

# Comment établir les liens entre exposition et effets biologiques en milieu contaminé ?

Stéphane Pesce

Cemagref

UR « Milieux Aquatiques, Écologie et Pollutions » - LYON

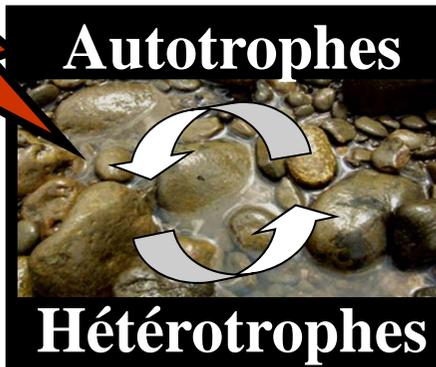


Sciences et technologies  
pour l'environnement

# Les biofilms microbiens: bioindicateurs potentiels...

## Toxiques

Pesticides organiques et inorganiques



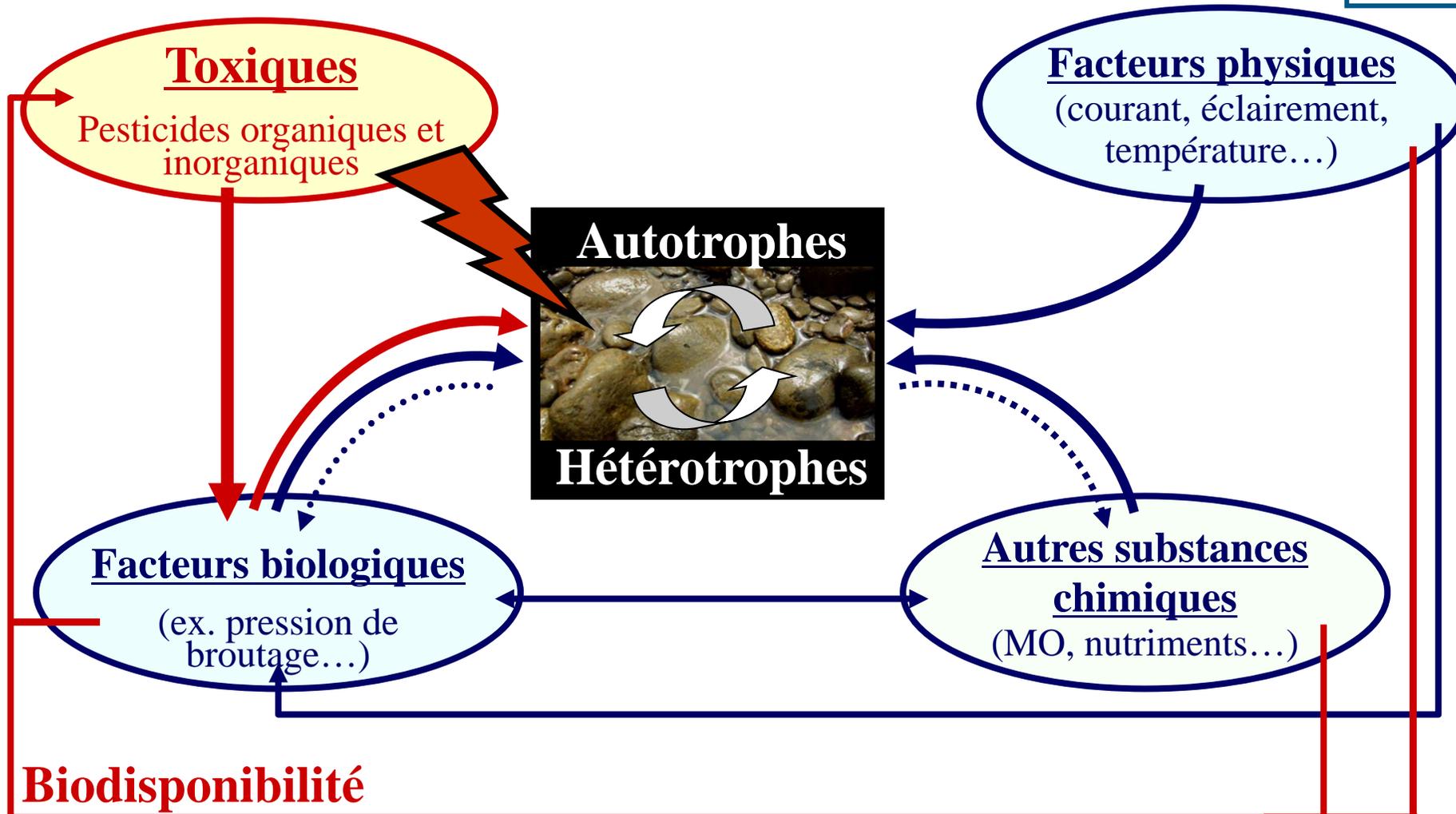
## Biofilms = Rôle Sentinelle \*

- ✓ Réponse rapide
- ✓ Réponse intégrative
- ✓ Fort pouvoir adaptatif

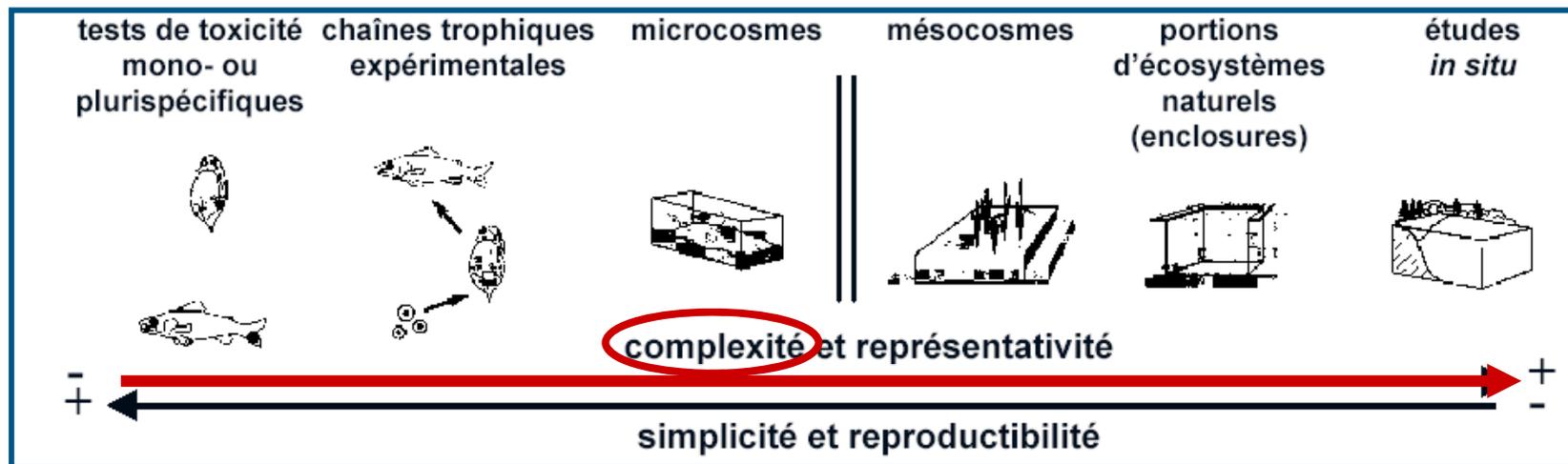
Bioindicateurs Potentiels

\* Sabater et al. 2007 *Anal. Bioanal. Chem.*

# Enfin...ce n'est pas tout à fait aussi simple... !



# Des études *in situ* encore rares...

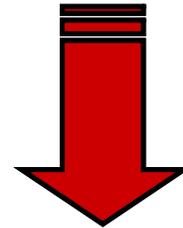
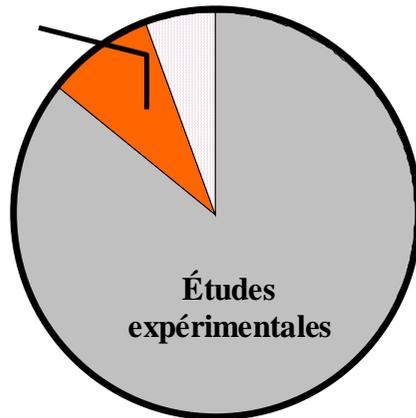


D'après Caquet et al., 1996 *Environ. Ecotox. Safety*

# Des études *in situ* encore rares...

Évaluation des effets de **pesticides organiques sur les communautés microbiennes dulcicoles**:  
Un déficit d'études réalisées en milieu naturel (20/141; 1995-2010)

Études en milieu naturel dont  
**Biofilms de Rivière**  
(12)



