,38
MT	µmole thiol/mg protéines (glande digestive)	M: 300 ± 34 F: 280 ± 38	M: 420 ± 12 F: 254 ± 17	M: p = 0,04* F: p = 0,5
GST	absorbance/min/mg de protéines (glande digestive)	0,9 ± 0,04	0,7 ± 0,08	P = 0,18
LPO	µg TBAR/mg de protéines (glande digestive)	Glande digestive : 1800 ± 300 Gonade : M: 147 ± 16 F: 141 ± 28	Glande digestive : 1270 ± 225 Gonade : M: 48 ± 8 F: 72 ± 16	p = 0.18 M: p = 0,001* F: p = 0,02 *
ADN	µg ADN/mg de protéines (glande digestive)	5 ± 0,6	13 ± 1	p = 0,02 *
Activité de type P4501A	pg résorufin/min/mg de protéines (glande digestive)	400 ± 25	280 ± 38	p = 0,03 *
Activité de type P4503A	pg fluorescein/min/mg de protéines (glande digestive)	4 ± 0,6	2 ± 0,1	p = 0,2

<sup>a</sup> Référez au tableau 2 pour la description des biomarqueurs.

<sup>b</sup> \* indique une différence significative à p<0.05; les différences significatives entre les mâles et les femelles ont été déterminées par une analyse de variance à 2 facteurs.

facteurs (site, sexe) ayant l'âge comme variable montre plutôt un effet indirect de l'âge sur le FC que le site ou le sexe des myes. L'indice IC démontre que les mâles se développent plus rapidement que les femelles à BSM. En général, les myes de BSM croissent moins rapidement que celles d'ASE. L'IGS n'indique aucune différence entre les sites, les deux genres confondus. En revanche, la PLA est induite chez les mâles et femelles mais plus fortement chez ces premiers au site BSM, ce qui peut signifier l'influence de substances estrogéniques provenant de l'amont ou peut-être aussi un plus riche apport en alimentation. La présence d'une plus forte teneur de zinc labile dans la glande digestive reflète une mobilisation des métaux pour supporter la vitellogénèse chez les femelles. Cependant, l'induction de la MT chez les mâles, contrairement aux femelles, laisse pressager une exposition métallique provenant de sources de pollution de l'amont. Malgré la hausse de GST dans la glande digestive des myes de BSM, celle-ci n'est pas significative, bien que l'on puisse soupçonner une plus forte tendance de détoxification au site BSM en comparaison avec le site ASE. Il existe cependant une différence significative pour la LPO dans la gonade entre les myes des deux sites. Au site d'alimentation BSM pressenti des

bélugas, le nombre de brins d'ADN est significativement plus bas dans la glande digestive, ce qui suggère une baisse de capacité de réparation de l'ADN. Ce premier constat peut être indicatif d'un plus fort dommage nucléaire par une réparation de l'ADN amoindrie dans la glande digestive. Enfin, nous avons constaté des activités CYP1A et CYP3A significativement plus fortes dans la glande digestive des myes au site BSM, ce qui suggère un lien possible avec une exposition aux hydrocarbures et aux produits organiques plus polaires comme certains stéroïdes, pesticides ou des produits pharmaceutiques en provenance de l'amont. Cette activité du cytochrome CYP1A1 n'est pas sans rappeler l'hypothèse selon laquelle les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) seraient impliqués dans l'étiologie du cancer vis-à-vis des bélugas (MARTINEAU *et al.*, 2002). L'analyse en composantes principales construite à partir des données de biomarqueurs du tableau 3 souligne ceux dont l'influence est plus marquée en tenant compte de l'ensemble des réponses de chaque biomarqueur pour les deux sites (Figure 3). Collectivement, ces premiers résultats de mesures de biomarqueurs entrepris chez les myes du site BSM laissent supposer que les myes du site BSM sont davantage exposées à



**Figure 3.** Analyse en composantes principales des biomarqueurs chez les myes récoltées au site d'alimentation des bélugas BSM et au site de référence ASE. Les principaux biomarqueurs ayant un poids factoriel > 0,6 sont identifiés par les rectangles qui expliquent plus de 52 % de la variance totale.

