



**HAL**  
open science

## Questions de recherche actuelles en écotoxicologie

Christian Mougin

► **To cite this version:**

Christian Mougin. Questions de recherche actuelles en écotoxicologie. Actes du colloque 2010 de la société d'écotoxicologie Fondamentale et Appliquée, Mar 2010, Versailles, France. hal-01602031

**HAL Id: hal-01602031**

**<https://hal.science/hal-01602031>**

Submitted on 3 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/274566475>

# Actes du Colloque 2010 de la Societe d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquee

Conference Paper · March 2010

---

CITATIONS

0

READS

109

1 author:



[Christian Mougin](#)

French National Institute for Agricultural Research

125 PUBLICATIONS 1,886 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Rhizosphere priming effect and its microbial drivers under varying management practices in temperate grasslands [View project](#)

All content following this page was uploaded by [Christian Mougin](#) on 06 April 2015.

The user has requested enhancement of the downloaded file. All in-text references [underlined in blue](#) are added to the original document and are linked to publications on ResearchGate, letting you access and read them immediately.

Colloque de la Société d'Ecotoxicologie  
Fondamentale et Appliquée

SEFA 2010

**QUESTIONS DE RECHERCHE ACTUELLES  
EN ECOTOXICOLOGIE**

**RECUEIL DES RESUMES**

**31 mars & 1er avril 2010**



Centre INRA de Versailles - Route de Saint Cyr



# SOMMAIRE

## SESSION 1 - MECANISMES

### Communications orales

Biodisponibilité des métaux particuliers chez un bivalve d'eau douce ( <i>Dreissena polymorpha</i> ) Adeline BOURGEAULT, CEMAGREF.....	7
Impact du parasite acanthocéphale <i>Polymorphus minutus</i> sur les réserves énergétiques et les capacités de défense de <i>Gammarus roeseli</i> Eric GISMONDI, CNRS, Univ.Metz .....	8
Le modèle Poisson Médaka ( <i>Oryzias latipes</i> ) : outil d'analyse de la toxicité de cyanotoxines en vue d'une approche écotoxicologique de l'incidence des cyanobactéries toxiques sur la faune aquatique Mélodie MALÉCOT, MNHN Paris .....	9
Réponses à différents niveaux d'organisation biologique chez deux organismes endobenthiques ( <i>Nereis diversicolor</i> et <i>Scrobicularia plana</i> ) dans l'évaluation du stress environnemental Catherine MOUNEYRAC, Univ. Nantes .....	10
Résistance métabolique des moustiques du genre <i>Aedes</i> aux insecticides : impact des xénobiotiques Stéphane REYNAUD, LECA, Grenoble.....	11

### Posters

Décontamination d'effluents industriels sur des matériaux bioadsorbants : approche chimique et impact environnemental Bertrand SANCEY, CNRS, Univ Franche-Comté .....	15
Impact des organochlorés sur la microflore de la rhizosphère Muriel RAVETON, LECA, Grenoble .....	16
Histological effects of isopropanol on the early gonadal development and the liver of medaka ( <i>Oryzias latipes</i> ) Chokri MENJLI, Univ. Reims .....	17
Impact écotoxicologique des produits de photodégradation des phénylurées Mickaël HEDDE, INRA, Versailles .....	18
Programme ADEME - Bioindicateur II : Recherche d'outils de surveillance, de caractérisation et d'évaluation des risques des sols basés sur la faune du sol Mickaël HEDDE, INRA, Versailles .....	19
Développement d'un biocapteur pour la détection des métaux et organoétain Sullivan JOUANNEAU, Univ. Nantes.....	20
Comparison of two methods to assess effects of insecticides on hypopharyngeal gland development of honey bee Pierrick AUPINEL, INRA .....	21

## SESSION 2 - ECOLOGIE DU STRESS

### Communications orales

Effets d'une exposition chronique à l'uranium sur les traits d'histoire de vie et la physiologie de <i>Daphnia magna</i> sur trois générations successives Sandrine MASSARIN, IRSN Cadarache .....	25
Les micropolluants organiques contenus dans les produits résiduels organiques ont-ils des impacts écotoxicologiques sur l'écosystème sol ? Christian MOUGIN, INRA, Versailles .....	27
Les traits biologiques de la macrofaune des sols : un outil pour l'évaluation de la restauration des sols Mickaël HEDDE, INRA, Versailles .....	29
Profils fonctionnels fongiques : Indicateurs d'écotoxicité des Métaux dans les sols Jérémy LEBRUN, INRA, Versailles .....	30

## Posters

Développement d'un nouveau bioessai pour l'évaluation de la toxicité des sédiments Jérôme CACHOT, <i>Univ. Bordeaux 1</i> .....	33
Reprotoxicité de l'Uranium chez le poisson <i>Danio rerio</i> . Prise en compte de la durée d'exposition Olivier SIMON, <i>IRSN Cadarache</i> .....	34
Etude en mésocosme de la croissance de <i>Miscanthus x giganteus</i> (MxG) sur sols de friche pollués (ETM, HAP, pollutions mixtes) Claudia Patricia MARTINEZ CHOIS, <i>Univ. Metz</i> .....	35
Intérêts des expérimentations en microcosmes en écotoxicologie appliquée. Deux exemples concrets dans le Nord de la France Sébastien LEMIÈRE, <i>Univ. Lille 1</i> .....	36
Etude comparative de l'impact de l'uranium et du cadmium chez l'écrevisse <i>Procambarus clarkii</i> Simone AL KADISSI, <i>IRSN Saint Paul lez Durance</i> .....	38
A new larval <i>in vitro</i> rearing method to test effects of pesticides on honey bee brood Pierrick AUPINEL, <i>INRA</i> .....	39

## SESSION 3 - MODELISATION

### Communications orales

Modèles toxicocinétiques/toxicodynamiques en écotoxicologie Alexandre PERY, <i>INERIS, Verneuil-en-Halatte</i> .....	42
Changement d'échelle des individus aux populations en écotoxicologie Rémy BEAUDOUIN, <i>INERIS, Verneuil-en-Halatte</i> .....	43
Construire une évaluation multi-échelle des effets des contaminants dans les milieux aquatiques d'eau douce avec les macro-invertébrés Arnaud CHAUMOT, <i>CEMAGREF, Lyon</i> .....	44
Modélisation QSAR non linéaire appliquée à l'écotoxicologie James DEVILLERS, <i>CTIS, Rillieux La Pape</i> .....	45

### Posters

Sélection <i>a priori</i> de batteries de tests et d'indicateurs en écotoxicologie James DEVILLERS, <i>CTIS, Rillieux La Pape</i> .....	48
Corrélations interspécifiques pour prédire la toxicité des xénobiotiques à partir de données écotoxicologiques James DEVILLERS, <i>CTIS, Rillieux La Pape</i> .....	49
Les puces RFID comme un outil innovant en écotoxicologie comportementale chez l'abeille Axel DECOURTYE, <i>ACTA, Lyon</i> .....	50
Les modèles écologiques dans l'évaluation des risques des produits phytosanitaires : Expériences passées et perspectives du point de vue d'une autorité réglementaire Julien SÉRANDOUR, <i>AFSSA, DiVE</i> .....	51

## SESSION 4 - GENOTOXICITE

### Communications orales

Intérêt de l'écotoxicologie génétique dans le domaine de l'environnement Alain DEVAUX, <i>ENTPE, Lyon</i> .....	54
Génotoxicité de sols anciennement contaminés chez le ver de terre <i>Eisenia fetida</i> et impact au niveau populationnel Marc BONNARD, <i>CNRS, Univ. Metz</i> .....	55
Essais de transformation cellulaire pour l'évaluation <i>in vitro</i> de la cancérogénécité des substances chimiques et des polluants Marie-Aline MAIRE, <i>CNRS, Univ. Metz</i> .....	56
Les effets à long terme d'une concentration génotoxique de cadmium chez <i>Vicia faba</i> Sylvie COTELLE, <i>CNRS, Univ. Metz</i> .....	57

## Posters

Potentiel transformant de PFOS (perfluorooctane sulfonate) sur cellules embryonnaires de hamster syrien (SHE) Nelly JACQUET, CNRS, Univ. Metz.....	60
Cancérogénicité du sel de perfluorooctane sulfonate de potassium (PFOS, K+) Nelly JACQUET, CNRS, Univ. Metz.....	61
Utilisation des métabolites biliaires pour le suivi de l'exposition des poissons aux HAP – lien avec les altérations de l'ADN (test des comètes) Hélène BUDZINSKI, Univ. Bordeaux 1 .....	62
Quelle est l'influence du pH sur l'écotoxicité de nanocomposites de TiO <sub>2</sub> vieilliss artificiellement chez <i>Vicia faba</i> ? Anne-Sophie FOLTÊTE, CNRS, Univ. Metz .....	64

## SESSION 5 - DEVENIR DES TOXIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT

### Communications orales

Éléments en traces dans les sols - Apports des démarches pédologiques à l'écotoxicologie Denis BAIZE, INRA, Orléans.....	67
Caractérisation d'une souche bactérienne isolée d'un agrosystème français capable de biotransformer la mésotrione Isabelle BATISSION, CNRS, Univ. Clermont .....	69
Utilisation des échantillonneurs passifs pour la surveillance des substances chimiques et de leurs potentiels impacts toxiques dans les milieux aquatiques Hélène BUDZINSKI, Univ. Bordeaux 1 .....	71
Apport de la biogéochimie structurale à la compréhension des mécanismes de transfert et de détoxification des éléments trace Alain MANCEAU, CNRS, Univ.J. Fournier.....	73
Devenir de phénylurées et de leurs produits de photodégradation en présence de champignons basidiomycètes Sylvie NÉLIEU, INRA, Versailles .....	74

### Posters

Développement d'une méthode analytique pour évaluer le devenir du Diuron et de ses produits de dégradation dans le sol Catherine REPINCAI, INRA, Versailles .....	77
Suivi de l'évolution de la contamination par le Cr et le Pb des eaux superficielles du Bassin Versant Kebir-Rhumel (Algérie) Leila SAHLI, Univ. Mentouri-Constantine.....	78

## SESSION 6 - ECOLOGIE IN SITU

### Communications orales

La méthode PICT appliquée aux biofilms prélevés en milieu urbain : étude in situ dans un gradient de pollution sur la Seine Lise FECHNER, CEMAGREF, Antony.....	81
L'escargot <i>Xeropicta derbentina</i> comme organisme sentinelle transplanté dans l'évaluation des impacts des pratiques phytosanitaires (insecticides) Christophe MAZZIA, INRA, Avignon .....	82
Réponse sub-léthale in situ de <i>Gammarus pulex</i> (Amphipoda, Crustacea) entre l'amont et l'aval du rejet d'une papeterie François RENAULT, CNRS, Univ. Franche-Comté .....	84

## Posters

Développement d'une méthode rapide d'extraction-purification d'ADN génomique: application à des sols contaminés riches en acides humiques Didier TÉCHER, CNRS, Univ. Metz .....	87
Impact de l'herbicide méso-trione sur les communautés microbiennes d'un sol : analyse des réponses fonctionnelles et structurales à différents niveaux d'échelle d'intégration des communautés Olivier CROUZET, Univ. Clermont.....	88
Bio-surveillance <i>in situ</i> de la qualité des eaux douces : approche multi-échelle chez <i>Gammarus fossarum</i> Olivier GEFFARD, CEMAGREF Lyon .....	90
Développement d'un biotest <i>in situ</i> : utilisation du gastéropode <i>Potamopyrgus antipodarum</i> pour le suivi de la qualité des eaux de rivière Jeanne GARRIC, CEMAGREF Lyon .....	91
Les microcystines : inhibiteurs potentiels de phosphatases extracellulaires du phytoplancton? Selma MALOUFI, MNHN, Paris .....	92
Facteurs de contrôle des variations temporelles de biomasse et de production de microcystines d'une efflorescence de <i>Planktothrix agardhii</i> (cyanobactérie) Arnaud CATHERINE, MNHN, Paris .....	93
Impact de l'occupation du sol, de l'apport d'amendements ou de contaminants sur les activités enzymatiques du sol Nathalie CHEVIRON, INRA, Versailles .....	94



# **Session 1 : Mécanismes**

## **Communications orales**



# Biodisponibilité des métaux particuliers chez un bivalve d'eau douce (*Dreissena polymorpha*)

**BOURGEAULT ADELINE<sup>1,2</sup>, GOURLAY-FRANCÉ CATHERINE<sup>1,2</sup>, LOTTIN DELPHINE<sup>1,2</sup>,  
AYRAULT SOPHIE<sup>3</sup>, TUSSEAU-VUILLEMIN MARIE-HÉLÈNE<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Cemagref HBAN, Parc de Tourvoie 92163 Antony, France

<sup>2</sup>FIRE FR-3020, 4 place Jussieu, F-75005 Paris

<sup>3</sup>LSCE, avenue de la Terrasse 91198 Gif-sur-Yvette, France

[adeline.bourgeault@cemagref.fr](mailto:adeline.bourgeault@cemagref.fr)

Afin de disposer d'outils permettant d'évaluer l'état des milieux (bioindicateur), il est en premier lieu nécessaire d'identifier les facteurs de contrôle pouvant moduler le lien entre la contamination des milieux et la réponse biologique. La bioaccumulation, première réponse biologique d'un organisme à une contamination, résulte d'une accumulation par voie dissoute et par voie trophique [1]. Le lien entre la contamination chimique et la bioaccumulation est néanmoins complexe car il dépend à la fois de processus chimiques, biologiques, écologiques et physiques [2]. De nombreuses études font notamment état de la capacité de sélection que les bivalves ont vis-à-vis de leur nourriture [3]. Le comportement alimentaire des bivalves étant primordial dans les mécanismes de bioaccumulation, il est nécessaire d'étudier en laboratoire les mécanismes d'accumulation des métaux par voie trophique en considérant l'aspect qualitatif et quantitatif de la nourriture ingérée. Cette étude se porte sur un bivalve d'eau douce (*Dreissena polymorpha*) dont le caractère sédentaire et la résistance aux contaminations en font un bon bioindicateur.

Les dreissènes ont été exposées pendant une courte période à différentes qualités (obtenues par différents mélanges d'algue et de kaolinite) et quantités de nourriture contaminée en isotopes stables: <sup>62</sup>Ni, <sup>65</sup>Cu, <sup>106</sup>Cd et <sup>53</sup>Cr. Ces isotopes stables, récemment utilisés lors d'expositions similaires [4], permettent, de par leur abondance naturelle minoritaire (respectivement 3,6%, 30,8%, 1,2% et 9,5%), de s'affranchir des contaminations métalliques antérieures des tissus. S'ensuit une phase de dépuración pendant laquelle les fèces sont collectées afin de suivre le passage de cette nourriture contaminée à travers le système digestif des organismes. Les tissus mous sont ensuite collectés puis analysés par ICP-MS afin de mesurer la quantité de chaque isotope internalisée et ainsi en déduire l'efficacité d'assimilation de chaque métal.

Cette étude a permis d'estimer l'efficacité d'assimilation de quatre métaux dans des milieux présentant différentes caractéristiques trophiques; les assimilations sont respectivement de 1%-60%, 2%-53%, 2%-25% et 0.08%-0.09% pour le Cd, le Ni, le Cu et le Cr, tous milieux confondus. Ainsi le chrome apparaît comme un élément très peu assimilé par rapport aux trois autres métaux étudiés. Bien que le lien entre l'efficacité d'assimilation et la qualité de la nourriture n'ait pas pu être établi, il apparaît en revanche que l'efficacité d'assimilation est corrélée au taux d'ingestion, et cela quelque soit le métal considéré.

1. Wang WX, Fisher NS. 1999. Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates. *Science of the Total Environment* 237-238:459-472.

2. Bourgeault A, Gourlay C, Tusseau-Vuillemin MH. Accepted. Lessons from a transplantation of zebra mussels into a small urban river: an integrated ecotoxicological assessment. *Environmental Toxicology*.

3. Arifin Z, Bendell-Young LI. 2000. Influence of a selective feeding behaviour by the blue mussel *Mytilus trossulus* on the assimilation of <sup>109</sup>Cd from environmentally relevant seston matrices. *Mar Ecol Prog Ser* 192:181-193.

4. Croteau MN, Luoma SN, Pellet B. 2007. Determining metal assimilation efficiency in aquatic invertebrates using enriched stable metal isotope tracers. *Aquat Toxicol* 83:116-125.

# Impact du parasite acanthocéphale *Polymorphus minutus* sur les réserves énergétiques et les capacités de défense de *Gammarus roeseli*.

**GISMONDI E., BEISEL J.-N. & COSSU-LEGUILLE C.**

Laboratoire des Interactions Ecotoxicologie, Biodiversité, Ecosystèmes (LIEBE), UMR CNRS 7146, Université Paul Verlaine-Metz, Campus Bridoux, avenue du Général Delestraint, 57070 Metz, France.

e-mail : eric.gismondi@umail.univ-metz.fr

La survie d'un parasite dépend de la survie de son hôte. *Polymorphus minutus* est un parasite acanthocéphale qui est reconnu comme manipulateur de son hôte intermédiaire *Gammarus roeseli*, en le rendant plus vulnérable à la prédation par un oiseau d'eau, l'hôte définitif (Bakker *et al*, 1997 ; Bauer *et al*, 2005 ; Médoc *et al*, 2006). Il a également été montré que *P. minutus* a un effet sur le potentiel reproducteur des crustacés amphipodes (Dezfuli *et al*, 2008). En dépit des connaissances sur l'interaction hôte-parasite, peu d'études portent sur l'effet du parasite sur les capacités de défenses antitoxiques et les réserves énergétiques de son hôte intermédiaire. Notre étude a pour but d'étudier cet effet en mesurant la concentration de glutathion réduit, qui joue un rôle central dans la défense antitoxique, ainsi que l'activité de la  $\gamma$ -glutamylcystéine ligase, enzyme limitant la synthèse du glutathion. Le dosage des réserves énergétiques a également été réalisé. Pour cela, nous avons mesuré la teneur en lipides totaux et la quantité de glycogène. Tous ces paramètres ont été mesurés en mai, juin et août chez des gammares sains et des gammares parasités dont le parasite a été soigneusement enlevé après échantillonnage.

Les résultats révèlent que *P. minutus* a un effet sur l'ensemble des paramètres étudiés. Quel que soit le sexe de l'individu et la période d'échantillonnage, il y a diminution de la concentration de glutathion réduit chez *G. roeseli* parasité. Cette diminution est corrélée avec la réduction de l'activité  $\gamma$ -glutamylcystéine ligase, ce qui traduit une synthèse de glutathion moindre chez les individus parasités. De plus, les réserves énergétiques sont plus faibles chez les individus parasités, excepté pour la teneur en glycogène qui est supérieure chez ces derniers, quel que soit le sexe et le mois de prélèvement. Cette diminution des réserves énergétiques peut s'expliquer par un besoin énergétique du parasite afin de l'allouer à son propre développement.

Une étude similaire sera réalisée sur des individus parasités par des microsporidies (microparasite endocellulaires) afin de pouvoir comparer leur effet à ceux induit par *P. minutus* (macroparasite). Enfin, la sensibilité de *G. roeseli* infecté par *P. minutus* sera étudiée lors d'une exposition à un stress chimique en conditions contrôlées de laboratoire.

**Mots-clés** : *Gammarus roeseli*, *Polymorphus minutus*, glutathion, réserves énergétiques

- Bauer A., Haine E.R., Perrot-Minnot M.-J. & Rigaud T., 2005, The acanthocephalan parasite *Polymorphus minutus* alters the geotactic and clinging behaviours of two sympatric amphipod hosts: the native *Gammarus pulex* and the invasive *Gammarus roeseli*. *Journal of Zoology* 267:39-43.
- Bakker T.C.M, Mazzi D. & Zala S., 1997, Parasite-induced changes in behavior and color makes *Gammarus pulex* more prone to fish predation. *Ecology* 78: 1098-1104.
- Médoc V., Bollache L. & Beisel J.-N., 2006, Host manipulation of a freshwater crustacean (*Gammarus roeseli*) by an acanthocephalan parasite (*Polymorphus minutus*) in a biological invasion context. *International Journal for Parasitology* 36: 1351-1358.
- Dezfuli B.S., Lui A., Giovanazzo G. & Giari L., 2008, Effect of Acanthocephala infection on the reproductive potential of crustacean intermediate hosts. *Journal of Invertebrate Pathology* 98:116-119.

# Le modèle Poisson Médaka (*Oryzias latipes*) : outil d'analyse de la toxicité de cyanotoxines en vue d'une approche écotoxicologique de l'incidence des cyanobactéries toxiques sur la faune aquatique.

**MALÉCOT MÉLODIE<sup>1</sup>, MEZHOUD KARIM<sup>2</sup>, MARIE ARUL<sup>1</sup>, DJEDIAT CHAKIB<sup>1</sup>,  
BERNARD CÉCILE<sup>1</sup>, PUISEUX-DAO SIMONE<sup>1</sup>, EDERY MARC<sup>1</sup>**

1 : FRE 3206 CNRS Molécules de communication et adaptation des micro-organismes, Muséum National d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, F-75231 Paris cedex 05, France

2 : Laboratoire de Microbiologie et de Biologie Moléculaire, Centre National des Sciences et Techniques Nucléaires, Sidi Thabet, 2020, Tunis, Tunisie

Les cyanobactéries sont capables de former des efflorescences denses dans les milieux aquatiques et certaines sont susceptibles de produire des toxines qui posent des problèmes pour la faune et la flore mais aussi pour la santé humaine *via* l'eau de boisson ou les baignades par exemple. On distingue principalement des hépatotoxines, des neurotoxines et des dermatotoxines. Les cyanotoxines les plus fréquemment rencontrées sont les microcystines, heptapeptides de synthèse non ribosomale, dont il existe environ 80 variants plus ou moins hépatotoxiques qui diffèrent par deux acides aminés variables. Le variant le plus toxique, la Microcystine-LR (MC-LR, Leucine-Arginine), inhibe les protéines phosphatases 1 et 2A ; il s'agit d'un promoteur de cancer reconnu.

Avec le Médaka, l'approche expérimentale du laboratoire est la suivante : 1) déterminer la toxicité de microcystines ou d'extraits de souches de cyanobactéries, productrices ou non de telles cyanotoxines, sur des embryons, alevins et adultes ; 2) effectuer des études histologiques sur les animaux traités avec détermination d'organes-cibles, observation des anomalies et détection immunochimique de la toxine ; 3) analyser des perturbations du protéome et du phosphoprotéome afin de préciser des voies de signalisation, des étapes métaboliques, des réponses oxydatives ou autres touchées.

Alors que le chorion semble protéger les embryons, les alevins et les adultes sont atteints par la MC-LR qui peut entraîner leur mort (20% de mortalité après 2h ; gavage d'adultes avec 5µg). Le foie est affecté mais aussi l'intestin et la rate.

Les protéines hépatiques du foie adulte dont la quantité ou la phosphorylation sont modulées relèvent du stress oxydatif, des voies de signalisation contrôlant la prolifération ou la mort des cellules, de la maturation des protéines...

Les effets d'une efflorescence à *Planktothrix agardhii* productrice de microcystines présentent des analogies avec ceux de la MC-LR.

La méthodologie expérimentale mise en œuvre avec le Médaka se révèle très prometteuse et permet d'obtenir des résultats relativement rapides, beaucoup moins onéreux que ceux apportés par les vertébrés supérieurs et beaucoup moins critiques au point de vue éthique.

Localization of microcystin-LR in medaka fish tissues after contamination with the cyanotoxin by gavage. Djediat C. ; Malécot M. ; Puiseux-Dao S. ; Ederly M., *Toxicon*, 2010, 55(2-3) , 531 – 535

Proteomic study of the effects of microcystin-LR on organelle and membrane proteins in medaka fish liver. Malécot M. ; Mezhoud K. ; Marie A. ; Praseuth D. ; Puiseux-Dao S. ; Ederly M. *Aquatic Toxicology* , 2009, 94(2), 153-161

Ecotoxicoproteomics to study microcystin-LR effects in medaka fish. Ederly M. ; Malécot M.; Mezhoud K. ; Marie A. ; Praseuth D. ; Puiseux-Dao S. *Mol. Cell. Proteomics* , 2009 , 8 , S31-39

Medaka proteome study: Use of cross-species matching and expressed sequence tag data for protein identification Mezhoud K. ; Praseuth D. ; Marie A. ; Puiseux-Dao S. ; Ederly M. *J. Proteomics Bioinform* , 2009 , 2 , 67-77.

# Réponses à différents niveaux d'organisation biologique chez deux organismes endobenthiques (*Nereis diversicolor* et *Scrobicularia plana*) dans l'évaluation du stress environnemental

<sup>1,2</sup>**C. MOUNEYRAC**, <sup>1</sup>**J.-C. AMIARD**, <sup>1,3</sup>**B. BERTHET**, <sup>1</sup>**C. AMIARD-TRIQUET**

<sup>1</sup>Université de Nantes, MMS, EA2160, Faculté de pharmacie, 1 rue G. Veil, BP 53508, 44035 Nantes Cedex 1, France.

<sup>2</sup>Institut de Biologie et Ecologie Appliquée, CERE, Université Catholique de l'Ouest, 44, rue Rabelais, 49008 Angers Cedex 01, France.

<sup>3</sup>ICES, 17, Boulevard des belges, 85000 La Roche sur Yon, France.

Bien que les biomarqueurs soient étudiés en écotoxicologie depuis plus d'une vingtaine d'année, leur utilisation dans les programmes de surveillance de la qualité de l'environnement n'est pas encore généralisée et même totalement ignorée dans la Directive Européenne cadre sur l'eau. Les biomarqueurs biochimiques ou physiologiques sont capables de fournir des réponses sensibles et précoces d'organismes soumis à des stress environnementaux. Cependant, certaines de ces réponses, sont souvent soupçonnées d'être inefficaces dans la prédiction d'effets à des niveaux d'organisation biologique plus élevés (Forbes, 2006) et en conséquence peu pertinentes d'un point de vue écologique. C'est pourquoi, depuis ces dix dernières années les travaux de recherches se sont focalisés sur des biomarqueurs au niveau sub-individuel et/ou individuel capables de prévoir d'éventuels effets au niveau supra-individuel, bien avant que la dégradation de l'environnement n'ait atteint un niveau difficilement gérable ou coûteux en termes de remédiation.