Privilégier les études *in situ* en renforçant les approches pluri-disciplinaires

D'après Pesce et al., 2011 *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*

## « Plus d'Écologie en Écotoxicologie »

Chapman 2002. **Integrating toxicology and ecology**: putting the « eco » into ecotoxicology. *Mar. Pollut. Bull.* **44**: 7-15  
Filsler 2008. **Ecotoxicology and ecosystems**: relevance, restrictions, research needs. *Basic Appl. Ecol.* **9**: 333-336  
Relyea & Hoverman 2006. **Assessing the ecology in ecotoxicology**: a review and synthesis in freshwater systems. *Ecol. Lett.* **9**: 1157-1171  
Schmitt-Jansen et al. 2008. **An ecological perspective in aquatic ecotoxicology**: approaches and challenges. *Basic Appl. Ecol.* **9**: 337-345

4ème Séminaire d'Ecotoxicologie  
de l'INRA (7-9 novembre 2011)



 Cemagref  
Sciences et technologies  
pour l'environnement

# Le site atelier de la Morcille (Haut-Beaujolais)

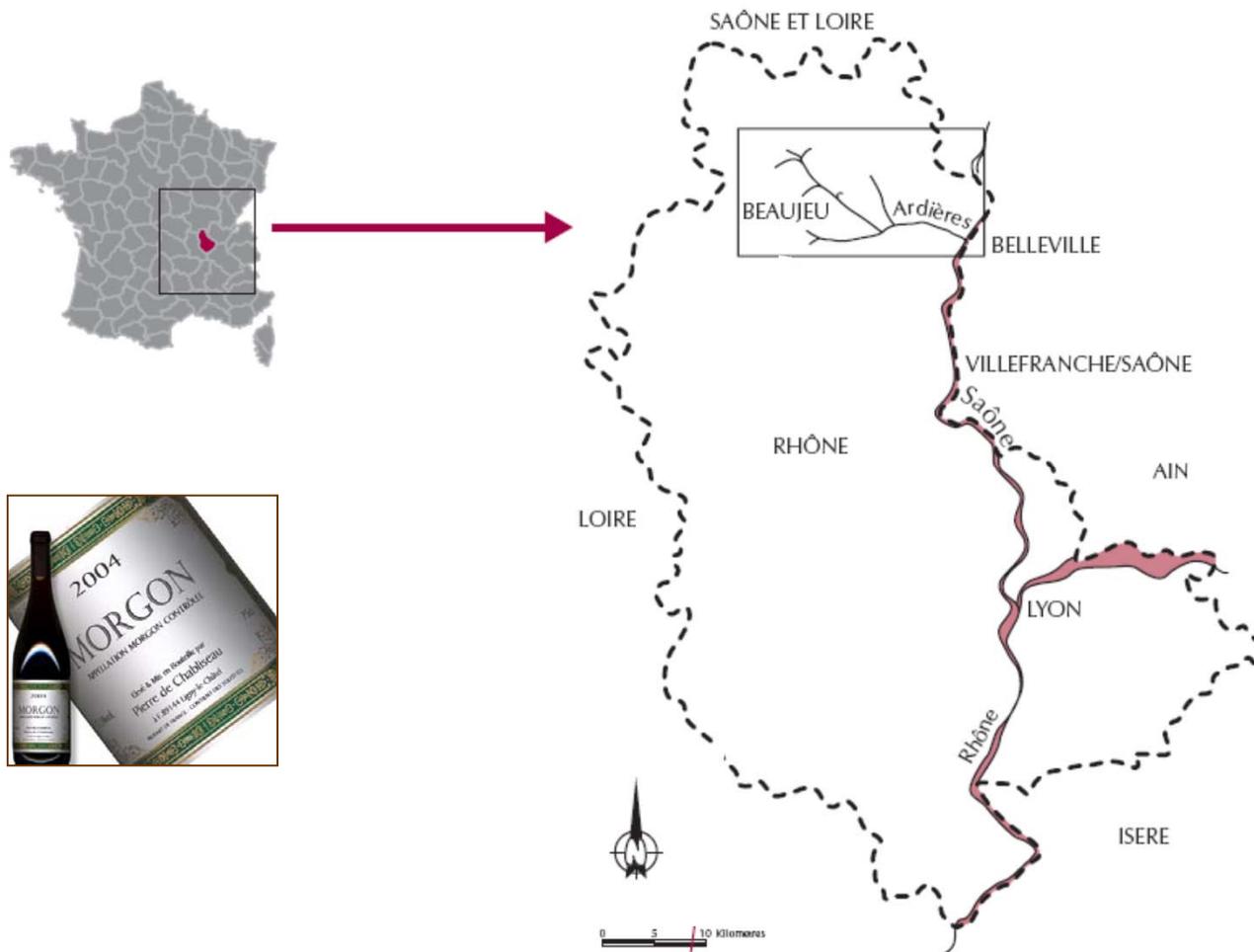


4ème Séminaire d'Ecotoxicologie  
de l'INRA (7-9 novembre 2011)

penser développer  
ensemble solutions  
30 ans  
naturellement  
maîtriser Chercher  
éclairer valoriser innover