*Principal component analysis of biomarkers from clams collected at BSM (feeding site for belugas) and at ASE (reference site). Biomarkers with factorial weights > 0.6 are circumscribed by rectangles and explain 52% of total variance.*

des événements de pollution (sources industrielles/urbaines de l'amont?) que celles de la station de référence ASE. Toutefois, avant de conclure catégoriquement sur un lien pollutionnel associé à ces myes ou une quelconque influence sur la santé des bélugas qui les consomment, il est dans nos intentions de voir confirmer ces données par d'autres récoltes de myes à l'avenir.

### 2.5 Enjeu émergent : effets possibles du réchauffement

Le réchauffement climatique entraînera des augmentations graduelles de température, parsemées d'épisodes de chaleur probablement plus extrêmes, qui auront pour effet de perturber les processus homéostatiques impliqués dans la survie et la reproduction des ectothermes. Ces organismes ajustent leur métabolisme en fonction de la température de leurs habitats afin de maintenir un équilibre optimal entre la production et la dépense d'énergie. Les fluctuations de température peuvent changer leur susceptibilité vis-à-vis de la pollution vraisemblablement au-delà des capacités de régulation naturelle des bivalves. Par exemple, la vitellogénèse semble suivre le réchauffement saisonnier normal qui fluctue de 8 °C à 20 °C du début mai à la fin juin. Durant cette période, il a été démontré que l'expression de la MT, protéine impliquée dans la séquestration des métaux lourds toxiques, est diminuée pour permettre la mobilisation de métaux essentiels (e.g., zinc) à la vitellogénèse (BLAISE *et al.*, 2002a). Ainsi, l'effet combiné de la température avec une pollution métallique pourrait avoir des conséquences indésirables sur la santé des myes.

Par ailleurs, le stress thermique est reconnu capable d'entraîner un stress oxydatif résultant de la libération d'espèces oxygénées réactives (EOR) ou « reactive oxygen species » durant la respiration cellulaire (ABELE *et al.*, 1998; HEISE *et al.*, 2003). Les mitochondries représentent le principal siège de la production des EOR où il est estimé qu'environ 0,05 - 0,5 % de l'oxygène est converti en EOR. Elles sont formées durant la phosphorylation oxydative à l'étape 3 et durant la formation d'un gradient de protons pour la synthèse de l'ATP (étape 4). En effet, la libération des EOR par les mitochondries était directement associée à la formation d'un gradient de protons où le découplage partiel des transporteurs de protons entraînait leurs fuites dans la membrane intérieure mitochondriale (SKULACHEV, 1998). Selon la littérature, un stress oxydatif des mitochondries est susceptible de se produire dans les situations suivantes : 1) augmentation du nombre de mitochondries découplées (i.e., le transport d'électrons et la formation du gradient de protons ne suivent pas stoechiométriquement la formation d'ATP); 2) augmentation du transport d'électrons inverse par une augmentation de la pression partielle de l'O<sub>2</sub>; 3) élévation de capteurs d'électrons (e.g., les xénobiotiques) facilitant le retrait des électrons à haute énergie pour former le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et 4) changement de l'état d'oxydation des hémoprotéines par une production soutenue d'oxyde nitreux (NO) durant les réactions inflammatoires ou lors de la phagocytose, par exemple. Le transport d'électrons mitochondrial (MET, Tableau 2) était aussi intimement corrélé avec la consommation d'oxygène chez plusieurs espèces aquatiques (KING et PACKARD, 1975).

Dans une étude récente conduite avec la moule d'eau douce *Elliptio complanata*, une exposition *in vitro* des mitochondries du manteau à des substances pharmaceutiques et des contaminants urbains (coprostanol, nonylphenol) augmentait les biomarqueurs MET et MET<sub>T</sub> (Tableau 2) démontrant pour la première fois une interaction entre la présence de contaminants et l'augmentation des dépenses énergétiques au niveau mitochondrial, ainsi que son exacerbation par un accroissement de température dans une plage normale des habitats tempérés (GAGNÉ *et al.*, 2006b). De plus, les moules exposées à un rejet urbain traitant les eaux usées domestiques montraient aussi une élévation de la MET<sub>T</sub> suggérant une plus grande susceptibilité aux changements de température. Ce concept a aussi fait l'objet d'une étude chez la mye en milieu naturel exposée à divers types de pollution anthropique (GAGNÉ *et al.*, 2006a). Ici encore, les réponses des biomarqueurs MET et MET<sub>T</sub> étaient significativement plus élevées chez les myes provenant de sites pollués (AE, BE, ASJ, BSC) comparativement à celles de sites de références (BMB, ASE). Ces effets étaient associés à des FC diminués et à une augmentation des dommages à l'ADN, sans toutefois démontrer une association avec la maturation des gonades.

