

PROGRAMME PNETOX



24631 RM



VALIDATION D'INDICATEURS BIOLOGIQUES DE LA CONTAMINATION DES ECOSYSTEMES HYDRIQUES DULCAQUICOLES ET DE SES EFFETS TOXIQUES

Biomarqueurs et bioindicateurs mesurés en Haute Moselle

Campagne de 1998

RAPPORT DE SYNTHÈSE

CEMAGREF. Lyon

Unité de Recherche Biologie des Ecosystèmes Aquatiques. B.E.A.

ENTPE. Lyon Laboratoire des Sciences de l'Environnement

Université de Metz. Unité de Recherche E.B.S.E.

« Ecotoxicité, Biodiversité, Santé Environnementale »

Université L. Pasteur. Strasbourg Centre d'Analyses et de Recherches.

INSERM U 42. Lille.

P. VASSEUR, Coordinateur

Mai 1999

SOMMAIRE

	Page
I. Résumé de l'étude	1
II. Problématique	4
III. Matériel et méthodes	7
IV. Résultats	8
IV.a. Réponses des biomarqueurs étudiés chez les poissons	8
IV.a. 1. EROD et GST / chevaines et goujons	8
IV.a. 2. Acétylcholinestérases sanguines	8
IV.a. 3. Génotoxicité chez les chevaines	8
IV.a. 4. Relation entre les biomarqueurs et les résultats des analyses chimiques	9
IV.b. Réponses des biomarqueurs étudiés chez les bivalves	10
IV.b. 1. Activités des enzymes de biotransformation. GST et systèmes d'élimination	10
IV.b. 2. Activités des enzymes de détoxification : lysosomes et antioxydants	10
IV.b. 3. Biomarqueurs de cytotoxicité : lipoperoxydation et oxydation protéique	12
IV.b. 4. Génotoxicité dans les hémocytes et les glandes digestives	12
IV.c. Etude des peuplements d'oligochètes et des microcrustacés	13
IV.d. Etude de la macrofaune benthique	14
IV.d. 1. Sphéridés	14
IV.d. 2. Entomofaune	14
IV.d. 3. Relations macroinvertébrés-mésohabitat	15
IV.e. Etude des communautés de macrophytes aquatiques	15
IV.f. Résultats des analyses physico-chimiques des sédiments et des eaux interstitielles	16
V. Discussion	16
VI. Conclusion	17
VII. Références bibliographiques	18

I. RESUME DE L'ETUDE

La finalité de cette recherche est la validation par des études de terrain, de bioindicateurs de perturbation des écosystèmes dulçaquicoles, incluant les compartiments hydriques et sédimentaires.

L'étude intègre trois approches complémentaires :

- **biologique**, par l'étude des biomarqueurs, biochimiques, génétiques et ultrastructuraux chez les poissons et les bivalves benthiques,
- **écologique**, par l'étude des taxocénoses (endo)benthiques,
- **analytique**, pour ce qui concerne la contamination des sites étudiés.

Les objectifs sont :

- l'établissement des relations entre la réponse des biomarqueurs biochimiques, histologiques ou génétiques, le profil de contamination des milieux hydriques, et l'état des taxocénoses benthiques, en tenant compte du caractère transitoire de certaines réponses,
- la recherche de biomarqueurs de toxicité traduisant les troubles métaboliques ou les lésions des constituants cellulaires pouvant être responsables de perturbation des biocénoses,
- la sélection des indicateurs les plus pertinents en terme de surveillance des niveaux de contamination et de l'état de santé des écosystèmes, pour ce qui concerne les sites et les profils de contamination étudiés.

Au cours de cette étude de la validation d'indicateurs biologiques en tant qu'éléments de diagnostic de la qualité des écosystèmes et des effets des polluants sur les biocénoses, nous nous sommes attachés à :

- comparer la réponse des indicateurs biologiques aux niveaux individuels et populationnels,
- évaluer le caractère prédictif des biomarqueurs mesurés chez les poissons et les bivalves quant à l'impact des perturbations sur les écosystèmes et comparer simultanément la réponse de ces vertébrés et invertébrés.
- étudier dans quelle mesure les variables biologiques sélectionnées rendent compte des perturbations des milieux naturels.

