

SURVEILLANCE DE LA POLLUTION PAR L'UTILISATION DE BIOMARQUEURS BIOCHIMIQUES CHEZ LA MOULE EN MÉDITERRANÉE NORD-OCCIDENTALE

M. Roméo, M. Gnassia-Barelli*, M. Porrachia et Jean-Pierre Girard

GDR CNRS 1117 Ecotoxicologie et chimie marines, UMR INRA-UNSA 1112, Faculté des Sciences, Nice, France - romeo@unice.fr

Abstract

The water quality of the bays of Cannes and Nice was studied. For this purpose, biochemical biomarkers were measured in cultured mussels translocated in cages at different sites during spring and autumn. Results allowed classifying the stations as a function of their relative degree of pollution. Stations neighbouring the harbor of Nice and Cannes were characterized by high metal concentrations and high levels of biomarkers indicating an exposure to pollutants, whereas in the mussels placed in the Paillon estuary, the presence of pesticides was hypothesized. The mussels from the Lérins Island can be considered as essentially devoid of contamination.

Key words : Mollusca, Pollution, metals, enzymes

Introduction

Le concept de biosurveillance (biomonitoring), qui repose sur l'étude de la réponse biologique des êtres vivants aux polluants est fondé sur une batterie de tests toxicologiques et écologiques. Le principe de cette méthode est l'utilisation d'indicateurs biologiques de pollution, communément appelés biomarqueurs, qui révèlent l'exposition d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (1). Certaines molécules biologiques ont la particularité de réagir à la présence de toxiques dans le milieu; l'amplitude de la réponse étant souvent proportionnelle à la quantité de xénobiotiques présents. Les marqueurs biologiques constituent des indicateurs spécifiques et mesurables qui répondent de façon précoce et sensible à un dysfonctionnement et leur utilisation rend compte de la biodisponibilité des polluants et des effets qu'ils engendrent sur les organismes et les populations (2). A l'heure actuelle une approche multiparamétrique c'est-à-dire comportant la mesure de différents biomarqueurs, est utilisée. Les biomarqueurs les plus utilisés sont les enzymes dépendant du cytochrome P 450, induites par les hydrocarbures aromatiques polycycliques et qui assurent la phase I de détoxification de ces molécules, les enzymes de phase II, comme la glutathion S-transférase, qui prennent en charge les métabolites de phase I afin d'en faciliter l'excrétion et qui sont induites par des organochlorés. Les pesticides organophosphorés et carbamates inhibent l'enzyme acétylcholinestérase dont l'activité peut être considérée comme un biomarqueur de ces polluants. Les métaux lourds sont piégés dans les organismes sous forme d'une protéine de faible poids moléculaire, riche en soufre, appelée la métallothionéine. Le taux de métallothionéine peut être considéré dans certains cas comme biomarqueur d'exposition aux métaux. Des biomarqueurs moins spécifiques indiquent l'état physiologique d'un animal, tels que le taux de peroxydation lipidique exprimé par la concentration de malonedialdéhyde, ou l'activité antioxydante catalase. Dans une étude de biosurveillance de la qualité des eaux des baies de Nice et de Cannes, nous avons placé en mer pendant trois semaines, en octobre 1999, juin et octobre 2000, des cages contenant des moules provenant de l'aquaculture, ces animaux constituant une population génétiquement homogène et ayant donc des réponses moins variables. Les biomarqueurs activités enzymatiques glutathion S-transférase (GST), catalase (CAT), acétylcholinestérase (AChE) et taux de métallothionéines (MT) et de malonedialdéhyde (MDA) ont été mesurés sur les moules mises en cage ainsi que les concentrations en métaux cadmium, cuivre et zinc mais aussi en fer et manganèse (ces deux métaux étant traceurs de sédiments).

Matériels et méthodes

Les stations de mouillage des cages se situent au port de Nice et ses environs immédiats et dans l'estuaire du Paillon. Pour ce qui est de la baie de Cannes, les moules ont été placées dans le port de Cannes et au nord de l'île de Lérins Sainte-Marguerite. Le dosage de la GST s'effectue selon la méthode décrite dans Habig et coll. (3), celui de la catalase d'après Greenwald (4). La peroxydation lipidique est estimée par la formation de substances réactives à l'acide thiobarbiturique et quantifiée en taux de MaloneDiAldéhyde (MDA)(5). La détermination de l'acétylcholinestérase est réalisée avec le réactif d'Ellman (6) suivant les modifications de Galgani et Bocquené (7). Les métallothionéines ont été analysées par la méthode décrite dans Viarengo et coll. (8) et les métaux par spectrophotométrie d'absorption atomique.