Nous avons aussi remarqué que l'effet de la pollution et de la température était plus important chez les populations de mye adaptées à des eaux légèrement plus chaudes (fjord) que chez celles adaptées à des températures plus froides (estuaire Saint-Laurent). Ainsi, les animaux adaptés au froid étaient généralement plus indépendants (moins sensibles) aux élévations de température, mais la pollution semblait provoquer une plus grande dépendance de la température. (GAGNÉ *et al.*, 2006a). Un constat similaire a été observé chez la moule bleue *Mytilus edulis* prélevée dans le même secteur de l'estuaire Saint-Laurent (GAGNÉ *et al.*, 2008). En conclusion, la dépendance du biomarqueur MET à l'égard de la température l'associe de façon importante comme cible physiologique critique des effets cumulatifs de la température et la pollution chimique dans les écosystèmes aquatiques.

### 3. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Ce bilan d'études entreprises en zones intertidales du fjord du Saguenay aura tout d'abord confirmé l'intérêt de la mye commune comme organisme phare de la qualité hydrique de cet écosystème unique au Québec. En effet, l'ensemble des biomarqueurs mesurés chez ce bio-indicateur ubiquiste du fjord aura permis de mettre en évidence plusieurs anomalies physiologiques – particulières selon le site – dont souffrent ces animaux soumis à des insultes chimiques résultant d'une pollution mixte et diffuse. Ainsi, plusieurs types d'effets ont été observés sur le système reproducteur des myes (apport estrogénique de rejets urbains, délai de vitellogénèse imputable aux métaux, masculinisation associée à la présence de TBT, perturbation neuroendocrine affectant la ponte et induisant un état d'inflammation), sur leur système immunitaire (stimulation ou réduction de capacité de phagocytose) et sur leur état général de santé (valeur indicielle de biomarqueurs plus élevée pour les zones amont du fjord reflétant une plus forte pression de contaminants). Ces constats argumentent en faveur de vigilance environnementale à l'égard de la qualité des eaux de ce parc marin dont dépend sa très grande biodiversité.

Dans l'immédiat, et pour les années à venir, des études de biomarqueurs annuelles au Saguenay sont encore envisagées dans le but de contribuer à une meilleure connaissance et à une interprétation plus fine des impacts que peuvent avoir les contaminants sur la pérennité des populations de myes. En juin 2006, nous avons aussi récolté des myes afin d'y examiner une relation possible entre la pollution chimique et le processus de

vieillesse. Celui-ci peut se manifester par une accumulation progressive de lipofuscin (« age pigments »)\*, entre autres, chez les cellules neuronales (HAMMER et BRAUM, 1988; YIN, 1996). La production de ces pigments peut être exacerbée par la contamination chimique, particulièrement celle occasionnant un stress oxydatif. Nous publierons prochainement nos trouvailles en ce sens. Par ailleurs, les plus fortes dépenses en énergie (biomarqueurs MET et MET<sub>T</sub>) mises en évidence chez la mye en zones contaminées évoquées dans cet article (GAGNÉ *et al.*, 2006a) feront l'objet d'études plus approfondies dans le but de mieux appréhender l'ampleur de la dépense énergétique et sa relation avec le réchauffement climatique.

En juin 2007, l'effort de terrain s'est intensifié par un échantillonnage de myes réalisé aux 15 zones intertidales indiquées à la figure 1. Leur immunocompétence jaugée par leur capacité de phagocytose, entre autres, a été estimée et fera l'objet d'un écrit à venir. Une analyse toxico-génomique de glandes digestives et de branchies comparant des myes de zones contaminées et de références a aussi été réalisée par des collègues de l'U. de Brest. L'émergence de ce nouvel outil applicable à l'écotoxicologie offre des moyens remarquables d'améliorer notre regard sur le statut biochimique et moléculaire d'organismes exposés aux pollutions.