Par ailleurs, comme les sédiments représentent le principal compartiment de stockage des contaminants chimiques, il est nécessaire de valider dans les programmes de biosurveillance, l'utilisation d'espèces endobenthiques en tant qu'espèces sentinelles, notamment celles qui sont importantes dans la structure et le fonctionnement de l'écosystème comme le ver *Nereis diversicolor* et le bivalve *Scrobicularia plana*.

Cependant, une des difficultés de l'évaluation du risque environnemental est la variabilité des réponses selon les espèces, certaines étant plus ou moins tolérantes à la présence d'altéragènes dans leur milieu (Berthet, 2008). Cette variabilité peut être liée à des différences en terme d'exposition (e.g. mode d'alimentation), de bioaccumulation –certaines espèces étant notoirement plus bioaccumulatrices que d'autres– et de caractéristiques biologiques intrinsèques (en particulier au niveau des mécanismes de défense mis en œuvre par l'organisme soumis à un altéragène).

Nos travaux de recherches visent d'une part à :

- établir des liens entre des réponses à différents niveaux d'intégration biologique : i) sub-individuel : core biomarqueurs (AChE, MT, GST, LDH, enzymes digestives, biomarqueurs en lien avec la reproduction, ii) individuel : indices biologiques, réserves énergétiques, biomarqueurs comportementaux et iii) population (structure, dynamique) chez *S. plana* et *N. diversicolor*.
- comparer les réponses entre les deux espèces sélectionnées (*N. diversicolor* et *S. plana*).

Berthet, B., 2008. Les espèces sentinelles. In : Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. AMIARD J.-C. & AMIARD-TRIQUET C., eds. Lavoisier, Tec&Doc, Paris, 121-148.

Forbes, V.E., Palmqvist, A., Bach, L., 2006. The use and misuse of biomarkers in ecotoxicology. Environ. Toxicol. Chem. 25, 272–280.

# Résistance métabolique des moustiques du genre *Aedes* aux insecticides : impact des xénobiotiques

POUPARDIN R., RIAZ M.A., CHANDOR-PROUST A., DAVID J.P. & REYNAUD S.

LECA, Environmental Perturbations & Xenobiotics, Grenoble University, BP 53X, 38041 Grenoble Cedex 09, France

stephane.reynaud@ujf-grenoble.fr

Les moustiques impactent largement sur la santé publique par leur capacité à transmettre des maladies virales ou parasitaires. Parmi eux, les moustiques du genre *Aedes*, dont *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*, sont considérés comme dangereux car ils sont vecteurs des virus de la dengue, de la fièvre jaune et du chikungunya. La résistance se définit comme la conséquence de la sélection de mutations spécifiques conférant une insensibilité ou une tolérance accrue des moustiques aux insecticides<sup>1</sup>. A l'échelle moléculaire, deux mécanismes peuvent être à l'origine de la résistance :

1) Des mutations spécifiques des protéines ciblées par les insecticides (canaux sodiques, acétylcholine-estérases, récepteurs GABA...), rendant les moustiques plus tolérants ou même insensibles.<sup>2</sup>

2) Une surproduction d'enzymes capables de métaboliser les insecticides conduisant à une augmentation de la tolérance des moustiques. Ces enzymes de détoxification comme les monooxygénases à cytochromes P450 (P450s), les glutathion S-transférases (GSTs) et les carboxy/choline estérases (CCEs) appartiennent à des familles multi-géniques très diversifiées (plus de 350 gènes chez les moustiques) et assurent des fonctions variées. Ainsi, l'identification des gènes impliqués dans la résistance aux insecticides reste difficile et l'impact de la résistance métabolique a longtemps été négligé. Aujourd'hui les avancées récentes des techniques de génomique et de transcriptomique chez les moustiques (génomomes séquencés et développement de puces à ADN), couplées aux progrès récents en matière de séquençage à très haut débit ouvrent de nouvelles perspectives pour identifier les enzymes capables de métaboliser les insecticides chez les moustiques du genre *Aedes*.

Dans la mesure où les enzymes de détoxification sont également inductibles par des xénobiotiques, une exposition de larves de moustiques à certains polluants peut entraîner une augmentation de leur tolérance aux insecticides. L'objectif de nos travaux est de comprendre comment certains xénobiotiques peuvent augmenter la tolérance des moustiques aux insecticides et quels sont les gènes impliqués.

Au niveau méthodologique, après avoir contribué au développement de la puce à ADN '*Aedes detox Chip*' représentant l'ensemble des gènes de détoxification du moustique *Ae. aegypti*, nous avons utilisé cet outil moléculaire pour effectuer un premier criblage des gènes potentiellement impliqués dans la résistance en identifiant ceux qui sont induits par les insecticides et les polluants<sup>3,4</sup>. Ces gènes codent pour la plupart pour des P450s (gènes *CYPs*) et des GSTs. Enfin, notre équipe a récemment développé une méthode de transcriptomique utilisant la technique de séquençage à très haut débit *Solexa* sur cette espèce<sup>5</sup>.

---

<sup>1</sup> Hemingway, J., Field, L. and Vontas, J., *Science* 2002, 298, 96-97.

<sup>2</sup> Hemingway, J., Hawkes, N. J., McCarroll, L. and Ranson, H., *Insect Biochem Mol Biol* 2004, 34, 653-665.

<sup>3</sup> Poupardin, R., Reynaud, S., Strode, C., Ranson, H., Vontas, J. and David, J. P., *Insect Biochem Mol Biol* 2008, 38, 540-551.

<sup>4</sup> Riaz, M. A., Poupardin, R., Reynaud, S., Strode, C., Ranson, H. and David, J. P., *Aquat Toxicol* 2009, 93, 61-69.

<sup>5</sup> David, J. P., Coissac, E., Melodelima, C., Riaz, M. A., Poupardin, R., Chandor-Proust, A. and Reynaud, S., *BMC genomics* 2009, submitted.





# **Session 1 : Mécanismes**

## **Posters**



# Décontamination d'effluents industriels sur des matériaux bioadsorbants : approche chimique et impact environnemental

**BERTRAND SANCEY, GIUSEPPE TRUNFIO, JÉRÉMIE CHARLES, FRANÇOIS DEGIORGI,  
PIERRE-MARIE BADOT ET GRÉGORIO CRINI**

CNRS-Université de Franche-Comté / UMR 6249 Chrono-environnement usc INRA

Place Leclerc - F-25030 Besançon cedex

Courriels : [bertrand.sancey@univ-fcomte.fr](mailto:bertrand.sancey@univ-fcomte.fr), [gregorio.crimi@univ-fcomte.fr](mailto:gregorio.crimi@univ-fcomte.fr)

Le principal problème environnemental auquel sont confrontées les filières industrielles du traitement de surface est celui de la forte charge métallique des effluents issus de leurs process industriels. Même quand ils sont préalablement épurés, la plupart des rejets de ces établissements dans le milieu aquatique comportent encore des concentrations non négligeable de métaux dont la plupart sont connus pour être toxiques pour l'Homme et l'environnement. Ces éléments sont en outre susceptible de s'accumuler dans les organismes, voire d'être bio-magnifiés tout au long des réseaux trophiques.

En France, de nombreuses PME/PMI utilisent un système d'épuration en deux étapes : la première étape est un pré-traitement spécifique (déchromatation, etc.) suivi d'une neutralisation, et la seconde consiste à insolubiliser les métaux par alcalinisation suivie d'une floculation par des polymères anioniques. Cependant, la mise en œuvre de cette méthode en deux temps ne permet pas d'abattre la totalité de la charge polluante.

Les traitements physico-chimiques classiques peuvent alors être complétés par un traitement tertiaire sur résine échange d'ions et/ou charbon actif, mais ces traitements tertiaires ne sont pas viables économiquement pour les entreprises de petites dimensions. Il est donc nécessaire de développer de nouveaux adsorbants qui soient plus performants et plus respectueux de l'environnement que les matériaux conventionnels.

Dans cette optique, nous avons évalué l'aptitude à décontaminer les eaux usées issues des industries de traitement de surface d'un bioadsorbant constitué d'amidon réticulé. Nous en avons d'abord testés les performances en matière d'épuration à l'aide de la méthode dite « en mode cuvée ». Puis, nous avons comparé l'efficacité de ce bioadsorbant par rapport à un système classique utilisé actuellement chez un industriel représentatif du secteur d'activité considéré. Enfin, nous avons étudié l'impact environnemental du rejet sur des tests de toxicité de germination et de croissance de végétaux. Les résultats de nos analyses montrent que la bioadsorption pourrait être une alternative « écologique » intéressante pour traiter des eaux usées industrielles.

Mots Clés : Traitement de surface, Métaux lourds, Bioadsorption, Tests écotoxicologiques

## Impact des organochlorés sur la microflore de la rhizosphère.

A. SAN MIGUEL<sup>A</sup>, R. A. GEREMIA<sup>A</sup>, P. RAVANEL<sup>A</sup> AND M. RAVETON<sup>A</sup>

<sup>a</sup>LECA, Environmental Perturbations & Xenobiotics, Grenoble University, BP 53X, 38041 Grenoble Cedex 09, France

angelique.san-miguel@e.ujf-grenoble.fr

muriel.raveton@ujf-grenoble.fr

L'objectif de notre recherche est d'étudier l'écoremédiation des organochlorés (OCs) par la rhizosphère des plantes. Pour se faire, l'étude nécessite une approche multidisciplinaire intégrant microbiologie, chimie et physiologie végétale. En utilisant des OCs de référence [lindane, monochloro-, dichloro-, trichloro-benzènes (MCB, DCB, TCB)], la microflore de la rhizosphère associée aux racines de *Phragmites australis* et *Zea mays* a été étudiée. Les échantillons ont été prélevés sur des plantes contrôles et des plantes exposées à une concentration de 15µg OCs/g MS pendant 45 jours. En étudiant les profils d'ADN bactériens (SSCP), les OCs modifient la structure des communautés bactériennes. D'autre part, l'isolement des bactéries à partir de racines contrôles et de racines exposées ont été cultivées et caractérisées par séquençage (ARN 16S). Le tableau 1 résume les différences observées entre les bactéries des contrôles et des plants exposés. Certains genres bactériens (*Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Bacillus*) sont connus pour leurs capacités à détoxifier les OCs [1,2,3], alors que les *Sphingobacteria* semblent être sensibles à une multi-exposition aux OCs.

**Table 1. Microflore de la rhizosphère des *Phragmites australis* et *Zea mays*. Familles bactériennes isolées/cultivables en milieu aérobie et caractérisées par séquençage ARN 16S.**

Bacteria families	<i>Phragmites australis</i>		<i>Zea mays</i>	
	Control	Organochlorine exposition	Control	Organochlorine exposition
Alphaproteobacteria	+	+	-	+
Flavobacteria	+	-	+	+
Actinobacteria	+	+	+	+
Gammaproteobacteria	+	+	+	+
Betaproteobacteria	+	+	+	+
Firmicutes	-	+	-	+
Sphingobacteria	+	-	+	-

- [1] Nawab A., Aleem A., Malik A. (2003) Determination of organochlorine pesticides in agricultural soil with special reference to c-HCH degradation by *Pseudomonas* strains. *Bioresource Technology* 88, 41-46.
- [2] Phillips T.M., Seech A.G., Lee H., Trevors J.T. (2005) Biodegradation of hexachlorocyclohexane (HCH) by microorganisms. *Biodegradation* 16, 363-392.
- [3] Manickam N., Misra R., Mayilraj S. (2007) A novel pathway for the biodegradation of  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane by a *Xanthomonas* sp. strain ICH12. *Journal of Applied Microbiology* 102, 1468-1478.

# Histological effects of isopropanol on the early gonadal development and the liver of medaka (*Oryzias latipes*)

CHOKRI MENJLI <sup>A,B</sup>, SYLVIE BIAGIANTI-RISBOURG<sup>A</sup>, ALAIN BEAUDON<sup>A</sup>, VÉRONIQUE GAILLET<sup>A</sup>,  
MONCEF BOUMAIZA<sup>B</sup>, SÉVERINE PARIS-PALACIOS<sup>A\*</sup>

<sup>a</sup>Unité de Recherche sur la Vigne et le Vin de Champagne, Laboratoire d'Eco-Toxicologie, EA 2069, Faculté des Sciences, Université de Reims Champagne-Ardenne, 'Moulin de la Housse, B.P. 1039 -51687 Reims cedex 2, France

<sup>b</sup>Laboratoire d'Hydrobiologie Littorale et Limnique, Faculté des Sciences de Bizerte, 7021, Jarzouna, Bizerte, Tunisie

Corresponding author. E-mail address: [severine.paris@univ-reims.fr](mailto:severine.paris@univ-reims.fr)

Organic solvents can make their way into the environment as industrial wastes and components of pesticide formulations (Burleigh-Flayer et al., 1998). Among them isopropanol (IPA) is interesting because it is widely used in industry but its ecotoxicity to aquatic organisms is poorly studied. In laboratory bioassays, the use of organic solvents is unavoidable since many pesticides and organic pollutants have low water solubilities and need to be dissolved in organic solvents prior to addition into experimental systems. Currently solvents are used to dissolve estrogens in water although they are thought to be potentially biologically active and toxic (Ren et al., 1996 ; Biagianti-Risbourg et al., 1998; Yokota et al., 2001). The purpose of the present study was to analyse histological effects of IPA on the gonadal development and the liver of Japanese medaka. *Oryzias latipes* were exposed to very weak concentration of IPA solvent under semi-static conditions from blastula stage to 61 days post hatch. The degree of hepatotoxicity and gonadal disruption was determined from histological studies of whole medaka sections. All fish exposed to IPA showed fibrosis, necrosis and cytological alterations of nuclei hepatocytes. Additionally a spermatogenesis disruption occurred in male fish. Testicular fibrosis was present but in lower severity compared to hepatic fibrosis. Female fish presented any gonadal perturbations. Thus this study demonstrates the clear hepatotoxicity and spermatogenesis disorders of IPA in chronic exposure at very low concentration.

**Keywords:** Solvents, Isopropanol, Histopathology, Liver, Gonad, Medaka (*Oryzias latipes*).

Burleigh-Flayer H, Gill M, Hurley J, Bevan C, Gardiner T, Kapp R, Tyler T, Wright G (1998) Motor Activity Effects in Female Fischer 344 Rats Exposed to Isopropanol for 90 Days. *J. Appl. Toxicol* 18: 373–381.

Biagianti-Risbourg S, Vernet G, Boulekbache H (1998) Ultrastructural response of the liver of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, sac-fry exposed to acetone. *Chemosphere* 36: 1911-1922.

Ren L, Meldahl A, Lech JJ (1996) Dimethyl formamide (DMFA) and ethylene glycol are estrogenic in rainbow trout. *Chemico-Biol. Interact* 102: 63–67.

Yokota H, Seki M, Maeda M, Oshima Y, Tadokoro H, Honjo T, Kobayashi K (2001) Life-cycle toxicity of 4-nonylphenol to medaka (*Oryzias latipes*). *Environ. Toxicol. Chem* 20: 2552–2560.

# Impact écotoxicologique des produits de photodégradation des phénylurées

HEDDE M., POITEVIN A., CHEVIRON N., BRAUT A., TOUTON I., BOISSEILLIER M., REPINCA Y C., NÉLIEU S.

UR 251 PESSAC, INRA, Versailles, France

[mhedde@versailles.inra.fr](mailto:mhedde@versailles.inra.fr)

Les polluants organiques peuvent être dégradés à la surface du sol par des photoreactions induites par les constituants du sol, tels que les nitrates ou les acides humiques. Ces processus peuvent aboutir à des dérivés toxiques qui constitueraient un risque potentiel pour les organismes. De telles réactions de photodégradation ont été mises en évidence et caractérisées dans les écosystèmes aquatiques notamment pour des herbicides de la famille des chlorophénylurées (diuron et chlorotoluron [1, 2]). La présente étude a pour but d'évaluer l'impact écotoxicologique de ces deux molécules et de leurs produits de photodégradation sur deux organismes modèles appartenant aux champignons basidiomycètes *Trametes versicolor* et *Phanerochete chrysosporium*. Les expériences ont été réalisées en culture liquide contenant différentes concentrations de l'herbicide natif ou de l'herbicide préalablement photodégradé à 70% de la concentration initiale, pendant 10 jours. Les impacts ont été mesurés sur les activités enzymatiques et la biomasse des champignons. Six activités ont été étudiées, incluant des hydrolases (glucosidase, galactosidase, N-acétyl-glucosaminidase et phosphatase) et des oxydases (laccase et deux peroxydases). D'autre part, les concentrations des produits parentaux et de leurs produits de dégradation ont été suivies par UPLC-MS-MS.

Mots-clé: champignon, phénylurée, photodégradation induite, impact écotoxicologique.

[1] Shankar M.V., Nélieu S., Kerhoas L., Einhorn J., Chemosphere 66 (2007), 767-774.

[2] Nélieu S., Perreau F., Bonnemoy F., Ollitrault M., Azam D., Lagadic L., Bohatier J., Einhorn J., Environ. Sci. Technol. (2009) DOI: 10.1021/es8033439

## **Programme ADEME - Bioindicateur II : Recherche d'outils de surveillance, de caractérisation et d'évaluation des risques des sols basés sur la faune du sol**

**HEDDE M<sup>1</sup>, BISPO A<sup>2</sup>, CLUZEAU D<sup>3</sup>, CORTET J<sup>4</sup>, DOUAY F<sup>5</sup>, GALSOMIES L<sup>2</sup>, GRAND C<sup>2</sup>, HOUOT S<sup>6</sup>, LEYVAL C<sup>7</sup>, PAUGET B<sup>8</sup>, RUIZ-CAMACHO N<sup>9</sup>, ULRICH E<sup>10</sup>, VANDENBULCKE F<sup>11</sup>, DE VAUFLEURY A<sup>8</sup>, VILLENAVE C<sup>12</sup>, PÉREZ G<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>PESSAC UR 251, INRA Versailles-Grignon; <sup>2</sup>ADEME; <sup>3</sup>ECOBIO, UMR CNRS 6553 Rennes; <sup>4</sup>LSE, INPL/ENSAIA Vandoeuvre-lès-Nancy; <sup>5</sup>LSE, ISA Lille; <sup>6</sup>EGC, UMR INRA 1091 Versailles-Grignon; <sup>7</sup>LIMOS, UMR CNRS 7137 Vandoeuvre-lès-Nancy; <sup>8</sup>LCE, UMR CNRS 6249 Besançon; <sup>9</sup>BIOEMCO, UMR CNRS 7618 Paris; <sup>10</sup>Réseau RENECOFOR, ONF; <sup>11</sup>IUT A, Univ Lille; <sup>12</sup>ECO&SOL, UMR IRD 210 Montpellier

Les objectifs généraux du programme sont de fournir aux professionnels de nouveaux outils de surveillance, de caractérisation et d'évaluation des risques basés sur les propriétés biologiques des sols. Lors de la première phase du programme, les équipes impliquées ont développé et testé leurs indicateurs dans les situations qu'elles maîtrisaient le mieux, sans pouvoir les évaluer dans des situations contrastées. Après sélection, les indicateurs les plus pertinents sont testés et comparés sur des sites communs.

Cette communication présente les premiers résultats du groupe s'intéressant à la faune du sol. Trois types d'indicateurs sont envisagés. L'Indice Global de Qualité des Sols (IGQS) qui est un indice synthétique combinant des indicateurs physiques, chimiques et biologiques (macro-invertébrés) de la qualité des sols. D'autres indicateurs dérivent de mesures liées à la structure et la diversité des communautés d'invertébrés appartenant à la macrofaune, la mésofaune et la nématofaune. Enfin, des mesures sont réalisées à l'échelle (infra)organismale chez les lombriciens (expression génique de la métallothionéine), chez les escargots (bioaccumulation active ou passive dans différents tissus) et chez les micromammifères (bioaccumulation dans l'animal). Ces indicateurs sont testés sur 13 sites retenus en fonction de leur histoire, de leur usage et de leur niveau de contamination, les travaux présentés correspondent aux sites étudiés en 2009.

Mots-clé: communautés, bioaccumulation, métallothionéine, macrofaune, mésofaune, nématofaune, vers de terre, escargots.

# Développement d'un biocapteur pour la détection des métaux et organoétain

JOUANNEAU S, THOUAND G. DURAND MJ

Université de Nantes, UMR CNRS 6144 GEPEA, Laboratoire CBAC, IUT Génie Biologique,  
18 bd Gaston Defferre, 85035 La Roche sur Yon

durand-thouand-mj@univ-nantes.fr

Parmi les polluants engendrés par les activités anthropiques les métaux et les organométalliques font l'objet d'une surveillance notamment dans les écosystèmes aquatiques. Les méthodes analytiques actuellement utilisées pour quantifier ces éléments reposent sur des techniques physicochimiques sensibles mais nécessitant un prétraitement important des échantillons et un appareillage sophistiqué impliquant un coût de l'analyse élevé, limitant le nombre d'échantillon dans les campagnes d'analyse. La recherche de méthodes alternatives rapides et peu coûteuses constitue donc un enjeu important pour la surveillance des écosystèmes. Parmi ces méthodes les biocapteurs sont des outils de choix, d'autant plus qu'ils nous renseignent sur la fraction biodisponible du polluant. Un des composants déterminant pour la performance d'un biocapteur est le choix du bioélément.

Nos travaux ont porté sur le développement de 4 souches bactériennes bioluminescentes sensibles à la présence de métaux, métalloïde (cadmium, mercure, argent, cuivre, zinc, arsenic) et d'une souche sensible au tributyl et dibutyl étain (TBT, DBT). Ces bioéléments ont été obtenus par transgénèse, les gènes impliqués dans la réaction de luminescence (gènes *lux*) ont été clonés en aval d'un promoteur inductible d'un gène de résistance aux métaux ou par insertion aléatoire des gènes *lux* dans le chromosome bactérien de *Escherichia coli* dans le cas de la détection du TBT et DBT. Ces différentes souches émettent de la lumière en présence de leur composé inducteur.

La souche permettant la détection du TBT et du DBT est très spécifique à ces composés, nous avons démontré la possibilité de détecter ces polluants dans des matrices complexes telle que des peintures anti-salissures ou des mollusques, un bioessai simple et rapide est disponible.

En ce qui concerne la détection des métaux, chacune des souches n'est pas spécifique d'un métal mais présente une sensibilité à une gamme de métaux ce qui engendre des problèmes d'interprétation face à un mélange de polluant. Nous avons étudié les réactions croisées de ces souches bactériennes pour les différents métaux afin de proposer un modèle statistique pour interpréter leur réponse. Ce modèle est basé sur 4 arbres de décision de type CHAID (Chi squared Automatic Interaction Detector), chacun étant spécifique d'un métal (cadmium, arsenic, cuivre et mercure). Les résultats montrent que le modèle révèle la présence de ces métaux dans des échantillons d'eau et qu'une information semi quantitative est possible. L'intégration de ces souches dans le biocapteur est actuellement en cours.

## Références bibliographiques récentes du laboratoire sur le sujet

- 1- Charrier T, MJ Durand, M Affi, S Jouanneau, H Gezekel, G Thouand, Bacterial bioluminescent biosensor characterisation for on-line monitoring of heavy metals pollutions in waste water treatment plant effluents, Intelligent and Biosensor. INTECH Edit, Vienne, Autriche - *in press* -
- 2- Gueuné H, Thouand G, Durand MJ, 2009, A new bioassat for the inspection and identification of TBT-containing antifouling paint, *Marine Pollution Bulletin*, **58**, 1734-1738.
- 3- Gueuné H., M J Durand, G Thouand, M S. DuBow, 2008, The *ygaVP* Genes of *Escherichia coli* Form a Tributyltin-inducible Operon, *Applied Environmental Microbiology*, **74**, 1954-1958
- 4- Horry H, Charrier T, Durand MJ, Picart P, Daniel Ph, G Thouand, 2007, Technological conception of an optical biosensor with a disposable card for use with bioluminescent bacteria, *Sensor and Actuator B*, **122**, 527-534.



# Comparison of two methods to assess effects of insecticides on hypopharyngeal gland development of honey bee.

DOMINIQUE FORTINI, BRUNO MICHAUD, PIERRICK AUPINEL

Unité expérimentale d'entomologie, INRA, Le Magneraud, BP 52, 17700 Surgères, France

Hypopharyngeal glands (HPG) are the main organs responsible of royal jelly secretion. The size of the HPG is aged [2] [4] and food protein [5] [7] dependent, and correlated to the amount of secretion [2], and the weight of the head [5]. Their development can be assessed with a microscope by measuring the acini diameter after dissection.. This very useful method [1] [3] [5] [6] has some convenient: it requires dexterity to extract the gland, and the diameter of the acini is difficult to measure because of its pear shaped. In order to assess the HPG development, total protein of the gland can be measured with Bradford method [7] [8] [9], but it also requires to extract it from the head.

The development of the HPG may be also affected by substances known for their insecticide effects like soybean trypsin inhibitor [8] [9].

The objective of this work is to compare two methods for assessing the effects of insecticides on HGP development. The first one consists in measuring the acini diameter, and the second one to measure the total protein of the head. The measurements are made on nurses intoxicated during 10 days with sublétales doses of dimethoate.