Résultats et Discussion

Les résultats analysés statistiquement montrent que l'on peut clairement distinguer 3 stations ou groupes de stations : celles de la zone portuaire (stations 4, 5, 6, port de Nice et de Cannes) caractérisées par des activités GST et catalase élevées, un taux de MDA fort et une activité AChE modérée, une concentration en métaux plus élevée (notamment la concentration en cuivre dans le port de Cannes de 4 à 5 fois plus forte qu'aux autres stations) et un taux de métallothionéines relativement fort (particulièrement au port de Nice et à la station 5); cette zone serait donc soumise à l'exposition aux hydrocarbures aromatiques ou aux organochlorés et aux métaux lourds, celle de l'estuaire du Paillon (station 2) présentant une activité AChE faible qui tendrait à montrer chez les mollusques une exposition à des pesticides organophosphorés ou carbamates ou à des métaux, les moules en cage devant l'estuaire présentant des concentrations élevées en fer et manganèse; enfin une zone peu influencée par les pollutions : celle de l'île de Lérins. En effet, à cette station les moules ont des activités GST, catalase faibles, un taux de peroxydation lipidique faible et une activité acétylcholinestérase élevée. Cependant les taux en cadmium des moules placées devant celle île sont significativement (tests de Fisher) supérieures à ceux des stations proches du port de Nice (Stations 4, 5 et 6) en revanche les taux en fer sont significativement inférieurs. Ce qui suggérerait donc une compétition entre les deux métaux et pourrait éventuellement expliquer que les moules de la station de référence aient des teneurs légèrement plus fortes en cadmium, mais très éloignées de ce qui est trouvé en zone polluée. En conclusion, le «caging» permet, non seulement, d'établir un gradient de pollution, d'étudier l'impact d'un rejet précis et d'évaluer les différences de qualité du milieu avec une précision de l'ordre d'une centaine de mètres, mais aussi, d'un point de vue statistique d'amoinrir les différences possibles liées au polymorphisme génétique par l'emploi d'animaux d'aquaculture.

Références

- Lagadic L., Caquet Th. and Amiard J.C., 1997. Biomarqueurs en écotoxicologie: Principes et définitions. In: Lagadic L., Caquet Th., Amiard J.C. and Ramade F. (eds), Biomarqueurs en écotoxicologie: Aspects fondamentaux. Masson, Paris, pp.1-9.
- Cossu C., Doyotte A., Jacquin M.C., Babut M., Exinger A. and Vasseur P., 1997. Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 38: 122-131.
- Habig W.H., Pabst M.J. and Jakobi W.B., 1974. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249: 7130-7139.
- Greenwald R.A., 1985. Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. CRC Press, Boca Raton, FL, 464 pp.
- Livingstone D.R., Garcia Martinez P., Michel X., Narbonne J. F., O'Hara S., Ribera D. and Winston G. W., 1990. Oxyradical production as a pollution-mediated mechanism of toxicity in the common mussel, *Mytilus edulis* L., and other molluscs. *Funct. Ecol.*, 4: 415-424.
- Ellman G.L., Courtney K.D., Andreas V. and Featherstone R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7: 88-95.
- Galgani F. and Bocquené G., 1991. Semi-automated colorimetric and enzymatic assays for aquatic organisms using micro-plate readers. *Wat. Res.*, 25: 147-150.
- Viarengo A., Ponzano E., Dondero F. and Fabbri R., 1997. A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms : an application in Mediterranean and Antarctic molluscs. *Mar. Environ. Res.*, 44 : 69-84.

Le tableau ci-dessous donne les résultats obtenus pour l'expérience de mise en cage de moules d'octobre 1999.

	Estuaire Paillon	Station 4	Station 5	Station 6	Port de Nice	Port de Cannes	Île de Lérins
		Stations proches du port de Nice					
Cd (ng/g)	798 + 32	533 + 66	656 + 158	743 + 97	802 + 87	837 + 108	1100 + 147
Cu (µg/g)	5,1 + 0,7	5,0 + 0,7	5,2 + 1,0	4,9 + 0,5	7,3 + 0,9	27,5 + 3,3	5,4 + 1,1
Zn (µg/g)	128 + 9	169 + 36	264 + 55	155 + 19	264 + 29	243 + 55	174 + 33
Fe (µg/g)	301 + 94	143 + 20	134 + 21	122 + 17	228 + 29	129 + 20	74 + 4
Mn (µg/g)	13,9 + 4,1	7,8 + 0,5	6,8 + 0,7	8,4 + 1,3	6,6 + 0,7	4,5 + 0,9	7,5 + 1,2
MT (µg/g)	172 + 7	204 + 13	243 + 2	187 + 2	230 + 4	205 + 4	182 + 2
GST nmol/min/mg prot.	98,0 + 7,1	130,9+12,9	98,1 + 7,4	145,0+17,9	131,2+13,7	135,6+11,3	88,6 +12,5
CAT µmol/min/mg prot.	25,8 + 3,5	34,7 + 4,3	23,2 + 2,7	31,0 + 3,8	49,4 + 7,5	23,9 + 2,1	11,9 + 3,2
MDA nmol/mg prot.	3,7 + 0,5	5,0 + 1,3	3,6 + 1,0	5,2 + 0,6	7,3 + 1,4	1,7 + 0,3	0,9 + 0,1
AChE nmol/min/mg prot.	5,6 + 0,5	9,1 + 0,5	6,7 + 0,5	7,6 + 0,9	8,5 + 1,2	7,1 + 0,7	13,1 + 0,7