Enfin, il est important de mentionner que le fjord du Saguenay a été récemment reconnu « lieu de recherche exceptionnel » qui doit être privilégié par la communauté scientifique pour y mener des recherches de longue haleine, suite à l'Atelier international ECOBIM (Ecotoxicologie Bivalves – marqueurs) qui a eu lieu du 30 mai au 1<sup>er</sup> juin, 2007, à l'Institut des sciences de la mer, Université du Québec à Rimouski. Il est de notre entendement que les efforts de recherche consentis à l'égard des bivalves du fjord du Saguenay contribueront globalement à une connaissance accrue des risques cumulatifs liés à la pollution chimique.

### REMERCIEMENTS

Les deux premiers auteurs, associés à la division recherche sur la protection des écosystèmes aquatiques – Groupe de recherche du Centre Saint-Laurent, sont reconnaissants pour les fonds reçus du Plan d'action Saint-Laurent qui ont assuré la conduite des études de terrain ainsi que les ressources humaines et matérielles nécessaires pour l'entreprise des mesures de biomarqueurs en laboratoire. Tous les auteurs remercient leurs directions respectives pour l'appui accordé à ces recherches menées dans le fjord du Saguenay.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABELE, D., B. BURLANDO, A. VIARENGO et H.O. PORTNER (1998). Exposure to elevated temperatures and hydrogen peroxide elicits oxidative stress and antioxidant response in the Antarctic intertidal limpet *Nacella concinna*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 120B, 425–435.
- ANTIZAR-LADISLAO, B. (2008). Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment. A review. *Environ. Intern.*, 34, 292–308.
- BELIAEFF, B. et T. BURGEOT, T. (2002). Integrated biomarker response: a useful tool for ecological risk assessment. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21, 1316–1322.
- BLAISE, C., F. GAGNÉ, J. PELLERIN et P.-D. HANSEN (1999). Determination of vitellogenin-like properties in *Mya arenaria* hemolymph (Saguenay Fjord, Canada): a potential biomarker for endocrine disruption. *Environ. Toxicol.*, 14, 455–465.
- BLAISE, C., F. GAGNÉ, J. PELLERIN, P.-D. HANSEN et S. TROTTIER (2002a). Molluscan shellfish biomarker study of the Saguenay Fjord (Quebec, Canada) with the soft-shell clam, *Mya arenaria*. *Environ. Toxicol.*, 17, 170–186.
- BLAISE, C., S. TROTTIER, F. GAGNÉ, C. LALLEMENT et P.-D. HANSEN (2002b). Immunocompetence of bivalve hemocytes by a miniaturized phagocytosis assay. *Environ. Toxicol.*, 17, 160–169.
- BLAISE, C. F. GAGNÉ, F. et J. PELLERIN (2003). Bivalve population status and biomarker responses in *Mya arenaria* clams (Saguenay Fjord, Québec, Canada). *Fresenius Environ. Bull.*, 12, 956–960.