- [1] Babendreier D., Kalberer N. K., Romeis J. , Fluri P., Mulligan E., Bigler F. (2005). Influence of Bt-transgenic pollen, Bt-toxin and protease inhibitor (SBTI) ingestion on development of the hypopharyngeal glands in honeybees. *Apidology* 36:584-594
- [2] Deseyn J., Billen J. (2005) Age-dependent morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of *Apis mellifera* workers (Hymenoptera, Apidae). *Apidology* 36:49-57.
- [3] Gupta P.R., Chandel R. S. (1994) Effects of diflubenzuron and penfluron on workers of *Apis cerana* and *Apis mellifera* L. *Apidology* 26:3-10.
- [4] Huang Z. Y., Otis G. W. (1989) Factors determining hypopharyngeal gland activity of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insectes sociaux* 36(4):264-276.
- [5] Hrasnigg N., Crailsheim K. (1998) Adaptation of hypopharyngeal gland development to the brood status of honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Journal of insect Physiology* 44:929-939.
- [6] Malone L. A., Todd H. J., Burgess E. P. J., Chriteller J. T. (2004) Development of hypopharyngeal glands in adult honey bees fed with Bt toxin, a biotin-binding protein and protease inhibitor. *Apidology*, 35:655-664.
- [7] Pernal S. F., Currie R. W. (2000) Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidology* 31:387-409.
- [8] Sagili R. R., Pankiw T., Zhu-salsman K. (2005) Effects of soybean inhibitor on hypopharyngeal gland protein content, total midgut protease activity and survival of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Journal of insect Physiology* 51:953-957.
- [9] Sagili R. R., Pankiw T. (2007) effects of protein-constrained brood food on honey bee (*Apis mellifera* L.) pollen foraging and colony growth. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61:1471-1478.



## **Session 2 : Ecologie du stress**

### **Communications orales**



# Effets d'une exposition chronique à l'uranium sur les traits d'histoire de vie et la physiologie de *Daphnia magna* sur trois générations successives

**MASSARIN S.<sup>1</sup>, ALONZO F.<sup>1</sup>, GARCIA-SANCHEZ L.<sup>1</sup>, GILBIN R.<sup>2</sup>, POGGIALE J.C.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Laboratoire de Modélisation Environnementale, DEI/SECRE/LME, Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), Cadarache, Bât. 159, BP 3, 13115 Saint-Paul-Lez-Durance Cedex, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Radioécologie et d'Ecotoxicologie, DEI/SECRE/LRE, Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), Cadarache, Bât. 186, BP 3, 13115 Saint-Paul-Lez-Durance Cedex, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Microbiologie, Géochimie et Ecologie Marines (UMR CNRS 6117), Centre d'Océanologie de Marseille, Université de la Méditerranée, Campus de Luminy, Case 901, Marseille Cedex 9, 13288, France

E-mail contact: [sandrine.massarin@irsn.fr](mailto:sandrine.massarin@irsn.fr)

Une étude expérimentale sur la toxicité chronique de l'uranium a été récemment conduite chez le crustacé cladocère *Daphnia magna* (Zeman et al., 2008) pour évaluer l'impact de ce contaminant sur l'écosystème aquatique dans la mesure où les concentrations rencontrées s'échelonnent de 0.02 à 6  $\mu\text{g.L}^{-1}$  dans les eaux naturelles et peuvent atteindre 10 à 20  $\text{mg.L}^{-1}$  suite aux activités anthropiques (Bonin et Blanc, 2001 ; Ragnarsdottir et Charlet, 2000). L'inhibition de la croissance et de la reproduction mise en évidence dès 25  $\mu\text{g.L}^{-1}$  était potentiellement imputable à une perturbation de l'assimilation de la nourriture, comme le suggéraient les dommages observés au niveau de l'épithélium intestinal. Cette hypothèse demeure à vérifier. De plus, la masse des œufs, décroissante avec la concentration d'uranium, laissait pressentir une plus forte sensibilité des descendants par rapport aux parents. Cependant l'étude était limitée aux effets sur une génération au cours d'une exposition de 21 jours.

Notre étude examine la toxicité chronique de l'uranium sur 3 générations successives (F0, F1, F2), exposées à une gamme de concentrations allant de 0 à 75  $\mu\text{g.L}^{-1}$  U. Pour chaque condition d'exposition et pour les 3 générations, la survie, l'ingestion de nourriture, l'assimilation du carbone, la respiration, la croissance somatique, la reproduction et la bioaccumulation en uranium ont été mesurés.

Les résultats dans F1 et F2 sont fortement contrastés avec ceux observés dans F0 soulignant la nécessité des tests de toxicité multigénération comme support dans l'évaluation du risque écologique. Alors que dans F0, l'exposition à l'uranium ne montre pas d'effet sur la survie quelque soit la concentration de la gamme testée, une mortalité de 100% est observée au 16<sup>ème</sup> jour à 75  $\mu\text{g.L}^{-1}$  dans F1. Les réductions de taille, bien que très légères à 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , deviennent plus importantes avec l'augmentation des concentrations en uranium dans les 3 générations exposées. Les effets de l'uranium sur la croissance somatique en masse, l'ingestion, l'assimilation et la respiration s'expliquent majoritairement par les réductions de longueur corporelle observées. L'exposition à l'uranium induit aussi des perturbations dans la reproduction entraînant des retards dans la libération des pontes, des réductions de fécondité et des réductions dans la masse investie dans les œufs. Les résultats de bioaccumulation suggèrent que les ovaires jouent le rôle de barrière face à un transfert maternel direct. L'augmentation de la sensibilité de la descendance pourrait être le résultat d'une contamination pendant le développement embryonnaire et/ou d'une réduction dans les réserves énergétiques déposées dans les œufs.

L'intégration de ces résultats dans un modèle bioénergétique va permettre de comprendre le lien entre les perturbations des fonctions physiologiques, induites par l'uranium, et les processus clés de la dynamique de population et ainsi d'évaluer les conséquences au niveau populationnel (Calow, 1991), critère plus robuste en évaluation du risque écologique.

Bonin, B. and P.L. Blanc, *L'uranium dans le milieu naturel, des origines jusqu'à la mine*. L'Uranium: De l'Environnement à l'Homme, 2001: p. 7-41.

Calow, P., *Physiological costs of combating chemical toxicants: Ecological implications*. Comparative Biochemistry and Physiology - C Pharmacology Toxicology and Endocrinology, 1991. **100**(1-2): p. 3-6.

Ragnarsdottir, K.V. and L. Charlet, *Uranium behaviour in natural environments*. Environmental Mineralogy: Microbial Interactions, Anthropogenic Influences, Contaminated Lands and Waste Management, 2000: p. 333-377.

Zeman, F.A., et al., *Effects of waterborne uranium on survival, growth, reproduction and physiological processes of the freshwater cladoceran *Daphnia magna**. Aquatic Toxicology, 2008. **86**(3): p. 370-378.

# Les micropolluants organiques contenus dans les produits résiduaire organiques ont-ils des impacts écotoxicologiques sur l'écosystème sol ?

**CHRISTIAN MOUGIN<sup>1</sup>, DOMINIQUE PATUREAU-STEYER<sup>2</sup>, GUILLERMINA HERNANDEZ-RAQUET<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>UR251 PESSAC, Route de St-Cyr, 78026 Versailles, [mougin@versailles.inra.fr](mailto:mougin@versailles.inra.fr)

<sup>2</sup>UR050 LBE, Route des Etangs, 11000 Narbonne

L'épandage de produits résiduaire organique (boues, composts, lisiers...) sur les sols cultivés peut être à l'origine de leur contamination par des micropolluants organiques. Les impacts écotoxicologiques éventuels de ces apports sur les organismes et le fonctionnement des sols doivent être étudiés. Dans le passé, la plupart des études ont essentiellement concerné des contaminants organiques persistants tels que les HAPs ou les PCBs, et n'ont que peu pris en compte des composés d'origine agricole ou domestique. Par ailleurs, les produits résiduaire organique étaient souvent apportés aux sols à des doses sans relation avec les pratiques agricoles conventionnelles.

Notre présentation s'appuie sur différentes études de cas réalisées en France ces dernières années. Elle présente des avancées de nos connaissances concernant le devenir et les effets de pesticides, perturbateurs endocriniens, hormones stéroïdiennes entrant dans le sol via les boues d'épuration urbaines ou les lisiers produits par les élevages.

Dans ce but, deux types d'expériences de laboratoire ont été mis en œuvre. Dans un premier temps, des systèmes sol-plante-eau ont été utilisés pour étudier le devenir de micropolluants radiomarqués dans le sol (transformation, stabilisation...) ainsi que leur transfert vers les lixiviats ou les végétaux. Dans un second temps, des cosmes ont permis d'étudier les effets néfastes possibles de ces composés sur des organismes appartenant à trois niveaux écologiques (décomposeurs, producteurs et consommateurs de biomasse). Des tests fonctionnels ont été aussi utilisés.

En règle générale, nos études ont montré que la dégradation (minéralisation) des micropolluants était souvent réduite lorsque ceux-ci étaient apportés au sol via les produits résiduaire, par comparaison avec une pulvérisation directe du sol. Leurs temps de demi-vie étaient augmentés. Les micropolluants restent dans le sol sous forme de résidus stabilisés, ou sont extractibles par des solvants. Ils sont faiblement transférés vers les lixiviats et les végétaux. Le devenir des micropolluants dans les sols dépend également de la nature des produits résiduaire, donc du procédé de traitement mis en œuvre pour leur production. Cependant, les produits résiduaire sont également une source de micro-organismes doués de capacités cataboliques. A l'inverse, il est difficile de mettre en évidence des effets néfastes clairs des micropolluants sur les micro-organismes, alors que les végétaux et les arthropodes étaient affectés. Il reste cependant très difficile de distinguer les effets directs des micropolluants de ceux des produits résiduaire.

Nos études, qui intègrent différents types de micropolluants organiques, montrent que les résultats issus de ces études de cas sont très spécifiques et difficilement généralisables. Ils suggèrent également qu'il reste nécessaire de réaliser des expérimentations dans des situations réalistes d'un point de vue agronomique, afin d'obtenir des connaissances pertinentes sur les impacts écotoxicologiques possibles liés à l'épandage de produits résiduels sur les sols.

Ghanem A., Dubroca J., Chaplain V. and Mougin C. 2006. Fate of herbicides and nonylphenol in soil-plant-water systems amended with contaminated sewage sludge. *Environ. Chem. Letters* 4:63-67.

Mougin C., Dapozze F., Brault A., Malosse C., Schmidt J.E., Amellal-Nassr N. and Patureau D. 2006. Phthalic acid and benzo[a]pyrene in soil-plant-water systems amended with contaminated sewage sludge. *Environ. Chem. Letters* 4:201-206.

Ghanem A., Bados P., Rua Estaun A., de Alencastro L.F., Taibi S., Einhorn J, Mougin C. 2007. Concentrations and specific loads of glyphosate, diuron, atrazine, nonylphenol and metabolites thereof in French urban sewage sludge. *Chemosphere* 69:1368-1373.

Dubroca J., Collignon N., Brault A., Hernandez-Raquet G., Patureau D. and Mougin C. 2009. Fate of 17 $\beta$ -estradiol in terrestrial model ecosystems amended with contaminated composted biosolids. *Environ. Chem. Letters* 7:369-373



# Les traits biologiques de la macrofaune des sols : un outil pour l'évaluation de la restauration des sols

HEDDE M.<sup>1</sup>, LAMY I.<sup>1</sup>, CORTET J.<sup>2</sup>, NAHMANI J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UR 251 PESSAC, INRA Versailles; <sup>2</sup>LSE, INPL/ENSAIA Vandoeuvre-lès-Nancy ; <sup>3</sup>LIEBE, UMR CNRS 7146 Metz.

Les pressions dues aux activités humaines menacent de plus en plus l'intégrité écologique des sols. La proposition de directive cadre européenne (COM(2006) 232) a ainsi listé les huit principaux processus de dégradation des sols en Europe, parmi lesquels apparaissent la perte de biodiversité et les contaminations. Dans les écosystèmes aquatiques, ces deux perturbations peuvent être appréhendés efficacement par les traits biologiques des macro-invertébrés épibenthiques. Dans ce contexte, notre objectif est de développer une approche similaire utilisant les traits biologiques des macroinvertébrés édaphiques.

Il s'agit de lier les paramètres du sol et les traits biologiques de la macrofaune des sols. Pour cela, en premier lieu, nous avons sélectionné des sites en restauration écologique. En effet, le système « sol » y est dans un état de non-équilibre, ce qui permet d'établir des relations entre les changements des paramètres des sols et des traits biologiques présents. Deux types de restauration écologique ont été étudiés. (1) l'effet du changement d'usage de sols contaminés (par l'épandage d'eaux usées) de cultures céréalières annuelles vers des cultures énergétiques pérennes et (2) la restauration d'un site industriel à l'aide d'un technosol construit.

Les invertébrés ont été échantillonnés par piégeage et tri manuel de sol. Les carabes, cloportes, mille-pattes, escargots et limaces ont été déterminés au niveau spécifique ou générique. Leur traits biologiques (morphologie, nutrition, cycle de vie, anatomie fonctionnelle et préférences écologiques) ont été collectés dans la littérature et codés. Les relations entre les patrons de traits et les paramètres du sol (pH, éléments majeurs et micropolluants, etc) ont été explorées et comparées entre sites.

## Profils fonctionnels fongiques : Indicateurs d'écotoxicité des Métaux dans les sols

LEBRUN<sup>1,2</sup> J., DEMONT-CAULET<sup>3</sup> N., GATTIN<sup>2</sup> I., LAVAL<sup>2</sup> K. ET MOUGIN<sup>1</sup> C.

<sup>1</sup> INRA, UPR 251 PESSAC, Versailles, France.

<sup>2</sup> ESITPA, Laboratoire BioSol, Mont-St-Aignan, France.

<sup>3</sup> INRA, UPR 501 Biologie Cellulaire, Versailles, France.

jlebrun@versailles.inra.fr

Les activités anthropiques ont conduit à d'importantes contaminations des sols par les métaux, à des niveaux parfois délétères pour les systèmes biologiques et le fonctionnement des sols. Grâce à leur capacité à sécréter des enzymes et à adapter leurs métabolismes à différentes sources de nutriments, les champignons sont des colonisateurs clés des écosystèmes terrestres (Bouws et al., 2008). Les réponses fonctionnelles des champignons du sol aux métaux pourraient offrir des perspectives dans le développement d'outils pour l'évaluation des risques écotoxicologiques (Maron et al., 2007 ; Lebrun et al., 2009). Cependant, la connaissance de la relation entre la diversité fonctionnelle fongique et un stress métallique est encore très limitée. Dans ce travail, l'impact de métaux (Cu, Zn, Pb et Cd) sur les systèmes fonctionnels extracellulaires, i.e. les sécrétomes, a été étudié au niveau enzymatique et protéique chez une douzaine de souches fongiques isolées de sols agricoles, et cultivées en milieux liquides. Les études se sont focalisées sur deux familles d'enzymes impliquées dans les cycles biogéochimiques des sols : les hydrolases (phosphatase,  $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -galactosidase et N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase) et les oxydoréductases (laccase, Mn- et lignine-peroxydases). Les résultats ont permis d'établir des profils de sécrétion caractéristiques d'exposition métallique. La réponse des hydrolases aux métaux présente une grande variabilité intracommunautaire. Elle dépend de la souche, du métal et de l'enzyme considérés. Chez les souches disposant d'un système oxydatif (50% des souches testées), les activités oxydoréductases sont stimulées uniquement par le Cu et le Cd, et non par le Zn et le Pb. Dans certains cas, des oxydoréductases non produites dans les cultures non exposées, sont spécifiquement synthétisées en présence de métaux. Au niveau protéique, nous avons montré que la stimulation des activités oxydoréductases par les métaux est fortement corrélée à la quantité de protéines sécrétées. Par ailleurs, les expositions métalliques conduisent à des modifications post-traductionnelles (isoformes glycosylées) et de production d'isoenzymes. L'étude de la sensibilité de la réponse des oxydoréductases a permis de relier cette réponse à une forme chimique du métal, i.e. la forme cationique, et de montrer que cette réponse se produit à des niveaux de contamination environnementalement réalistes. De par la spécificité, la sensibilité et la généralité de leur réponse, les oxydoréductases fongiques se sont avérées être des biomarqueurs potentiels d'exposition aux métaux. Il est maintenant nécessaire de valider *in situ* ces outils biochimiques pour évaluer l'écotoxicité des métaux dans les sols.

**Mots-clés :** hydrolases, oxydoréductases, sécrétomes, biomarqueurs d'exposition

**Bouws H, Wattenberg A, Zorn H (2008).** Mini-review: Fungal secretomes-nature's toolbox for white technology. *Appl Microbiol Biotechnol* 80:381-388.

**Lebrun JD, Trinsoutrot-Gattin I, Laval K, Mougin C (2009).** Insights into the development of fungal biomarkers for metal ecotoxicity assessment: case of *Trametes versicolor* exposed to copper. *Environ Toxicol Chem* online.

**Maron PA, Ranjard L, Mougél C, Lemanceau P (2007).** Metaproteomics: A new approach for studying functional microbial ecology. *Microb Ecol* 53:486-493.

## **Session 2 : Ecologie du stress**

### **Posters**



## Développement d'un nouveau bioessai pour l'évaluation de la toxicité des sédiments

LUDOVIC VICQUELIN <sup>1,2</sup>, JOËLLE LERAY-FORGET <sup>1</sup>, BÉNÉDICTE MORIN <sup>2</sup>, KARYN LEMENACH <sup>2</sup>,  
HÉLÈNE BUDZINSKI <sup>2</sup> ET JÉRÔME CACHOT <sup>2</sup>

<sup>1</sup> LEMA EA 3222, Université du Havre, Le Havre

<sup>2</sup> LPTC ISM UMR 5255, Université Bordeaux 1, Talence

L'évaluation de la toxicité des sédiments représente un enjeu actuel majeur pour l'évaluation des risques environnementaux dans les écosystèmes aquatiques. En effet, de très nombreux polluants métalliques ou organiques qui transitent dans les écosystèmes aquatiques se retrouvent séquestrés à plus ou moins long terme dans les sédiments. Il en résulte une contamination complexe et une exposition potentielle des organismes qui vivent ou se nourrissent dans ce compartiment. C'est notamment le cas de certains poissons dont le développement embryonnaire s'effectue à l'interface eau-sédiment. Les tests de toxicité normalisés sur stades précoces de poissons (e.g. tests OCDE TG210 et TG212) ne permettent pas d'évaluer la toxicité de ces sédiments en prenant en compte la biodisponibilité relative des polluants et toute la complexité et labilité des mélanges.

Afin de combler ce manque, nous travaillons sur le développement d'un nouveau bioessai permettant d'évaluer la toxicité de sédiments sans extraction préalable des polluants présents. Ce test dérive de l'essai MELA (Medaka Embryo-Larval Assay) mais utilise le sédiment comme source de contamination (Cachot *et al.*, 2007). Les œufs fécondés sont incubés en conditions contrôlées et pendant toute la durée de leur développement embryonnaire (e.g. 10 jours à 26°C) en contact direct avec un sédiment naturellement ou artificiellement contaminé. Les larves à l'éclosion sont placées en eau propre et conservées quelques jours (3 à 10j selon les analyses à réaliser) pour observation. Une gamme très large d'effets létaux et sub-létaux sont analysés sur les embryons et les larves. Ces marqueurs incluent, la mortalité embryonnaire et larvaire, la durée du développement, l'échec d'éclosion, l'activité cardiaque, la taille à l'éclosion, la fréquence et la nature des malformations et l'intégrité de l'ADN. Le couplage de l'ensemble de ces marqueurs permet d'augmenter la sensibilité du test et de mieux prédire les conséquences potentielles sur l'individu adulte.

Des travaux ont été conduits avec divers polluants organiques hydrophobes purs ou en mélange et sur des sédiments naturels collectés sur une radiale amont-aval dans l'estuaire de Seine. Les résultats obtenus seront présentés et confrontés aux données de contamination chimique.

Cette étude a été financée par les régions Haute-Normandie et Aquitaine, le GIP Seine-Aval et le réseau ERICHE du CNRS.

Référence :

Cachot *et al.* (2007) *Environ Sci Technol.* **41**:7830-7836.

# Reprotoxicité de l'Uranium chez le poisson *Danio rerio*. Prise en compte de la durée d'exposition

SIMON O<sup>1</sup>, ADAM C, FLOC'H E<sup>1</sup>, GEFFROY B<sup>1</sup> AND GILBIN R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Radioécologie et d'Ecotoxicologie, Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire, Bât 183, BP 3,  
13115 Saint-Paul-Lez-Durance Cedex, France  
E-mail contact: [olivier.simon@irsn.fr](mailto:olivier.simon@irsn.fr)

L'exposition aux métaux lourds peut entraîner une diminution drastique des capacités de reproduction chez les espèces de poisson et conduire par conséquent à une perturbation de la structure des écosystèmes (Hammerschmidt, 2002 ; Szczerbick, 2005).

Les activités anthropiques (exploitation minière principalement) contribuent à l'augmentation des concentrations d'uranium naturel dans les écosystèmes aquatiques continentaux. Les concentrations retrouvées dans les milieux aquatiques non contaminés varient entre 0.02 et 6 µg.L<sup>-1</sup> (Bonin et Blanc, 2001) mais il est possible de retrouver des concentrations plus élevées (200-3000 µg.L<sup>-1</sup>) dans certains lacs du Saskatchewan, Canada.

Ainsi, il apparaît important de caractériser les effets de l'U sur les capacités de reproduction, via l'acquisition des données expérimentales directement exploitables pour l'étude de la dynamique de population. Les critères d'effet retenus sont la survie, la fertilité et la fécondité, données d'entrée minimales pour caractériser les effets sur la dynamique de population.

L'approche menée au laboratoire en conditions contrôlées a été réalisée sur le stade adulte du poisson *Danio rerio*, après une durée d'exposition courte (20 jours) et chronique (de l'œuf issu de parents préalablement exposés jusqu'à la maturation sexuelle des poissons ; soit 200 jours) à 0, 20 et 250 µg.L<sup>-1</sup>

A la plus forte concentration d'exposition, les effets obtenus après 20 jours d'exposition montrent une réduction significative de la fécondité des Fo (80% par rapport au Témoin) alors qu'après 200 jours d'exposition, la fécondité des F1 est nulle. Cet effet est relié à un déséquilibre important du sexe ratio (3.7 fois moins de femelle par rapport au témoin) qui n'a pas permis la mise en place de la reproduction des F1.

A la faible concentration d'exposition (20 µg.L<sup>-1</sup>), la fécondité est réduite d'un facteur 3 à 5 pour les deux durées d'exposition. Cependant, la viabilité des œufs à 24 hpf (heures post fertilisation, 88 ± 12%) est comparable à celle des témoins (75 ± 23%) après 20 jours d'exposition des adultes alors qu'elle est fortement réduite pour les F1 après 200 jours (31 ± 27%).

Ainsi, l'effet de l'U sur les capacités de reproduction du poisson zèbre a pu être démontré. Toutefois, les niveaux d'effets et par conséquent leur répercussion sur la dynamique de population sont différents en fonction des durées d'exposition. Ces résultats nous amènent à nous interroger sur la représentativité des courtes durées d'exposition, sur un stade de vie particulier, comme généralement réalisés au cours des tests d'écotoxicité.

**Mots clé :** poisson, uranium, reproduction

Szczerbik, P., Mikolajczyk, T., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Socha, M., Chyb, J., Epler, P., 2006. Influence of long-term exposure to dietary cadmium on growth, maturation and reproduction of goldfish (subspecies: Prussian carp *Carassius auratus gibelio* B.). *Aquatic Toxicology*, 77, 126-135.

Hammerschmidt, C.R., Sandheinrich, M.B., Wiener, J.G., and Rada, R.G., 2002. Effects of dietary methylmercury on reproduction of fathead minnows. *Environ. Sci. Technol.*, 36, 877-883.

Bonin, B., Blanc, P.L., 2001 L'uranium dans le milieu naturel, des origines jusqu'à la mine. In : Métivier, H (Ed.), *L'uranium de l'environnement à l'homme*. EDP Sciences, Les Ulis, pp. 7-41.

# Etude en mésocosme de la croissance de *Miscanthus x giganteus* (MxG) sur sols de friche pollués (ETM, HAP, pollutions mixtes)

C. P. MARTINEZ-CHOIS, D. TÉCHER, A. BONNEFOY, P. LAVAL-GILLY, J. FALLA

Laboratoire des Interaction Ecotoxicologie Biodiversité Ecosystèmes (LIEBE), Université Paul Verlaine – METZ, CNRS UMR 7146, Equipe DIFO, IUT Thionville-Yutz, Espace Cormontaigne, 57970 Yutz, France

Le développement industriel provoque l'altération de l'environnement ce qui, malgré l'existence de phénomènes d'atténuation naturels, aboutit à la création de sols dégradés ou à pollution persistante, qualifiées de friches industrielles. Cependant, depuis 2003, ces zones présentent un intérêt particulier dans la politique régionale et nationale de réaménagement du territoire (diagnostic, surveillance, réhabilitation) afin de prévenir et maîtriser les risques pour l'environnement et les populations. Dans cette optique, *Miscanthus x giganteus* (MxG), plante en C4, pourrait être employée. Peu exigeante vis-à-vis du sol, sa culture permettrait de rendre une activité économique à ces zones délaissées en produisant une biomasse revalorisable. La première phase de ce travail a consisté à réaliser un plan d'expérience en mésocosme conduit pour étudier la croissance de MxG sur différents types de sols pollués en éléments traces métalliques (ETM), en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et « ETM/HAP » provenant d'une friche industrielle au nord de la Moselle (France). Les tests appliqués suivant la norme « Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre (*Eisenia fetida*), ISO 11268-1:1994 » ont confirmé l'écotoxicité des sols pollués en ETM et ETM/HAP. La production en biomasse aérienne n'a pas été affectée par la culture sur sols pollués ; en revanche celle du rhizome est plus faible que pour les témoins quels que soit le type de contamination.. *Miscanthus x giganteus* pourrait donc représenter une opportunité en permettant l'exploitation de la biomasse aérienne obtenue à partir de cultures sur sols de friches polluées ou non afin de revalorisation énergétique des friches industrielles.