 Cemagref  
Sciences et technologies  
pour l'environnement

# Le site atelier de la Morcille (Haut-Beaujolais)

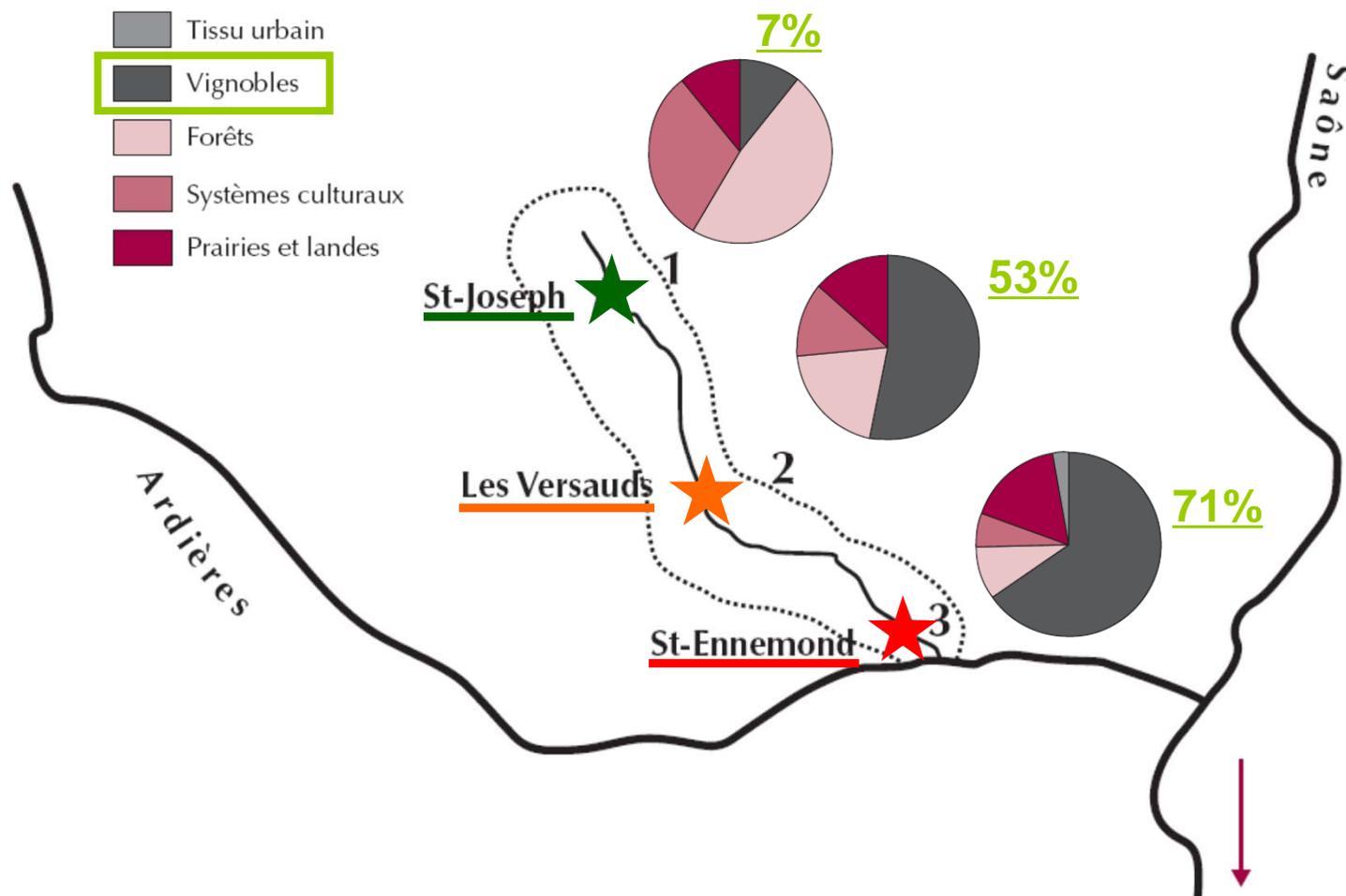


4ème Séminaire d'Ecotoxicologie  
de l'INRA (7-9 novembre 2011)