- BLAISE, C. et F. GAGNÉ (2008). Bioassays and biomarkers, two pillars of ecotoxicology: past, present and prospective uses. *Fresenius Environ. Bull.*, sous presse.
- BORYSLAWSKYJ, M., GARROOD, A.C. et J.T PEARSON (1998). Elevation of glutathione-S-transferase activity as a stress response to organochlorine compounds, in the freshwater mussel. *Sphaerium corneum*. *Mar. Environ. Res.*, 24, 101–104.
- BROUSSEAU P, J. PELLERIN, Y. MORIN, D. CYR, B. BLAKLEY, H. BOERMANS et M. FOURNIER (2000). Flow cytometry as a tool to monitor the disturbance of phagocytosis in the clam *Mya arenaria* hemocytes following *in vitro* exposure to heavy metals. *Toxicol.*, 142, 145–156.
- CHAU Y.K., R.J. MAGUIRE, M. BROWN, F. YANG, S.P. BATCHELOR et J.A.J. THOMPSON (1997). Occurrence of butyltin compounds in mussels in Canada. *Appl. Organomet. Chem.*, 11, 903–912.
- CHÈVRE, N., F. GAGNÉ, P. GAGNON, et C. BLAISE. (2003a). Application of rough sets analysis to identify polluted aquatic sites based on a battery of biomarkers: a comparison with classical methods. *Chemosphere*, 51, 13–23.
- CHÈVRE N, F. GAGNÉ et C. BLAISE (2003b). Development of a biomarker-based index for assessing the ecotoxic potential of aquatic sites. *Biomarkers*, 8, 287–298.
- COSSA D. (1990). Chemical contaminants in the St. Lawrence Estuary and Saguenay Fjord. Dans : *Coastal and Estuarine Studies* 36. EL-SABH, M.I. et N. SILVERBERG (Éditeurs), Springer-Verlag, NY, États-Unis, pp. 239–268.
- DEPLEDGE, M.H. et M.C. FOSSI (1994). The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates. *Ecotoxicol.*, 3, 161–172.
- ERNST, W., S. WEIGELT, H. ROSENTHAL et P.-D. HANSEN (1991). Dans : *Testing bioconcentration of organic chemicals with the common mussel (Mytilus edulis). Bioaccumulation in Aquatic Systems : contributions to the assessment*. NAGEL, R. et R. LOSKILL (Éditeurs), Weinheim, Allemagne, VCH, pp. 99–131.
- FRINGS, C.S., T.W. FENDLEY, R.T. DUNN et C.A. QUEEN (1972). Improved determination of total serum lipids by the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Clin. Chem.*, 18, 673–674.
- FUJIMOTO, Y., S. SAKUMA, T. INOUE, E. UNO et T. FUJITA (2002). The endocrine disruptor nonylphenol preferentially blocks cyclooxygenase-1. *Life Sci.*, 70, 2209–2214.
- FORTIN, G., et M. PELLETIER (1995). *Synthèse des connaissances sur les aspects physiques et chimiques de l'eau et des sédiments du Saguenay : zones d'intervention prioritaire 22 et 23*. Environnement Canada, Conservation de l'Environnement, Centre Saint-Laurent, Montréal, Rapport technique, 212 p.
- FOURNIER M., J. PELLERIN, Y. CLERMONT, Y. MORIN et P. BROUSSEAU (2001). Effects of *in vivo* exposure of *Mya arenaria* to organic and inorganic mercury on phagocytic activity of hemocytes. *Toxicol.*, 161, 201–211.