**Remerciements :** Ce projet est cofinancé par l'Union Européenne. L'Europe s'engage en Lorraine avec le fond européen de développement régional. Nous remercions aussi la Communauté d'Agglomération Thionville Portes de France pour son soutien.

- Arduini I., Masoni A. et Ercoli L., 2006. Effects of high chromium applications on miscanthus during the period of maximum growth. *Environmental and Experimental Botany* 58 : 234-24.
- Ebrahim M.K.H.. 2004. Comparison, determination and optimizing the conditions required for rhizome and shoot formation, and flowering of in vitro cultured calla explants. *Scientia horticultrae*. 101, 305-313.
- Eom I.C., Rast C., Veber A.M et Vasseur P., 2007. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. *Ecotoxicol. Environ. Saf* 67 : 190-205.
- Kalembasa D., Vanhold N., et Malinowoska E., 2004. The changes of the cadmium and lead content of the biomass *Miscanthusa* grass depending upon the clones and term of sampling. Cracow (Poland): Proceeding of the international conference of bioremediation of soil and groundwater. 149-153 p.
- République Française. Loi n°2003-699 du 30 juillet 2003 relative à la prévention des risques technologiques et naturels et à la réparation des dommages

## Intérêts des expérimentations en microcosmes en écotoxicologie appliquée. Deux exemples concrets dans le Nord de la France

### LEMIÈRE SÉBASTIEN ET LEPRÊTRE ALAIN

Univ. Lille Nord de France, LGCE; Laboratoire Génie Civil et Environnement, Lille 1, équipe « *Ecologie Numérique et Ecotoxicologie* », Cité Scientifique, SN3 RDC, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France. Email : [sebastien.lemiere@univ-lille1.fr](mailto:sebastien.lemiere@univ-lille1.fr)

La Région Nord-Pas-de-Calais, densément peuplée, possède un passé industriel lourd et détient un nombre très important de sites pollués (sols et sédiments). Les travaux de recherche de l'équipe "Ecologie Numérique et Ecotoxicologie" du LGCE (Univ. Lille Nord de France) se focalisent actuellement autour d'expérimentations en microcosmes et mésocosmes, dispositifs réalisant le lien entre la dimension excessivement "laboratoire" manquant souvent de réalisme écologique et la dimension "terrain", trop complexe pour être abordée d'emblée. Le terme "écotoxicologie" est donc pris dans son acception écologique.

Les activités métallurgiques ont conduit à la contamination des environnements aquatiques et terrestres avoisinants. Nous présenterons deux exemples de l'utilisation de microcosmes dans le contexte de l'évaluation des risques environnementaux des sols et sites contaminés par les fonderies de Metaleurop et Umicore (à proximité de Douai).

Le canal de La Deûle est une des voies navigables françaises les plus contaminées. En raison du trafic important sur ce canal et des opérations de curage nécessaires à l'entretien de sa navigabilité, les contaminants métalliques, piégés dans le sédiment, sont susceptibles d'être libérés dans la colonne d'eau. Dans le but d'étudier les effets écotoxicologiques de la resuspension de sédiments contaminés sur des macroinvertébrés d'eau douce, un dispositif d'exposition en microcosmes aquatiques intérieurs semi-statiques (80L) a été développé. Les effets biologiques de la resuspension de sédiments ont été analysés à l'aide d'une batterie de biomarqueurs d'exposition et d'effet (activités enzymatiques des systèmes antioxydants, allocation énergétique, expression de gènes, traits d'histoire de vie...) mesurés chez des bivalves (*Dreissena polymorpha*) exposés un mois et du suivi de paramètres physico-chimiques de la colonne d'eau (pH, température, dureté calcique, nitrates, nitrites, turbidité, conductivité, azote ammoniacal, silice...)

Autour des usines métallurgiques de Noyelles-Godault et d'Auby (Nord, 59), les sols agricoles sont notoirement connus pour leur degré élevé de contamination par les métaux. Concernant les aires de jeux, les parcs municipaux, les potagers et les jardins individuels de cette zone, la contamination commence à être caractérisée mais les connaissances restent parcellaires.

L'application d'agents immobilisants des métaux pourrait constituer une méthode alternative et économique pour la remédiation d'aires contaminées étendues dans un contexte urbain : mosaïque de jardins individuels, d'espaces publics, de friches, de bois et de champs agricoles. Une telle remédiation par immobilisation des éléments métalliques n'a pas pour objectif de décontaminer les sols, mais vise à réduire la mobilité, la biodisponibilité et la bioaccessibilité des polluants. Ces agents immobilisants peuvent être minéraux comme les cendres volantes issues de centrales thermiques à lit fluidisé circulant de combustion (cendres LFC) et des amendements phosphatés, ou organiques comme certains polymères industriels de type superabsorbants portant des fonctions carboxyliques. Ces agents doivent cependant, parallèlement à leur développement ou antérieurement à leur production, usage et commercialisation, être évalués en



termes d'effets écologiques et écotoxicologiques pour la macrofaune (et notamment les vers de terre) des sols.

Afin d'évaluer les effets toxiques intrinsèques de quelques agents (cendres LFC, polymères et amendement phosphaté) utilisables pour la remédiation de sols urbains contaminés par les métaux, ainsi que pour étudier l'efficacité de ces traitements, des expérimentations en microcosmes terrestres intérieurs (30L) ont été mises en œuvre avec l'annélide oligochète *Eisenia fetida*. Plusieurs paramètres biologiques ont été suivis pendant deux mois d'exposition : cinétique d'accumulation des métaux, expression de gènes, activités enzymatiques des systèmes antioxydants, paramètres biochimiques, valeurs d'équivalents énergétiques, traits d'histoire de vie...).

Après exposé et discussion de nos principaux résultats, nous concluons, sur l'intérêt et les limites des expérimentations en évaluation des risques environnementaux.

- Demuyck S., Grumiaux F., Mottier V., Schikorski D., **Lemière S.** and **Leprêtre A.**, 2007, Cd/Zn exposure interactions on metallothionein response in *Eisenia fetida* (Annelida, Oligochaeta), *Comparative Biochemistry and Physiology*, **145**(4):658-668.
- Grumiaux F., Demuyck S., **Lemière S.**, Vandebulcke F. and **Leprêtre A.**, 2007, Effect of Fluidized Bed Combustion Ashes used in metal polluted soil remediation on life history traits of the oligochaeta *Eisenia andrei*, *European Journal of Soil Biology*, **43**(S1):S256-S260.
- Grumiaux F., Demuyck S., Schikorski D., **Lemière S.** and **Leprêtre A.**, 2009, Assessing effects of FBC ash treatments of metal-contaminated soils using life history traits and metal bioaccumulation analysis of the earthworm *Eisenia andrei*, *Chemosphere* Accepted
- Lemière S.**, Godet J.P., Tanguy M., Técher D., Leroux R., Vandebulcke F., Demuyck S., Grumiaux F., Delplace P. and **Leprêtre A.**, 2009, Microcosm studies for ecotoxicological risk assessment of smelting plant contaminated environments : two examples in the North of France, *International symposium on Toxicity Assessment*, 14<sup>th</sup>, Metz, France, 30 August-4 September 2009.
- Lemière S.**, Grumiaux F., Godet J-P., Tanguy M., Delplace P., Demuyck S., Brulle F., Pruvot C., Vandebulcke F., Douay F., and **Leprêtre A.**, 2009, Evaluation de l'intérêt d'agents immobilisants pour la remédiation de sols urbains contaminés par des métaux : utilisation d'*Eisenia fetida* exposés en microcosmes. *Actes des Deuxièmes rencontres nationales de la recherche sur les sites et sols pollués : pollutions locales et diffuses*, Paris, France, 20-21 octobre 2009.

# Etude comparative de l'impact de l'uranium et du cadmium chez l'écrevisse *Procambarus clarkii*

**SIMONE AL KADDISSI<sup>1;2</sup>, OLIVIER SIMON<sup>1</sup>, ALEXIA LEGEAY<sup>2</sup>, PATRICE GONZALEZ<sup>2</sup>. VIRGINIE CAMILLERI<sup>1</sup>, MAGALI FLORIANI<sup>1</sup>, RODOLPHE GILBIN<sup>1</sup> AND JEAN-CHARLES MASSABUAU<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratoire de Radioécologie et d'Ecotoxicologie, Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire, Bât 186, BP 3, 13115 Saint-Paul-Lez-Durance Cedex, France.

<sup>2</sup>Laboratoire de Géochimie et d'Ecotoxicologie des Métaux dans les systèmes Aquatiques (GEMA), Université Bordeaux1/UMR CNRS 5805, Place du Dr Peyneau, 33120 Arcachon, France.

E-mail contact: [simone.al-kaddissi@irsn.fr](mailto:simone.al-kaddissi@irsn.fr)

Les activités anthropiques (sites miniers, sites de stockage de déchets nucléaires, et militaire) participent à l'augmentation de la distribution de l'uranium dans l'environnement.

Par conséquent, il devient nécessaire d'évaluer le risque écologique et les impacts de ce polluant sur les organismes vivants. Il est reconnu que l'évaluation de risque des polluants (radionucléides et métaux) nécessite une compréhension de leurs effets sur les différents niveaux hiérarchiques de l'organisation biologique, allant de l'étude d'impact à l'échelle moléculaire et cellulaire, jusqu'au niveau de l'organisme entier, la population, la communauté et enfin l'écosystème.

Notre étude vise à comparer la toxicité (taux de survie) de l'uranium (U) et celle du cadmium (Cd) chez les écrevisses *Procambarus clarkii* après exposition à différents niveaux de concentration allant de 0 (témoins), 0.05 (concentration environnementale), 0.5, 5 à 10 mg/L de  $UO_2^{2+}$  ou de  $Cd^{2+}$  pendant 10 jours.

L'impact de l'U et du Cd à l'échelle moléculaire a été évalué dans l'hépatopancréas et les branchies des écrevisses. Les gènes *mt* (gène de la métallothionéine) et *atp6* (représentatif de la respiration mitochondriale) ont été clonés et séquencés, leur expression génétique a été étudiée avec celle de *cox1* (représentatif de la respiration mitochondriale), *12S* (représentatif du nombre des mitochondries) et *sod-Mn* (gène participant à la régulation du stress oxydant). L'étude de la microlocalisation des métaux a été réalisée dans les tissus des deux organes par microscopie électronique à transmission. L'exposition de l'U (5 mg/L) a permis la détection de ce contaminant à l'intérieur de l'épithélium des branchies. De plus, les niveaux de bioaccumulation ont été mesurés dans ces deux organes, confirmant les capacités d'accumulation d'U et du Cd dans la branchie (relation linéaire entre l'accumulation et la concentration d'exposition).

Une mortalité significative a été observée uniquement à la plus forte concentration de Cd et a démontré que la chimio-toxicité du Cd était plus importante que la toxicité (chimio- et radio-toxicité) de l'U. Notons que notre étude porte sur l'uranium naturel, présentant une activité spécifique relative faible et par conséquent une faible radio-toxicité. Comme prévu, *mt* a été induite en présence du Cd. Cependant une surexpression de ce gène a aussi été observée dans les branchies exposées à l'U. Ceci est probablement lié au dommages oxydatifs générés par l'U. De plus, l'expression des gènes mitochondriaux (*cox1*, *12S*, *atp6*, *sod-Mn*) a été altérée en présence de l'U et du Cd dans les deux organes indiquant un impact sur les mitochondries.

# A new larval *in vitro* rearing method to test effects of pesticides on honey bee brood

P. AUPINEL, D. FORTINI, J.N. TASEI, J.F. ODOUX

A new *in vitro* rearing method of honey bee larvae was devised to assess the effect on brood of any substance that can reach the hive with nectar and pollen. This method could be used in the risk assessment process since it meets with the following characteristics:

- low mortality rate when no treatment is applied,
- standardisation of the test,
- easiness of carrying out,
- sensitiveness to treatment,
- precise control of the ingested doses of diet and pesticide,
- control of larval mortality for each larval instar,
- control of pre pupae weight,
- measurement of adult emergence rate.

The method enables the study of 1/ lethal effects (calculation of LD50) 2/ sublethal effects (prepupal weight, duration of development, adult morphology and behaviour). The method can be used either to study acute effects by applying contaminated diet to one particular instar, or to investigate chronic effects by providing each day the larvae with the test substance.

The use of our rearing method is illustrated with three insecticides:

- Dimethoate considered as a reference insecticide in toxicological tests on adults,
- Diflubenzuron which belongs to the IGR group.
- Fenoxycarb which belongs to the IGR group.

Aupinel, P. ; Medrzycki, P. ; Fortini, D. ; Michaud, B. ; Tasei, J.N. ; Odoux, J.F.  
A new larval *in vitro* rearing method to test effects of pesticides on honey bee brood  
Redia. 2007, 90 : 91-94

Aupinel, P. ; Fortini, D. ; Michaud, B. ; Marolleau, F. ; Tasei, J.N. ; Odoux, J.F.  
Toxicity of dimethoate and fenoxycarb to honey bee brood (*Apis mellifera*), using a new *in vitro* standardized feeding method  
Pest Management Science. 2007, 63 (11) : 1090-1094

Aupinel, P. ; Fortini, D. ; Dufour, H. ; Tasei, J.N. ; Michaud, B. ; Odoux, J.F. ; Pham-Delègue, M.H.  
Improvement of artificial feeding in a standard *in vitro* method for rearing *Apis mellifera* larvae  
Bulletin of Insectology. 2005, 58 (2) : 107-111

## **Session 3 : Modélisation**

### **Communications orales**



# Modèles toxicocinétiques/toxicodynamiques en écotoxicologie

ALEXANDRE PÉRY ET RÉMY BEAUDOUIN

Unité « Modèles pour la Toxicologie et l'Écotoxicologie » (METO), INERIS.

Alors que la modélisation toxicocinétique et toxicodynamique est couramment utilisée en toxicologie, en particulier s'agissant de la toxicologie du médicament, le domaine est encore peu présent en écotoxicologie. Pourtant, l'intégration de modèles toxicocinétiques à l'analyse des données est essentielle à l'extrapolation d'un temps d'exposition à un autre. De même la mise au point de modèles mécanistiques à fondements physiologiques et toxicologiques solides permet de dériver des relations doses réponses réalistes, qui tiennent compte du mode d'action des contaminants et qui assurent la pertinence du changement d'échelle de l'individu à la population, puis aux communautés. Nous présenterons, données traitées à l'appui, les apports de la modélisation pour optimiser l'analyse des données en écotoxicologie. Nous montrerons ainsi comment dériver des paramètres de toxicité indépendants du temps d'exposition, comment extrapoler à des situations d'expositions variables dans le temps, comment déduire de données d'effets le mode d'action physiologique des contaminants, comment sortir des descriptions purement statistiques des données, et comment traiter des cas complexes d'interactions entre contaminants. Nous montrerons aussi les limites des approches de modélisation, à ne pas dépasser, sous peine de tomber dans l'acharnement modélisateur. Ces limites sont liées à un manque de connaissances biologiques et écologiques. En effet, la modélisation, en tant qu'outil d'organisation des connaissances disponibles, est limitée au même domaine. En particulier, les progrès de la modélisation en écotoxicologie sont dépendant des progrès à réaliser dans la connaissance des mécanismes de toxicité sub-individuels. Le défi sera alors, comme en toxicologie prédictive, d'intégrer les connaissances cellulaires et systémiques à une évaluation des effets sur les organismes entiers.

Billoir E., Delignette-Müller M.L., Péry A.R.R., Charles S., 2008, A Bayesian approach to analyzing ecotoxicological data, **Environmental Science and Technology**, 42:8978-8984.

Péry A.R.R., Geffard A., Conrad A., Mons R., Garric J., 2008, Assessing the risk of metal mixtures in contaminated sediments on *Chironomus riparius* based on cytosolic accumulation, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 71 :869-873.

Billoir E., Delignette-Müller M.L., Péry A.R.R., Charles S., 2008, Statistical cautions when estimating DEBtox parameters, **Journal of Theoretical Biology**, 254:55-64.

Péry A.R.R., Ducrot V., Geffard A., Garric J., 2007, Do differences between metal body residues reflect the differences between effects for *Chironomus riparius* exposed to different sediments, **Chemosphere**, 66 :397-403.

Péry A.R.R., Geffard A., Garric J., 2006, Mechanistic models to perform population risk assessment with the midge *Chironomus riparius* : application to heavy metals, **Environmental Science and Technology**, 40 : 6026-6031.

# Changement d'échelle des individus aux populations en écotoxicologie

RÉMY BEAUDOUIN<sup>1</sup>, VICTOR DIAS<sup>2</sup>, JEAN-MARC BONZOM<sup>2</sup>, GILLES MONOD<sup>3</sup>  
ET ALEXANDRE PÉRY<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité « Modèles pour la Toxicologie et l'Ecotoxicologie » (METO), INERIS, Verneuil-en-Halatte.

<sup>2</sup>Laboratoire de Radioécologie et d'Ecotoxicologie, IRSN, Cadarache.

<sup>3</sup>INRA, Rennes.

La protection des écosystèmes passe par une compréhension de l'impact des substances chimiques sur les populations. Cependant, les études à ce niveau d'organisation biologique sont complexes. Nous disposons en général, ou bien de données d'effets sur des individus dans des conditions standards, ou bien d'études de communautés en mésocosmes dont les outils de traitement statistique restent à construire. Dans les deux cas, le recours à des modèles mathématiques apporte une plus-value.

Les modèles individus-centrés permettent d'exploiter l'ensemble de l'information obtenue au niveau de l'individu, y compris la variabilité de réponse interindividuelle, pour prédire les perturbations de la dynamique de population. Ils décrivent en effet la dynamique de chacun des agents, de leurs interactions entre eux et avec leur environnement (Grimm and Railsback, 2005). Ils peuvent bénéficier substantiellement de l'utilisation de modèles mécanistiques pour traiter les données des essais de toxicité (Péry *et al.*, 2006). En particulier, les modèles individus centrés sont particulièrement adaptés à la mise en évidence de dérives phénotypiques au sein d'une population soumise à une pression évolutive suite à l'exposition à des toxiques (Lomnicki, 1999). Nous illustrerons cette partie par des données de dynamique de population de chironomes obtenues suite à l'exposition sur plusieurs générations.

Les études expérimentales des effets des substances chimiques sur les populations en mésocosme ont une puissance statistique limitée par les contraintes de nombre de réplicats et une variabilité importante. Une solution viable est d'augmenter virtuellement le nombre de réplicats par la simulation de la dynamique de populations témoins à l'aide d'un modèle individu centré (Beaudouin *et al.*, 2008). Il est alors possible de calculer la probabilité que les populations exposées diffèrent du faisceau de dynamiques de populations non perturbées. Le gain de puissance statistique sera montré sur un exemple de populations de gambusies suivies en mésocosme.

Beaudouin R., Monod G., Ginot V., 2008. Selecting parameters for calibration via sensitivity analysis: An individual-based model of mosquitofish population dynamics. *Ecological modelling* 218 : 29–48.

Grimm, V., Railsback, S.F., 2005. *Individual-based Modeling and Ecology*. Princeton University Press, New Jersey, 480 pp.

Lomnicki A., 1999. Individual-based models and the individual-based approach to population ecology. *Ecol. Model.* **115**: 191-198.

Péry A.R.R., Babut M.P., Mons R., Garric J., 2006, Deriving effects on Chironomus population carrying capacity from standard toxicity tests, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25 :144-148.

Péry A.R.R., Geffard A., Garric J., 2006, Mechanistic models to perform population risk assessment with the midge Chironomus riparius : application to heavy metals, *Environmental Science and Technology*, 40 : 6026-6031.

# Construire une évaluation multi-échelle des effets des contaminants dans les milieux aquatiques d'eau douce avec les macro-invertébrés

CHAUMOT A. \*, GEFFARD O., FERRARI B., GARRIC J.

Cemagref, MALY, Laboratoire d'écotoxicologie, Lyon, France.

\* arnaud.chaumot@cemagref.fr

La mise en œuvre d'une démarche écotoxicologique à la fois prédictive et diagnostique pour l'évaluation de l'impact des contaminants chimiques sur les écosystèmes, impose de construire sur le long terme des méthodes et des outils adaptés au milieu et à la complexité de son fonctionnement, et facilitant à terme la cohérence entre approche prédictive et diagnostique. Dans ce but le laboratoire du Cemagref de Lyon a choisi de développer ses recherches autour de trois espèces dulçaquicoles d'invertébrés présentes dans les rivières nationales (un Crustacé, un Gastéropode, un Insecte). Le choix de ces espèces modèles a été guidé par deux objectifs. D'une part il permet de combiner mesures toxicologiques en laboratoire et expérimentations *in situ* (encagements ; *posters Geffard et al.* et *Gust et al.*), et d'autre part il répond à la volonté de proposer une évaluation de la toxicité intégrant une part de la diversité phylogénétique et bio-écologique des espèces potentiellement exposées dans les milieux (pluralité des mécanismes d'action, différences de voies d'exposition, diversité des dynamiques de population). Le choix des invertébrés comme modèles nous permet de construire une démarche allant jusqu'à une lecture des effets au niveau populationnel. Cette démarche multi-échelle met en lien les niveaux d'observation de la toxicité - *i.e.* sub-individuel (biomarqueurs) et individuel (traits de vie) - et les niveaux de lecture plus intégrés de ces effets - respectivement niveaux individuel et populationnel - en recourant à la modélisation pour le changement d'échelles (*poster Chaumot et al.*). Cette volonté d'intégration impose le choix de biomarqueurs reliés à la fitness des organismes et de marqueurs individuels en lien avec les dynamiques démographiques.

Nous illustrerons cette approche à partir des travaux réalisés chez *Gammarus fossarum*. Aussi bien pour les biomarqueurs (neurotoxicité, génotoxicité, perturbation endocrinienne) que pour les marqueurs d'effets individuels choisis (comportement alimentaire, reprotoxicité, croissance), notre démarche consiste à (i) caractériser et développer une méthodologie de mesure du marqueur, (ii) proposer un protocole de biotest mettant en application ce marqueur au laboratoire et *in situ*, (iii) définir des valeurs de référence en conditions contrôlées (compilation de données témoin) et sur le terrain (suivi de la variabilité spatiale et temporelle) en tenant compte de l'influence de paramètres non-contrôlés comme la température (modélisation), (iv) tester la sensibilité du marqueur par l'exposition à des substances modèles au laboratoire et par l'application dans des milieux aux contaminations contrastées, (v) proposer une lecture à un niveau intégré des modulations du marqueur en établissant des liens entre effets aux niveaux sub-individuel, individuel et populationnel. Le changement d'échelle individu / population est réalisé à l'aide de modèles de dynamique de population paramétrés à partir du suivi de populations naturelles ; cette démarche d'intégration populationnelle des effets est mise en œuvre dans un cadre aussi bien d'évaluation prédictive des effets que diagnostique de la qualité de l'eau.



# Modélisation QSAR non linéaire appliquée à l'écotoxicologie

JAMES DEVILLERS

CTIS, 3 chemin de la gravière, 69140 Rillieux La Pape

j.devillers@ctis.fr

Le nombre de substances organiques et inorganiques répertoriées dans *Chemical Abstracts Service* est passé de 212000 en 1965 à plus de 51 millions actuellement. Pour la plupart de ces substances, on ne dispose d'aucune information sur leur (éco)toxicité. Ainsi, l'*Environmental Protection Agency* a souligné que plus de 50 % des dossiers soumis à notification chaque année aux USA ne possédaient pas de données expérimentales, moins de 15 % comportaient des résultats de mutagenèse et seulement 6 % des tests d'écotoxicité. De la même façon, pour environ 75 % des substances utilisées aux USA il est impossible de trouver des données de toxicologie dans la littérature. En Europe la situation est la même en ce qui concerne les substances indexées dans EINECS (*European Inventory of Existing Chemical Substances*). Dans ces conditions, il est évident que les modèles QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) sont utiles pour estimer des données (éco)toxicologiques manquantes. Leur utilisation est d'ailleurs préconisée dans le cadre de la réglementation REACH (enregistrement, évaluation, autorisation, et restriction des substances chimiques) pour limiter l'emploi des tests (éco)toxicologiques sur vertébrés. L'élaboration d'un modèle QSAR nécessite les trois ingrédients suivants :

- une activité bien définie à simuler,
- une description précise des caractéristiques et particularités structurales des substances que l'on désire modéliser,
- et enfin, une méthode statistique permettant de relier les deux composantes précédentes.

Depuis l'origine des QSAR, au début des années 60, une sorte de postulat avait été établi selon lequel la liaison entre la structure des molécules et leur activité biologique était obligatoirement linéaire. C'est la raison pour laquelle plus de 90 % des modèles QSAR existants ont été élaborés à partir de régressions linéaires, de régression PLS (*Partial Least Squares*) et d'analyses discriminantes. Le début des années 90 a été marqué par l'introduction des méthodes non linéaires en QSAR et en particulier de l'utilisation des réseaux de neurones artificiels [1]. L'objectif de cette présentation est de montrer les avantages et limites des réseaux de neurones artificiels en modélisation QSAR appliquée à l'(éco)toxicologie [2-4].

[1] Devillers J. (1996). *Neural Networks in QSAR and Drug Design*. Academic Press, London, p. 284.

[2] Devillers J. (2008). Artificial neural network modeling in environmental toxicology. In, *Artificial Neural Networks: Methods and Protocols* (D. Livingstone, Ed.), Humana Press, N.Y., pp. 61-81.

[3] Devillers J., Doucet J.P., Panaye A., Marchand-Geneste N., Porcher J.M. (2009). Structure-activity modeling of a diverse set of androgen receptor ligands. In, *Endocrine Disruption Modeling* (J. Devillers, Ed.), CRC Press, Boca Raton, pp. 335-355.

