

Développement de réponses prédictives, biomarqueurs, pour une évaluation de la qualité des milieux aquatiques, notions de valeurs références et seuils.

Marc Bonnard^{1*}, Mélissa Palos-Ladeiro¹, Pierre Labadie², Hélène Budzinski²

¹ UMR-I 02 SEBIO, UFR SEN, URCA, 51687 Reims Cedex 02, France

² UMR CNRS 5805 Equipe LPTC, Université de Bordeaux, 33405 Talence, France.

* marc.bonnard@univ-reims.fr

Résumé

*Cette action a pour vocation de renforcer le caractère prédictif et la pertinence écologique des biomarqueurs, par la définition de niveaux de référence et seuils, en vue de leur application en biosurveillance de l'environnement aquatique. Les premiers travaux menés dans le cadre de cette action ont visé à caractériser la mesure des biomarqueurs de génotoxicité et d'immunotoxicité chez une espèce sentinelle d'eau douce utilisée en écotoxicologie aquatique, la moule zébrée *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771). Lors d'une première campagne de terrain réalisée entre avril et juillet 2016, des dreissènes provenant d'une population contrôlée (lac du Der-51) ont été transplantées par caging durant 3 et 13 semaines sur différents sites de l'axe Seine (Marnay-sur-Seine, Bougival et Triel-sur-Seine). Le compartiment hémolympatique des bivalves comprenant les cellules hémocytaires a été prélevé afin de mesurer l'intégrité de l'ADN ainsi que différents paramètres immunitaires (mortalité cellulaire, efficacité et capacité de phagocytose...). Les premiers résultats obtenus ont notamment révélé un effort de phagocytose accentué et donc une stimulation plus importante des hémocytes chez les moules transplantées sur le site de Triel-sur-Seine, en comparaison des autres sites qui ont montré des résultats similaires. La réponse des biomarqueurs sera à mettre en relation avec le degré de contamination chimique des masses d'eau par des molécules organiques, révélé par les échantillonneurs passifs de type POCIS ainsi que la bioaccumulation par la dreissène de contaminants biologiques, mesurée dans le cadre de l'action « Transfert trophique des contaminants ».*

1 Application des biomarqueurs dans une approche de biosurveillance active de l'environnement

1.1 Contexte

La Directive-Cadre européenne sur l'Eau (DCE, directive 2000/60/CE) datée du 23 octobre 2000 fixe un certain nombre d'objectifs environnementaux afin d'atteindre le "bon état chimique et écologique" des masses d'eau. Par ailleurs, le diagnostic de la qualité des milieux aquatiques impose, dans le cadre de la DCE, de caractériser leur état écotoxicologique notamment sur la base de critères biologiques (DCE 2000/60/CE). En complément, des approches biocénologiques ont prouvé leur utilité pour évaluer le « bon état écologique » des masses d'eau. Mais à ce stade, la dégradation est installée de longue date et la remédiation devient extrêmement problématique. De nombreuses recherches portent aujourd'hui sur des réponses biologiques mesurées à des niveaux d'organisation plus faible, de la molécule à l'individu, regroupées sous le terme générique de biomarqueurs. L'objectif aujourd'hui en écotoxicologie aquatique est d'améliorer la signification de la réponse donnée par les biomarqueurs et leur pertinence en tant qu'outils précoces dans une démarche d'évaluation du risque pour les populations et/ou communautés. Parmi les organismes d'eau douce couramment utilisés comme espèce sentinelle en écotoxicologie aquatique, figure la moule zébrée *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771). Comme tout mollusque

bivalve, la dreissène est une espèce sessile qui possède une forte capacité de filtration et de bioaccumulation de contaminants ; reflétant ainsi le degré de contamination chimique et/ou biologique des milieux qu'elle occupe. En raison de sa taille limitée et de sa capacité d'acclimatation, la dreissène est un organisme facilement utilisable pour des études d'écotoxicité en laboratoire et transposable sur le terrain via des approches de caging (encagement) pour une biosurveillance active de la qualité des milieux aquatiques. Différents biomarqueurs ont été développés chez cette espèce, notamment les biomarqueurs de génotoxicité (mesure de l'endommagement à l'ADN) et d'immunotoxicité (mesure de la capacité et de l'efficacité de phagocytose...) qui ont montré toute leur pertinence dans une démarche d'évaluation des risques (Jolly *et al.*, 2012 ; Michel *et al.*, 2013). Cette action a pour vocation de renforcer le caractère prédictif et la pertinence écologique de ces biomarqueurs en faisant le lien entre des réponses infra-individuelles et individuelles (dont le comportement et les traits d'histoire de vie). Cette action se trouve dans la continuité des travaux antérieurs menés dans le cadre du PIREN Seine autour des biomarqueurs ; son originalité étant de définir des « valeurs de référence » et des « valeurs seuils » utiles pour le diagnostic de la qualité des milieux aquatiques.