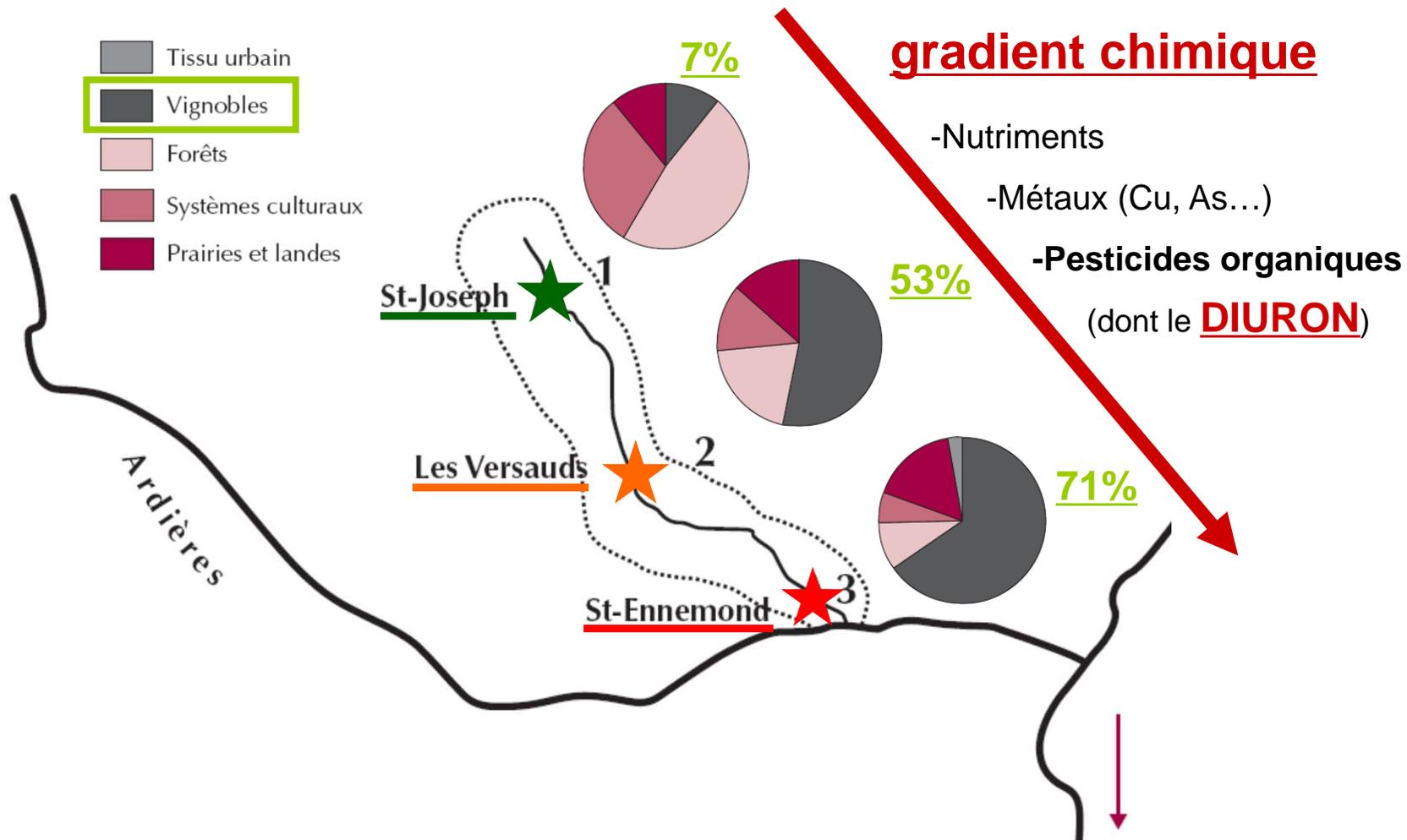
prendre  
ensemble  
naturellement  
éclairer  
développer  
solutions  
agir  
30 ans  
naturellement  
maîtriser  
chercher  
anticiper  
innover

Cemagref  
Sciences et technologies  
pour l'environnement

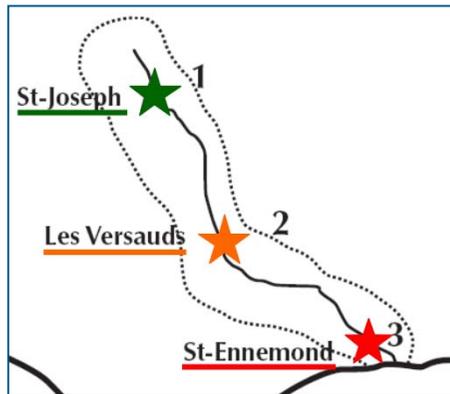
# Le site atelier de la Morcille (Haut-Beaujolais)



# Le site atelier de la Morcille (Haut-Beaujolais)



# Le site atelier de la Morcille (Haut-Beaujolais)



## ➤ Différenciation amont-aval :

- ◆ Modification de la structure, de la diversité et des fonctions des communautés microbiennes phototrophes et hétérotrophes de biofilms [1,2,3](#)

## Impact chimique ???

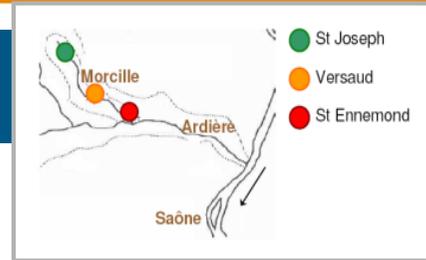
- ◆ Augmentation de la tolérance au cuivre et au diuron (**concept PICT**) [1,2,4-7](#)  
« Pollution Induced Community Tolerance »
- ◆ Augmentation des capacités de biodégradation du diuron [8,9](#)

## Adaptation suite à l'exposition chronique aux toxiques

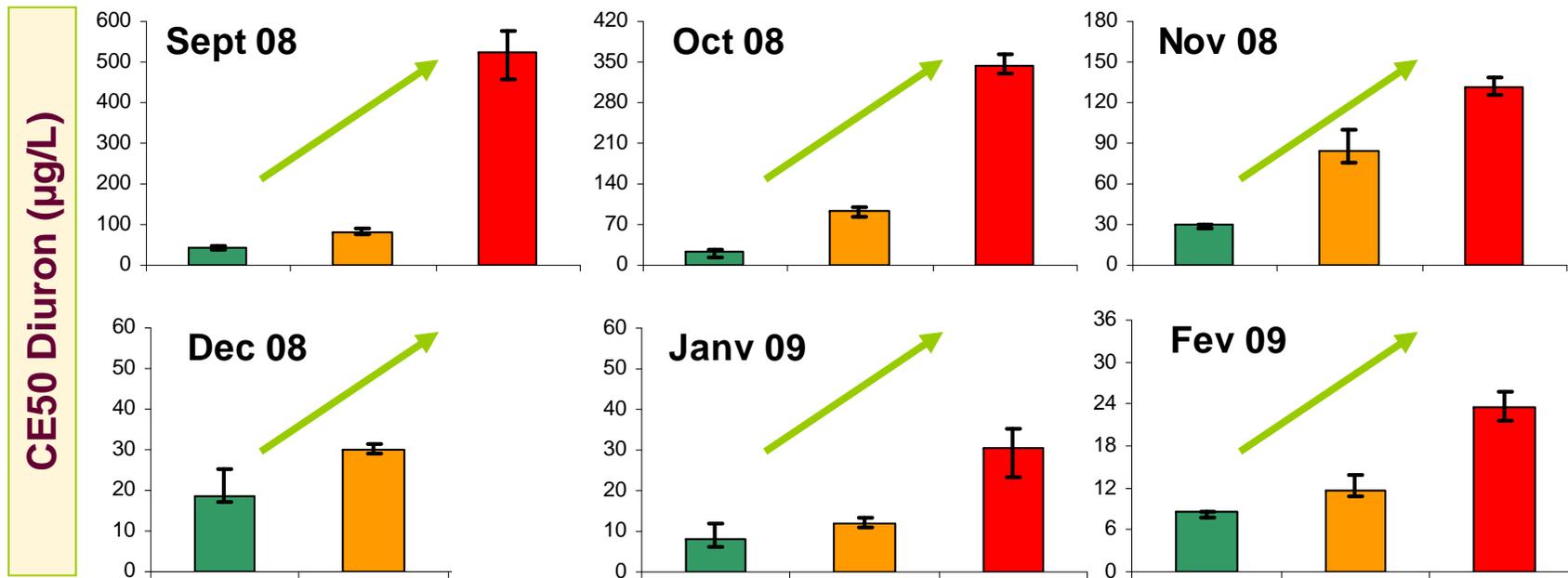
1. Dorigo et al. 2007 *Aquat. Microb. Ecol.* ; 2. Montuelle et al. 2010 *Hydrobiologia* ; 3. Morin et al. 2010 *Ecol. Indic.* ; 4. Pesce et al. 2010a *Water Res.* ; 5. Pesce et al. 2010b *Aquat. Toxicol.* ; 6. Dorigo et al. 2010a *Aquat. Toxicol.* ; 7. Dorigo et al. 2010b *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* ; 8. Pesce et al. 2009 *Pest. Manag. Sci.* ; 9. Pesce et al. 2010c *J. Soil. Sed.*