[4] Devillers J. (2009). Artificial neural network modeling of the environmental fate and ecotoxicity of chemicals. In, *Ecotoxicology Modeling* (J. Devillers, Ed.), Springer, N.Y., pp. 1-28.

## **Session 3 : Modélisation**

### **Posters**



## Sélection *a priori* de batteries de tests et d'indicateurs en écotoxicologie

J. DEVILLERS (1), P. PANDARD (2), A.M. CHARISSOU (3), A. BISPO (4) ET V. POULSEN (5)

(1) CTIS, 3 Chemin de la Gravière, 69140 Rillieux La Pape.

(2) INERIS, Parc Technologique Alata, BP 2, 60550 Verneuil-en-Halatte.

(3) IPL Santé Environnement Durables Est, Rue Lucien Cuenot, ZI Saint Jacques II, 54320 Maxeville.

(4) ADEME, 20 Avenue du Grésillé, BP 90406, 49004 Angers Cedex 01.

(5) AFSSA-DIVE, 10 rue Pierre Curie, 94704 Maisons-Alfort Cedex.

Il est désormais admis qu'un seul bioessai ne peut pas être sensible à l'ensemble des contaminants présents dans un échantillon environnemental. En effet, les organismes présentent le plus souvent une spécificité propre de réponse en fonction des classes de contaminants. Ainsi seule l'association de plusieurs essais biologiques permet d'optimiser la caractérisation du danger potentiel de l'échantillon considéré. Il en est de même des indicateurs utilisés pour caractériser le degré de contamination de l'environnement, évaluer la qualité d'un sol, etc.

La sélection d'une batterie d'essais biologiques ou d'indicateurs peut se faire soit d'une façon *a posteriori* [1-3] en fonction des résultats obtenus sur une large série d'échantillons ce qui permet d'identifier les candidats intéressants du fait de leur sensibilité spécifique et/ou de leur pouvoir discriminant, soit d'une manière *a priori* en se fondant uniquement sur des critères prédéfinis qui peuvent être scientifiques et/ou techniques.

Ces stratégies restent à ce jour peu répandues surtout si leur application se fait d'une manière rationnelle au moyen d'outils statistiques.

Dans ce contexte, nous avons élaboré une démarche originale de sélection *a priori* de tests ou d'indicateurs combinant l'utilisation d'une approche multicritère (méthode SIRIS [4]) et d'analyses multivariées. L'intérêt de cette démarche et sa grande flexibilité sont illustrés dans le cadre de la sélection de tests d'écotoxicité et de bioindicateurs pour des scénarios définis comme le suivi de l'efficacité de la décontamination d'un sol et l'épandage de matières fertilisantes organiques [5,6].

[1] Devillers J., Thioulouse J., Karcher W. (1993). Chemometrical evaluation of multispecies-multichemical data by means of graphical techniques combined with multivariate analyses. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 26, pp. 333-345.

[2] Devillers J., Domine D., Bintein S. (1994). Multivariate analysis of the first 10 MEIC chemicals. *SAR QSAR Environ. Res.* 2, pp. 261-270.

[3] Pandard P., Devillers J., Charissou A.M., Poulsen V., Jourdain M.J., Férard J.F., Grand C., Bispo A. (2006). Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. *Sci. Total Environ.* 363, pp. 114-125.

[4] Vaillant M., Jouany J.M., Devillers J. (1995). A multicriteria estimation of the environmental risk of chemicals with the SIRIS method. *Toxicol. Model.* 1, pp. 57-72.

[5] Devillers J., Pandard P., Charissou A.M. (2009). Sélection multicritère de bioindicateurs de la qualité des sols. *Etude Gestion Sols* 16, pp. 233-242.

[6] Devillers J., Pandard P., Charissou A.M., Bispo A. (2009). Use of multicriteria analysis for selecting ecotoxicity tests. In, *Ecotoxicology Modeling* (J. Devillers, Ed.), Springer, N.Y., pp. 117-143.

# Corrélations interspécifiques pour prédire la toxicité des xénobiotiques à partir de données écotoxicologiques

**J. DEVILLERS (1), P. PANDARD (2), E. THYBAUD (2) ET A. MERLE (3)**

(1) CTIS, 3 Chemin de la Gravière, 69140 Rillieux La Pape.

(2) INERIS, Parc Technologique Alata, BP 2, 60550 Verneuil-en-Halatte.

(3) ADEME, 20 Avenue du Grésillé, BP 90406, 49004 Angers Cedex 01.

Le nombre total d'animaux utilisés en 2005 par les 25 états membres de l'union européenne à des fins expérimentales s'élevait à 12,1 millions. Les souris et les rats étaient de loin les espèces les plus employées représentant, respectivement, 53 % et 19 % du total [1]. Les études toxicologiques ont utilisé 8 % du nombre total d'animaux contre 9,9 % lors du précédent recensement de 2002 [1]. Cette diminution ne peut que s'accroître dans le futur du fait de la pression de l'opinion publique et de la réglementation REACH (enregistrement, évaluation, autorisation, et restriction des substances chimiques) qui préconise l'utilisation de méthodes alternatives (*in vitro*, QSAR, "read-across" et "grouping") pour limiter l'emploi de tests (eco)toxicologiques sur vertébrés. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés aux modèles permettant de prédire les DL50 orales, intraveineuses et intrapéritonéales chez le rat et la souris à partir de CE50 et CL50 mesurées chez les organismes aquatiques. Lors d'une première étape, les différents modèles de la littérature du type  $Tox = f(Ecotox)$  ont été analysés. Si 99 équations régressives ont pu être collectées, leur étude approfondie a montré qu'elles étaient difficilement utilisables en pratique, du fait de la taille limitée des échantillons à partir desquels elles avaient été élaborées, de la non-connaissance de leur domaine d'application, etc. Dans ces conditions, il a été décidé d'en établir de nouvelles ne souffrant pas de ces différentes carences. Des CE50 sur *Vibrio fischeri* et *Daphnia magna* ainsi que des DL50 orales, intrapéritonéales et intraveineuses sur rat et souris ont été collectées en grande quantité et utilisées, après sélection, pour élaborer 60 équations linéaires à une ou deux variables explicatives. L'intérêt du coefficient de partage 1-octanol/eau ( $\log P$ ) associé à une ou aux deux variables écotoxicologiques a également été testé. L'utilisation d'approches non linéaires comme le perceptron multicouche, différentes régressions non linéaires ainsi que les machines à vecteurs de support ont été testées [2].

Les modèles réalisés lors de cette deuxième phase dépassent en taille d'échantillons d'apprentissages, de diversité moléculaire et/ou de qualité statistique les modèles existants de la littérature. Ainsi, certains des modèles élaborés pourraient être utilisés en pratique après avoir subi un processus d'optimisation.

Cette étude ne prévoyait pas d'établir des modèles semi-quantitatifs Tox/Ecotox. Pourtant, il serait également important de s'y intéresser car la modélisation par classes d'activités permet de résoudre un certain nombre de problèmes dont celui de la variabilité et de l'hétérogénéité des données toxicologiques.

[1] European Community, Fifth report on the statistics on the number of animals used for experimental and other scientific purposes in the member states of the European Union, Brussels, 5.11.2007, COMM(2007) 675 final, 2007.

[2] Devillers J., Pandard P., Thybaud E., Merle A. (2009). Interspecies correlations for predicting the acute toxicity of xenobiotics. In, Ecotoxicology Modeling (J. Devillers, Ed.), Springer, N.Y., pp. 85-115.

# Les puces RFID comme un outil innovant en écotoxicologie comportementale chez l'abeille

**AXEL DECOURTYE (1), JAMES DEVILLERS (2), PIERRICK AUPINEL (3), JULIE FOURRIER (1),  
MONIQUE GAUTHIER (4)**

(1) ACTA, Institut Claude Bourgelat - ENVL, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, [axel.decourtye@acta.asso.fr](mailto:axel.decourtye@acta.asso.fr)

(2) CTIS, 3 Chemin de la Gravière, 69140 Rillieux La Pape, [j.devillers@ctis.fr](mailto:j.devillers@ctis.fr)

(3) INRA, Unité expérimentale d'entomologie Le Magneraud, 17700 Surgères, [pierrick.aupinel@magneraud.inra.fr](mailto:pierrick.aupinel@magneraud.inra.fr)

(4) CNRS, Centre de Recherches sur la Cognition Animale, Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex, [gauthiem@cict.fr](mailto:gauthiem@cict.fr)

Parce qu'elles assurent des services écologiques et économiques reconnus, les populations d'abeilles domestiques font l'objet d'une veille sanitaire. L'étude des phénomènes de dépopulations des colonies, dues au non-retour à la ruche des ouvrières, est confrontée à l'absence de technique capable d'identifier les individus. Les techniques classiques n'offrent qu'un suivi simultané pour un nombre limité d'individus, et cela sur une durée d'observation de quelques heures seulement. Pourtant des outils modernes de télédétection et d'identification peuvent s'appliquer en écotoxicologie comportementale. A cet égard, les puces électroniques RFID (Radio Frequency IDentification) permettent de suivre automatiquement un grand nombre d'insectes, enregistrés simultanément, et de façon souvent plus fiable qu'un expérimentateur. La lecture très rapide (millisecondes) s'effectue à travers plusieurs barrières physiques (propolis, colle, plastique, bois...). Les transpondeurs électroniques RFID sont dorénavant suffisamment miniaturisés (1,6 × 1 × 3 mm, 3 mg) pour être utilisés chez l'abeille. Le potentiel de cet outil, basé sur de longues périodes d'enregistrement et sur une très grande quantité de données, est révélé ici pour la première fois. Nous discutons l'intérêt de cette technique d'enregistrement du comportement individuel des abeilles avec la problématique des pesticides pouvant affecter leurs traits d'histoire de vie.

Desneux N., Decourtye A., Delpuech J.M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52:81-106.

Devillers J., Decourtye A., Aupinel P., Gauthier M. (2007). An automatic tracking and identification technology to investigate the behavioural ecotoxicology in the honey bee. SETAC Europe, may 2007, Porto.

Decourtye A., Devillers J., Aupinel P., Gauthier M. (2008). Methodological research to assess the sub-lethal effects of pesticides on the orientation and the homing flight of the honeybee. ICPBR, 10th International Symposium - Hazards of pesticides to bees, Bucharest, Oct. 8-10.

Decourtye A., Fourrier J., Devillers J., Aupinel A., Gauthier M. (2009). Recherche méthodologique pour évaluer les effets des pesticides chez l'abeille : enregistrement du comportement individuel à l'aide de puces électroniques. *Bull. Tech. Apic.*, 145(1):2-7.

Bagnis C., Brun F., Devillers J., Aupinel P., Gauthier M., Fourrier J., Decourtye A. (2010). Analyse des traits comportementaux d'abeilles marquées avec des puces RFID en conditions de plein champ. *Bull. Tech. Apic.*, 36(3):98-109.

# Les modèles écologiques dans l'évaluation des risques des produits phytosanitaires : Expériences passées et perspectives du point de vue d'une autorité réglementaire

**JULIEN SERANDOUR, ALEXANDRA MELE, PATRICE CARPENTIER, VÉRONIQUE POULSEN**

Afssa – Direction de Végétal et de l'Environnement, 10 rue Pierre Curie, 94704 Maisons-Alfort Cedex, France  
Contact : [p.carpentier@afssa.fr](mailto:p.carpentier@afssa.fr)

De nombreuses discussions ont été menées récemment sur l'utilisation de modèles écologiques de dynamique de populations dans le cadre réglementaire de l'évaluation des risques liés aux produits phytosanitaires. L'utilisation de tels modèles est restée assez rare jusqu'à présent, alors qu'il apparaît clairement qu'ils seraient nécessaires pour améliorer l'évaluation. L'utilisation de modèles devrait permettre de réduire l'incertitude liée à une évaluation des risques a priori (extrapolation des effets mesurés au laboratoire à l'échelle de l'écosystème, potentiel de recolonisation, variabilité spatiale et temporelle de l'exposition, effets à long-terme et sublétaux), en simulant la réponse d'une population à une perturbation de son environnement. Les modèles peuvent également servir à évaluer des mesures de gestion de risque.

Plusieurs approches de modélisation ont été évaluées en France dans le cadre de dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché, tant au niveau national qu'europpéen. Des modèles de dynamique de population structurés en classes d'âge ont été utilisés. Notamment, le modèle individu-centré MASTEP<sup>6</sup> a été soumis pour étudier les modalités de récupération de populations d'aselles (*Asellus aquaticus*) exposées à un xénobiotique. Le modèle permet de simuler la dynamique de la population en fonction d'un profil d'exposition provenant directement des modèles environnementaux, en faisant varier le taux de migration, par exemple.

Les résultats permettent de réduire le facteur de sécurité pour l'établissement d'une valeur de PNEC<sup>7</sup> utilisée dans l'évaluation de risque.

Ces quelques cas concrets confirment le potentiel des modèles écologiques pour réduire les incertitudes liées aux études réalisées en laboratoire ou en champ, mais également leur possibilité d'être utilisés dans l'évaluation des risques dans un cadre réglementaire. Des améliorations peuvent être apportées par la validation de ces modèles avec des données de terrain, permettant leur plus large utilisation et une meilleure compréhension par les gestionnaires des hypothèses et des résultats de ces modèles. Des projets en cours au niveau européen pourraient permettre de telles avancées<sup>89</sup>.

Mots clés : modélisation écologique, produits phytosanitaires, évaluation des risques

---

<sup>6</sup> Metapopulation model for Assessing Spatial and Temporal Effects of Pesticides.

See Van den Brink PJ, Verboom J, Baveco JM, Heimbach F. 2007. An individual based approach to model spatial population dynamics of invertebrates in aquatic ecosystems after pesticide contamination. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26: 2226-2236

<sup>7</sup> Predicted No Effect Concentration / Concentration Sans Effet Prévisible

<sup>8</sup> Grimm V, Ashauer R, Forbes V, Hommen U, Preuss TG, Schmidt A, van den Brink PJ, Wogram J, Thorbek P. 2009. CREAM: a European project on mechanistic effect models for ecological risk assessment of chemicals. *Environmental Science and Pollution Research*, Vol. 16, No. 6 : 614-617

<sup>9</sup> Preuss TG, Hommen U, Alix A, Ashauer R, van den Brink P, Chapman P, Ducrot V, Forbes V, Grimm V, Schäfer D, Streissl F, Thorbek P. 2009. Mechanistic effect models for ecological risk assessment of chemicals (MEMoRisk) - a new SETAC-Europe Advisory Group. *Environmental Science and Pollution Research*, Vol. 16, No. 3 : 250-252

## **Session 4 : Génotoxicité**

### **Communications orales**





# Intérêt de l'écotoxicologie génétique dans le domaine de l'environnement

ALAIN DEVAUX ET SYLVIE BONY

INRA, ENTPE, Laboratoire des Sciences de l'Environnement,  
rue Maurice Audin, 69518 Vaulx en Velin Cedex  
[alain.devaux@entpe.fr](mailto:alain.devaux@entpe.fr)

## 1) Introduction sur l'écotoxicologie génétique

- importance de la cible finale qu'est l'ADN dans l'expression d'une toxicité au niveau individuel et de la population
- définition d'un axe de recherches d'écotoxicologie génétique au niveau international

## 2) Illustration par des recherches sur des écosystèmes d'eau douce ou côtiers

### a) La génotoxicité comme marqueur d'exposition aux polluants chez le poisson

- suivi génotoxique dans différents hydrosystèmes du Bassin du Rhône
- analyse de l'impact génotoxique des phytosanitaires dans une rivière du Beaujolais

b) La génotoxicité comme marqueur d'effet des polluants : relation entre intégrité de l'ADN et fonctionnement de la population

- **étude des relations génotoxicité-structure génétique chez le cheveine dans le Bassin du Rhône**
- **étude expérimentale du couplage entre génotoxicité au niveau des gamètes et succès de la reproduction chez le poisson**

## 3) Perspectives de recherche et intérêt pour le gestionnaire

### Bibliographie récente de notre équipe dans le domaine évoqué

- Bony S., Gillet C., Bouchez A., Margoum C. et Devaux A. (2008). Genotoxicity pressure of vineyard pesticides in fish: field and mesocosm surveys. *Aquatic Toxicology*, 89, 197-203.
- Bony S., Gaillard I. et Devaux A. (2009). Genotoxicity assessment of two vineyard pesticides in zebrafish. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry (sous presse)*.
- Evrard E., Devaux A., Bony S., Burgeot T., Budzinski H., Laroche J. (2009). Responses of the European flounder *Platichthys flesus* to the chemical stress in estuaries: load of contaminants, gene expression, cellular damage and growth rate. *Biomarkers (sous presse)*.
- Marquis O., Miaud C., Francesco G., Bocher A., Mouchet F., Guittonneau S. et Devaux A. (2009). Variation in genotoxic stress tolerance among frog populations exposed to UV and pollutant gradients. *Aquatic Toxicology (sous presse)*.

# Génotoxicité de sols anciennement contaminés chez le ver de terre *Eisenia fetida* et impact au niveau populationnel

BONNARD MARC<sup>1</sup>, GRAND CÉCILE<sup>2</sup> & VASSEUR PAULE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire des Interactions Ecotoxicologie, Biodiversité, Ecosystèmes (LIEBE), Université Paul Verlaine – Metz, CNRS UMR 7146, UFR Sciences Fondamentales et Appliquées, Campus Bridoux, Rue du Général Délestraint, 57070 Metz, France.

<sup>2</sup> ADEME – Département Sites et Sols Pollués (DSSP) – Centre d’Angers – 49004 Angers Cedex 01.

La gestion et la remédiation des friches industrielles représentent un véritable défi des pays industrialisés. Les résultats des analyses physico-chimiques révèlent souvent de fortes concentrations de polluants minéraux et/ou organiques, comme les métaux et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), préoccupants de part la génotoxicité et la cancérogénicité chez l’homme de certains congénères (IARC, 1987).

La génotoxicité des lixiviats et des percolats des sols a fait l’objet de nombreuses études chez les microorganismes, les plantes et les organismes aquatiques. Il existe au contraire très peu d’études sur les organismes terrestres, notamment les invertébrés exposés à des sols pollués par des substances génotoxiques. Les perturbations physiologiques consécutives aux altérations de l’ADN et aux modifications de l’expression du génome peuvent altérer la dynamique des populations. Il est donc intéressant d’étudier cette relation chez les vers de terre, entre les effets génotoxiques mesurés au niveau cellulaire et les effets à plus long terme sur la survie et la reproduction des populations exposées.

Nous avons étudié la génotoxicité de sols de friches industrielles (anciennes cokeries) pollués par des HAP et/ou des métaux lourds. Les dommages à l’ADN ont été mesurés par l’essai comet au niveau des coelomocytes du ver de terre *Eisenia fetida*. Au niveau populationnel, les effets sur la survie des vers adultes et juvéniles et sur la reproduction des vers ont été mesurés après 14 et 56 jours d’exposition, respectivement

Les résultats ont montré que la biodisponibilité des polluants était fortement réduite, du fait de l’ancienneté de la contamination des sols. Les effets toxiques enregistrés étaient reliés à la biodisponibilité des polluants, mais non aux concentrations des polluants dans les sols mesurées par les analyses physico-chimiques traditionnelles. L’approche physico-chimique seule apparaît donc insuffisante dans l’évaluation des risques des sols contaminés. La mesure des effets biologiques, qui prend en compte la fraction de la pollution biodisponible pour les organismes, s’avère indispensable dans l’évaluation des risques (Vasseur et al., 2008). Le suivi de la génotoxicité à court terme s’est révélé pertinent car prédictif d’effets toxiques à plus long terme (Bonnard et al., 2009). Cette étude a également montré la capacité des vers de terre à mettre en place des systèmes de réparation de l’ADN. Des améliorations concernant le lien entre les réponses des indicateurs biologiques et les effets populationnels seront discutées.

International Agency for Research on Cancer (IARC), 1987. Monograph on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. Overall evaluations of carcinogenicity: An updating of IARC Monographs volumes 1 to 42, Lyon, France, 142 p.

Vasseur P., Bonnard M., Palais F., Eom I-C. & Morel J-L., 2008. Bioavailability of chemical pollutants in contaminated soils and pitfalls of chemical analysis in hazard assessment. Environ. Toxicol. 23(5): 652-656.

Bonnard M., Eom I-C., Morel J-L. & Vasseur P., 2009. Genotoxic and reproductive effects of an industrially contaminated soil on the earthworm *Eisenia fetida*. Environ. Mol. Mutagen. 50 (1): 60-67.

# Essais de transformation cellulaire pour l'évaluation *in vitro* de la cancérogénécité des substances chimiques et des polluants

M.A. MAIRE, C. RAST ET P. VASSEUR

CNRS UMR 7146, UFR Sci. F.A., rue General Delestraint, Université Paul Verlaine-Metz, 57070 Metz

Les essais de transformation cellulaire néoplasique sur cultures primaires ou lignées de cellules de mammifères ont été recommandés en 2007 par l'OCDE pour l'évaluation *in vitro* de la cancérogénécité des substances chimiques. Les performances de ces essais ont fait l'objet d'une revue détaillée des résultats obtenus sur plusieurs centaines de substances au cours des trois dernières décennies (OCDE, 2007)<sup>10</sup>. La validation de ces essais entreprise par l'ECVAM (European Center for the Validation of Alternative Methods)<sup>11</sup> de 2005 à 2008, inclut l'Europe, les USA et le Japon, et vient de se terminer.

Cette validation est déterminante pour l'établissement d'une ligne directrice sur les essais de transformation cellulaire préalable à toute demande réglementaire. Elle permettra de corriger une lacune dans le processus d'évaluation des substances chimiques et de prévention des risques. Jusqu'alors les substances chimiques, hors celles produites à haut tonnage ou à usage pharmaceutique, ne font pas l'objet d'expérimentations animales à long terme et échappent à la détection d'un potentiel cancérogène éventuel, faute d'essais appropriés.

Après un rappel des bases conceptuelles de l'utilisation des essais de transformation cellulaire en cancérogénécité chimique, l'exposé fera la synthèse des performances des trois modèles en cours : cellules SHE (cellules embryonnaires d'hamster Syrien), lignées cellulaires de souris BALB/c3T3 et C3H10T1/2.

L'essai de transformation cellulaire SHE, dont la France est responsable de l'établissement de la ligne Directrice OCDE, fera ensuite l'objet d'une analyse critique. Les cellules SHE sont des cellules normales, diploïdes et capables de biotransformation, propriétés qui en font un excellent modèle pour l'étude des mécanismes et des premières étapes et de la cancérogénécité. Nous avons l'expérience de ces essais depuis plus d'une quinzaine d'années et avons participé à la validation internationale de l'ECVAM.

En deuxième partie, nous présenterons les résultats de nos récents travaux<sup>12</sup> sur le potentiel transformant de l'une des cyanotoxines préoccupantes pour la santé humaine via la contamination des eaux potables, la cylindrospermopsine. Cet exemple servira d'illustration de la procédure expérimentale de l'essai SHE.

Les essais de transformation cellulaire ont un champ d'application très vaste, allant des substances chimiques de synthèse et naturelles, aux fibres naturelles et artificielles (substituts de l'amiante), et aux nanoparticules

Mots clés: Cancérogénécité cellulaire, Essais de transformation cellulaire, SHE, Validation.

---

<sup>10</sup> OECD Environment, Health and Safety publications Series on Testing and Assessment N°31, 2007. Detailed Review Paper (DRP 31) on Cell Transformation Assays (CTA) for Detection of Chemical Carcinogens, 170 p. [http://www.olis.oecd.org/olis/2007doc.nsf/LinkTo/NT00002FOA/\\$FILE/JT03230941.PDF](http://www.olis.oecd.org/olis/2007doc.nsf/LinkTo/NT00002FOA/$FILE/JT03230941.PDF)

<sup>11</sup> Corvi R, Thomas BC, Hartung T, and the ECVAM taskforce. ECVAM Key Area : Carcinogenicity and Genotoxicity. [www.jrc.ec.europa.eu](http://www.jrc.ec.europa.eu)

<sup>12</sup> Maire MA, Fessard V, Bazin E., Humpage A, Vasseur P. Morphological cell transformation of Syrian hamster embryo (SHE) cells by the cyanotoxin, cylindrospermopsin. *Toxicol, in press*

# Les effets à long terme d'une concentration génotoxique de cadmium chez *Vicia faba*

FOLTETE A.S., FERARD J.F., COTELLE S.

Laboratoire des Interactions Ecotoxicologie, Biodiversité, Ecosystèmes (LIEBE), Université Paul Verlaine-Metz, CNRS UMR 7146, Campus Bridoux, Avenue- du Général Delestraint, 57070 Metz, FRANCE

Dans la littérature, le test des micronoyaux sur *Vicia faba* (fève) est souvent utilisé pour apprécier le potentiel génotoxique d'effluents ou d'eaux pollués (Rizzoni *et al.*, 1995), mais peu concernent la caractérisation des sols. Bien qu'étant des modèles pertinents pour l'étude des sols, les plantes supérieures ne sont pas souvent utilisées dans les tests d'écotoxicité visant à étudier les dommages de l'ADN : la revue de White et Claxton (2004), qui décrit 1.312 études de génotoxicité de sols, montre que 51% de ces études utilisent des bactéries et seulement 38% portent sur des plantes. Nous avons démontré que le test des micronoyaux sur *Vicia faba* est un bon outil biologique pour détecter les substances mutagènes dans les sols (Cotelle *et al.*, 1999), mais aujourd'hui, la question que nous nous posons est la suivante :

*Que signifie à long terme pour la plante une induction de micronoyaux ?*

Pour tenter de répondre à cette question, le test *Vicia*-micronoyaux a été réalisé afin de déterminer la concentration génotoxique de CdCl<sub>2</sub> en phase solide après 5 jours d'exposition (sol de référence LUFA 2.2). Deux expériences à long terme ont ensuite été réalisées à la concentration de dichlorure de cadmium la plus génotoxique détectée dans l'expérience précédente, soit 510 µmol/kg. Trois kg de sol LUFA 2.2 ont été contaminés par du dichlorure de cadmium à la concentration nominale de 510 µmol/kg et 10 graines de *Vicia faba* ont été directement plantées. Cette première expérience dura 66 jours. Elle fut suivie d'une autre expérience du même type qui se déroula durant 151 jours dans un sol standard légèrement différent, plus argileux, le sol LUFA 3A. Au cours de la première expérience (66 jours), il est apparu que dans le sol contaminé au cadmium, *V. faba* montrait une vitesse de croissance équivalente au témoin négatif et même un temps d'émergence plus court. Néanmoins, les plantes exposées eurent une durée de vie réduite. Dans la seconde expérience (151 jours), les plantes exposées produirent leur première fleur bien plus tôt et eurent une période de floraison beaucoup plus longue que les témoins. Il est intéressant de noter que la production totale de fleurs est inférieure chez les plantes exposées et qu'elles ne produisent aucun fruit, contrairement aux plantes témoins. Le rôle du glutathion et des phytochélatines sera discuté.