L'étude a été menée sur un **tronçon d'une soixantaine de kilomètres sur la Haute-Moselle**, depuis l'amont de la confluence de la Moselle avec la Vologne, soit la station d'Eloyes, jusqu'à la station la plus aval de Velle sur Moselle proche de Toul. Deux stations intermédiaires ont été fixées à Archettes et à Igney, situées respectivement à l'amont et à l'aval d'Epinal (figure 1). Les quatre stations couvrent donc une zone assez anthropisée et caractérisée **par** un gradient de perturbations d'origine agricole, domestique (agglomération d'Epinal en particulier) et industrielle (zone aval d'Epinal).

Les études ont porté sur des variables biologiques mesurées au niveau des poissons et des bivalves (indicateurs biologiques individuelles ou biomarqueurs) d'une part, et au niveau des populations animales et végétales d'autre part (indicateurs biologiques populationnels).

Les poissons analysés sont des espèces autochtones (chevaine et goujon) prélevées au niveau des différentes stations par pêche électrique. **Les bivalves** sont des espèces également autochtones, *Unio tumidus*, mais provenant de sites témoins dont les individus ont été transplantés au niveau des différentes stations pendant 7 ou 21 jours.

Les taxocénoses étudiées sont **les populations d'invertébrés benthiques, oligochètes, microcrustacés benthiques, composantes de l'entomofaune, et les populations végétales de macrophytes**. L'étude des communautés végétales n'était pas prévue initialement et a été ajoutée au programme de recherche.

La première campagne a été réalisée de mai à novembre 1998 pour ce qui concerne l'étude des communautés. L'étude des biomarqueurs a été réalisée en juin-juillet, les poissons ayant été prélevés au cours de la dernière semaine de juin, la transplantation des bivalves ayant eu lieu au cours des trois premières semaines de juillet. Lors de la collecte des animaux, ceux-ci ont été disséqués sur place, les tissus fixés ou congelés dans l'azote aussitôt, voire étudiés dans la foulée pour ce qui concerne notamment les essais des Comètes pour les études de génotoxicité. Une deuxième campagne est prévue début juin 1999.

Le calendrier des essais et la nature des investigations réalisées sont résumées sur le tableau 1

Les biomarqueurs sélectionnés peuvent être classés en quatre catégories, selon les mécanismes auxquels ils participent :

- biotransformations :

- . cytochrome P450 1A1, glutathion transférases (GST)
- . les systèmes d'efflux des métabolites évalués par les activités ATPasiques,

- détoxification :

- . activité lysosomiale mesurée par les β -glucuronidases,
- systèmes antioxydants comprenant les activités des glutathion-peroxydases, sélénium dépendantes et indépendantes (SeGPx et Se-ind-GPx), et de la glutathion réductase (GRd) impliquée dans la régénération du glutathion réduit (GSH) à partir de sa forme oxydée (GSSG), les formes oxydées et réduites étant mesurées simultanément aux activités enzymatiques,

- toxicité cellulaire :

- . inhibition des acétylcholinestérases sanguines,
- . lipoperoxydation (LPO) mesurée par les taux de malondialdéhyde (MDA),

- génotoxicité :

- . dommages à l'ADN, évalués par le test des Comètes (érythrocytes de poissons), et par RT-PCR (glandes digestives des bivalves)
- micronoyaux mesurés par techniques histocytochimiques (hémocytes de bivalves).

D'autres paramètres physiologiques ont été mesurés chez les poissons : taille, poids, sexe, et rapport gonadosomatique (RGS) et indice hépatosomatique (IHS) chez les chevaines.

Les indicateurs biologiques populationnels établis à partir de la liste faunistique des peuplements d'oligochètes, de microcrustacés, des macroinvertébrés benthiques et de la liste floristique des communautés végétales de macrophytes ont permis de caractériser les paramètres suivants :

- **structure** des populations et des communautés,
- **abondance/dominance**
- **diversité**

Ces indicateurs biologiques individuels et populationnels ont été confrontés aux caractéristiques physico-chimiques des sédiments prélevés au niveau des quatre stations.