- GAGNÉ, F., M. MARION et F. DENIZEAU (1990). Metal homeostasis and metallothionein induction in rainbow trout hepatocytes exposed to cadmium. *Fund. Appl. Toxicol.*, 14, 429-437.
- GAGNÉ, F. et C. BLAISE (1995). Genotoxicity of environmental contaminants in sediments to rainbow trout hepatocytes. *Environ. Toxicol. Wat. Qual.*, 10, 217-229.
- GAGNÉ, F. et C. BLAISE (1998). Estrogenic properties of municipal and industrial wastewaters evaluated with a rapid and sensitive chemoluminescent *in situ* hybridization assay (CISH) in rainbow trout hepatocytes. *Aquatic Toxicol.*, 44, 83-91.
- GAGNÉ, F., C. BLAISE, J. PELLERIN et S. GAUTHIER-CLERC (2002). Alteration of the biochemical properties of female gonads and vitellins in the clam *Mya arenaria* at contaminated sites in the Saguenay Fjord. *Mar. Environ. Res.*, 53, 295-310.
- GAGNÉ, F., C. BLAISE, J. PELLERIN, E. PELLETIER, M. DOUVILLE, S. GAUTHIER-CLERC et L. VIGLINO (2003). Sex alteration in soft-shell clams (*Mya arenaria*) observed in an intertidal zone of the Saint-Lawrence River (Quebec, Canada). *Compar. Biochem. Physiol. C*, 134, 189-198.
- GAGNÉ, F. et C. BLAISE (2005). Review of biomarkers and new techniques for *in situ* aquatic studies with bivalves. Dans : *Environmental Toxicity Testing*. THOMPSON, C., K. WADHIA et A.P. Loibner (Éditeurs), A.P. Blackwell Publishers, UK., pp. 207-228.
- GAGNÉ, F., C. BLAISE, C. ANDRÉ et J. PELLERIN (2006a). Implication of site quality on mitochondrial electron transport activity and its interaction with temperature in feral *Mya arenaria* clams from the Saguenay Fjord. *Environ. Res.*, 103, 238-246.
- GAGNÉ, F., C. BLAISE, C. ANDRÉ, C. et M. SALAZAR (2006b). Effects of municipal wastewaters and pharmaceutical products on temperature-dependent mitochondrial electron transport activity in *Elliptio complanata* mussels. *Comp. Biochem. Physiol.*, 143, 388-393.
- GAGNÉ, F., C. BLAISE, J. PELLERIN, E. PELLETIER et J. STRAND (2006c). Health status of *Mya arenaria* bivalves collected from contaminated sites in Canada (Saguenay Fjord, Québec, Canada) and Denmark (Odense Fjord) during their reproductive period. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 64, 348-361.
- GAGNÉ, F., C. BLAISE, J. PELLERIN et C. ANDRÉ (2007). Neuroendocrine disruption in *Mya arenaria* clams during gametogenesis at sites under pollution stress. *Mar. Environ. Res.*, 64, 87-107.
- GAGNÉ, F., C. BLAISE, J. PELLERIN, M. FOURNIER, M.J. DURAND et A. TALBOT (2008). Relationships between intertidal clam population and health status of the soft-shell clam *Mya arenaria* in the St. Lawrence Estuary and Saguenay Fjord (Québec, Canada). *Environ. Intern.*, 34, 30-43.
- GAUTHIER-CLERC S, J. PELLERIN, C. BLAISE et F. GAGNÉ (2002). Delayed gametogenesis of *Mya arenaria* in the Saguenay fjord (Canada): a consequence of endocrine disruptors? *Compar. Biochem. Physiol. C*, 131C, 457-67.
- GIBBS, P.E. et G.W. BRYAN (1996). TBT-induced imposex in neogastropod snails: masculinization to mass extinction. Dans : *Tributyltin: Case Study of an Environmental Contaminant*. DE MORA, S.J. (Éditeur.), Cambridge University Press, Cambridge, UK, Chapter 7, pp. 212-236.
- GLINSKI Z et J. JAROSZ (1997). Molluscan immune defenses. *Arch. Immunol. Theor. Experim.*, 145, 149-155.
- HAMMER, C. et E. BRAUM (1988). Quantification of age pigments (Lipofuscin). *Compar. Biochem. Physiol.*, 90B, 7-17.
- HAHN M.E., B.L. WOODWARD, J.J. SEGEMAN et S. KENNEDY (1995). Rapid assessment of induced cytochrome P4501A (CYP1A) protein and catalytic activity in fish hepatoma cells grown in multi-well plates. Response to TCDD, TCDF, and two planar PCBs. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15, 582-591.
- HEIDRICH, D.D., S. STECKELBROECK et D. KLINGMULLER. (2001). Inhibition of human cytochrome P450 aromatase activity by butyltins. *Steroids*, 66, 763-769.
- HEISE, K., S. PUNTARULO, H.O. PORTNER et D. ABELE (2003). Production of reactive oxygen species by isolated mitochondria of the Antarctic bivalve *Laternula elliptica* under heat stress. *Compar. Biochem. Physiol.*, 134A, 79-90.
- HENDERSON, R.F., W.E. BECHTOLD, J. BOND et J.D. SUN (1989). The use of biological markers in toxicology. *Critical Rev. Toxicol.*, 20, 65-82.