Mots-clés : *Vicia faba*, effets à long terme, génotoxicité

Cotelle S, Masfaraud JF, Féraud JF. 1999. Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the Allium/Vicia-micronucleus and the Tradescantia-micronucleus assays. *Mut. Res.- Fund. Molec. Mech. Mutag.* **426**(2):167-171

Rizzoni, M., B. Gustavino, C. Ferrari, L.G. Gatti and E.A. Fano (1995) An integrated approach to the assessment of the environmental quality of the Tiber river in the urban area of Rome: A mutagenesis assay (micronucleus test) and an analysis of macrobenthic community structure, *Sci. Total Envir.* **162**, 127-137.

White P.A. & Claxton L.D. (2004) Mutagens in contaminated soil : a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* **567**: 227-345

Remerciements – Les auteurs remercient l'Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME, Angers) pour son soutien financier.

## **Session 4 : Génotoxicité**

### **Posters**



# Potentiel transformant de PFOS (perfluorooctane sulfonate) sur cellules embryonnaires de hamster syrien (SHE)

JACQUET N., MAIRE M.A., RAST C., VASSEUR P.

CNRS UMR 7146, Université de Metz, UFR Sciences Fondamentales. France.  
nelly.jacquet@umail.univ-metz.fr

Le perfluorooctane sulfonate (PFOS) ( $C_8F_{17}SO_3$ ) et ses sels sont des polluants organiques persistants dans l'environnement présentant un potentiel de bioaccumulation élevé. Ces substances sont toxiques dans le règne animal. En 2001, Giesy et Kannan ont fait le constat alarmant de la présence ubiquitaire de ces substances à la surface du globe terrestre, et dans le sang humain.

Dans le cadre du programme Européen REACH (enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des substances chimiques), la Directive 2006/122/EC a limité la mise sur le marché et l'utilisation du PFOS en tant que substance ou constituant d'une préparation à une concentration inférieure à 0,005% en masse. Le PFOS, ses sels et ses précurseurs, sont encore utilisés en Europe pour leurs propriétés tensioactives dans certains secteurs industriels (traitement de surface des textiles, électrometallurgie, retardateurs de flamme).

Le PFOS est un inducteur des récepteurs aux proliférateurs de peroxisomes chez le rat ; les tests *in vitro* et *in vivo* de mutagénicité et génotoxicité sont négatifs. Ce composé est suspecté d'être un cancérigène non génotoxique. Cependant, Jernbro en 2007 met en évidence par le test des micronoyaux l'accroissement du potentiel génotoxique du cyclophosphamide présent en mélange avec le PFOS. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'induction d'une augmentation de la perméabilité membranaire.

Nous avons étudié *in vitro* le potentiel cancérigène du PFOS sous forme de sel de potassium par le test de transformation des cellules embryonnaires de hamster Syrien (SHE). L'Organisation de Coopération et de Développement Economique (OCDE) recommande ce test pour la détection des composés cancérigènes, particulièrement les cancérigènes non génotoxiques. L'étude a porté sur l'exposition de cellules SHE à une gamme de concentrations en PFOS comprise entre 0,002 à 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $3 \cdot 10^{-3}$  to 100  $\mu\text{M}$ ). Une augmentation significative du taux de transformation cellulaire ( $p < 0,05$ ) a été observée à des concentrations en PFOS non cytotoxiques, révélant le potentiel cancérigène de ce composé.

**Mots clés :** Polluants Organiques Persistants (POPs), Perfluorooctane sulfonate (PFOS), cancérigénèse cellulaire, essai de transformation cellulaire, SHE.

Giesy JP., Kannan K., 2001. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in Wildlife. *Environmental Science and Technology*, 35, (7) 1339 – 1342.

Jernbro S., Rocha PS., Keiter S., Skutlarek D., Färber H., Jones PD., Giesy JP., Hollert H., Engwall M., 2007. Perfluorooctane sulfonate increases the genotoxicity of cyclophosphamide in the micronucleus assay with V79 cells. Further proof of alterations in cell membrane properties caused by PFOS. *Environmental Sciences and Pollution Research International*, 14, (2) 85-7.



# Cancérogénicité du sel de perfluorooctane sulfonate de potassium (PFOS, K<sup>+</sup>)

JACQUET N., MAIRE M.A., RAST C., VASSEUR P.

CNRS UMR 7146, Université de Metz, UFR Sciences Fondamentales. France.

nelly.jacquet@umail.univ-metz.fr

Le perfluorooctane sulfonate (PFOS) (C<sub>8</sub>F<sub>17</sub>SO<sub>3</sub>) et ses sels sont des polluants organiques persistants dans l'environnement présentant un potentiel de bioaccumulation élevé. Ces substances sont toxiques dans le règne animal. En 2001, Giesy et Kannan ont fait le constat alarmant de la présence ubiquitaire de ces substances à la surface du globe terrestre, et dans le sang humain.

Dans le cadre du programme Européen REACH (enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des substances chimiques), la Directive 2006/122/EC a limité la mise sur le marché et l'utilisation du PFOS en tant que substance ou constituant d'une préparation à une concentration inférieure à 0,005% en masse. Le PFOS, ses sels et ses précurseurs, sont encore utilisés en Europe pour leurs propriétés tensioactives dans certains secteurs industriels (traitement de surface des textiles, électrometallurgie, retardateurs de flamme).

Le PFOS est un inducteur des récepteurs aux proliférateurs de peroxisomes chez le rat ; les tests *in vitro* et *in vivo* de mutagénicité et génotoxicité sont négatifs. Ce composé est suspecté d'être un cancérigène non génotoxique. Cependant, Jernbro en 2007 met en évidence par le test des micronoyaux l'accroissement du potentiel génotoxique du cyclophosphamide présent en mélange avec le PFOS. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'induction d'une augmentation de la perméabilité membranaire.

Nous avons étudié *in vitro* le potentiel cancérigène du PFOS sous forme de sel de potassium par le test de transformation des cellules embryonnaires de hamster Syrien (SHE). L'Organisation de Coopération et de Développement Economique (OCDE) recommande ce test pour la détection des composés cancérigènes, particulièrement les cancérigènes non génotoxiques. L'étude a porté sur l'exposition de cellules SHE à une gamme de concentrations en PFOS comprise entre 0,002 à 50 µg/mL (3.10<sup>-3</sup> to 100 µM). Une augmentation significative du taux de transformation cellulaire (p<0,05) a été observée à des concentrations en PFOS non cytotoxiques, révélant le potentiel cancérigène de ce composé.

**Mots clés :** Polluants Organiques Persistants (POPs), Perfluorooctane sulfonate (PFOS), cancérigène, transformation cellulaire.

- Giesy JP., Kannan K., 2001. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in Wildlife. *Environmental Science and Technology*, 35, (7) 1339 – 1342.
- Jernbro S., Rocha PS., Keiter S., Skutlarek D., Färber H., Jones PD., Giesy JP., Hollert H., Engwall M., 2007. Perfluorooctane sulfonate increases the genotoxicity of cyclophosphamide in the micronucleus assay with V79 cells. Further proof of alterations in cell membrane properties caused by PFOS. *Environmental Sciences and Pollution Research International*, 14, (2) 85-7.
- Berwald Y., Sachs L., 1965. *In vitro* transformation of normal cells to tumor cells by carcinogenic hydrocarbons. *Journal of the National Cancer Institute*, 35, (4) 641-661.
- OCDE, 2002. Co-operation on Existing Chemicals - Hazard Assessment of Sulfonate de perfluorooctane and its Salts. *Environment Directorate Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology*. Organisation de Coopération et de Développement Economique, Paris, 21 novembre 2002.

## Utilisation des métabolites biliaires pour le suivi de l'exposition des poissons aux HAP – lien avec les altérations de l'ADN (test des comètes)

H. BUDZINSKI<sup>1</sup>, K. LEMENACH<sup>1</sup>, F. AKCHA<sup>2</sup>, N. WESSEL<sup>2</sup>, T. BURGEOT<sup>2</sup>, J. LAROCHE<sup>3</sup>,  
A. DEVAUX<sup>4</sup>, S. BONY<sup>4</sup>

1) ISM-LPTC, UMR 5255 CNRS/UB1, Université Bordeaux 1, 351 crs de la Libération, 33405 Talence

2) Ifremer, Département de Biogéochimie et Ecotoxicologie, Rue de l'Île d'Yeu, 44311 Nantes Cedex 03

3) Université de Brest, UMR 6539 CNRS/IRD/UBO, Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin LEMAR, Institut Universitaire Européen de la Mer, Plouzané

Depuis l'accélération de l'industrialisation des pays européens et nord américains au cours du XIX<sup>ème</sup> siècle, l'environnement est soumis à une forte pression anthropique (surexploitation des ressources naturelles, contamination chimique et modification physique du milieu naturel ...). Les activités liées à cette révolution industrielle (production d'énergie, métallurgie, chimie de synthèse, agriculture, traitements des déchets, ...) ont engendré l'introduction en grandes quantités de divers contaminants dans l'environnement (hydrocarbures, substances radioactives, métaux, dioxines, solvants, polychlorobiphényles, alkylphénols, pesticides, engrais ...). Au sein de ces composés, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont notamment considérés comme des contaminants prioritaires des écosystèmes tant terrestres que marins du fait de leur activité mutagène et cancérigène vis-à-vis de la faune et de la flore ainsi que leur ubiquité et de leur relative persistance.

L'expression des effets toxiques des HAP dépend non seulement de l'absorption de ces composés par les organismes exposés mais également de leur biotransformation. Si les processus cellulaires de biotransformation sont censés constituer des mécanismes de détoxification, ils peuvent également mener à la formation de métabolites qui s'avèrent parfois plus toxiques que les composés de départ. Certains des métabolites formés (diol-époxydes, o-quinones) peuvent ainsi réagir directement ou indirectement avec le matériel génétique et conduire à la formation de lésions structurales de l'ADN. Ces espèces très réactives, sont généralement électrophiles et donc susceptibles de se lier de manière covalente avec les sites nucléophiles des macromolécules cellulaires. Ainsi, lipides, protéines et acides nucléiques (ADN, et ARN) constituent des cibles pour les contaminants. L'homéostasie cellulaire normale est ainsi perturbée et des dommages parfois irréversibles sont infligés à la cellule. Ces dommages sont d'autant plus importants lorsqu'ils affectent l'ADN et donc le patrimoine génétique.

Pour connaître le niveau de pollution en HAP du milieu marin, la mesure de la concentration en HAP dans l'eau et le sédiment est généralement réalisée. Ces études ont permis de progresser dans la compréhension des phénomènes gouvernant leurs flux et leur devenir dans ce milieu ainsi que leur impact toxique. Néanmoins, ces travaux ne reflètent pas nécessairement la disponibilité de ces contaminants vis-à-vis des organismes marins. Pour pouvoir étudier la santé d'un écosystème marin et le potentiel toxique d'une pollution telle que celle liée à la présence de HAP, il est nécessaire de pouvoir accéder à la fraction des composés disponibles pour les organismes aquatiques et de connaître les effets toxiques des contaminants incriminés (effets toxiques qui dépendent généralement de la capacité de biotransformation des espèces). Dans le cas des organismes supérieurs tels que les poissons, cette approche est d'autant plus importante qu'ils présentent des capacités de biotransformation qui leur permettent d'éliminer ces composés. Par conséquent, les concentrations tissulaires en HAP ne reflètent pas le niveau réel d'exposition des

poissons. On a ainsi souvent pu noter que des poissons collectés dans des environnements fortement pollués ne contenaient pas de fortes teneurs en HAP.

Les travaux présentés ici concernent donc l'étude des métabolites biliaires de HAP comme outils de diagnostic d'exposition des poissons à une pollution de type hydrocarbures et notamment HAP. Les résultats obtenus sur les métabolites ont été confrontés aux résultats concernant l'étude des altérations à l'ADN via le test des comètes de façon à faire le lien entre exposition et effet. Des corrélations entre métabolites et altérations de l'ADN ont ainsi été mises en évidence montrant le lien entre les deux types de paramètres suggérant que la mesure des métabolites pourrait non seulement être un bon outil pour caractériser l'exposition des animaux mais aussi un marqueur d'effets potentiels précoces. Les travaux présentés couvrent les développements méthodologiques basés sur l'utilisation de l'UPLC/MS/MS, et les applications tant en laboratoire (in vitro et in vivo) que dans le milieu naturel. Différents cas d'étude seront présentés essentiellement concernant les estuaires de la côte atlantique (Seine, Gironde, Loire).

Evrard E, Devaux A, Bony B, Burgeot T, Riso R, Budzinski H, Le Du M, Quiniou L, Laroche J. (2009), Biomarkers, sous presse  
Mazéas O., Budzinski H. (2005) Anal. Bioanal. Chem., 383, 985–990

# Quelle est l'influence du pH sur l'écotoxicité de nanocomposites de TiO<sub>2</sub> vieilliss artificiellement chez *Vicia faba* ?

FOLTÊTE AS<sup>1</sup>, MASFARAUD JF<sup>1</sup>, BIGORGNE E<sup>1</sup>, NAHMANI J<sup>1</sup>, BOTTA C<sup>2,3</sup>, LABILLE J<sup>2,3</sup>, ROSE J<sup>2,3</sup>,  
FÉRARD JF<sup>1</sup>, COTELLE S<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire des Interactions Ecotoxicologie, Biodiversité, Ecosystèmes (LIEBE), Université Paul Verlaine-Metz, CNRS UMR 7146, Campus Bridoux, Avenue- du Général Delestraint, 57070 Metz, FRANCE

<sup>2</sup> Centre Européen de Recherches et d'Enseignement des Géosciences de l'Environnement (CEREGE), CNRS-Aix Marseille Université UMR 6635, Europole de l'Arbois, BP80, 13545 Aix-en-Provence cedex 04, France

<sup>3</sup> iCEINT, international Consortium for the Environmental Implications of Nanotechnology, F-13545 Aix en Pce cedex 04.

Les nanomatériaux sont de plus en plus employés dans des secteurs industriels très variés. Par exemple, les nanocomposites de TiO<sub>2</sub> sont souvent utilisés comme pigments dans des peintures ou comme filtres à UV dans des crèmes solaires. Les nanoparticules de TiO<sub>2</sub> sont connues pour posséder des propriétés photocatalytiques qui génèrent des espèces réactives de l'oxygène (ROS). C'est pourquoi ils sont souvent enveloppés par des substances telles que l'hydroxyde d'aluminium pour empêcher l'apparition de ces ROS, mais on ne connaît pas encore très bien la stabilité de ces couches protectrices et la toxicité que de telles structures pourraient avoir sur les êtres vivants.

Dans ce contexte, les nanocomposites d'une crème solaire, composés d'un noyau de nanoparticules de TiO<sub>2</sub> enveloppé d'un double film d'hydroxyde d'aluminium et de diméthicone, ont été soumis à un procédé de vieillissement artificiel (Labille *et al.*, soumis). Les Sous-Produits d'Altération (SPA) obtenus ont alors été testés en phase liquide (50 % Evian : 50 % eau ultrapure, v : v) sur une plante, *Vicia faba*, exposée pendant 48h à 3 concentrations nominales de SPA : 5, 25 et 50 mg/L. Afin de connaître l'effet potentiel du pH sur la toxicité des SPA, l'expérience a été réalisée à 3 pH différents : 5,5, 6 et 6,5. La croissance de la plante, la fluorescence chlorophyllienne (ratio Fv/Fm), les biomarqueurs du stress oxydant (Dazy *et al.*, 2008), la génotoxicité (test des micronoyaux, Cotelle *et al.*, 1999) et les taux de phytochélatines ont été déterminés. Afin de connaître la biodisponibilité des SPA, les concentrations en Ti et Al ont été dosées par ICP-MS.

Les résultats indiquent que les SPA n'induisent aucun effet significativement toxique sur la plupart des critères mesurés. Le pH influence légèrement ces résultats. Nous pouvons conclure à une toxicité limitée des SPA chez *Vicia faba*, aux pH testés et dans nos conditions expérimentales. Les seuls effets clairs que nous ayons observés concernent une plus grande sensibilité des plantes à l'acidité lorsqu'elles étaient exposées à 50 mg/L de SPA et une tendance des SPA à exacerber les différences inter-individuelles.

Mots-clés : *Vicia faba*, nanomateriaux, TiO<sub>2</sub>, écotoxicité

Cotelle S, Masfaraud JF, Férard JF. 1999. Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the Allium/Vicia-micronucleus and the Tradescantia-micronucleus assays. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **426**(2):167-171

Dazy M, Jung V, Férard JF, Masfaraud JF. 2008. Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: role of plant antioxidant enzymes and possible implications in site restoration. *Chemosphere* **74**(1):57-63

Labille J, Feng J, Botta C, Borschneck D, Sammut M, Auffan M, Rose J, Bottero JY. Aging of TiO<sub>2</sub> nanocomposites used in sunscreen creams. Dispersion and fate of the byproducts in aqueous environment. *Environmental Pollution*. submitted

Remerciements – Les auteurs remercient l'Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME, Angers) pour son soutien financier.

# **Session 5 : Devenir des toxiques dans l'environnement**

## **Communications orales**



# Éléments en traces dans les sols - Apports des démarches pédologiques à l'écotoxicologie

DENIS BAIZE

INRA Orléans UR 0272 Science du Sol – CS 40001 – 45075 Orléans Cedex 2 (France)  
[denis.baize@orleans.inra.fr](mailto:denis.baize@orleans.inra.fr)

D'année en année un plus grand nombre d'analyses d'éléments en traces potentiellement polluants (ÉTPT) dans les sols sont réalisées, notamment dans le cadre de la démarche d'interprétation de l'état des milieux (IEM). Localement, dans des sols agricoles, de fortes teneurs naturelles sont détectées qui pourraient générer des inquiétudes [3] [11]. Pourquoi les ÉTPT d'origine naturelle ne sont-ils pas à craindre même quand ils sont anormalement abondants ?

En effet, des anomalies naturelles existent : la plupart liées à l'histoire géologique des matériaux dans lesquels les sols se sont développés (fonds géochimiques locaux) et certaines liées aussi aux évolutions pédogénétiques ultérieures (fonds pédogéochimiques locaux) [14]. Ainsi, de fortes anomalies en Cd sont fréquemment détectées dans les sols issus de calcaires oxfordiens et bajociens du Jura suisse et français, de Bourgogne et du Berry [5] [6] [8] [16] ; de fortes anomalies en Ni et Cr sont constatées dans les sols issus de basaltes en Auvergne ; de très fortes teneurs en tout un cortège d'éléments en traces (As, Cd, Cu, Ni, Pb, Tl, Zn) sont dosées dans les sols de la plate-forme sinémurienne en Auxois et en Avallonnais [1], [2] [4].

En France, il n'existe pas de normes de concentrations totales pour les sols qui permettraient de distinguer réglementairement sols pollués vs sols non pollués ou teneurs acceptables vs teneurs non acceptables. Et c'est heureux, car des teneurs totales ne peuvent pas servir à un diagnostic de danger ! En effet, un horizon de surface présentant une teneur en Cd de 2,5 mg/kg peut être notablement contaminé (cas des sols limoneux du Vexin) tandis que les 7 ppm de cadmium dosés dans une « terre noire » en Auxois résultent de processus naturels et ce cadmium ne passe pas dans les céréales ni dans les graines de colza qui y sont cultivées [2] [4].

Les ÉTPT d'origine naturelle (même anormalement abondants) ne représentent pas de danger pour les écosystèmes et les agrosystèmes car les teneurs observées aujourd'hui correspondent à un équilibre géochimique acquis sur des milliers, voire des dizaines de milliers d'années. Les formes les plus mobiles des ÉTPT (par exemple les formes solubles et échangeables du cadmium) ont été lixiviées depuis longtemps. Celles qui restent, que l'on dose aujourd'hui dans les sols, sont des formes fortement adsorbées ou co-précipitées et ne sont donc pas biodisponibles. D'où l'importance des constituants naturels, présents en quantités très variables d'un type de sol à un autre, les oxy-hydroxydes de fer et de manganèse [12] [15].

En ce qui concerne le devenir des ÉTPT anthropogènes, le diagnostic de danger devra prendre en compte les propriétés pérennes des différents horizons (calcaire, abondance et nature des oxy-hydroxydes) mais aussi les propriétés non pérennes, sous la dominance des interventions humaines et des itinéraires culturels : pH, matières organiques, fertilisants, chlorures... [9], [10].

Il est possible de distinguer les éléments en traces naturels et anthropogènes et surtout de quantifier leurs proportions respectives. La méthode la plus efficace est dite "démarche typologique" [3] [7]. Elle consiste à utiliser les fortes relations naturelles qui existent entre deux ÉTPT ou entre un ÉTPT et un élément majeur (fer, aluminium) en opérant sur une même série de sol convenablement caractérisée aux plans pédologique et pédogéochimique, et en privilégiant l'analyse des sols les moins impactés par les activités humaines (horizons non situés en surface et sols forestiers). Des exemples seront présentés.

On voit donc que les approches pédologiques constituent une première phase pour l'évaluation des dangers avant de passer à des investigations plus fines, plus délicates et plus coûteuses comme des analyses par extractions partielles réalisées sur des échantillons de sols ou des analyses des produits agricoles récoltés (grains, légumes feuilles, légumes racines, etc.).

- [1] [Baize D. et Chrétien J., 1994 - Les couvertures pédologiques de la plate-forme sinémurienne en Bourgogne. Particularités morphologiques et pédo-géochimiques. Étude et Gestion des Sols, 1, 2, pp. 7-27.](#)
- [2] [Tremel A., Masson P., Sterckeman Th., Baize D., Mench M., 1997 - Thallium in French agrosystems. I. Thallium contents in arable soils. Environmental Pollution. Vol. 95, n°3, pp. 293-302.](#)
- [3] [Baize D., 1997 - Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols \(France\). Références et stratégies d'interprétation. INRA Éditions, Paris. 410 p.](#)
- [4] [Mench M., Baize D. & Mocquot B., 1997 - Cadmium availability to wheat in five soil series from the Yonne district, Burgundy, France. Environmental Pollution. Vol. 95, n° 1, pp. 93-103.](#)
- [5] [Baize D., Deslais W. et Gaiffe M., 1999 - Anomalies naturelles en cadmium dans les sols de France. Étude et Gestion des Sols, 2, pp. 85-104.](#)
- [6] [Baize D. & Sterckeman Th., 2001 - Of the necessity of knowledge of the natural pedo-geochemical background content in the evaluation of the pollution of soils by trace elements. Science of Total Environment, 264, pp. 127-139.](#)
- [7] [Baize D., 2001 - Évaluer les contaminations diffuses en éléments traces dans les sols. 5èmes Journées GEMAS / COMIFER, Blois, novembre 2001. pp. 281-295.](#)
- [8] [Prudente D., Baize D. & Dubois J.-P., 2002 - Le cadmium naturel dans une forêt du haut Jura français. In : Les Éléments traces métalliques dans les sols – Approches fonctionnelles et spatiales. Baize D. et Tercé M. coord., INRA Éditions, Paris. 570 p.](#)
- [9] [Sappin-Didier V., Brayette S., Jadé C., Baize D., Masson P. et Mench M., 2002 - Phytodisponibilité du cadmium pour le blé. Rôle des paramètres pédologiques et agronomiques. In : Les Éléments traces métalliques dans les sols – Approches fonctionnelles et spatiales. Baize D. et Tercé M. coord., INRA Éditions, Paris. 570 p.](#)
- [10] [Mench M. et Baize D., 2004 - Contamination des sols et de nos aliments d'origine végétale par les éléments en traces. Mesures pour réduire l'exposition. Le Courrier de l'Environnement de l'INRA, n° 52, pp. 31-56.](#)
- [11] [Baize D., Saby N., Deslais W., Bispo A. et Feix I., 2006 – Analyses totales et pseudo-totales d'éléments en traces dans les sols – Principaux résultats et enseignements d'une collecte nationale. Étude et Gestion des Sols, 2, pp. 181-200.](#)
- [12] [Baize D., Bourennane H., Jolivet C. et Saby N., 2007 - Intérêt de déterminer le manganèse total sur échantillons de sols. Actes des 8èmes rencontres de la fertilisation raisonnée et de l'analyse de terre, 20 et 21 novembre 2007, Blois. Poster. 8 p.](#)
- [13] [Mathieu A., Baize D., Raoul C. et Daniau C. 2008 - Proposition de référentiels régionaux en éléments traces métalliques dans les sols : leur utilisation dans les évaluations des risques sanitaires. Environ., Risques & Santé, vol 7, 2, pp. 112-122.](#)
- [14] [Baize D., 2008 - Éléments traces dans les sols : ne plus parler de « bruit de fond ». Environnement & Technique, Novembre 2008, n° 281, pp. 25-30.](#)
- [15] [Baize D., Bellanger L., and Tomassone R., 2009 - Relationships between concentrations of trace metals in wheat grains and soil. Agronomy for Sustainable Development, 29, pp. 297-312.](#)
- [16] [Rambeau C., Baize D., Saby N., Matera V., Adatte T., Föllmi K.B. – High cadmium concentrations in Jurassic limestone as the cause for outlying cadmium levels in deriving soils: a case study in Lower Burgundy, France. Article soumis à Environ. Geology.](#)



## Caractérisation d'une souche bactérienne isolée d'un agrosystème français capable de biotransformer la mésotrione

ISABELLE BATISSON<sup>1</sup>, OLIVIER CROUZET<sup>1</sup>, PASCALE BESSE-HOGGAN<sup>2</sup>, MARTINE SANCELME<sup>2</sup>,  
JEAN-FRANÇOIS MANGOT<sup>1</sup>, CLARISSE MALLET<sup>1</sup>, JACQUES BOHATIER<sup>1</sup>

<sup>1</sup>: Université Blaise Pascal-Clermont-II, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, UMR CNRS 6023, France.

