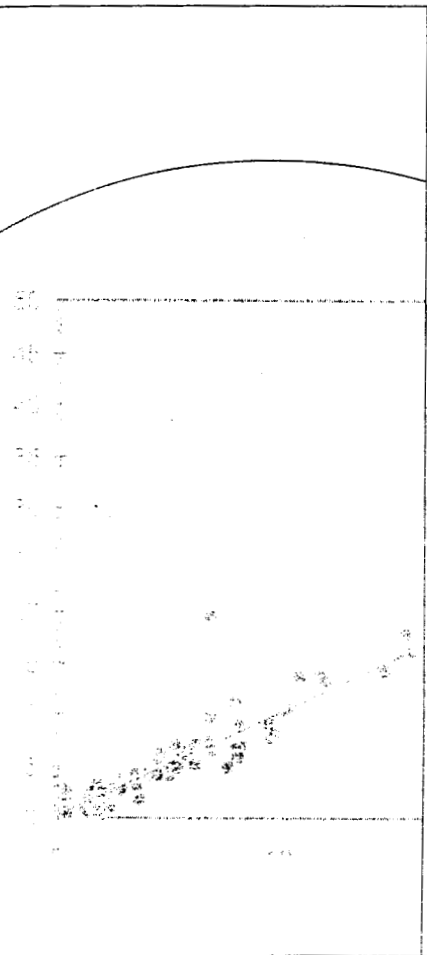




25201 RM



Etude Interagences
exécutée par l'Agence de l'Eau Seine-Normandie



Incidence d'anomalies histologiques dans les gonades de poissons d'eau douce mâles

Rapport final
Convention n°9999023

**Patrick Flammarion⁽¹⁾, Patrice Noury⁽¹⁾,
François Brion⁽¹⁾, Jeanne Garric⁽¹⁾, Marc Babut⁽¹⁾,
Xavier Palazzi⁽²⁾**



Département Gestion des Milieux Aquatiques
Unité de Recherche Biologie des Ecosystèmes Aquatiques
Laboratoire d'Ecotoxicologie⁽¹⁾
Ecole Vétérinaire de Lyon⁽²⁾

Groupement de Lyon
3 bis Quai Chauveau, CP 220
69336 Lyon cedex 09
Tél. 04 72 20 87 87 - Fax 04 78 47 78 75

Avril 2001



Unité de Recherche "*Biologie des Ecosystèmes Aquatiques*"



n° 25201

Incidence d'anomalies histologiques dans les gonades de poissons d'eau douce mâles

Rapport final

Patrick Flammarion, Patrice Noury, François Brion, Jeanne Garric et Marc Babut (Cemagref Lyon)

Xavier Palazzi (Ecole Vétérinaire de Lyon)

Résumé

Les effets des perturbateurs endocriniens sur la reproduction des poissons ont alerté la communauté scientifique internationale et font l'objet de nombreuses recherches actuellement dans plusieurs pays industrialisés depuis quelques années seulement. Les composés les plus souvent incriminés affectent en premier lieu les individus mâles en provoquant notamment la présence d'ovocytes dans les testicules.

Avant d'engager des études approfondies sur les sources éventuelles de ces composés, il paraissait important de vérifier si des effets de ce type sont effectivement rencontrés dans les rivières françaises, et dans quels types de situations. Il a été choisi de faire un état des lieux rapide sur une grande étendue géographique de l'occurrence potentielle de ces effets sur l'espèce chevaine (*Leuciscus cephalus*), une espèce particulièrement répandue dans les rivières françaises.