# Approche PICT



## Mesure et comparaison du niveau de tolérance au diuron (communautés phototrophes – tests de toxicité sur activité photosynthétique; CE<sub>50</sub> 4h)

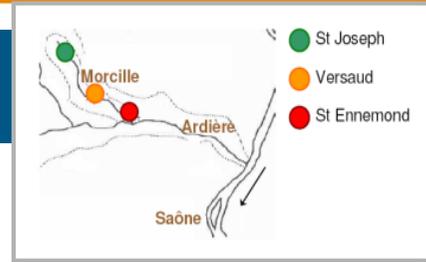


**Augmentation de la tolérance au diuron d'amont en aval**

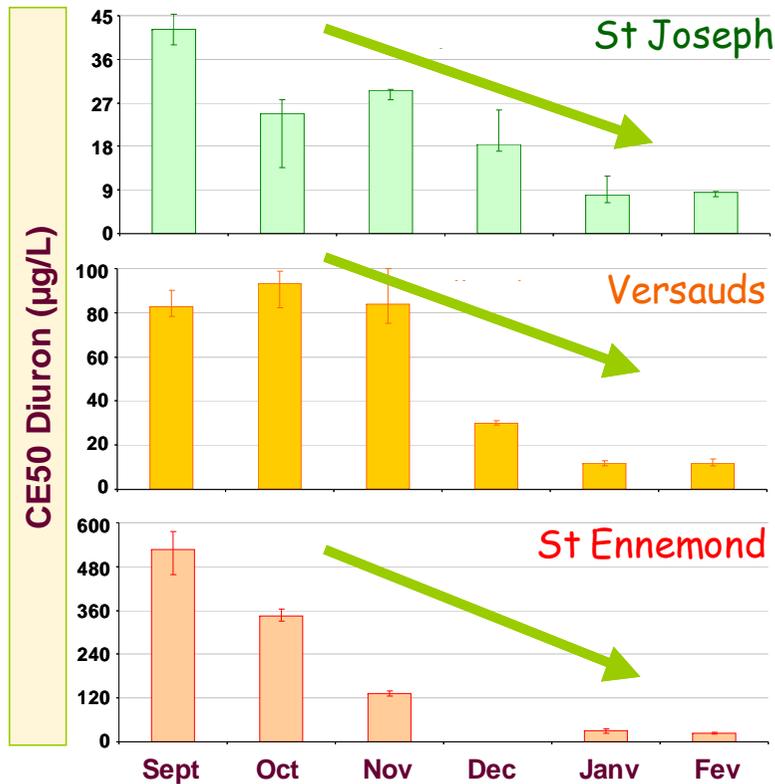
Pesce et al. 2010 *Water Res.*



# Approche PICT



## Mesure et comparaison du niveau de tolérance au diuron (communautés phototrophes – tests de toxicité sur activité photosynthétique; CE<sub>50</sub> 4h)

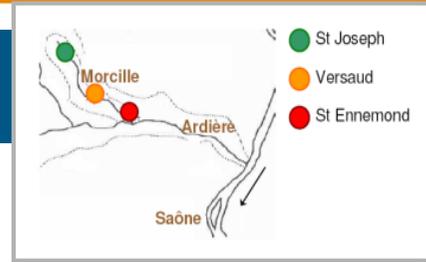


**Tendance  
saisonnière  
fortement  
marquée**

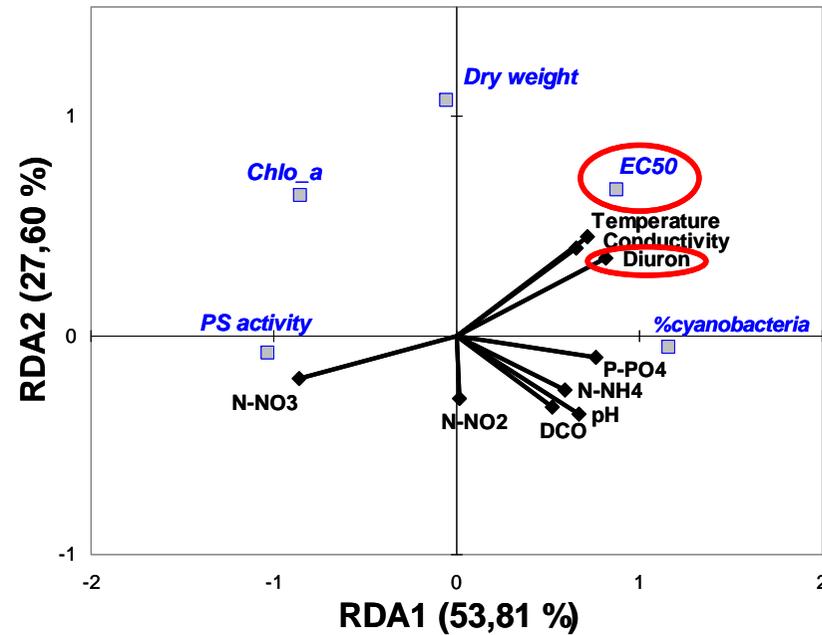
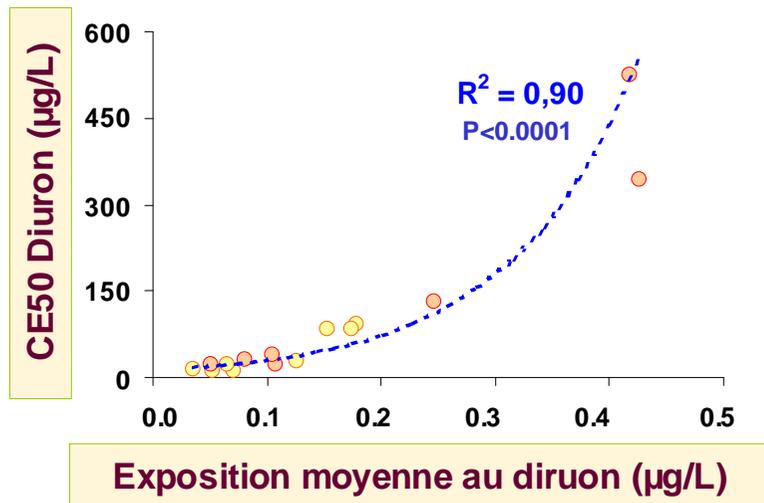
Pesce et al. 2010 *Water Res.*