<sup>2</sup>: Université Blaise Pascal-Clermont II, Laboratoire de Synthèse Et Etude de Systèmes à Intérêt Biologique, UMR 6504 CNRS, France.

La Mésotrione [2-(4-méthylsulfonyl-2-nitrobenzoyl)-1,3-cyclohexanedione] est une molécule de la famille des tricétones, récemment mise sur le marché comme herbicide sélectif du maïs. A l'heure actuelle, deux produits de biotransformation, l'acide 4-méthylsulfonyl-2-nitrobenzoïque (MNBA) et l'acide 2-amino-4-méthylsulfonylbenzoïque (AMBA), ont été décrits (1). Cependant, peu d'informations sont disponibles quant à l'impact de la mésotrione sur la structure, la diversité et la fonction des communautés microbiennes du sol. De même, les voies métaboliques de biodégradation sont peu décrites dans la littérature. Par conséquent, connaître le devenir de cette molécule dans l'environnement et son impact est d'un intérêt majeur.

Dans un premier temps, les cinétiques de dégradation à 10 fois la dose agronomique (4.5 mg.Kg<sup>-1</sup> poids sol sec) de mésotrione ont été étudiées dans un sol de Limagne (Puy-de-Dôme, France) pour mettre en évidence la capacité de la microflore de ce sol à biotransformer la molécule.

Par la suite, des cultures d'enrichissement de bactéries provenant de la couche superficielle de ce sol de Limagne (0-5 cm) ont été réalisées dans une solution minérale contenant des concentrations croissantes de mésotrione (de 25 à 100 mg.L<sup>-1</sup>) comme seule source de carbone. L'évolution de la biodiversité des communautés bactériennes présentes dans ces cultures d'enrichissement a été suivie, sur une période de 77 jours, par électrophorèse en gradient de température (PCR-TTGE) des régions variables V6 à V8 des gènes ADNr 16S. L'analyse des profils TTGE a révélé que la mésotrione avait un impact sur la structure de la communauté bactérienne uniquement pour les concentrations les plus fortes (100 mg.L<sup>-1</sup>). Ces profils ont permis d'identifier des souches bactériennes sensibles à la mésotrione et des souches capables de s'adapter à cet herbicide, et donc potentiellement capables de le dégrader. Deux souches bactériennes adaptées, génétiquement affiliées à *Bacillus* sp. et *Arthrobacter* sp., ont été isolées par hybridation sur colonies (2).

Les tests de biodégradation ont montré que seule la souche de *Bacillus* sp. était capable de biotransformer rapidement et complètement la mésotrione (3). Cette biotransformation de la mésotrione conduit à l'apparition de plusieurs sous-produits, dont l'AMBA et d'autres métabolites en cours d'identification.

Afin d'apporter des données sur le devenir de la mésotrione et d'établir ses voies de dégradation, il nous apparaît important de poursuivre l'identification des nouveaux produits de biotransformation de la mésotrione. Parallèlement à ces études chimiques, nous envisageons également de prolonger ces investigations par la mise en évidence de(s) gène(s) impliqués dans la dégradation de cette molécule par une approche protéomique 2D-DIGE.

**Mots clé :** Herbicide, Mésotrione, bactérie, sol, biodégradation

- (1) Alferness P., Wiebe L. 2002. Determination of mesotrione residues and metabolites in crops, soil, and water by liquid chromatography with fluorescence detection. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50, 3926-3934.
- (2) Batissou I., Pesce S., Besse-Hoggan P., Sancelme M., Bohatier J., 2007. Isolation and characterization of diuron-degrading bacteria from lotic surface water. Microb. Ecol. 54, 761-770.
- (3) Batissou I., Crouzet O., Besse-Hoggan P., Sancelme M., Mangot J-F., Mallet C. et Bohatier J. Isolation and characterization of mesotrione-degrading *Bacillus* sp. from soil. Environmental Pollution 2009. 157 : 1195-1201.

# Utilisation des échantillonneurs passifs pour la surveillance des substances chimiques et de leurs potentiels impacts toxiques dans les milieux aquatiques

BUDZINSKI H.<sup>1</sup>, TAPIE N.<sup>1</sup>, LE MENACH K.<sup>1</sup>, CREUSOT N.<sup>2</sup>, AIT AISSA S.<sup>2</sup>

1. ISM/LPTC UMR 5255 CNRS, Université Bordeaux 1, Talence, France

2. INERIS, Unité Ecotoxicologie in vitro et in vivo - BP2 60550 Verneuil en Halatte, France

Le rejet de substances toxiques d'origines naturelles ou de synthèse constitue un facteur préoccupant de la dégradation de la qualité de l'environnement. La dispersion volontaire ou involontaire de nombreuses substances (pesticides, organo-halogénés, organo-métalliques, hydrocarbures, métaux, ...) peut induire la contamination de l'environnement, y compris les endroits éloignés des sources d'émissions. L'existence de molécules toxiques pour la plupart non identifiées dans l'environnement, nécessite de trouver des stratégies adaptées pour évaluer l'état de santé du milieu naturel. Le milieu aquatique est particulièrement préoccupant de par son rôle de réceptacle ultime des polluants, de par la sensibilité des espèces y vivant et de par son importance au niveau des cycles globaux. L'effort de surveillance doit donc s'intensifier tant sur le milieu récepteur que sur les rejets. Quand on considère le nombre de composés à analyser et le nombre d'écosystèmes et de rejets à contrôler, il apparaît clairement un enjeu à développer de nouvelles méthodologies d'analyse adaptées aux spécificités des milieux aquatiques (milieu dilué, variabilité spatiale, variabilité temporelle, difficulté d'accès, mélange complexe...) et répondant à une logique d'intégration, d'augmentation de fréquence, et de diminution de coût. La législation européenne, et en particulier la loi cadre sur l'eau qui vise à atteindre d'ici 2015 un bon état général des eaux souterraines, superficielles et côtières a encouragé le développement d'outils efficaces pour l'évaluation de la qualité des eaux. La détermination de la concentration moyenne d'un contaminant dans les eaux, qui représente une part fondamentale de l'évaluation du risque écologique pour des stress chimiques, est difficile, voire impossible sans des prélèvements ponctuels très nombreux et répétitifs. Parmi les méthodes pouvant surmonter ces problèmes, l'échantillonnage passif intégratif représente une alternative fiable, robuste, peu onéreuse, pouvant être utilisée dans des programmes de contrôle à travers l'Europe, notamment pour répondre aux attentes de la Directive européenne Cadre sur l'Eau. L'intérêt des échantillonneurs passifs est triple : 1) ce genre d'outils devrait permettre d'abaisser les seuils de détection des composés par l'effet de concentration dans l'échantillonneur; 2) ils devraient permettre une intégration dans le temps et donc permettre une meilleure approche de la concentration réelle et significative des composés dans les milieux visés que ce soit des rejets ou le milieu récepteur ; 3) leur utilisation devrait amener une simplification des opérations de suivi donc *in fine* une baisse des coûts ou alors une augmentation des possibilités de surveillance (à coût constant). Ces systèmes sont maintenant considérés comme définissant une stratégie émergente pour le contrôle des polluants prioritaires. Ils sont de plus intéressants car ils permettent un couplage entre analyses chimiques et utilisation de biotests de toxicité. Parmi ces outils émergents, les POCIS (Polar Organics Chemical Integrative Samplers) sont des systèmes d'échantillonnage particulièrement intéressants qui permettent l'échantillonnage des composés polaires dans l'eau comme les pesticides ou les substances pharmaceutiques (molécules ayant un log Kow compris entre 1 et 4). Les POCIS permettent intégrer les variations de concentration de ces composés dans l'eau et d'avoir accès à la concentration moyenne sur le temps d'exposition de l'échantillonneur.

Parallèlement à l'acquisition de la donnée de contamination ces outils peuvent coupler à des tests de toxicité permettant ainsi d'obtenir des informations sur la toxicité des molécules échantillonnées. Ces échantillonneurs ont été déployés dans différents systèmes aquatiques, eau usées, eaux traitées, eau de rivière, eau de mer pour en évaluer la concentration en composés cibles (substances pharmaceutiques, pesticides, alkylphénols...). En plus de la caractérisation chimique les POCIS ont également été couplés à différents bioessais in vitro (détection d'activités de perturbateurs endocriniens et dioxine-like) afin d'évaluer le potentiel toxique des substances échantillonnées. Nous montrerons ainsi différents développements ayant trait à la mise en oeuvre de ces outils de la calibration en laboratoire à leur utilisation dans différents environnements.

*Mots clefs : échantillonneurs passifs, bioessais, substances pharmaceutiques, alkylphénols, pesticides.*

Togola A., Budzinski H., 2007. Analytical chemistry 79 (17), 6734-6741

Creusot N., Kinani S., Balaguer P., Tapie N., LeMenach K., Maillot-Maréchal E., Porcher JM, Budzinski H., Aït-Aïssa S. (2010) Anal Bioanal Chem, 396, 569–583

# Apport de la biogéochimie structurale à la compréhension des mécanismes de transfert et de détoxification des éléments trace

ALAIN MANCEAU

LGCA - Maison des Géosciences, Université Joseph Fourier et CNRS, Grenoble

La biodisponibilité et la toxicité des éléments trace sont étroitement liées à leur forme chimique et structurale aux échelles atomiques et moléculaires. Dissocier les paramètres teneur et spéciation dans l'évaluation de leur écotoxicité est tout à la fois un enjeu socio-économique et un challenge scientifique, en raison notamment de la faible abondance naturelle des éléments les plus toxiques (e.g., Hg, Cd), de la difficulté à caractériser *in-situ* leurs formes, et de la grande hétérogénéité des systèmes naturels.

Nous montrerons comment la sensibilité accrue et la haute résolution des outils analytiques actuellement disponibles sur les sources synchrotron de 3<sup>ème</sup> génération (micro-fluorescence X, -diffraction, et -spectroscopie) permettent dorénavant d'accéder aux formes de piégeage et d'incorporation d'un élément chimique dans les constituants des matrices solides (sols, sédiments, matière organique), et de bioaccumulation ou d'excrétion par les organismes vivants (plantes et animaux). La richesse des informations qu'il est possible d'obtenir et la diversité des objets et systèmes qui se prêtent à ces caractérisations fines de la matière vivante, organique et inorganique seront illustrées par des exemples précis, comme:

- La production de précipités nanométriques de cuivre métallique par les endomycorhizes de plantes de milieux humides utilisées en phytoremédiation (*Phragmites australis*, *Iris pseudoacorus*)<sup>1</sup>, et par les lombrics vivants dans un sol de vigne (excrétion dans les canaux néphridiens);
- La production et l'excrétion de granules de carbonate de calcium substitué en Zn et Cd par la plante hyperaccumulatrice *Arabidopsis halleri*<sup>2</sup>;
- La formation de clusters biomoléculaires Hg<sub>x</sub>S<sub>y</sub> dans la matière organique naturelle des Everglades (Floride), et la relation entre la spéciation de Hg, la quantité de groupements thiols (-SH de type cystéine), et la vitesse de méthylation du mercure<sup>3,4</sup>.

Ces résultats fournissent des pistes de réflexion pour améliorer les tests actuels d'évaluation de la toxicité des éléments trace par une meilleure prise en compte de leurs formes d'exposition, d'accumulation, et d'élimination.

- 1- Manceau A., Nagy K.L., Marcus M.A., Lanson M., Geoffroy N., Jacquet T., Kirpichtchikova T. (2008) Formation of metallic copper nanoparticles at the soil-root interface. *Environmental Science and Technology*, 42, 1766-1772.
- 2- Sarret G., Harada E., Choi Y.E., Isaure M.P., Geoffroy N., Fakra S., Marcus M.A., Birschwilks M., Clemens S., Manceau A. (2006) Trichomes of tobacco excrete zinc as zinc-substituted calcium carbonate and other zinc-containing compounds. *Plant Physiology*, 141, 1021-1034.
- 3- Nagy K.L., Manceau A., Ryan J.N., Aiken G.R. (2008) The Strong Binding Environments for Mercury in Peat. *Eos Trans. AGU*, 89(53), Fall Meet. Suppl., Abstract B44A-03, Invited.
- 4- Nagy K.L., Manceau A., Ryan J.N., Aike, G.R. (2010) Metallothionein-like multinuclear clusters of mercury(II) and sulfur in peat. *Soumis*.

## Devenir de phénylurées et de leurs produits de photodégradation en présence de champignons basidiomycètes

C. REPINCAY, A. POITEVIN, M. BOISSEILLIER, N. CHEVIRON, A. BRAUT, I. TOUTON,  
M. HEDDE, S. NÉLIEU

UR 251 PESSAC, INRA, Versailles, France

[nelieu@versailles.inra.fr](mailto:nelieu@versailles.inra.fr)

Après épandage, les pesticides peuvent être transformés dans les sols selon des processus biotiques et abiotiques, en particulier par des photoréactions induites par des constituants du sol tels que les nitrates ou la matière organique. Les composés ainsi formés sont susceptibles de représenter un risque pour les organismes vivants. Les photoréactions et leurs impacts ont été caractérisés en milieu aquatique en utilisant comme modèles des herbicides phénylurées (diuron, chlorotoluron [1, 2]). Cette présentation sera centrée sur le volet « devenir » d'une étude visant à évaluer le devenir et l'impact de ces deux composés et des produits issus de leur photodégradation induite par des nitrates sur des organismes modèles, *Trametes versicolor* et *Phanerochaete chrysosporium*.

Les expériences ont été réalisées en culture liquide contenant différentes concentrations de l'herbicide natif ou de l'herbicide préalablement photodégradé à 70% de la concentration initiale. Des suivis sur 10 jours ont été réalisés dans le milieu de culture par chromatographie liquide à ultra haute pression / spectrométrie de masse (UPLC-ESI-MS/MS). Les cinétiques de disparition des pesticides ont été différemment impactées par la présence des deux champignons. De plus, l'évolution des produits de dégradation sera discutée en fonction de leur origine spécifique de la photodégradation, de la biodégradation ou mixte.

[1] Shankar M.V., Nélieu S., Kerhoas L., Einhorn J., Chemosphere 66 (2007), 767-774.

[2] Nélieu S., Perreau F., Bonnemoy F., Ollitrault M., Azam D., Lagadic L., Bohatier J., Einhorn J., Environ. Sci. Technol. (2009) 43, 3148-3154.

# **Session 5 : Devenir des toxiques dans l'environnement**

## **Posters**





# Développement d'une méthode analytique pour évaluer le devenir du Diuron et de ses produits de dégradation dans le sol

**C. REPINCAI, M. HEDDE, S. NÉLIEU**

UR 251 PESSAC, INRA, Versailles, France

[crepincay@versailles.inra.fr](mailto:crepincay@versailles.inra.fr)

Après épandage sur les sols cultivés, les pesticides sont susceptibles de persister, mais le niveau de pollution est atténué par différents processus naturels dont la photodégradation. Dans cette dégradation abiotique, des substrats présents en surface des sols absorbent l'énergie lumineuse puis forment des entités réactives qui dégradent les polluants organiques. Toutefois, ce processus doit être caractérisé car les produits formés sont parfois plus toxiques que le composé parent.

L'objectif de cette étude était de développer et valider une méthode analytique permettant d'évaluer, en lien avec leur impact, le devenir du diuron et de onze de ses produits de transformation dans le sol. La difficulté était d'extraire simultanément l'ensemble des composés, présents à l'état de trace, thermolabiles et de polarités très diverses. Quatre techniques d'extraction (par micro-ondes, par liquide sous pression, sous ultrasons et par agitation) ont été comparées non seulement en fonction de leur efficacité mais aussi selon des critères de rapidité, simplicité de mise en œuvre, coût et respect de l'environnement. Les effets de la température, de la nature du solvant et de son volume sur le rendement ont été étudiés. La technique sélectionnée a été optimisée en prenant tout particulièrement en compte l'importance de l'humidité du sol.

Une méthode incluant l'extraction et l'analyse par chromatographie liquide à ultra haute pression / spectrométrie de masse (UPLC-ESI-MS/MS) a été développée et ses performances ont été caractérisées. Pour la plupart des composés, les limites de détection sont dans le domaine du ppb, soit moins de 0,1% de l'apport à dose agronomique du pesticide natif. Ce protocole a été appliqué à une étude sur le devenir et l'impact du diuron réalisée en microcosmes.

## Suivi de l'évolution de la contamination par le Cr et le Pb des eaux superficielles du Bassin Versant Kebir-Rhumel (Algérie).

SAHLI L.\*, EL HADEF EL OKKI M.\*\* , MEHENNAOUI-AFRI FZ.\* , MEHENNAOUI S\*\*\*.

\* Laboratoire de Biologie et Environnement, Université Mentouri-Constantine.

\*\* Département de Biologie, Université Hadj Lakhdar-Batna.

\*\*\* Département des Sciences Vétérinaires, Université Hadj Lakhdar-Batna.

La pollution des écosystèmes aquatiques est un enjeu environnemental majeur. Les oueds du bassin versant Kebir Rhumel au nord-est algérien ne sont pas épargnés. Frappés par une urbanisation importante et une forte charge industrielle, les eaux superficielles de ce bassin ont vu ces dernières décennies une grande dégradation.

Dans le but de suivre l'évolution de la contamination par les éléments traces métalliques (ETM) notamment le chrome et le plomb des eaux superficielles du Bassin Versant Kebir Rhumel, nous avons procédé à une quantification de ces deux éléments dans des échantillons de matrice sédimentaire prélevés pendant quatre campagnes de prélèvement durant la période allant de mars 2005 à décembre 2007. Ces prélèvements ont été effectués dans 38 stations réparties le long des principaux cours d'eaux dudit bassin. Auparavant, une caractérisation physico-chimique de cette même matrice sédimentaire a été effectuée (pH, CE, CT, CO, granulométrie, ...).

Les concentrations totales en Pb et en Cr présentent une évolution significative entre l'amont et l'aval de ce bassin versant ainsi qu'une variabilité importante. En effet, les teneurs atteignent des seuils inquiétant et dépassent largement les normes en vigueur dans certaines stations notamment celles qui sont situées en aval des rejets industriels et à proximité des axes routiers. L'application de l'analyse en composantes principales a pu nous renseigner sur l'évolution de la contamination et de repérer ainsi les zones contaminées par ces 2 éléments considérés comme dangereux et potentiellement toxiques.

La surveillance permanente des différents paramètres physico-chimiques, en particulier les ETM, de ce milieu fragilisé n'est plus seulement un souci environnemental mais un impératif économique dont découlera le développement durable de toute la région.

**Mots clés :** Chrome, Plomb, Contamination, Eaux superficielles, Bassin Versant Kebir Rhumel.

## **Session 6 : Ecologie in situ**

### **Communications orales**



# La méthode PICT appliquée aux biofilms prélevés en milieu urbain : étude in situ dans un gradient de pollution sur la Seine

**LISE FECHNER<sup>1</sup>, CATHERINE GOURLAY-FRANCÉ<sup>1</sup> MARIE-HÉLÈNE TUSSEAU-VUILLEMIN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Cemagref – Unité de Recherche Hydrosystèmes et Bioprocédés, Parc de Tourvoie, BP 44 – F 92163, Antony Cedex, France

Les milieux urbains sont aujourd'hui contaminés par des micropolluants d'origines et de types variés. Les conséquences de ce type de contaminations, faibles, multiples et chroniques, sont difficiles à évaluer du fait de la multiplicité des facteurs de perturbation, de l'adaptation des écosystèmes exposés et des durées nécessaires à l'observation des effets chroniques. Dans ce contexte, l'acquisition de tolérance à l'échelle de la communauté, par exemple via la sélection d'espèces résistantes, constitue une réponse biologique intéressante à une contamination chronique et non létale. En particulier, la méthode PICT (*Pollution Induced Community Tolerance*) [1], qui permet d'établir un lien entre une exposition à un agent toxique et ses effets sur une communauté exposée, est un outil intéressant.

L'étude vise à étudier l'acquisition de tolérance de biofilms prélevés *in situ* et exposés de façon chronique à des contaminants urbains en se focalisant plus particulièrement sur 5 métaux : Cd, Cu, Ni, Pb et Zn. Les biofilms sont prélevés le long de la Seine sur trois sites ayant fait l'objet d'un suivi régulier (paramètres physico-chimiques de l'eau, concentrations en métaux totaux, dissous et labiles par l'utilisation de la technique DGT [2]) : le site de Marnay-sur-Seine, situé à 200 km en amont de Paris en zone non-urbanisée, le site de Bougival en aval de Paris et le site de Triel-sur-Seine en aval de Paris et de la station d'épuration Seine Aval. L'impact des contaminants urbains sur les biofilms est évalué par des mesures de biomasse et par évaluation de l'acquisition de tolérance avec un test de toxicité aiguë fondé sur la mesure de l'activité  $\beta$ -glucosidase [3]. La concentration en métaux accumulés dans les biofilms est évaluée suivant le protocole de Meylan *et al.* [4].

Pour tous les métaux testés, la tolérance, mesurée par l'EC<sub>50</sub> normalisée [5] obtenue par le test de toxicité  $\beta$ -glucosidase, augmente d'amont en aval le long de la Seine. L'acquisition de tolérance reflète donc bien le gradient de pollution métallique mesuré simultanément sur les trois sites.

1. Blanck, H., A Critical Review of Procedures and Approaches Used for Assessing Pollution-Induced Community Tolerance (PICT) in Biotic Communities. *Human and Ecological Risk Assessment*, 2002. **8**: p. 1003-1034.
2. Zhang, H. and W. Davison, Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution. *Analytical Chemistry*, 1995. **67**: p. 3391 -3400.
3. Fechner, L., C. Gourlay-Francé, and M.H. Tusseau-Vuillemin. A new PICT methodology to explore the response of aquatic ecosystems to urban metals: a microcosm validation. in SETAC Europe 19th Annual Meeting 2009. Göteborg, Sweden.
4. Meylan, S., R. Behra, and L. Sigg, Accumulation of Copper and Zinc in Periphyton in Response to Dynamic Variations of Metal Speciation in Freshwater. *Environ. Sci. Technol.*, 2003. **37**(22): p. 5204-5212.
5. Fechner, L. and M.H. Tusseau-Vuillemin. Towards the use of PICT methodology in urban aquatic environments: assessing metal toxicity on freshwater periphyton. in SETAC Europe 18th Annual Meeting. 2008. Warsaw, Poland

# L'escargot *Xeropicta derbentina* comme organisme sentinelle transplanté dans l'évaluation des impacts des pratiques phytosanitaires (insecticides)

CHRISTOPHE MAZZIA<sup>1</sup>, MAGALI RAULT<sup>1</sup>, YVAN CAPOWIEZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UMR 406 UAPV/INRA, « Abeille et environnement », Domaine St Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex 9 France.

<sup>2</sup> Institut National de Recherche Agronomique, UR 1115 "Plante et Systèmes Horticoles", Domaine St Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex 9 France.

Lors du dernier Grenelle de l'environnement, la réduction des traitements phytosanitaires a été l'un des objectifs donnés pour la prochaine décennie. En arboriculture fruitière, la phytoprotection est particulièrement intensive : en effet, l'arboriculture constitue 4% en valeur du marché des fongicides et 21% du marché des insecticides alors qu'elle ne représente que 1% de la SAU. Le développement de résistances des bioagresseurs aux fongicides et insecticides s'est traduit par l'abandon de molécules à impact environnemental modéré au profit de produits moins susceptibles d'induire des résistances mais très souvent peu sélectifs et à fort impact environnemental (insecticides neurotoxiques). Ces usages ont des répercussions maintenant reconnues sur l'environnement.

Dans notre laboratoire, nous cherchons à évaluer les impacts environnementaux des traitements phytosanitaires et principalement des insecticides appliqués en vergers de pommiers. Pour cela nous avons recours à l'utilisation d'une espèce sentinelle transplantée, l'escargot *X. derbentina*. L'intérêt des espèces sentinelles transplantées est qu'elles nous permettent d'étudier spécifiquement l'impact des insecticides pendant un temps d'exposition donné en s'affranchissant des problèmes que l'on pourrait rencontrer sur des sentinelles d'origine endogène comme par exemple les phénomènes de résistance. L'escargot a déjà été utilisé comme espèce sentinelle transplantée mais principalement pour l'évaluation de pollution liée aux métaux lourds, jamais en milieu terrestre pour des insecticides. Un autre intérêt de *X. derbentina* est qu'il s'agit d'une espèce d'escargot active durant l'été, période pendant laquelle les traitements phytosanitaires sont nombreux.

Nos études écotoxicologiques sont réalisées dans différents contextes : laboratoire, microcosme et en conditions réelles *in situ* dans les champs. Les effets des impacts phytosanitaires sont évalués grâce à des biomarqueurs biochimiques de type esterase (cholinestérase et carboxylestérase) reconnus pour être sensibles aux pesticides appartenant aux familles des organophosphorés et carbamates.