Les analyses physico-chimiques effectuées sur les sédiments et les eaux interstitielles concernent les paramètres physico-chimiques classiques (granulométrie, composition, carbone organique) et le taux des micropolluants organiques (les hydrocarbures aromatiques polycycliques ou HAPs, les organochlorés dont les polychlorobiphényles ou PCBs) et minéraux (arsenic, chrome, cadmium, cuivre, plomb, mercure, nickel, zinc et étain).

La contamination chimique des poissons a été appréciée par les teneurs en micropolluants organiques (lindane, DDE, hexachlorobenzène, PCBs) des muscles, rapportées à la teneur en lipides et par les teneurs en métaux.

Les résultats ont mis en évidence une très bonne concordance des biomarqueurs mesurés chez les poissons et les bivalves, et les indicateurs biologiques populationnels (tableau 2).

Les biomarqueurs suivants témoignent d'une dégradation de la qualité du milieu dans les deux stations les plus aval étudiées, soit à Igney et à Velle s/Moselle, alors qu'aucun effet n'a été noté sur les deux premières stations à Eloyes et Archettes situées en amont d'Épinal. :

- l'augmentation de l'activité EROD hépatocytaire chez les poissons,
- l'augmentation de l'activité lysosomiale, la diminution des activités antioxydantes dans la glande digestive et les branchies, l'induction de la lipoperoxydation, chez les bivalves.

Les marqueurs de génotoxicité tels que les micronoyaux dans les hémocytes des *Unio* et les altérations génomiques mesurées par les empreintes à l'ADN mettent en évidence des effets génotoxiques allant croissant de l'amont à l'aval. L'augmentation des micronoyaux est déjà significative à la première station après 21 jours d'exposition des bivalves. Les résultats des essais des comètes chez les poissons sont en accord avec les résultats des micronoyaux, mais les cassures à l'ADN dans les érythrocytes sont par contre plus marquées aux trois premières stations qu'à la station la plus aval.

Les études de la **structure des populations des invertébrés benthiques** soulignent la dégradation de l'écosystème à l'aval d'Épinal, les deux stations d'Igney et plus encore celle de Velle s/Moselle apparaissant les plus pauvres en terme d'abondance et de biodiversité des espèces. Les deux stations d'Eloyes et d'Archettes sont de qualité proche. Tout en restant meilleures que les deux autres, ces stations sont cependant déjà altérées d'après l'analyse des taxocénoses benthiques.

L'analyse des **communautés végétales aquatiques** aboutit au même diagnostic, à savoir une meilleure qualité biocénotique des deux premières stations d'Eloyes et d'Archettes, par rapport aux deux stations aval ; mais il n'est pas exclu pour le moment que la modification de la végétation aquatique puisse être liée en partie au faciès différent de la Haute Moselle dans sa partie la plus aval.

La réponse des indicateurs biologiques individuels et populationnels sont difficilement expliqués par les résultats des analyses physico-chimiques réalisées sur les sédiments et les eaux interstitielles prélevées en même temps que la collecte des bivalves. Les résultats dénotent une faible contamination chimique de l'ensemble des stations. La contamination par les micropolluants organiques chlorés est négligeable, sauf pour la station d'Igney. Les teneurs en HAPs se situent également à des taux très bas.

Les teneurs en organochlorés et en métaux mesurés dans les muscles des poissons n'expliquent pas l'augmentation de l'activité EROD, les niveaux de contamination enregistrés sont plus faibles dans les chevaines où la réponse est la plus marquée.

Une seconde campagne d'étude est prévue dès juin 1999. Une station à l'amont de la confluence de la Moselle avec la Mosselotte sera étudiée en plus : non seulement parce qu'une certaine dégradation avait déjà été notée à Eloyes, mais surtout parce qu'un rejet toxique a été accidentellement déversé dans la Mosselotte en Février, et a occasionné une mortalité massive de poissons. Il est probable que toute la Moselle en amont du déversement a été perturbée. Au cours de cette deuxième campagne, nous veillerons tout particulièrement aux prélèvements d'eaux et de sédiments, à la coordination des équipes de manière à ce que les analyses et les relevés faunistiques et floristiques aient lieu à la même période et aux mêmes sites afin d'éviter que des conditions météorologiques ne viennent interférer avec la réponse des variables biologiques et biaiser les résultats.