# Approche PICT



## Mesure et comparaison du niveau de tolérance au diuron (communautés phototrophes – tests de toxicité sur activité photosynthétique; CE<sub>50</sub> 4h)



Pesce et al. 2010 *Water Res.*

# Approche PICT

**Forte corrélation entre le niveau d'exposition au diuron et le niveau de tolérance des communautés autotrophes**

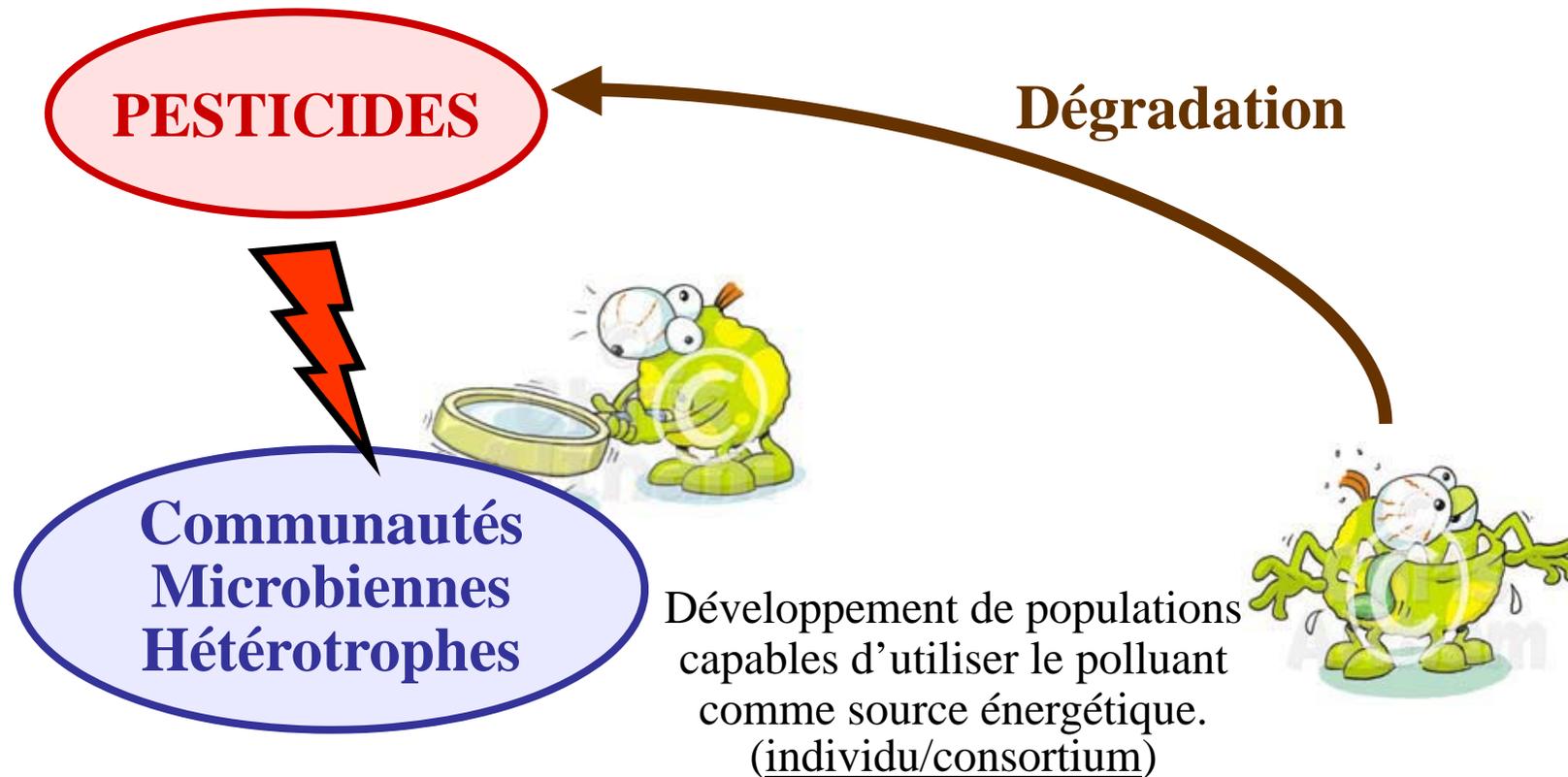
**→ Adaptation microbienne aux changements spatio-temporels**

**II → Potentiellement, outil intéressant mais ...**

**...qui présente des limites**

- ◆ molécule individuelle et choisie *a priori*
- ◆ applicable si mode d'action connu (et réponse biologique mesurable!)
- ◆ quelle valeur référence?
- ◆ des biais encore méconnus (ex. cotoxité, facteurs de confusion...)