Les premiers travaux initiés en 2016 dans le cadre de cette action et qui impliquent différents partenaires (UMR-I 02 SEBIO-Reims ; UMR CNBS EPOC) ont consisté 1) à mesurer les biomarqueurs de génotoxicité et d'immunotoxicité chez des dreissènes provenant d'une population contrôle après leur transplantation sur différents sites ateliers de l'axe Seine ; 2) à mettre en relation les réponses biologiques obtenues avec le degré de contamination chimique et biologique des masses d'eau ; et 3) de comparer la réponse des biomarqueurs obtenue avec des données d'autres campagnes réalisées au sein de l'UMR-I 02 SEBIO.

1.2 Méthodologie

1.2.1 Sites d'étude

Des dreissènes provenant d'une population contrôle du lac du Der-Marne (51) (Sainte Marie du lac Nuisement ; GPS : 48° 36' 23.04" N, 4° 46' 37.92" E), ont été échantillonnées en mars 2016. Cette population de dreissènes est bien caractérisée, ayant fait l'objet depuis plusieurs années d'études au sein de l'UMR-I 02 SEBIO. Après leur transfert et acclimatation au laboratoire, en vue de calibrer la taille des organismes utilisés dans l'expérimentation, les dreissènes ont été transplantées entre avril à juillet 2016 sur différents sites ateliers de l'axe Seine (Marnay-sur-Seine - GPS : 48° 30' 46.08" N, 3° 33' 33.12" E / Bougival – GPS : 48° 51' 56.16" N, 2° 8' 25.08" E / Triel-sur-Seine – GPS : 48° 58' 48" N, 2° 0' 24.98" E) (voir action 2.3.2.3).

Les dreissènes (à raison de 300 individus/site) ont été laissées durant 3 semaines (avril 2016) et 13 semaines (juillet 2016) sur sites. Cette période comprend notamment l'épisode de crue qu'a subi la Seine, courant de l'année 2016. À chaque point/site de prélèvement, les paramètres physico-chimiques de l'eau (nitrite, nitrate, ammonium, DBO, DCO, MES, pH, O₂, température, conductivité) ont été mesurés.

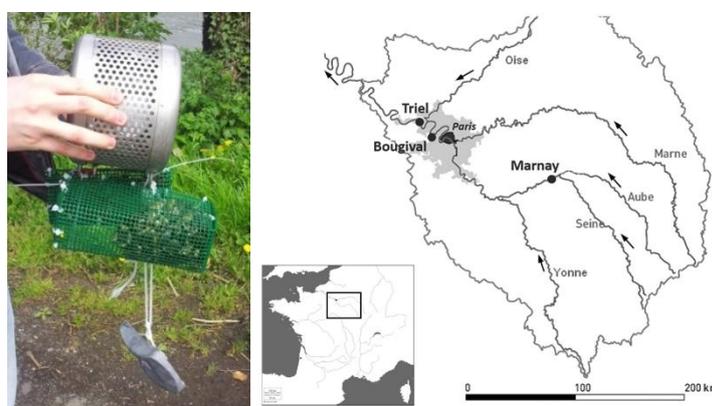


Figure 1 : Photographie du dispositif mis en place sur les sites d'étude en vue d'évaluer les effets écotoxiques chez les dreissènes (encagement) et le degré de contamination chimique des masses d'eau via les échantillonneurs passifs de type POCIS.

En parallèle, des échantillonneurs passifs de type POCIS ont été disposés sur sites durant les trois premières semaines afin de caractériser le degré de contamination chimique des masses d'eau par les molécules organiques (Figure 1).

1.2.2 Réponses biologiques

Différents paramètres biologiques ont été mesurés chez les dreissènes (paramètres morphométriques, indice de condition – voir action 2.3.2.3. « Transfert trophique »). Le compartiment hémolympatique des dreissènes contenant les cellules hématocytaires a été prélevé afin de mesurer différents paramètres cellulaires (mortalité hématocytaires) et immunitaires (efficacité et capacité de phagocytose) par cytométrie en flux ainsi que le degré d'endommagement à l'ADN par le test des comètes.