Au cours de ces études nous avons montré tout d'abord dans des conditions de laboratoire *in vitro* que les esterase de cet escargot étaient sensibles aux insecticides. En effet, après avoir caractérisé ces enzymes, nous avons mis en évidence leur inhibition par des insecticides comme le chlorpyrifos ou le carbaryl. Ensuite dans des conditions réelles au champ, nous avons validé ce modèle comme organisme sentinelle transplanté dans les vergers de pommiers en montrant que les escargots placés dans des vergers soumis à des traitements conventionnels (beaucoup d'insecticides de synthèse type chlorpyrifos) présentaient des niveaux de cholinestérase significativement moins importants que ceux d'escargots provenant de vergers abandonnés ou en agriculture biologique. Les études en microcosme ont permis de confirmer ces différents résultats et d'approfondir les recherches en travaillant notamment sur les effets de doses répétées ou les effets synergiques.

Ces études ont permis de montrer que cet escargot pouvait être utilisé comme organisme sentinelle transplanté permettant de discriminer les pratiques phytosanitaires et évaluer les impacts de ces pratiques sur des organismes non cibles. Il serait intéressant de voir si ce modèle peut être utilisé dans un autre contexte de pratiques agricoles (vigne ou autre).

- Laguerre et al. (2009) B-type esterases in the snail *Xeropicta derbentina*: an enzymological analysis to evaluate their use as biomarkers of pesticide exposure. *Environmental Pollution*. 157, 199-207.
- Mazzia et al. The snail *Xeropicta derbentina* as a transplanted sentinel species to evaluate environmental effects of apple orchard management strategies. Soumis

## Réponse sub-léthale in situ de *Gammarus pulex* (Amphipoda, Crustacea) entre l'amont et l'aval du rejet d'une papeterie.

**FRANÇOIS RENAULT<sup>1</sup>, FRANÇOIS DEGIORGI<sup>1</sup>, GREGORIO CRINI<sup>1</sup> AND PIERRE-MARIE BADOT<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> UMR Chrono-Environment (6249 CNRS/UFC) - Place Leclerc - F-25030 Besancon cedex - France

e-mail : [pierre-marie.badot@univ-fcomte.fr](mailto:pierre-marie.badot@univ-fcomte.fr); [francois.renault@univ-fcomte.fr](mailto:francois.renault@univ-fcomte.fr)

La fabrication du papier nécessite une grande quantité d'eau et donc engendre autant d'eaux usées. Même après traitement, ces rejets contiennent des substances variées (composés organiques, colloïdes, métaux, matière en suspension ...) qui constituent une source de pollution aquatique faiblement concentrée mais continue. La détection rapide de ces contaminations multiples et chroniques mais modérées nécessite des tests biologiques plus sensibles que ceux qui sont utilisés en routine pour contrôler la qualité de l'eau.

Aussi, pour caractériser l'impact de ce type de flux polluants, avons-nous utilisée une méthode fondée sur la mesure d'une réponse physiologique autre que la mort pour une espèce à cycle purement aquatique, *Gammarus pulex*. Ce crustacé a été choisi comme organisme-test à cause de son action sur plusieurs maillons de la chaîne trophique aquatique, de son ubiquité en Europe, de sa sensibilité à de nombreux micropolluants y compris les métaux et de sa résistance aux manipulations. Nous avons privilégié la mesure de son activité locomotrice car elle conditionne ses aptitudes à la nutrition, à la fuite et à la reproduction qui déterminent à leur tour, à moyen terme, la survie et la dynamique des populations.

Ces principes ont été utilisés pour évaluer l'écotoxicité du rejet d'une papeterie dans une grande rivière (le Doubs, module =  $51 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ ). Des séries de 6 cages contenant chacune 10 *G. pulex* ont été placées, durant 14 jours, à l'amont, sur 2 stations témoins, et en aval, à 10 et 100 m du rejet.

L'activité locomotrice en aval du rejet a été réduite d'une façon significative juste après le troisième jour d'exposition. Puis elle est restée constamment inférieure à celle qui a été observée en amont tout au long des 14 jours d'exposition. En outre, aucune amélioration de la réponse n'a été observée à 100 m à l'aval du rejet, malgré la dilution. Ces résultats montrent que cette méthode de bioindication est sensible et opérationnelle, y compris dans de grandes rivières.

Mots Clés : tests in situ, *Gammarus pulex*, Eaux usées, papeterie



## **Session 6 : Ecologie in situ**

### **Communications orales**



# Développement d'une méthode rapide d'extraction-purification d'ADN génomique: application à des sols contaminés et riches en acides humiques

TÉCHER DIDIER<sup>1</sup>, MARTINEZ-CHOIS CLAUDIA<sup>1</sup>, LAVAL-GILLY PHILIPPE<sup>1</sup>, BENNASROUNE AMAR<sup>1</sup>,  
FOUCAUD LAURENT<sup>1</sup>, BONNEFOY ANTOINE, FALLA JAIRO<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratoire des interactions écotoxicologie, biodiversité, écosystèmes (LIEBE),  
CNRS UMR7146, Université Metz Paul Verlaine,  
IUT Thionville-Yutz, Espace Cormontaigne, F-57970 Yutz  
FRANCE

La fraction de bactéries « non-cultivables » dans les sols représente généralement 0,1 à 10% de la totalité des microorganismes [1]. De nombreux protocoles relatifs à l'extraction-purification d'ADN génomique de sols ont été publiés ces dernières années, témoignant de la difficulté à purifier les acides nucléiques [1]. L'objectif de cette étude a été de développer une procédure rapide d'extraction et de purification d'ADN de sols, adaptable à différents types de sols contaminés, potentiellement riches en acides humiques. Deux vitamines, la thiamine et le pyridoxal hydrochlorique, ont été utilisés dans le processus de précipitation d'inhibiteurs de PCR. D'une part, la combinaison du mélange de vitamines avec un « salting-out » ou précipitation au chlorure de potassium (KCl) a permis d'obtenir de l'ADN directement amplifiable à partir d'échantillons de sols contenant jusqu'à 10% (p/v) d'acides humiques. D'autre part, l'utilisation de bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB) à la place de KCl a également permis l'extraction d'ADN directement amplifiable par PCR tout en améliorant sensiblement les quantités extraites, en fonction du pH du tampon de lyse. L'application de ces deux variantes de la méthode d'extraction suivie de l'analyse des profils bactériens par PCR-TGGE [2 ; 3] à quatre types de sols à contamination variable suggère que les deux techniques puissent être employées sur une large gamme de sols. Un des avantages majeurs de la procédure étant la rapidité des extraction-purification, ne nécessitant pas de lavage préalable des échantillons solides ni d'étape de purification supplémentaire. A l'heure des approches "métagénomiques" et technologies "biopuces", la mise en œuvre d'une telle procédure adaptable aux spécificités des sols de friches industrielles offre de nouvelles opportunités quant à l'étude des environnements perturbés.

[1] [Desai C., Madamwar D., 2007, Extraction of inhibitor-free metagenomic DNA from polluted sediments, compatible with molecular diversity analysis using adsorption and ion-exchange treatments, \*Bioresource Technology\*, \*\*98\*\*, 761-768.](#)

[2] [Tsai Y.L., Olson B.H., 1992, Detection of low numbers of bacterial cells in soils and sediments by polymerase chain reaction, \*Applied Environmental Microbiology\*, \*\*58\*\* \(2\), 754-757.](#)

[3] [Muyzer G., de Waal E.C., Uitterlinden A.G., 1993, Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. \*Applied Environmental Microbiology\*, \*\*59\*\*, 695-700.](#)

**Remerciements :** Ce projet est co-financé par l'Union Européenne. L'Europe s'engage en Lorraine avec le Fond Européen de Développement Régional. Nous remercions aussi l'ADEME, EDF et la Communauté d'Agglomération Thionville Portes de France pour leur soutien.

# Impact de l'herbicide mésotrione sur les communautés microbiennes d'un sol : analyse des réponses fonctionnelles et structurales à différents niveaux d'échelle d'intégration des communautés.

CROUZET OLIVIER<sup>1</sup>, BATISSON ISABELLE<sup>1</sup>, BESSE-HOGGAN PASCALE<sup>2</sup>, BOHATIER JACQUES<sup>1</sup> ET MALLET CLARISSE<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>: CNRS-UMR 6023, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement (LMGE), Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand II.

LMGE, 24 Avenue des Landais, Campus Universitaire des Cézeaux, 63177 Aubière, France.

<sup>2</sup>: CNRS-UMR 6504, Laboratoire de Synthèse et Etude de Systèmes à Intérêt Biologique (SEESIB), Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand II.

SEESIB, 24 Avenue des Landais, Campus Universitaire des Cézeaux, 63177 Aubière, France.

La mésotrione est un nouvel herbicide de la famille des tricétones utilisé à faible grammage en remplacement partiel de l'atrazine, pour les traitements des cultures de maïs. Très peu de données sont actuellement disponibles concernant la dégradation et l'impact écotoxicologique de la mésotrione, *in situ* sur des communautés microbiennes complexes. Les réponses des communautés microbiennes suite à l'application de doses croissantes de mésotrione pure ou de sa formulation commerciale (Callisto<sup>®</sup>) ont été étudiées par une approche en microcosme. Les quantités épandues ont été de une fois la dose recommandée au champ (1×DR = 0,45 µg.g<sup>-1</sup> de sol sec), 10×DR et 100×DR, et la dissipation a été suivie durant toute l'expérimentation. Les effets ont été évalués sur des paramètres fonctionnels en termes d'activité (respiration, nitrification et dénitrification potentielle) ou de biomasse (pigments chlorophylliens), et sur des paramètres structuraux par mesure de l'abondance (PCR quantitative) et de la diversité (PCR-DGGE) des communautés bactériennes et fongiques totales, ainsi que des groupes fonctionnels nitrifiants, dénitrifiants et cyanobactériens.

Le type de formulation n'influence pas la dissipation de la mésotrione pour des doses de 1×DR et 10×DR, alors qu'à 100×DR la dissipation est supérieure dans les sols traités avec la mésotrione pure comparé à ceux traités au Callisto<sup>®</sup>. Aucun impact sur les communautés microbiennes étudiées n'a été détecté suite à l'application de mésotrione pure ou de Callisto<sup>®</sup> à 1×DR. A court terme, les marqueurs d'activité microbienne hétérotrophe globale (respiration) et la dénitrification ont augmenté dans les sols traités par 10×DR et plus encore dans ceux traités avec 100×DR, alors que l'abondance totale des procaryotes n'augmente significativement qu'à long terme (jour 95). Les structures des communautés bactériennes et fongiques totales sont essentiellement affectées par la plus forte application (100×DR), à moyen ou long terme. A l'inverse, les communautés nitrifiantes et photosynthétiques sont rapidement altérées (à court terme) en termes d'abondance et d'activité et, dans une moindre mesure, en termes de diversité génétique. D'une manière générale, la réponse des communautés microbiennes de ce sol à la mésotrione est plus marquée au niveau fonctionnel que structural.

Ces résultats pourraient être la conséquence de la stimulation (*i*) des microorganismes utilisant la mésotrione comme source d'énergie, et/ou (*ii*) des métabolismes hétérotrophes au sein des communautés microbiennes, favorisés par l'apport de biomasse provenant des organismes sensibles à la mésotrione, (*iii*) ainsi que d'un stress oxydatif induisant un découplage du transport d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire membranaire. Les biomarqueurs suivis ici

démontrent une faible sensibilité à l'égard de la mésotrione, mais soulignent l'importance de considérer les caractéristiques intrinsèques (métabolismes et niveau de diversité) et des échelles d'observation différentes des communautés microbiennes complexes.

**Mots-clés:** Herbicide, mésotrione, communautés microbiennes, stimulation, adaptation, sensibilités.

## Bio-surveillance *in situ* de la qualité des eaux douces : approche multi-échelle chez *Gammarus fossarum*.

**GEFFARD O.<sup>1\*</sup>, CHAUMOT A.<sup>1</sup>, XUEREB B.<sup>1</sup>, LACAZE E.<sup>1</sup>, GEFFARD A.<sup>2</sup>, QUÉAU H.<sup>1</sup>, MONS R.<sup>1</sup>,  
NOURY P.<sup>1</sup>, BONY S.<sup>4</sup>, DEVAUX A.<sup>4</sup>, GARRIC J.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Cemagref, MALY, Laboratoire d'écotoxicologie, Lyon, France.

<sup>2</sup> EA 2069 URVVC-SE, Laboratoire d'Eco-Toxicologie, UFR Sciences, Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France.

<sup>4</sup> Université de Lyon, INRAENTPE, LSE, rue Maurice Audin, 69518 Vaulx-en-velin Cedex, France.

\* olivier.geffard@cemagref.fr

Un des enjeux forts pour l'écotoxicologie est de développer des outils de diagnostic de la qualité biologique des hydro-systèmes et plus particulièrement d'obtenir des éléments d'information sur 1 – comment les polluants impactent les organismes (mode d'action) et 2 – quel est cet impact à un niveau d'organisation biologique pertinent pour le milieu, la population. Cependant et ceci aussi bien en laboratoire que dans le milieu, le niveau population n'est pas facilement utilisable pour établir des liens directs entre les niveaux de contamination et les effets toxiques. Pour ceci, une des approches pertinentes est l'utilisation et l'intégration des réponses individuelles (survie, croissance, développement et reproduction) via des modèles de dynamique de population (voir poster Chaumot et al.). Cependant, cette approche implique la disponibilité de méthodologies fiables et robustes pour la réalisation de tests *in situ*. De plus, la mesure dans le milieu et l'interprétation des variables biologiques d'intérêt (marqueurs sub-individuels et individuels) se confrontent à l'absence de référence et/ou de contrôle, les contraignant, la plupart du temps, à être utilisées pour comparer la toxicité de stations situées à l'amont ou l'aval de rejets ponctuels. La description et la compréhension de la variabilité naturelle des biomarqueurs et traits de vie (sous des conditions de test *in situ* pré-définies) est aujourd'hui indispensable pour garantir une grande fiabilité, robustesse et pertinence de ces approches de terrain.

C'est dans ce contexte que nous développons depuis quelques années une approche multi-échelle chez *Gammarus fossarum*, espèce ubiquiste et jouant un rôle clef dans le fonctionnement des écosystèmes. Nos travaux se sont focalisés sur la mise au point, la validation, l'étude de la variabilité naturelle et la définition de valeurs de référence pour la mesure de biomarqueurs (acétylcholinestérase, vitellogénine et intégrité de l'ADN) et traits de vie (survie, taux d'alimentation, croissance et reproduction), respectivement en lien avec la fitness des organismes et leur dynamique de population. L'objectif de ce poster est de faire le point sur notre démarche et les outils développés et de présenter deux cas d'étude où cette approche multi-échelle a été mise en place pour évaluer l'impact de rejets de station d'épuration et minier sur la qualité biologique du milieu récepteur.

# Développement d'un biotest in situ : utilisation du gastéropode *Potamopyrgus antipodarum* pour le suivi de la qualité des eaux de rivière

**GUST M., BURONFOSSE T., MONS R., H. QUEAU, GEFARD O., GARRIC J.**

[marion.gust@cemagref.fr](mailto:marion.gust@cemagref.fr), [jeanne.garric@cemagref.fr](mailto:jeanne.garric@cemagref.fr)

Cemagref, UR MALY, Laboratoire d'écotoxicologie, 3bis quai Chauveau CP 220 69336 Lyon cedex 09, France

Le mollusque gastéropode (escargot de vase) *P. antipodarum* (Molluska, Hydrobiidae, Smith 1889) est une espèce parthénogénétique (dans les populations européennes), maintenant souvent utilisée pour évaluer l'effet de composés reprotoxiques (Matthiessen 2008) en laboratoire, plus rarement pour l'évaluation de l'impact de pollutions, lors d'expositions de terrain.

Cette espèce, fait partie de la batterie d'espèces (crustacés, insectes, mollusque) utilisée pour l'étude des effets toxiques de substances (perturbateurs endocriniens, médicaments) dans notre laboratoire, et plus récemment pour caractériser les impacts chimiques sur le terrain.

Pour mettre en œuvre cette batterie in situ, et notamment sur ce gastéropode, nous avons développé un système d'encagement, permettant d'exposer nos organismes dans des milieux aquatiques de caractéristiques diverses (débit, température, conductivité...) soumis à des pollutions variées : rejets d'effluent de stations d'épuration, contamination par des pesticides, métaux lourds.

Nous présentons ici les résultats de trois expositions in situ réalisées sur un gradient amont-aval de rejets de nature diverses (rejet de station d'épuration, de site industriel, pollution agricole)

Des adultes et des juvéniles de *P. antipodarum* sélectionnés (origine, taille) ont été exposés simultanément pendant trois à quatre semaines suivant le site. L'encagement des organismes permet de mesurer au cours du temps l'effet des pollutions étudiées sur différents traits de vie, tels que la survie, la croissance des juvéniles, la reproduction des adultes (nombre d'embryons dans la poche embryonnaire). Les variables sélectionnées sont ensuite interprétables en terme de dynamique de populations, pour laquelle une modélisation appropriée est en cours d'élaboration. En compléments, des biomarqueurs sont également mesurés.

Bien que les paramètres physico-chimiques et hydrologiques aient été très différents suivant les rivières, aucune mortalité des adultes n'a été observée. Par contre, les expositions d'organismes encagés ont permis de mesurer des variations significatives de la reproduction, de la croissance et des niveaux de stéroïdes en aval des milieux étudiés, comparativement aux sites amont. A partir de nos résultats, la validité de la méthode d'exposition pour évaluer les effets de pollutions *in situ* est discutée.

## Les microcystines : inhibiteurs potentiels de phosphatases extracellulaires du phytoplancton?

**SELMA MALOUFI<sup>1</sup>, CLAUDE YÉPRÉMIAN<sup>1</sup> & ARNAUD CATHERINE<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>FRE3206 MNHN-CNRS, Cyanobactéries, Cyanotoxines et Environnement, Muséum National d'Histoire Naturelle, Case 39, 12 rue Buffon, F-75231 Paris, France.

Les cyanobactéries toxiques sont présentes dans une diversité de systèmes aquatiques et induisent des effets toxiques chez de nombreux organismes vivants. Ces dernières années beaucoup d'études se sont focalisées sur l'identification du rôle écologique de microcystines (cyanotoxines) sans pour autant produire un consensus sur leur fonction au sein des écosystèmes.

Les microcystines sont des inhibiteurs puissants de protéines-phosphatases de type sérine-thréonine, enzymes impliquées dans une diversité de voies de communication cellulaire et retrouvées chez l'essentiel des organismes vivants. En lien avec le rôle majeur du P comme facteur limitant la production primaire des milieux aquatiques, de nombreux organismes phytoplanctoniques produisent des phosphatases alcalines extracellulaires capables de libérer du P à partir de substrats organiques variés. La spécificité du mode d'action des microcystines, associé au fait que le site catalytique de nombreuses phosphatases semble avoir été fortement conservé au cours de l'évolution, nous a conduit à tester le rôle potentiel de ces toxines comme inhibiteurs de phosphatases extracellulaires du phytoplancton.

Cette étude préliminaire a eu pour but de développer les outils nécessaires pour tester cette hypothèse. Nous avons tout d'abord sélectionné un organisme modèle, *Pediastrum boryanum* PMC-ALCP n°56a, à l'aide d'un marqueur fluorescent (ELF97-P) des phosphatases extracellulaires. Nous avons ensuite étudié l'expression de l'activité phosphatase (APase) de cet organisme en conditions carencées ou non de P et montré que l'absence de P dans le milieu induit une forte expression d'APase (x 8 en moyenne par rapport aux cultures non carencées). A partir des cultures carencées, le potentiel inhibiteur des microcystines sur les phosphatases a été testé.



# Facteurs de contrôle des variations temporelles de biomasse et de production de microcystines d'une efflorescence de *Planktothrix agardhii* (cyanobactérie)

**ARNAUD CATHERINE<sup>1</sup>, ENORA BRIAND<sup>1,2</sup>, CLAUDE YÉPRÉMIAN<sup>1</sup>, ALEXIS GROLEAU<sup>3</sup>, BRIGITTE VINÇON-LEITE<sup>4</sup>, CATHERINE QUIBLIER<sup>1,5</sup>, MARC TROUSSELLIER<sup>6</sup> & CÉCILE BERNARD<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>FRE3206 MNHN-CNRS, Cyanobactéries, Cyanotoxines et Environnement, Muséum National d'Histoire Naturelle, Case 39, 12 rue Buffon, F-75231 Paris, France.

<sup>2</sup>SCE, Département Eau, Pôle Fleuves, Rivières et Milieux Humides, Route de Gachet, F-44307 Nantes, France.

<sup>3</sup>UMR-CNRS 7154 IPGP, 4 Place Jussieu, F-75252 Paris Cedex 05, France.

<sup>4</sup>Centre d'Enseignement et de Recherche sur l'Eau, la Ville et l'Environnement (CEREVE), Ecole Nationale des Ponts et Chaussées, F-77455 Marne-la-Vallée Cedex 02, France. <sup>5</sup>Université Paris 7, 4 Place Jussieu, F-75252 Paris Cedex 05, France.

<sup>6</sup>UMR-CNRS 5119 Laboratoire Écosystèmes Lagunaires, Université Montpellier II, Place Eugène Bataillon, F-34095 Montpellier Cedex 05, France.

Lors d'une étude préliminaire d'un an (2001-2002) de la dynamique d'une efflorescence pérenne à *Planktothrix agardhii* dans un lac eutrophe peu profond (Viry-Châtillon, France), il a été observé une relation inconsistante entre les biomasses mesurées de *P. agardhii* et les concentrations en MCs (microcystines) mesurées *in situ* (Yéprémian *et al.* 2007). Nous avons alors pu mettre en évidence que des clones potentiellement toxiques (*i.e.* possédant les gènes de production des MCs) et des clones non toxiques coexistaient au sein de la population de *P. agardhii*. Parmi les clones toxiques une grande diversité de chémotypes (*i.e.* produisant des variants de MCs différents) a pu être isolée. Enfin, nous avons noté qu'il existait des différences majeures au sein des clones toxiques quant à leur contenu cellulaires global en MCs (de 0.02 à 1.86 mg equiv. MC-LR mgDW<sup>-1</sup>, n = 25).

Pour compléter les connaissances acquises relatives au déterminisme des évolutions de biomasse de *P. agardhii* et de la production de MCs, les biomasses de *P. agardhii*, la proportion de génotypes producteurs de MCs, les concentrations en MCs ainsi que les variables limnologiques principales (n = 24) ont été mesurées toutes les deux semaines sur une période de deux ans (2004-2006). Les biomasses de *P. agardhii* présentaient une tendance décroissante significative lors de ce suivi. Un modèle de type « Path Analysis » a été construit afin de déterminer les principaux facteurs de contrôle de la dynamique de l'efflorescence. L'analyse a permis de montrer que le collapse de l'efflorescence était relié de manière significative à la réduction des concentration en PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, faisant suite à la mise en place d'une filière de traitement des intrants (Catherine *et al.*, 2008).

Les analyses par PCR quantitative en temps réelle (Real-time qPCR) ont permis de montrer que la proportion des génotypes possédant le gène *mcyA* variait de manière considérable au cours du temps (de 30 à 80 %). Les variations observées apparaissent comme étant corrélées à l'évolution des densités cellulaires de *P. agardhii* (Briand *et al.*, 2008).

Yéprémian *et al.* (2007) *Water research* 41:4446-4456.

Catherine *et al.* (2008) *FEMS Microbiol. Ecol.* 65: 61-73.

Briand *et al.* (2008) *Applied Environmental Microbiology.* 10: 3337-3348.

# Impact de l'occupation du sol, de l'apport d'amendements ou de contaminants sur les activités enzymatiques du sol

**Cheviron Nathalie, Brault Agathe, Touton Isabelle, Mougin Christian**

UR 251 PESSAC, INRA, Versailles, France

[ncheviron@versailles.inra.fr](mailto:ncheviron@versailles.inra.fr)

Depuis de nombreuses années, l'impact des pratiques anthropiques sur les processus microbiens ayant cours au niveau du sol est souvent déterminé par la mesure d'activités enzymatiques globales. Les enzymes considérées proviennent à la fois de la sécrétion exocellulaire et de la libération intracellulaire survenant lors de la lyse des cellules. Elles sont impliquées dans les processus globaux de respiration, dans les cycles biogéochimiques (C,N,P,S), et peuvent être modulées par de nombreux facteurs (occupation de sol, présence de contaminants chimiques...). De fait, elles constituent des indicateurs reconnus de la biodiversité fonctionnelle du sol (Nannipieri et al., 2003 ; Caldwell, 2005).

L'objectif de cette étude est d'évaluer la réponse des activités Déshydrogénase,  $\beta$ -Galactosidase, Arylsulfatase et Uréase dans différents contextes d'occupation des sols, d'apport d'amendements ou de contaminants chimiques, notamment afin de préciser leurs limites d'utilisation.

Des sols très contrastés en texture, localisation et couverture ont été sélectionnés et prélevés dans les différents sites du programme « Bioindicateurs » de l'ADEME, et les quatre activités enzymatiques mesurées dans les 48 h. Les résultats ne montrent aucun effet significatif de l'apport d'amendement sur des sols de culture quelque soit l'activité considérée. En revanche, cette étude révèle un effet d'occupation du sol très significatif sur les quatre enzymes, avec des niveaux d'activités supérieurs en forêt par rapport aux cultures. L'effet polluant est également significatif pour les quatre activités, avec une diminution des activités arylsulfatase et  $\beta$ -Galactosidase (qui dépend des polluants et de leurs concentrations), et une augmentation des activités Uréase et Déshydrogénase.

Ces résultats mettent en évidence des effets différents des pressions anthropiques considérées sur les activités enzymatiques, et suggèrent la possibilité d'utiliser des profils d'activités comme indicateurs de fonctionnement du sol.

Mots clés: Microflore, Champignons, Activités Enzymatiques, Biodiversité fonctionnelle, Contaminants





**Avec le soutien de**