# Étude du potentiel de biodégradation du diuron



# Étude du potentiel de biodégradation du diuron

Pest Management Science 2009, 65: 651-657

Research Article



Received: 22 September 2008    Revised: 29 November 2008    Accepted: 2 December 2008    Published online in Wiley InterScience: 24 March 2009

(www.interscience.wiley.com) DOI 10.1002/ps.1729

**Potential for microbial diuron mineralisation in a small wine-growing watershed: from treated plots to lotic receiver hydrosystem**

Stéphane Pesce,<sup>a\*</sup> Fabrice Martin-Laurent,<sup>b</sup> Nadine Rouard<sup>b</sup> and Bernard Montuelle<sup>a</sup>

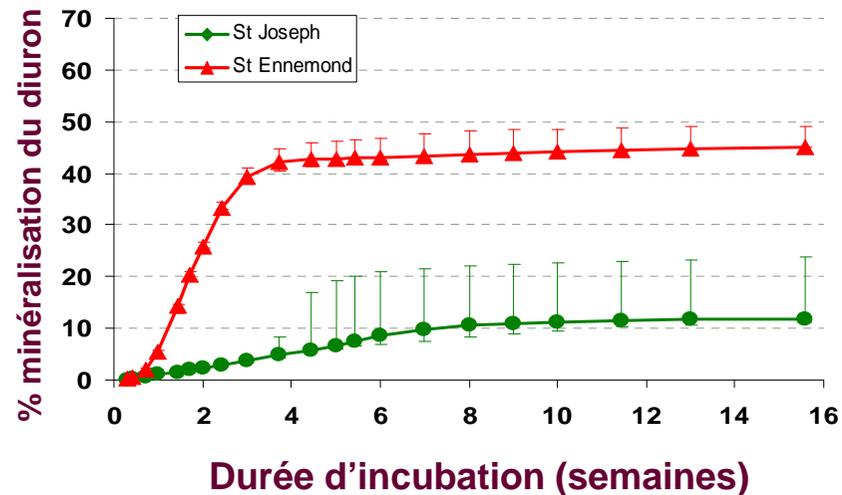
## Collaboration:



UMR MSE – DIJON  
(F. Martin-Laurent)

Sédiments AMONT (St Joseph)  
et AVAL (St Ennemond)

Juin 2007 ; <sup>14</sup>C-Diuron (10 µg/L)



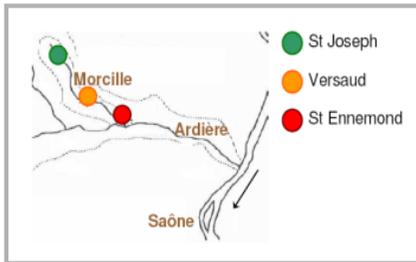
Stimulation du potentiel de biodégradation en aval :  
**adaptation suite à l'exposition au diuron**

4ème Séminaire d'Ecotoxicologie  
de l'INRA (7-9 novembre 2011)



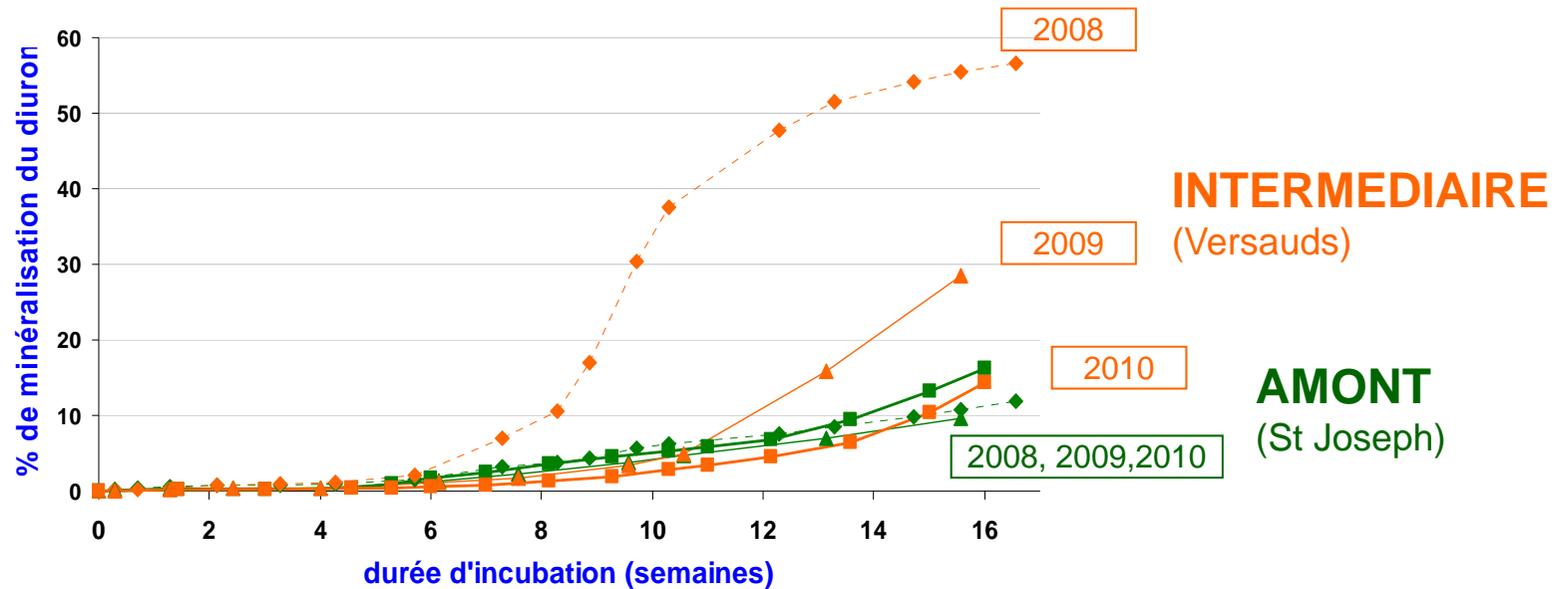
Cemagref  
Sciences et technologies  
pour l'environnement

# Étude du potentiel de biodégradation du diuron

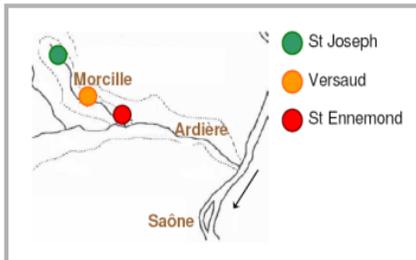


## Évolution temporelle:

Sédiments station amont (St Joseph) et intermédiaire (Versauds) Octobre 2008, 2009, 2010, 2011 (en cours)



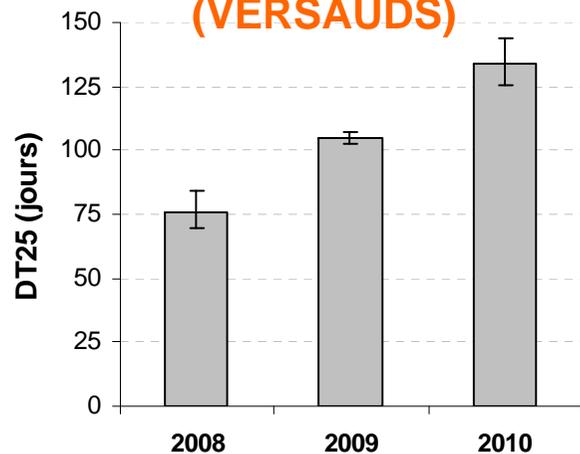
# Étude du potentiel de biodégradation du diuron