1.3 Résultats préliminaires

Les premiers résultats obtenus dans le cadre de cette campagne ont montré après 3 semaines de transplantation une mortalité des dreissènes similaire entre les trois sites d'étude, étant de l'ordre de 10-12%. Après 13 semaines de transplantation, une différence peut être constatée pour le site de Marnay-sur-Seine en amont de l'agglomération parisienne (19% de mortalité) en comparaison des sites ateliers situés en aval : Bougival et Triel-sur-Seine (10%).

L'analyse des paramètres cellulaires n'a montré aucune différence notable de la mortalité hématocytaire entre les sites, mais une tendance à la diminution pour les sites de Bougival et Triel-sur-Seine entre 3 et 13 semaines. La capacité et l'efficacité de phagocytose des cellules hématocytaires sembleraient supérieures chez les moules transplantées sur le site de Triel-sur-Seine, et ce, dès le premier temps de transplantation, en comparaison des sites de Marnay-sur-Seine et Bougival qui ont montré des résultats similaires à nos valeurs de référence (Figure 2). Les premiers résultats de l'analyse de l'endommagement à l'ADN des hématocytes confirmeraient cette tendance : Triel-sur-Seine < Marnay-sur-Seine=Bougival. Ces premiers résultats suggèreraient un **effort de phagocytose accentué** et donc une **stimulation plus importante des hématocytes chez les moules transplantées sur le site de Triel-sur-Seine**.

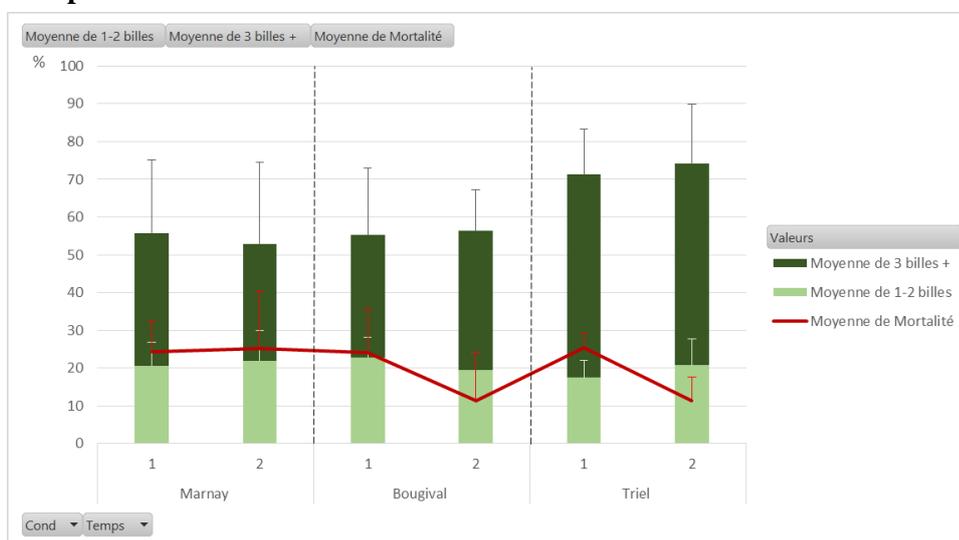


Figure 2 : Mortalité cellulaire (courbe rouge), capacité de phagocytose (histogrammes clair + foncé) et efficacité de phagocytose (histogrammes foncé) des cellules hématocytaires prélevées sur les dreissènes encagées durant trois semaines (1) et 13 semaines (2) sur les sites de Marnay-sur-Seine, Bougival et Triel-sur-Seine.

Ces résultats nécessitent encore d'être confirmés et vont être mis en relation avec l'analyse des contaminants organiques captés par les échantillonneurs passifs (en cours) ainsi que les données de bioaccumulation de pathogènes (action 2.3.2.3. « Transfert trophique ») obtenue lors de cette même campagne. L'ensemble de ces expérimentations va être répété dans le cadre d'une seconde campagne de prélèvement prévue sur l'axe Seine lors de la période Octobre-Décembre 2016. En complément, une caractérisation de la quantité et de la qualité de la matière organique dans l'eau va être réalisée (voir action 2.3.1.1).