Ce rapport présente la première phase de l'étude réalisée à l'automne 1999 sur deux bassins : Rhône Méditerranée Corse et Seine Normandie. Il était prévu d'échantillonner sur 20 stations les gonades de 30 chevaines mâles par station ; cet objectif n'a été en moyenne atteint qu'à 50%. Les pages qui suivent présentent les résultats des échantillonnages réalisés ainsi que les méthodes utilisées. Dans les sites de référence aucun chevaine mâle ne présente d'ovocytes dans les testicules ; seuls 8 individus présentent des ovocytes dans la totalité des autres sites soumis à des sources de contamination. L'interprétation d'autres altérations au niveau des gonades a mis en évidence une variabilité dans les proportions relatives de cellules spermatiques et cellules de Sertoli chez les chevaines ; cette variabilité semble liée d'une part à la station et d'autre part à la date d'échantillonnage. Des expériences complémentaires sont nécessaires afin de vérifier ces hypothèses de retard de spermatogenèse dans certains sites.

mots-clés : poisson, chevaine, pollution, gonade, histologie, perturbateur endocrinien, Seine, Rhône

Sommaire

1	Introduction	4
1.1	Contexte international, scientifique et politique	4
1.2	Etat des connaissances sur les perturbateurs endocriniens	5
1.3	Méthodologie d'étude chez les poissons in situ	5
2	Objectifs de l'étude	8
3	Méthodologie	8
3.1	Espèce d'étude : le chevaîne	8
3.2	Typologie des stations de pêche	10
3.3	Echantillonnages	11
3.3.1	Conditions hydrologiques et météorologiques	12
3.3.2	Logistique	12
3.3.3	Echantillonnage	12
3.4	Mise au point d'un protocole d'évaluation de l'incidence d'impacts histologiques	13
3.5	Exploitation des données	14
4	Résultats	15
4.1	Résultats biométriques	15
4.2	Mesure de l'âge des poissons	16
4.3	Résultats histologiques sur les gonades	17
4.3.1	Expériences en laboratoire	17
4.3.2	Occurrence d'ovocytes in situ	18
4.3.3	Codage et analyse statistique d'autres altérations	20
5	Discussion des résultats	26
6	Perspectives	28
6.1	Prochaines échéances pour ce projet	28
6.2	Perspectives scientifiques	28
7	Conclusion	31
8	Références bibliographiques	32

Annexes

- Carte des sites de pêche dans le bassin Rhône-Méditerranée-Corse
- Carte des sites de pêche dans le bassin Seine-Normandie
- Protocole de prélèvement de gonades sur le terrain
- Méthodologie de détermination scalimétrique de l'âge des poissons
- Publication sur les expériences préliminaires effectuées sur le chevaîne



1 Introduction

1.1 Contexte international, scientifique et politique

Les impacts de composés chimiques à effets endocriniens (perturbateurs endocriniens ou "EDC"¹) font l'objet de nombreuses recherches actuellement dans plusieurs pays industrialisés, notamment l'Angleterre, ainsi qu'au niveau européen (par exemple le projet européen COMPREHEND²). L'exposition à ces substances induirait en premier lieu des réponses primaires moléculaires et biochimiques, puis des réponses secondaires morphologiques et comportementales qui ont des effets sur la reproduction des populations donc sur les écosystèmes (Campbell et Hutchinson, 1998). Certaines de ces substances - appelées mimétiques oestrogènes - sont ainsi suspectées de perturber la reproduction de nombreuses espèces, dont les poissons ; les composés les plus souvent incriminés exercent une action féminisante, affectant donc en premier lieu les individus mâles : induction de vitellogénine, présence d'ovocytes et d'oviductes dans les testicules, baisse de la fécondité, modification du sexe ratio, diminution des caractères sexuels secondaires chez le mâle, ... (Sumpter et Jobling, 1995 ; Tyler et Routledge, 1998).

A titre d'illustration, début juillet 2000, la base qui recense les projets scientifiques concernant les perturbateurs endocriniens (<http://endocrine.ei.jrc.it>) recense 673 projets dont principalement des projets américains et canadiens. Les projets européens sur le poisson étudié in situ sont menés par le Royaume-Uni (gardon), l'Allemagne (brème) et les Pays Bas (brème). Aucun projet français n'y est mentionné.