## Évolution temporelle:

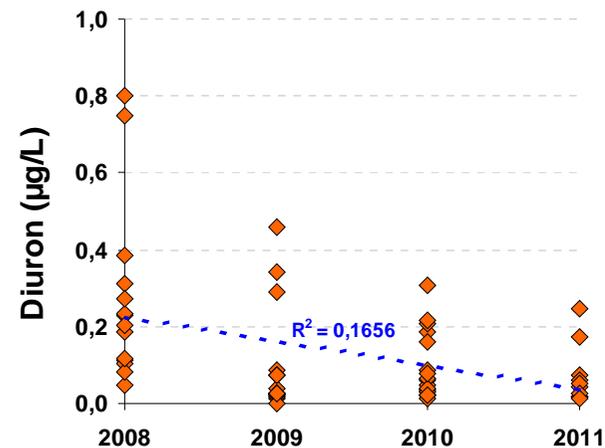
Sédiments station amont (St Joseph) et intermédiaire (Versauds) Octobre 2008, 2009, 2010, 2011 (en cours)

### Temps de dissipation (25%) durant les cinétiques de minéralisation (VERSAUDS)



Perte progressive des capacités de biodégradation

### Concentrations ponctuelles *in situ* (avril à octobre)



Diminution du niveau d'exposition (interdiction diuron en Déc. 2008)

# Étude du potentiel de biodégradation

## De nombreuses limites:

- ◆ choix *a priori* de la molécule
- ◆ lourdeur méthodologique (radioactivité, durée des cinétiques...)
- ◆ pas forcément applicable à toutes les molécules
- ◆◆◆

⇒ mais des perspectives intéressantes :

Processus adaptatifs (tolérance, biodégradation...)  
semblent refléter le niveau d'exposition dans le milieu

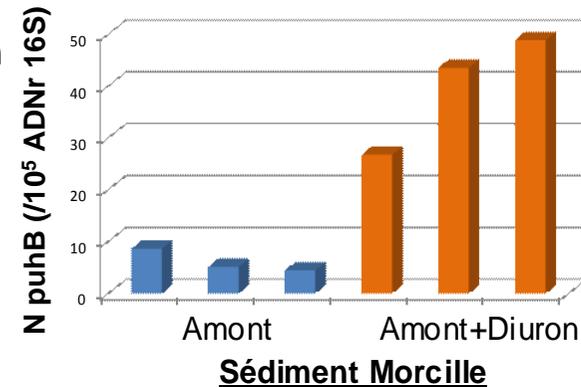
Possibilité de développer de nouveaux  
biomarqueurs ?

# Une piste...les approches moléculaires fonctionnelles

## Exemple: gènes codant pour des enzymes de dégradation

**Quantification :** Potentiel génétique de dégradation du diuron  
(quantification du gène *puhB* par qPCR)

**Collaboration avec INRA Dijon - MSE**



**Expression :** Potentiel génétique de dégradation de l'atrazine  
(expression du gène *AtzD* par RT-qPCR)

Monard, Martin-Laurent, Vandenkoornhuyse, Binet. 2010. *atz* gene expressions during atrazine degradation in the soil drilosphere. *Mol Écol* 19:749-759

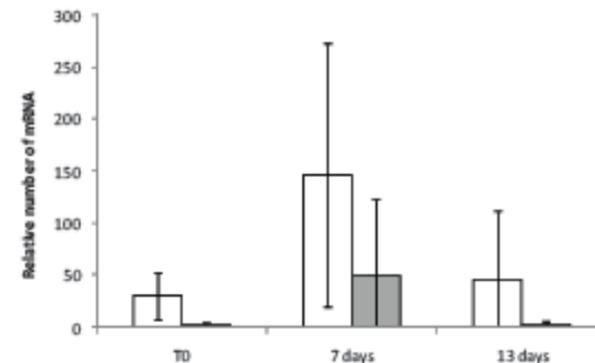


Fig. 2: Relative number of *atzD* mRNA per 10<sup>6</sup> 16S rRNA measured in bulk soil from Epoisses (white bars) and in Vezin (grey bars) soil microcosms before atrazine amendment (T<sub>0</sub>) and after 7 and 13 days of incubation.

# Une piste...les approches moléculaires fonctionnelles

## Exemple: gènes de résistance aux toxiques

Table 12.6 PCR primers for heavy metal resistance genes

Heavy Metal	Target genes	Notes
Arsenic	<i>arsA</i> , <i>arsB</i> , <i>arsC</i> <i>arsC</i>	Target <i>E. coli</i> R773 <i>ars</i> genes Target <i>arsC</i> from Enterobacteriaceae. Primers used in Q-PCR assay
Cadmium	<i>cadA</i>	Target Gram-positive <i>cadA</i> genes
Cobalt, zinc, cadmium	<i>czc</i>	The <i>czc</i> gene encodes resistance to all three metals
Copper	<i>pco</i>	Multiple primer sets
Manganese	<i>mofA</i>	Target <i>Leptothrix</i> manganese oxidation genes
Mercury	<i>merRTP</i>	Gram-negative mercury resistance determinants
	<i>mer</i> (various)	Gram-negative mercury resistance determinants
	<i>merRTP</i> , <i>merP</i>	Primers for T-RFLP analysis of <i>mer</i> genes
	<i>merA</i>	Specific primers for pMERPH/R391 <i>merA</i> genes
	<i>merA</i> , <i>merB</i>	Specific primers for <i>Bacillus</i> sp. RC607 <i>mer</i> genes
	<i>merA</i>	Target Gram-positive mercury resistance determinants
	<i>mer</i> (various)	Target Gram-positive mercury resistance determinants

Larkin et al., 2005 A molecular toolbox for bacterial ecologists: PCR primers for functional gene analysis. *In: Molecular Microbial Ecology* (Osborn AM & Smith CJ, eds), pp. 281–301.

### Ex. Estuaire de la Seine (sédiments de vasières)

Abondance du gène de résistance au mercure (*merA*) dépendant du degré de contamination des vasières échantillonnées

Ramond et al. 2008 *Mar. Pollut. Bull.*

Ramond et al. 2009 *Res. Microbiol.*

30 ans  
naturellement  
agir  
anticiper  
solutions  
chercher

**Merci de votre attention....**



Sciences et technologies  
pour l'environnement