- HERRIES, D.G. (1967). The simultaneous estimation of orthophosphate and carbamoylphosphate and application to the aspartate transcarbamylase reaction. *Biochem. Biophys. Acta*, 136, 95–98.
- KETATA I., DENIER X., HAMZA-CHAFFAI A. et C. MINIER (2008). Endocrine-related reproductive effects in molluscs. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 147, 261-270.
- KING, F. et T.T. PACKARD (1975). Respiration and the activity of the respiratory electron transport system in marine zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 20, 849–854.
- JERMYN, M.A. (1975). Increasing the sensitivity of the anthrone method for carbohydrate. *Anal. Biochem.*, 68, 332-335.
- MARTINEAU, D., K. LEMBERGER, A. DALLAIRE, P. LABELLE, T. LIPSCOMB, P. MICHEL et I. MIKAELIAN (2002). Cancer in wildlife, a case study: beluga from the St. Lawrence estuary, Québec, Canada *Environ. Health Perspect.*, 110, 285–292.
- MATHIEU, M., J.P. BERGERON et A.M.A. DANET (1982). L'aspartate transcarbamoylase, indice d'activité gamétogénétique chez la moule *Mytilus edulis*. *L. Int. J. Invertebr. Reprod.*, 5, 337–343.
- NARBONNE J.F., M. DAUBEZE, C. CLERANDEAU et P. Garrigues (1999). Scale of classification based on biochemical markers in mussels: Application to pollution monitoring in European coasts. *Biomarkers*, 6, 415-424.
- OLIVE, P.L. (1988). DNA precipitation assay: a rapid and simple method for detecting DNA damage in mammalian cells. *Environ. Mol. Mutagen.*, 11, 487–495.
- OLSSON, P.-E., P. KLING, C. PETTERSON et C. SILVERSAND (1995). Interaction of cadmium and oestradiol-17 $\beta$  on MT and vitellogenin synthesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biochem. J.*, 307, 197-203.
- ORSINGER, A., E.S. MARICHICH, V.A. MOLINA et O.A. RAMIREZ (1980). A reliable and sensitive method for the simultaneous determination of dopamine, noradrenaline, 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxy-indol acetic acid in small brain samples. *Acta Physiol.*, 30, 111–115.
- OSADA, M., UNUMA, T. et K. Mori (1992). Purification and characterization of a yolk protein from the Scallop ovary. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 2283-2289.
- PELLETIER, E., et G. CANUEL (1988). Trace metals in surface sediment of the Saguenay Fjord, Canada. *Mar. Poll. Bull.*, 19, 336-338.
- QUINN, B., F. GAGNÉ et C. BLAISE (2004). Oxidative metabolism activity in *Hydra attenuata* exposed to carbamazepine. *Fresenius Environ. Bull.*, 13, 783-788.
- SCHULTE, P. et L.F. MAZZUCKELLI (1991). Validation of biological markers for quantitative risk assessment. *Environ. Health Perspect.*, 90, 239-246.
- SKULACHEV, V.P. (1998). Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics. *Biochem. Biophys. Acta*, 1363, 100–124.
- SUZUKI, T., A. HARA, K. YAMMAGUCHI et K. MORI (1992). Purification and immunolocalization of a vitellin-like protein from the pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Biol.*, 113, 239-245.
- SZABO, G., L. KOVACS et G. TELEGDY (1983). A modified screening method for rapid simultaneous determination of dopamine, noradrenaline and serotonin in the same brain region. *Acta Physiol. Hung.*, 61, 51–57.
- SMITH, J.N. et E.M. LEVY (1990). Geochronology for polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in sediments of the Saguenay Fjord. *Environ. Sci. Technol.*, 24, 874-879.
- SAINT-LOUIS, R., C. GOBEIL et E. PELLETIER (1997). Tributyltin and its degradation products in the St. Lawrence Estuary (Canada). *Environ. Technol.*, 18, 1209–1218.
- VASSEUR, P. et C. COSSU-LEGUILLE (2003). Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. *Environ. Intern.*, 28, 711-717.
- VIARENGO, A., PONZANON, E., DONDERO, F. et R. FABBRI (1997). A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: An application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Mar. Environ. Res.*, 44, 69–84.
- VIGLINO, L., E. PELLETIER et R. ST-LOUIS (2004). Highly persistent butyltins in northern marine sediments: a long-term threat for the Saguenay Fjord (Canada). *Environ. Toxicol. Chem.*, 11, 2673-2681.
- WILLS, E.D. (1987). Evaluation of lipid peroxidation in lipids and biological membranes. Dans : *Biochemical Toxicology: A Practical Approach*. SNELL, K. et B. MULLOCK (Éditeurs), IRL Press, Washington, États-Unis, pp. 127-150.

- YIN, D. (1996). Biochemical basis of lipofuscin, ceroid, and age pigment-like fluorophores. *Free Radical Biol. Medicine*, 21, 871-888.
- ZHU, H., G.L. BANNEBERG, P. MOLDEAUS et H.G. SHERTZER (1994). Oxidation pathways for the intracellular probe 20,70-dichlorofluorescin. *Arch. Toxicol.* 68, 582-587.