Par ailleurs, ce problème a dépassé le strict cadre scientifique puisque, suite à la demande du Parlement, en octobre 1998, "d'améliorer le cadre législatif, à renforcer les efforts de recherche et à informer la population", la Commission a adopté en décembre 1999 une "stratégie composée d'actions à court, moyen et long termes, afin de réagir rapidement et efficacement face à ce problème"³.

¹ Acronyme tiré du terme anglais, " endocrine disruptor chemical ". Voici une définition :

" Substances exogènes qui provoquent des effets néfastes sur la santé d'un organisme ou sa descendance, secondairement à des changements de la fonction endocrine " OCDE (1997) Draft detailed review paper : appraisal of test methods for sex-hormone disrupting chemicals. OCDE Paris 1997. 290p.

² <http://www.ifc.ac.uk/comprehend>

Le projet COMPREHEND (1999-2001) regroupe une dizaine de laboratoires et 7 pays pour étudier les effets biologiques des perturbateurs endocriniens sur les poissons et pour mettre en place des méthodes de détection et de quantification de ces substances. Nous rappelons brièvement les objectifs principaux de ce programme :

- évaluer le potentiel oestrogénique d'effluents provenant de différents pays européens par des tests in vitro et des tests in vivo sur poissons (principalement en plaçant les poissons dans des bassins alimentés directement par les effluents et en mesurant la vitellogénine des poissons mais aussi en faisant de l'analyse histologique des gonades)
- identifier les substances et leur répartition entre l'eau, le sédiment et les organismes (Pays-Bas principalement)
- faire le lien avec des impacts potentiels au niveau de la population de poissons en milieu naturel (uniquement sur les populations de brème aux Pays-Bas)
- développer de nouvelles techniques (en particulier in vitro) de détection d'effets oestrogéniques et les incorporer dans une technologie intégrée

³ Commission des Communautés Européennes (1999) Stratégie communautaire concernant les perturbateurs endocriniens. COM(1999) 706 final, 17 décembre 1999, 35 pages.

7 Conclusion

Cette étude a en grande partie répondu aux objectifs fixés : mise en place de la collecte de gonades chez les poissons mâles, détection d'ovocytes chez les poissons mâles, critères d'interprétation des résultats des coupes histologiques.

La recherche d'occurrence d'ovocytes chez les chevaines mâles de 20 stations de rivières françaises a mis en évidence une très faible fréquence d'apparition. Les stations présentant des chevaines mâles avec des ovocytes sont : Bourbre, Chasse, Levallois, Marne, Méricourt, et Nod. La quantification correcte de cette fréquence souffre néanmoins d'un échantillonnage insuffisant sur plusieurs stations.

Le chevaine, seule espèce présente sur toutes les stations, a été confirmé comme espèce d'intérêt pour mesurer ce type de variables biologiques à grande échelle. Afin de quantifier correctement la fréquence d'apparition d'ovocytes dans les testicules, il est cependant nécessaire d'échantillonner une trentaine de chevaines mâles par station, ce qui n'est pas acquis sur la totalité des sites. Compte tenu des premières observations obtenues lors de cette étude, il serait également opportun d'échantillonner à nouveau des poissons dans les sites du Rhône et de la Seine à l'aval des grandes agglomérations.

Compte tenu de la rareté de l'apparition d'ovocytes dans les testicules, nous avons été amenés à nous intéresser à des paramètres moins "grossiers" : avancement de la spermatogenèse, proportion relative de cellules de Sertoli par rapport aux cellules germinales etc. Si l'étude de ces nouvelles variables est intéressante et met en évidence un retard potentiel d'avancement de spermatogenèse entre des poissons prélevés dans certains sites par rapport à des poissons de sites a priori peu contaminés, il demeure qu'il est délicat de conclure à un effet de la contamination sans connaissances complémentaires sur l'évolution naturelle du cycle de spermatogenèse du chevaine. Ces connaissances pourraient utilement être acquises en privilégiant un ou plusieurs sites de référence suivis tout au long d'une année.